



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 57965

(13) C2

(51) МПК (2006)

C12N 9/64

A23C 19/04

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА МОЛОКОЗСІДНИХ ФЕРМЕНТІВ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В СИРОВАРНІЙ ГАЛУЗІ

1

(21) 2002042975

(22) 12.04.2002

(24) 15.02.2006

(46) 15.02.2006, Бюл. № 2, 2006 р.

(72) Бородай Валентина Дмитрівна, Бородай Іван Андрійович, Бородай Павло Андрійович

(73) Бородай Валентина Дмитрівна, Бородай Іван Андрійович, Бородай Павло Андрійович

(56) SU A1 56597, 29.02.40.

SU A1 255768, 28.10.69.

(57) Спосіб виробництва молокозсідних ферментів для використання у сироварній галузі, що включає

2

трикратну екстракцію ферментів з сичугів рогатої худоби, шлунків свиней, птахів, висолювання харчовою сіллю з екстракту, відокремлювання ферментної маси від розчину, сушіння, який **відрізняється** тим, що перший етап екстракції проводять механічним способом, при якому сировину тонко подрібнюють з додаванням молочної сироватки, потім з неї на кожному етапі механічним методом відокремлюють екстракт, для трикратної екстракції та висолювання використовують молочну сироватку кислотністю 65-120 °Т та 180-200 °Т відповідно.

Винахід належить до м'ясомолочної галузі агропромислового комплексу, використання в сиродільній галузі, медичній і фармакологічній практиці. В Україні та країнах СНГ сичужний фермент і пепсин виробляють в основному на м'ясокомбінатах, на Московському об'єднанні "Молоко", в колишній ЧСРС - на підприємствах, виробляючих сир, в Данії - на окремому спеціалізованому підприємстві з філіями по різних країнах.

Класичний сичужний фермент широко застосовується в сиродільній галузі для створення щільного згустку при сквашуванні молока. Класичний сичужний фермент виробляють з сичугів телят, яких відгодовують тільки молоком. Але сучасна технологія тваринництва направлена на вигодівлю телят вагою 150, 200кг і більш, тому сичуги відгодованих не тільки молоком телят складають найбільшу частину при виробництві сичужного ферменту. В останні 20-30 років поширилось використання при виробництві сирів пепсина, або суміші його з ферментним препаратом. Традиційним способом сичужний фермент виділяють із сичугів телят, кіз і овець, пепсин - із шлунків свиней і сичугів великої рогатої худоби шляхом трьохкратного настоювання в слабому розчині соляної кислоти, а потім висолюванні харчовою сіллю із фільтрату. Після відокремлювання ферментної маси від розчину її сушать і ретельно перемелюють.

В Чехії випускають рідинний сичужний препарат з активністю 1:5000-1:10000. Сичуги нарізують пластинами розміром 2×2см і менш. Екстракція також проводиться соляною кислотою, висалювання ферменту - харчовою сіллю, консервація борною кислотою. Відмічено, що в Чехії найбільше виробляється рідинного сичужного ферменту, болюбий спосіб сушіння призводить до значних втрат активного ферменту.

Застосування хімічних речовин в цих процесах не є досконалим рішенням, залишки їх в ферментних препаратах негативно діють на утворення згустку і визрівання сирів, неможливе використання залишків шлунків після екстракції хімічними речовинами і розчину після осадження ферменту, що змушує утилізувати їх зі скидом шкідливих речовин.

Відсутність в Україні засобу виробництва сичужного ферменту і пепсина з використанням харчових речовин і прогресивних методів обробки дає підставу для розробки способу виробництва сичужного ферменту і пепсина.

В основу винаходу поставлено задачу створення екологічно безпечного засобу виробництва сичужного ферменту (пепсина) шляхом введення в технічний процес нових операцій тонкого подрібнення і швидкоплинного відокремлення тонко здрібненої маси від клітинного соку з ферментами, заміни соляної кислоти молочною сироваткою для

(13) C2

(11) 57965

(19) UA

екстракції і осадження ферментів, використання за новим призначенням відомого і діючого в даний час в Україні обладнання переробної галузі агропромислового комплексу і хімічної промисловості.

Новий спосіб складається із слідуєчих технологічних операцій: подрібнення, тонке подрібнення, три етапи екстракції з відокремлюванням сировини від екстракту на кожному етапі, подальше традиційний спосіб: висалювання ферменту, відокремлювання його від розчину, змішування з сіллю, сушіння, фасування.

Для відтворення нового способу комплект нового обладнання використано за новим призначенням у складі: м'ясорубка, подрібнювач, машини АВЖ-245 і АВЖ-150, шнекова центрифуга НОГШ-325, 4 ванни ВДП- 0,6.

Сировиною для виробництва сичужного ферменту є сичуги молодих і відгоддованих телят, пепсина - сичуги великої рогатої худоби, кіз і овець, шлунки свиней, птиць, мілких тварин - кролів, зайців. Сичуги і шлунки накопичують у холодильних камерах.

В Данії заводи Хан села Зберігають у своїх холодильниках до 3млн. шт. шлунків телят, тому вони можуть задовольнити будь-який попит на сичужний препарат за короткий час. В Чехії закупують всі шлунки від м'ясної промисловості для виробництва молокозгортуючих препаратів. Ферменти знаходяться в клітинах і в міжклітинній рідині. При харчуванні рекомендується ретельно пережовувати їжу для визволення ферментів і споживчих речовин. В промисловому виробництві використовують подрібнення. Тому в новому способі застосовані процеси подрібнення і тонкого подрібнення сировини.

При ознайомленні з різними матеріалами встановлено, що в Україні раніше в селах виготовляли сичужну закваску-настій порізаних сичугів в кислій молочній сироватці для виробництва сирів. В Швейцарії натуральний сичужний фермент готували шляхом витримки сичугів в сироватці кислотністю 75-110° Тернера. За даними М.Тепли (бувша ЧССР) ефективність дії сичужного ферменту, розчиненого в сироватці кислотністю 75°Т і витриманого 24 години при температурі 36°С, збільшується в два рази. Крім того М. Тепли свідчить, що розчини органічних кислот (лимонна, молочна, оцтова) можуть бути використаними для екстракції тільки при достатньо високій концентрації. Стивенсон (Нідерланди), при виробництві сира з пепсином, виділеним із шлунків свиней молочною кислотою замість соляної, через 9 місяців дозрівання одержав сир хорошої якості.

В фармакологічній практиці для одержання пепсину стандартної активності розводять його лактозою.

Опираючись на такі данні, в новому способі пропонується екстракцію із сировини сичужного ферменту і пепсина проводити не хімічними речовинами, а кислотою молочною сироваткою кислотністю 120°Т. В традиційних способах під дією соляної кислоти відбувається руйнування тканин шлунків, гідроліз білків і жирів. В новому ж способі руйнування тканин відбувається в машині АВЖ-245, а відокремлювання їх - в шнековій центрифугі НОГШ-325. Екстракцію необхідно проводити в три

етапи, як і в традиційному способі.

Перший етап починається вже при тонкому подрібненні, для чого в машину АВЖ-245 подають сироватку. Основним робочим органом машини є перфорований барабан, що обертається, 152 отворами діаметром 6мм на його поверхні. В центрі барабана кріпиться рухомий ніж, передбачений для первинного подрібнення сировини і відкидання її на стінку барабану. На внутрішній стороні барабану розміщені два нерухомих ножі, які підрізають утавлені у отвори барабана частки сировини. Частота обертів барабана 140б/хв., він приводиться в дію від електродвигуна потужністю 14квт.

В сировині проходять такі процеси. При подрібненні відкриваються капіляри, в які легко проникає клітинний сік разом із ферментами. Під дією відцентрової сили він легко долає капілярне зчеплення. Починається видалення його із часток. Для подальшого виділення клітинного соку тиск повинен бути достатнім для подолання опору для міграції окремих капель соку через ущільнену масу тонко здрібнених шлунків. Такий тиск утворюється в горизонтальній шнековій центрифугі НОГШ-325.

Застосування шнекової центрифуги НОГШ-325 обумовлено наступними факторами. [Згідно робіт радянських фізико-хіміків Н.С. Єнікоп'яна і М.Л. Фрідмана] масу, що утворюється в машині АВЖ-245, можна уявити як багатокомпонентну суміш, що містить малов'язку речовину (екстракт) і вологу тверду частину сировини (тонко здрібнені сичуги, або шлунки). При протискуванні шнеком через центрифугу тверда частина сировини піджимається к центру до шнеку, а екстракт віджимається до стінок формуючого каналу, тобто корпусу центрифуги, і виникає двошарова течія [малюнок 4в, стр.226 "Международный ежегодник" "Наука и человечество: Доступно и точно о главном в мировой науке." 1987г.]. Завдяки цьому навіть найменші частки тканин білкового пилу і неорганічних сполук притискаються до центру, а не попадають в екстракт. Такий екстракт полегшує проведення подальшого технологічного процесу, бо наявність білкових сполук знижує активність готових препаратів за протеолітичної дії ферментів на білки. Під час екстракції необхідно слідкувати за активною кислотністю середовища. При виробництві сичужного фермента обов'язково присутній і пепсин. Сичужний фермент при РН 3,7-4,0 гідролізує казеїн і сивороточний альбумін. Пепсин гідролізує білки при РН 1-2,2. Оптимальним режимом екстракції при виробництві сичужного ферменту є РН 4,5-5,5, пепсина РН 4-4,3-5. Екстракція значною мірою залежить від температури екстрагуємого розчину. Низька температура розчину погіршує течію екстракції. Більш висока (40°С) діє на ферменти негативно і сприяє розмноженню термофільних мікроорганізмів. Оптимальною є температура екстракції 20-25°С із зниженням температури в кінці процесу до 15-20°С.

Слід передбачити, що при таких режимах і умовах в тонко здрібненій сировині відбувається також процес автолізу. Саме ця обставина дозволяє знизити тривалість процесу екстракції:

1 етап: швидкоплинний процес виділення клітинного соку з ферментами із тонко здрібненої

сировини за рахунок відцентрової сили в машині АВЖ, тиску в шнековій центрифугі і швидкоплинний процес екстракції ферментів молочною сироваткою під дією цих сил;

2 етап: 20-24 години

3 етап: 8-10 годин. Такий режим прийнятий з урахуванням прикладу екстракції сичужного ферменту із шлунків телят, наведеного М. Тепли, Я. Машеком, Я. Гавловою.

Осадження ферментів в традиційному способі рекомендовано проводити таким чином: Ф. Фрідріх (колишня ЧССР) до 100л чистого відфільтрованого екстракту з вмістом 10% NaCl, РН 5,0 додавав NaCl до 20%. Сичужний фермент з білками осаджують, додаючи 100мл концентрованої HCl до РН 1,3. Осад відокремлюється через 48 годин і після пресування одержують 14,8кг маси, яку перемішують з 1/3 по масі NaCl. Після сушіння в умовах вакууму одержують 11,4кг сичужного порошку з активністю 1:100000.

По американським патентам осаження сичужного ферменту проходить в наступній послідовності: до 109,02л сичужного екстракту з вмістом 6% NaCl додають ще 21,8кг NaCl при РН 5,2. Додаючи потім 2,236кг концентрованої HCl, доводять РН до 1,6. Осад відокремлюється через три дні при кімнатній температурі. Зливають 71,5 неактивної рідини, одержаний осад фільтрують, висушують в умовах вакуума. Вихід високоактивного препарату ферменту складає 2,8кг. Кількість доданої NaCl і кислоти встановлюють в залежності від складу екстракту.

Торнлей і Хітон застосовували для виробництва сичужного ферменту осаження його NaCl із підкислених екстрактів, використовуючи для цього трихлоруксусну кислоту (по дії аналогічна молочній кислоті в сироватці), і одержали позитивні результати. Але одержаний осадок (висол) був дуже дрібним і із ускладненням відокремлювався від розчину.

В усіх методах основопологаючим є вибір кислоти і її кількості для виділення ферментів із розчину NaCl підвищеної концентрації. Згідно М. Тепли найбільша кількість ферменту виділяється із розчину в межах РН не вище 3,6; температура від 15 до 23°C.

На базі цих даних пропонується новий спосіб осаження ферментів харчовою сіллю і додаванням молочної сироватки кислотністю 180-200° Т. Кількість харчової солі обчислюється із розрахунку концентрації в розчині 20% NaCl, сироватки - із розрахунку РН 3,6-4,0 розчину. Тривалість цього процесу 48 годин. Подальша обробка висолу і ферменту проводиться по класичній технології, тому подальший опис є рекомендованим, а не обов'язковим.

При вірному робочому процесі через 3-5 годин на поверхні утворюється висол ферменту з білками. При відокремлюванні ферменту можуть бути великі виробничі втрати внаслідок залишків дрібно розсіяних часток висолу в екстракті. Тому висол відокремлюють від маточного розчину пересуванням, самопересуванням, або центрифугуванням. Пропонується центрифуга типу ОПН, що виробляється Сумським машинобудівним заводом. Вологий висол змішують в фаршемішалці з сухою сіллю

NaCl, яка захищає продукт від негативної дії мікроорганізмів. Кількість NaCl обчислюють із розрахунку концентрації в вологому продукті 20-25% NaCl. Вологий продукт в суміші з сіллю може використовуватися для виробництва сирів. Активність його 1:50000-1: 75000, термін зберігання 3-5 дб при температурі + 4-5°C. Кількість ферментного препарату, необхідного для сквашування молока визначається традиційним способом. Суміш ферменту з NaCl легше переносить помірний температурний режим в процесі сушіння (без інактивації). Сушіння висолу, змішаного з NaCl, проводять в вакуумних сушарнях при температурі 35°C на початку і 30°C в кінці процесу. Висушену масу подрібнюють на млині. Таким чином отримують високоактивний сичужний фермент активністю 1:300000.

Сичужний фермент і пепсин у вигляді сухого порошку з сіллю дуже стійкий: в теплому сухому приміщенні при кімнатній температурі може зберігатися декілька років, незначно втрачаючи свою активність.

Технічними результатами нового способу є:

- екологічно безпечний спосіб виробництва сичужного ферменту і пепсину при використанні в технологічному процесі кислоти молочної сироватки замість соляної і борної кислот;
- скорочення тривалості процесу за рахунок введення нових операцій - тонке подрібнення сировини і швидкоплинне виділення з неї клітинного соку з ферментами;
- за рахунок скорочення тривалості процесу зменшується мікробіологічне забруднення препарату;
- можливість створення виробництва високоактивних препаратів сичужного ферменту і пепсину на площі 150м² (без холодильника) при наявності струму 380 в на обладнанні, що виготовляється в Україні і Росії;
- використання залишків сичугів і шлунків для виробництва харчової протеїнової добавки, або на корма худобі, розчину після осаження ферментів, за наявності в ньому молочнокислих бактерій, залишків ферментів і розчинних білків, для харчової, комбікормової і парфумної галузі. Крім того залишки шлунків і розчину завдяки помірному вмісту вищезазначених бактерій і речовин можуть бути сировиною для виготовлення ліків.

Особливі умови виробництва;

- при виробництві сичужного ферменту і пепсину переробляють одразу велику кількість шлунків. Оскільки така переробка пов'язана з деяким ризиком, за ходом екстракції і осаджування слідкують шляхом систематичного визначення активності ферменту, а також проводять мікробіологічний контроль. Завдяки цьому виробничі втрати можуть бути знижені до мінімуму;
- догляд за утриманням санітарно-гігієнічних умов при спорожненні шлунків на бойні і утриманні на холодильнику. На бойні після попереднього огляду сичугів і шлунків відрізають пілорус (зв'язок з 12-палою кишкою) і частину стравоходу. З поверхні шлунка знімають кров'яні судини і жир, які заважають протіканню виробничого процесу;
- розміщення центрифуги ОПН і сушарки в окремому приміщенні;

- щоденна санітарна обробка обладнання і приміщень.

Відомості, які підтверджують можливість здійснення винаходу.

Новий спосіб застосований для виробництва двох препаратів - сичужного ферменту і пепсина. Послідовність дій однакова для обох препаратів. Далі наведена послідовність дій для виробництва сичужного ферменту. Використовують охолоджені, або заморожені сичуги і шлунки. Охолоджені подрібнюють на вівчку, заморожені без дефростації на подрібнювачі. Подрібнені сичуги або шлунки подають на машину АВЖ-245, куди також подають молочну сироватку кислотністю від 65°Т до 120°Т. Утворюється суміш тонко здрібненої сировини і емульсії, яка самою машиною АВЖ подається в напірний бак, а з нього на центрифугу НОГШ-325. З центрифуги виходить дві фракції. Обезводнена маса сичугів і екстракт, що складається із сироватки, клітинного соку сировини, і ферментів. На цьому закінчується перший швидкоплинний процес екстракції. Сичуги поступають в ванну. В ту ж ванну додають сироватку кислотністю 85-120°Т у співвідношенні 1:1 (сироватка-сичуги) для проведення другого етапу екстракції сичужного ферменту впродовж 20-24 годин. Після завершення другого етапу поверхній розчин зливають у окрему ванну, а суміш подрібнених сичугів і залишки розчину перекачують машиною АВЖ-130 в напірний бак перед центрифугою НОГШ-325, а потім передають на центрифугу, для відокремлення сичужної маси від екстракту, який підлягає обробці-осадженню ферменту.

Після повторного центрифугування сичужна маса поступає в другу ванну, куди додають сироватку кислотністю 85-120 °Т у співвідношенні 1:2 (сироватка: сичуги) для проведення третього етапу екстракції впродовж 8-10 годин. Після закінчення екстракції суміш, машиною АВЖ-130 подають на ту ж центрифугу НОГШ-325, з якої сичужну масу направляють на подальше використання в інших галузях, а екстракт третього етапу направляють в машину АВЖ-245 на перший етап.

Екстракт першого етапу від центрифуги НОГШ

самопливом зливається в ванну ВДП-0,6 де проводять осадження сичужного ферменту додаванням харчової солі до створення концентрації в розчині 20% NaCl і сироватки кислотністю 180-200°Т до РН розчину 3,6-4,0. Тривалість проведення цього процесу 48 годин.

Екстракт другого етапу від центрифуги НОГШ самопливом зливається в ванну ВДП-0,6, де таким же чином і при такій же тривалості проводять осадження сичужного ферменту. При необхідності можливе змішування екстрактів першого і другого етапів.

Екстракт очищений - після центрифуги - з додаванням NaCl 20-25% може використовуватись як рідинний препарат сичужний (пепсиновий).

Далі обробка висолу і сичужного ферменту проводиться за класичною технологією, або на існуючому обладнанні, тому подальші відомості є рекомендованими, а не обов'язковими.

В процесі осадження утворюється висол сичужного ферменту, який можливо відокремлювати від розчину і жиру на центрифугі типу ОПН. Обезводнений сичужний фермент за допомогою механізму ножового типу вручну виграють із центрифуги через нижній отвір. В процесі центрифугування розчин і жир безперервно виводяться із центрифуги через фільтруючу тканину, для чого використовують хлопчатопапірне полотно, яке щоденно демонтують із центрифуги, прасують і стерилізують. Розчин самопливом зливають в окрему місткість і направляють на подальше вико-

Вологий сичужний фермент в фаршмішалці змішують із сухою сіллю до концентрації 20-25% NaCl в суміші. Такий вологий продукт може використовуватися для виробництва сирів. Сушіння суміші проводять в вакуумних сушарках, на стелажних візках. Суміш рівномірно наносять на серветки із полотняної тканини, які укладають на полиці візків. В сушарці підтримують температуру 35°С на початку і 30°С наприкінці процесу. Висушену масу подрібнюють на млині і фасують.

Після закінчення роботи щоденно обладнання і приміщення підлягають обов'язковій мийці.