УДК 577.151.52

Д. В. Минаков
Алтайский государственный университет
(г. Барнаул, Российская Федерация)

С. Л. Тихонов
Уральский государственный аграрный университет,
Уральский государственный лесотехнический университет
(г. Екатеринбург, Российская Федерация)

Н. В. Тихонова
Уральский государственный аграрный университет
(г. Екатеринбург, Российская Федерация)

М. В. Минакова
Алтайский государственный технический университет
им. И.И. Ползунова
(г. Барнаул, Российская Федерация)

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА ИЗ ВЫСШИХ ГРИБОВ *PIPTOPORUS BETULINUS* ПРИ ПОЛУЧЕНИИ МЯГКОГО СЫРА

Аннотация. *Исследованы технологические свойства молокосвертывающего фермента, полученного из культуральной жидкости грибов Piptoporus betulinus. Установлены биохимический состав, физико-химические и органолептические свойства молочной сыворотки и мягких сыров, полученных с использованием ферментов грибного и животного происхождения. Выход молочной сыворотки при применении грибного фермента составил 80,54 %. Количественное содержание жиров, белковых и сухих веществ в сыворотке при применении грибного фермента составило 0,26, 0,52 и 6,88 % и суще-*

ственно не отличалось от значений молочной сыворотки, полученной с использованием сычужного фермента — СГ-50. Установлено, что выход сыра с ферментом грибного происхождения составил 12,84 % и был ниже фактического выхода сычужного сыра на 14,0 %. Содержание общего белка и сухого вещества у сыра, полученного с ферментом из P. betulinus, составило 9,51 % и 45,24 %, и были ниже на 14,5 и 3,4 %, чем у сыра с сычужным ферментом. Энергетическая ценность полученных сыров составила 228,33 и 246,44 ккал / 100 г. Установленные технологические свойства фермента, полученного из биомассы высших грибов, позволяют рекомендовать его в технологии изготовления мягких сыров типа «Любительский».

Ключевые слова: *молокосвертывающие ферменты, биомасса мицелия, высшие базидиальные грибы, Piptoporus betulinus, биохимический состав, мягкий сыр*

INVESTIGATION OF THE TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF THE MILK-CONVERTING ENZYME FROM THE HIGHER FUNGI *PIPTOPORUS BETULINUS* WHEN GETTING SOFT CHEESE

Annotation. *The technological properties of a milk-converting enzyme obtained from the culture fluid of Piptoporus betulinus fungi have been studied. The biochemical composition, physico-chemical and organoleptic properties of whey and soft cheeses obtained using enzymes of fungal and animal origin have been established. The yield of whey with the use of a fungal enzyme was 80.54 %. The quantitative content of fats, proteins and solids in serum when using the mushroom enzyme was 0.26, 0.52 and 6.88 % and did not differ significantly from the values of whey obtained using rennet enzyme — SG-50. It was found that the yield of cheese with an enzyme of fungal origin was 12.84 % and was lower than the actual yield of rennet cheese by 14.0 %. The content of total protein and dry matter in cheese obtained with an enzyme from P. betulinus was 9.51 % and 45.24 %, and were 14.5 and 3.4 % lower than in cheese with rennet enzyme. The energy value of the obtained cheeses was 228.33 and 246.44 kcal / 100 g. The established technological properties of the enzyme obtained from the biomass of higher fungi make it possible to recommend it in the technology of making soft cheeses of the "Amateur" type.*

Keywords: *milk-converting enzymes, mycelium biomass, higher basidial fungi, Piptoporus betulinus, biochemical composition, soft cheese*

Для цитирования:

Минаков, Д. В. Исследование технологических свойств молокосвертывающего фермента из высших грибов Piptoporusbetulinus при получении мягкого сыра / Д. В. Минаков, С. Л. Тихонов, Н. В. Тихонова, М. В. Минакова // Вестник биотехнологии. 2024. № 2.

Введение. Сыр является одним из важнейших продуктов молочной промышленности, ассортимент которого во всем мире составляет более 1000 сортов [1, 2]. В большинстве технологий производства сыров в промышленных масштабах используют телячий сычужный фермент — химозин [3, 4]. Однако постоянно растущий спрос на сыры, нехватка химозина и религиозные ограничения на потребление сыров с ферментом животного происхождения являются серьезными проблемами для молочной промышленности [5, 6]. Это вызвало необходимость поиска и применения альтернативных источников молокосвертывающих ферментов. В связи с этим микробные протеазы стали популярными и заменили традиционное направление производства. Таким образом, сегодня лишь 20–30 % мировой потребности в молокосвертывающих препаратах приходится на телячий сычужный фермент [7, 8].

Молокосвертывающие протеазы с высокой активностью и стабильностью при кислых значениях pH имеют важное промышленное применение, в частности, в качестве коагулянтов молока при получении сыров и усилителей вкуса в других пищевых отраслях [9, 10]. Микробные ферменты заменяют телячий сычужный фермент из-за их низких производственных затрат, большего биохимического разнообразия и более легкой генетической модификации [1, 11]. Поэтому в настоящее время многие протеазы грибного и бактериального происхождения широко используются в мире при производстве сыров. Например, около 60 % сыра в США производится с использованием молокосвертывающих ферментов, полученных из грибов [1, 12].

Однако исследования по оценке биохимического состава и органолептических качеств сыра, произведенного с использованием микробных ферментов, ограничены [13, 14].

В Российской Федерации основная доля ферментов при производстве сыров приходится на химозин. Производство молокосвертывающих ферментов грибного и бактериального происхождения в России отсутствует. Основными поставщиками качественных ферментов для молочной промышленности являются Европейские страны, Япония, Китай, США. В связи с этим необходимо развивать импортозамещающие технологии.

Целью работы является исследование технологических свойств фермента, полученного из культуральной жидкости грибов *Piptoporus betulinus*, при выработке мягкого сыра типа «Любительский».

Материалы и методы исследования. Определение содержания белка, небелкового азота в молоке, молочной сыворотке и сырах проводили по ГОСТ Р 55246-2012, жира по ГОСТ 5867-2023, золы — ГОСТ 51463-99, влаги и сухого вещества — ГОСТ 3626-73. Содержание общего белка в ферментах определяли по методу Брэдфорда [12]. Общее содержание углеводов определяли по разнице (вычитая из 100 %) суммы процентного содержания влаги, золы, белка и жира. Энергетическая ценность (ЭЦ) определялась косвенно с учетом трёх групп питательных веществ, обеспечивающих организм энергией: углеводов, жиров и белков. Один грамм углеводов (У), белков (Б) и жиров (Ж) обеспечивает 4,0, 4,0 и 9,0 ккал энергии, соответственно. Таким образом, общая калорийность рассчитывается следующим образом: ЭЦ (Ккал / 100 г) = (Б × 4) + (Ж × 9) + (У × 4), где Б — содержание белка (%), Ж — содержание жира (%) и У — общее количество углеводов (%) [1].

Определение pH и титруемой кислотности молока, молочной сыворотки и сыров проводили по ГОСТ 3624-92, плотности молока по ГОСТ 3625-84, органолептических показателей сыров по ГОСТ 33630-2015. Микробиологические показатели качества молока и сыров определяли по ГОСТ 23453-2014 и ГОСТ 32901-2014. Выход сыворотки и сыров рассчитывали гравиметрическим методом, описанным в работе [1].

Определение молокосвертывающей активности, массовой доли влаги, поваренной соли и нерастворимого остатка в ферментах грибного и животного происхождения проводили по методикам, описанным в работах [1, 12].

Математическая обработка данных проводилась с применением программных пакетов Microsoft Excel и Statsoft Statistica (v.5.5).

Результаты и обсуждение. В работе производили выработку мягкого сыра типа «Любительский» с использованием фермента, полученного из биомассы грибов *P. betulinus*. Сравнительную оценку грибного фермента проводили со стандартным ферментом животного происхождения СГ-50 (Московский завод сычужного фермента, Россия).

Физико-химические свойства ферментов представлены в таблице 1.

Таблица 1 *— Характеристика ферментов грибного и животного происхождения*

Наименование показателя	**Значение показателя**	
	Фермент из *P. betulinus*	СГ-50
Общая молокосвертывающая активность, IMCU / г	624 ± 20	921 ± 25
Массовая доля влаги, %, не более	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1
Массовая доля поваренной соли, %, не менее	81,0 ± 0,2	82,0 ± 0,4
Массовая доля нерастворимого остатка, %, не более	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1
Внешний вид	однородный порошок светло-серого цвета	однородный порошок светло-жёлтого цвета
Запах	специфический, свойственный грибным протеазам, без посторонних запахов	специфический, свойственный животным протеазам

Биохимический состав и физико-химические показатели коровьего молока, используемого при выработке сыра представлены в таблице 2.

Таблица 2 *— Биохимический состав и физико-химические показатели молока*

Показатели	**Значения**	**Норма для сорта молока [ГОСТ 31449-2013]**		
		высший	первый	второй
Кислотность, °Т	19,0	не ниже 16,0 и не выше 18,0		не ниже 16,0 и не выше 21,0
Группа чистоты, не ниже	I	I	I	II
Плотность, кг / м³, не менее	1027,0 ± 1,0	1028,0	1027,0	1027,0
Температура замерзания, °С	0,5	не выше минус 0,520		
Содержание небелкового азота, %, не более	0,032 ± 0,002	0,038		
М. д. жира, %, не менее	4,2 ± 0,2	3,4		
М. д. белка, %, не менее	3,0 ± 0,1	2,8		
Содержание соматических клеток в 1 см³, не более	$3,85 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$
КМАФАнМ, КОЕ / см³, не более	$2,7 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$

Анализ качества молока показал, что используемое в работе молоко по биохимическому составу и физико-химическим показателям относится к первому сорту.

Показатели технологического процесса изготовления мягкого сыра с использованием ферментов грибного и животного происхождения представлены в таблице 3.

Таблица 3 *— Показатели технологического процесса при изготовлении сыра типа «Любительский»*

Параметр технологического процесса	Фермент из *P. betulinus*	Фермент из СГ-50
Активная кислотность перед свертыванием, ед. pH	6,39 ± 0,10	5,50 ± 0,10
Скорость нарастания температуры при нагревании, °С / мин	13,0	
Температура свертывания, °С	32,6 ± 0,2	35,5 ± 0,4
Продолжительность свертывания, мин	32,0 ± 1,9	30,0 ± 2,0
Продолжительность разрезки и постановки зерна, мин	16,0 ± 0,5	15,0 ± 0,5
Продолжительность обработки зерна, мин	21,5 ± 2,2	24,0 ± 2,5
Общая продолжительность обработки, мин	37,5 ± 2,1	39,0 ± 2,7

В результате проведенных исследований, установлено, что температура свертывания молока для фермента из *P. betulinus* составляет 32,6 °С для сычужного фермента СГ-50 — 35,5°С. Продолжительность свертывания молока ферментами составила 32,0 и 30,0 мин. Полученные значения входят в пределы показателей технологического процесса при производстве сычужных сыров. Продолжительность обработки зерна имела некоторые отличия. Общая продолжительность обработки сырного зерна после достижения требуемой плотности сгустка, полученного с использованием

грибного фермента, составила 37,5 мин и 39,0 мин для СГ-50. Схемы используемых установок для получения мягких сыров в лабораторных условиях представлены на рисунке 1.

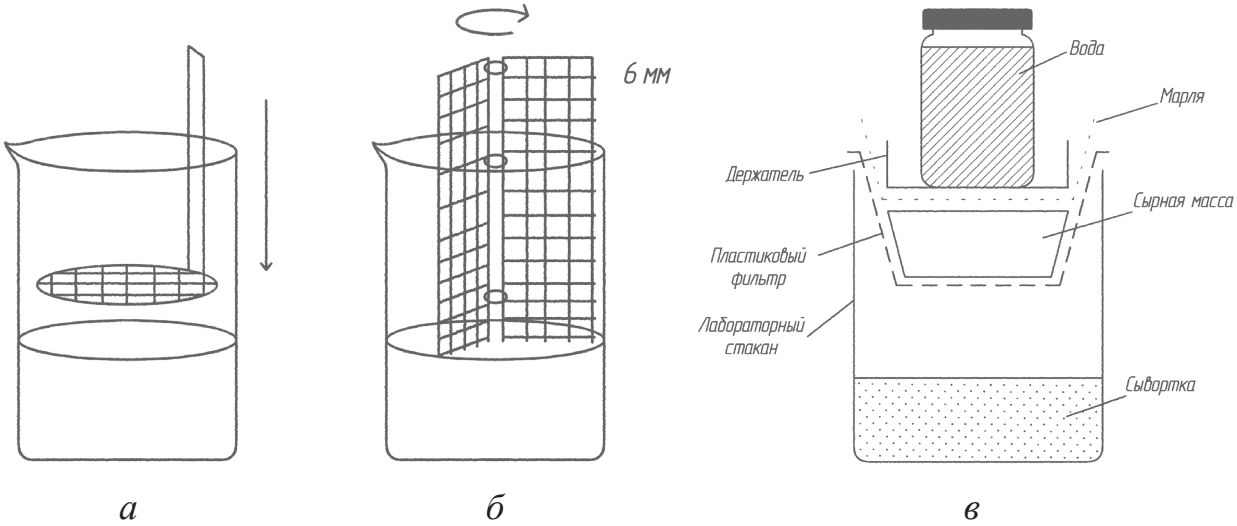

Рис. 1 *Установки для нарезки свернувшегося молока и отжима сыворотки: а) схема вертикального ножа; (б) схема горизонтального ножа в) схема отжима подсырной сыворотки*

В процессе приготовления сыров исследовали основные показатели состава сыворотки (таблица 4).

Таблица 4 *— Химический состав сыворотки*

Показатель состава сыворотки	Фермент из *P. betulinus*	Фермент из СГ-50
М. д. жира, %	0,26 ± 0,06	0,30 ± 0,06
М. д. сухого вещества, %	6,88 ± 0,17	7,28 ± 0,13
М. д. общего белка, %	0,52 ± 0,15	0,69 ± 0,08
Выход сыворотки, %	80,54 ± 1,9	80,68 ± 1,2

Массовая доля жира и сухого вещества в составе сыворотки при выработке сыра с грибным ферментом составила 0,26 % и 6,88 %, соответственно, имало отличалась от показателя сыра, полученного с использованием фермента СГ-50. По содержанию общего белка у сыров наблюдается существенное отличие. Массовая доля белка у сыра,полученного с грибным ферментом, составила 9,51 %, в то время как у сыра с сычужным ферментом это значение былона 14,5 % выше.

Биохимический состав свежих сыров представлены в таблице 5.

Таблица 5 *— Биохимический состав свежих сыров*

Показатель состава сыра	Фермент из *P. betulinus*	СГ-50
Кислотность, ед. pH	5,10 ± 0,04	5,20 ± 0,05
М. д. сухого вещества, %	45,24 ± 0,44	46,85 ± 0,24
М. д. жира, %	20,21 ± 0,55	21,28 ± 0,25
Доля жира молока, перешедшего в сыр, %	87,77 ± 1,89	87,64 ± 2,74
М.д. золы, %	2,30 ± 0,10	2,50 ± 0,10
М.д. углеводов, %	2,10 ± 0,10	2,60 ± 0,20
М.д. белка, %	9,51 ± 0,20	11,13 ± 0,10
Фактический выход сыра, %	12,84 ± 0,20	14,94 ± 0,33
Энергетическая ценность (Ккал / 100 г)	228,33	246,44

Активная кислотность у образцов сыров, полученных с использованием ферментов грибного и животного происхождения практически не отличается и находится в допустимых пределах (от 5,10 до 5,20 ед. pH). Доля жира, перешедшего в сыры, также была на одном уровне с вариантом с сычужным ферментом. Массовая доля сухого вещества у сыра, полученного с ферментом из *P. betulinus*, составила 45,24 % и отличалась от сыра сычужным ферментом на 3,4 %. Выход сыра с применением фермента грибного происхождения составил 12,84 % и был ниже фактического выхода сычужного сыра на 14,0 %.

Органолептические показатели сыров оценивались на основе 7-балльной гедонической шкалы (таблица 6).

Таблица 6 *— Органолептические характеристики свежих сыров*

Параметры	Фермент из *P. betulinus*	СГ-50
Цвет	4,88 ± 1,25	5,62 ± 0,72
Запах	4,97 ± 1,30	5,64 ± 1,10
Вкус	4,92 ± 1,12	5,34 ± 0,86
Текстура	5,30 ± 1,10	5,52 ± 0,92
Общая приемлемость	5,00	5,53

Полученный сыр с использованием фермента из грибов *P. betulinus* был кремового цвета, имел слегка кислый вкус и плотную, однородную, зернистую структуру (рисунок 2).

а *б*

Рис. 2 *Образцы полученного сыра: (а) сыр с ферментом из P. betulinus; (б) сыр с ферментом СГ-50.*

Характеристики сыра были схожи с коммерческими свежими сырами с низким содержанием жира, полученными с использованием сычужного фермента телят (СГ-50). Существенной разницы в показателях запаха и текстуры между образцами сыров не обнаружено.

Выводы. Проведена апробация технологии получения мягкого сыра типа «Любительский» с использованием фермента, выделенного из культуральной жидкости культуры высших грибов *P. betulinus*. Установленыпоказатели качества, биохимический состав и органолептические свойствамягких сыров. Исследован биохимический состав молочной сыворотки. Существенных различий по показателям качества сыров и молочной сыворотки при использовании грибных ферментов и химозина (СГ-50) не обнаружено. Полученные результаты позволяют рекомендовать разработанный фермент из культуры грибов *P. betulinus* в технологии изготовления мягких сыров.

Список литературы

1. *Mamo, J.* Application of Milk-Clotting Protease from Aspergillus oryzae DRDFS13 MN726447 and Bacillus subtilis SMDFS 2B MN715837 for Danbo Cheese Production / J. Mamo, P. Getachew, M. Samuel Kuria, M. F. Assefa // Journal of Food Quality. — 2020. — V. 2020. — P. 1–12. doi:10.1155/2020/8869010.
2. *Erbay, Z.* Optimization of spray drying process in cheese powder production / Z. Erbay, N. Koca, F. Kaymak-Ertekin, M. Ucuncu // Food and Bioproducts Processing. — 2015. — V. 93. — P. 156–165. doi:10.1016/j.fbp.2013.12.008.
3. *Yegin, S.* Progress in the field of aspartic proteinases in cheese manufacturing: structures, functions, catalytic mechanism, inhibition, and engineering / S. Yegin, P. Dekker // Dairy Science & Technology. — 2013. — V. 93. — №6. — P. 565–594. doi:10.1007/s13594-013-0137-2
4. *Souza, P. M.* A biotechnology perspective of fungal proteases / P. M. Souza, M. L. A. Bittencourt, C. C. Caprara, M. Freitas, R. P. C. Almeida, D. Silveira, P. O. Magalhães // Brazilian Journal of Microbiology. — 2015. — V. 46. — №2. — P. 337–346. doi:10.1590/s1517-838246220140359

5. *Abbas, H. M.* Production of white soft cheese using fungal coagulant produced by solid state fermentation technique / H. M. Abbas, M. S. Foda, J. M. Kassem, H. M. Bayomi, M. E. Moharam // World Applied Sciences Journal. — 2013. — V. 25. — №6. — P. 939–944.

6. *Shamtsyan, M.* Novel milk-clotting enzyme produced by Coprinus lagopides basidial mushroom / M. Shamtsyan, T. Dmitriyeva, B. Kolesnikov, N. Denisova // LWT — Food Science and Technology. — 2014. — V. 58. — № 2. — P. 343–347. doi:10.1016/j.lwt.2013.10.009

7. *Usman, A.* Production, optimization, and characterization of an acid protease from a filamentous fungus by solid-state fermentation / A. Usman, S. Mohammed, J. Mamo // International journal of microbiology. — 2021. — Vol. 190. — Pp. 1–12. doi:10.1155/2021/6685963

8. *Chinmayee, C. V.* Production of highly active fungal milk-clotting enzyme by solid-state fermentation / C. V. Chinmayee, C. Vidya, A. Rani, S. A. Singh // Preparative Biochemistry and Biotechnology. — 2019. — No. 10. — Pp. 1–11. doi: 10.1080/10826068.2019.1630647

9. *Sato, K.* Characterization of a Milk-clotting Enzyme from Hericium erinaceus and Its Proteolytic Action on Bovine Caseins / K. Sato, K. Goto, A. Suzuki, T. Miura // Food Science and Technology Research. 2018. V. 24 (4). P. 669–676. doi: 10.3136/fstr.24.669.

10. *Kishimoto, M.* Crude enzymes from a Hericium edible mushroom isolated in Japan: variability in milk-clotting activity and the ability to coagulate ultra-high-temperature pasteurized milk / M. Kishimoto, K. Nakamura, K. Kanemaru, T. Tasaki, T. Nakamura, K. Sato, M. Tanimoto // Food science and technology Research. — 2018. — V. 24. — № 1. — P. 139–143. doi.org/10.3136/fstr.24.139

11. *Lebedev, L. R.* Study of technological properties of milk-clotting enzyme from Irpex lacteus (Irpex lacteus (Fr.) Fr.) / L. R. Lebedev, T. A. Kosogova, T. V. Teplyakova, et.al. // Foods and Raw Materials, 2016. — V. 4. — №. 2. — P. 58–65.

12. *Минаков, Д. В.* Исследование ферментативной активности экстрактов из биомассы высших грибов для получения молочнокислых продуктов / Д. В. Минаков, Я. В. Уразова, Н. Г. Базарнова, С. Л. Тихонов, М. В. Минакова //

Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. — 2023. — Т. 13. — № 3. — С. 340–349. doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-3-340-349

13. *Merheb-Dini, C.* Production and characterization of a milk-clotting protease in the crude enzymatic extract from the newly isolated Thermomucor indicae-seudaticae N31 (Milk-clotting protease from the newly isolated Thermomucor indicae-seudaticae N31) / C. Merheb-Dini, E. Gomes, M. Boscolo, R. da Silva // Food Chemistry. — 2010. V. 120 (1). — P. 87–93. doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.07

14. *Salomao, R. M.* Pleurotus albidus: A new source of milk-clotting proteases / R. M. Salomao, S. C. S. Larissa, B. de S. Leilane, J. do C. Edson, M. A. Mircella, C. de V. Marne, F. S. T. Maria //African Journal of Microbiology Research. — 2017. — V. 11 (17). — P. 660–667. doi:10.5897/ajmr2017.8520

Минаков Денис Викторович, кандидат биологических наук, доцент кафедры органической химии, Алтайский государственный университет. 656049, Российская Федерация, г. Барнаул, ул. Ленина, 61. E-mail: minakovd-1990@yandex.ru ORCID: 0000-0002-4286-7783

Тихонов Сергей Леонидович, доктор технических наук, проф., профессор кафедры пищевой инженерии аграрного производства, Уральский государственный аграрный университет; профессор кафедры химической технологии древесины, биотехнологии и наноматериалов, Уральский государственный лесотехнический университет. 620075, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42. E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4863-9834

Тихонова Наталья Валерьевна, доктор технических наук, профессор, зав. кафедрой пищевой инженерии аграрного производства, Уральский государственный аграрный университет, г. Екатеринбург. E-mail: kaf.zooing@urgau.ru.

Минакова Марианна Викторовна, магистрант, Алтайский государственный технический университет им. И. И. Ползунова. 656038, Российская Федерация, г. Барнаул, ул. Ленина, 46. E-mail: marianna.minakova@mail.ru ORCID: 0000-0002-8618-7085

References

1. *Mamo, J.* Application of Milk-Clotting Protease from Aspergillus oryzae DRDFS13 MN726447 and Bacillus subtilis SMDFS 2B MN715837 for Danbo Cheese Production / J. Mamo, P. Getachew, M. Samuel Kuria, M. F. Assefa // Journal of Food Quality. — 2020. — V. 2020. — P. 1–12. doi:10.1155/2020/8869010.

2. *Erbay, Z.* Optimization of spray drying process in cheese powder production / Z. Erbay, N. Koca, F. Kaymak-Ertekin, M. Ucuncu // Food and Bioproducts Processing. — 2015. — V. 93. — P. 156–165. doi:10.1016/j.fbp.2013.12.008.

3. *Yegin, S.* Progress in the field of aspartic proteinases in cheese manufacturing: structures, functions, catalytic mechanism, inhibition, and engineering / S. Yegin, P. Dekker // Dairy Science & Technology. — 2013. — V. 93. — № 6. — P. 565–594. doi:10.1007/s13594-013-0137-2

4. *Souza, P. M.* A biotechnology perspective of fungal proteases / P. M. Souza, M. L. A. Bittencourt, C. C. Caprara, M. Freitas, R. P. C. Almeida, D. Silveira, P. O. Magalhães // Brazilian Journal of Microbiology. — 2015. — V. 46. — № 2. — P. 337–346. doi:10.1590/s1517-838246220140359

5. *Abbas, H. M.* Production of white soft cheese using fungal coagulant produced by solid state fermentation technique / H. M. Abbas, M. S. Foda, J. M. Kassem, H. M. Bayomi, M. E. Moharam // World Applied Sciences Journal. — 2013. — V. 25. — № 6. — P. 939–944.

6. *Shamtsyan, M.* Novel milk-clotting enzyme produced by Coprinus lagopides basidial mushroom / M. Shamtsyan, T. Dmitriyeva, B. Kolesnikov, N. Denisova // LWT — Food Science and Technology. — 2014. — V. 58. — № 2. — P. 343–347. doi:10.1016/j.lwt.2013.10.009

7. *Usman, A.* Production, optimization, and characterization of an acid protease from a filamentous fungus by solid-state fermentation / A. Usman, S. Mohammed, J. Mamo // International journal of microbiology. — 2021. — Vol. 190. — Pp. 1–12. doi:10.1155/2021/6685963

8. *Chinmayee, C. V.* Production of highly active fungal milk-clotting enzyme by solid-state fermentation / C. V. Chinmayee, C. Vidya, A. Rani, S. A. Singh // Preparative Biochemistry and Biotechnology. — 2019. — No. 10. — Pp. 1–11. doi: 10.1080/10826068.2019.1630647

9. *Sato, K.* Characterization of a Milk-clotting Enzyme from Hericium erinaceus and Its Proteolytic Action on Bovine Caseins / K. Sato, K. Goto, A. Suzuki, T. Miura // Food Science and Technology Research. 2018. V. 24 (4). P. 669–676. doi: 10.3136/fstr.24.669.

10. *Kishimoto, M.* Crude enzymes from a Hericium edible mushroom isolated in Japan: variability in milk-clotting activity and the ability to coagulate ultra-high-temperature pasteurized milk / M. Kishimoto, K. Nakamura, K. Kanemaru, T. Tasaki, T. Nakamura, K. Sato, M. Tanimoto // Food science and technology Research. — 2018. — V. 24. — № 1. — P. 139–143. doi.org/10.3136/fstr.24.139

11. *Lebedev, L. R.* Study of technological properties of milk-clotting enzyme from Irpex lacteus (Irpex lacteus (Fr.) Fr.) / L. R. Lebedev, T. A. Kosogova, T. V. Teplyakova, et.al . // Foods and Raw Materials, 2016. — V. 4. — No. 2. — P. 58–65.

12. *Minakov, D. V.* Investigation of the enzymatic activity of extracts from the biomass of higher fungi for the production of lactic acid products / D. V. Minakov, Ya. V. Urazova, N. G. Bazarnova, S. L. Tikhonov, M. V. Minakova // News of universities. Applied chemistry and biotechnology. — 2023. — vol. 13. — No. 3. — pp. 340–349. doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-3-340-349

13. *Merheb-Dini, C.* Production and characterization of a milk-clotting protease in the crude enzymatic extract from the newly isolated Thermomucor indicae-seudaticae N31 (Milk-clotting protease from the newly isolated Thermomucor indicae-seudaticae N31) / C. Merheb-Dini, E. Gomes, M. Boscolo, R. da Silva // Food Chemistry. — 2010. V. 120 (1). — P. 87–93. doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.07.

14. *Salomao, R. M.* Pleurotus albidus: A new source of milk-clotting proteases / R. M. Salomao, S. C. S. Larissa, B. de S. Leilane, J. do C. Edson, M. A. Mircella, C. de V. Marne, F. S. T. Maria //African Journal of Microbiology Research. — 2017. — V. 11 (17). — P. 660–667. doi:10.5897/ajmr2017.8520

Minakov Denis Viktorovich, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Organic Chemistry, Altai State University. 61 Lenin Street, Barnaul, 656049, Russian Federation. E-mail: minakovd-1990@yandex.ru ORCHID: 0000-0002-4286-7783

Tikhonov Sergey Leonidovich, Doctor of Technical Sciences, Professor, Professor of the Department of Food Engineering of Agricultural Production, Ural State Agrarian University; Professor of the Department of Chemical Technology of Wood, Biotechnology and Nanomaterials, Ural State Forest Engineering University. 42 Karl Liebknecht str., Yekaterinburg, 620075, Russian Federation. E-mail: tihonov75@bk.ru Orchid: https://orcid.org/0000-0003-4863-9834

Tikhonova Natalia Valeryevna, Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Department of Food Engineering of Agricultural Production, Ural State Agrarian University, Yekaterinburg. E-mail: kaf.zooing@urgau.ru.

Minakova Marianna Viktorovna, undergraduate student, Altai State Technical University named after I. I. Polzunov. 46 Lenin Street, Barnaul, 656038, Russian Federation. E-mail: marianna.minakova@mail.ru ORCHID: 0000-0002-8618-7085