

УДК 637.136.045.075(045)

**НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОВМЕСТНОГО
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ
ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ
СО СПЕЦИФИЧЕСКИМ БЕЛКОВО-ПЕПТИДНЫМ ПРОФИЛЕМ**

Головач Т.Н.¹, Жабанос Н.К.¹, Курченко В.П.²

¹ – РУП «Институт мясо-молочной промышленности»

² – Белорусский государственный университет
г. Минск, Республика Беларусь

Большинство молочнокислых бактерий (МКБ) обладают протеиназами клеточной стенки (ПКС), которые расщепляют белковый компонент молока, представленный казеиновой и сывороточной фракциями. В настоящее время создана модель микробного гидролиза казеина, транспорта и расщепления пептидов, регуляции указанных стадий. Выявлены, клонированы и охарактеризованы различные типы ПКС. Вместе с тем, некоторые штаммы при отсутствии собственных протеолитических ферментов используют продукты расщепления казеина, образованные с участием заквасочных бактерий. Это явление имеет промышленное значение, так как помимо обеспечения роста микроорганизмов, пептиды и аминокислоты определяют биологическую активность и органолептические характеристики ферментированного молока [1]. Актуальность исследований обусловлена необходимостью направленного подбора МКБ с известными протеолитическими свойствами в состав заквасок и концентратов для получения кисломолочных продуктов с заданным белково-пептидным профилем.

Цель работы – установление субстратной специфичности протеолитических систем бактерий различных групп (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Propionibacterium* sp.; из Централизованной отраслевой коллекции РУП «Институт мясо-молочной промышленности») при ферментации белкового компонента молока, характеристика продуктов протеолиза при совместном культивировании микроорганизмов.

Методическая часть исследования заключалась в получении бактериальной суспензии (БС) из ферментированного молока, проведении ферментативной реакции (в частности, инкубировании БС и субстрата – обезжиренного молока) [2]. Последующий анализ продуктов протеолиза осуществляли с использованием различных методических подходов. Так, разделение белково-пептидной смеси в денатурирующих условиях предполагало распределение компонентов в полиакриламидном геле согласно их молекулярной массе (ДСН-электрофорез). Принцип высо-

коэффициентной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) основан на различии в равновесном распределении компонентов смеси между стационарной фазой, химически привитой к поверхности неподвижного носителя, и подвижной фазой (растворителем). По данным ВЭЖХ и ДСН-электрофореза, протеолитическую активность (мг/мл) определяли как количество белка (мг), ферментированного 1 мл БС. Убыль белка рассчитывали по калибровочным графикам для α -, β - и κ -казеина (с учетом субстратной специфичности). Спектрофотометрически оценивали количество гидролизованной фракции (<10 кДа): 1 ед. активности (ЕА) связана с изменением ОП (λ 280) на 10-3 отн. ед.

По итогам экспериментальной работы изучены особенности расщепления белков молока протеазами *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* 1104 ST-AV, *Lactobacillus acidophilus* 1186 LA-AF, *Lb. casei* 1196 ML-OFR, *Lb. helveticus* 1191 TL-A и их комбинаций (1-й эксперимент); *Lactococcus lactis* 782 M-A, *Str. thermophilus* 1095 ST-AV, *Propionibacterium* sp. 2388 МИО-К и *Lb. casei* 1188 ML-OF и их комбинациями (2-й эксперимент). Максимальное количество гидролизованного казеина показано для образцов, ферментированных *Lb. acidophilus* 1186 LA-AF и *Propionibacterium* sp. 2388 МИО-К – 3,12–3,27 мг/мл (или $(2,25\text{--}2,53) \times 10^3$ ЕА/мл). Установлено, что сочетание протеолитических свойств *Lb. casei* 1196 ML-OFR или *Str. thermophilus* 1104 ST-AV с действием высокоактивных протеаз *Lb. acidophilus* 1186 LA-AF или *Lb. helveticus* 1191 TL-A обеспечивает увеличение доли гидролизованного α -казеина. Наиболее полное расщепление казеиновой фракции также достигается при внесении пропионовокислых бактерий (*Propionibacterium* sp. 2388 МИО-К) в смесь, представленную лактококками либо комбинацией *Lc. lactis* 782 M-A и *Str. thermophilus* 1095 ST-AV.

Следовательно, научно обоснованным является введение в состав поливидовых заквасок и концентратов высокоактивных штаммов *Lb. acidophilus* 1186 LA-AF и *Propionibacterium* sp. 2388 МИО-К, главным образом, в связи с увеличением доли гидролизованного α -казеина. Наряду с этим из перечня исследованных бактерий лишь протеолитические ферменты *Lb. acidophilus* 1186 LA-AF расщепляют основной белок-аллерген молочной сыворотки (β -лактоглобулин).

ЛИТЕРАТУРА

1. Savijoki, K. Proteolytic systems of lactic acid bacteria / K. Savijoki, H. Ingmer, P. Armament // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2006. – Vol. 71. – P. 394–406.
2. Evidence for proteolytic activity of lactobacilli isolated from kefir grains // P. Kabadjova-Hristova [et al.] // *Biotechnol. Equip.* - 2006. – Vol. 20. – P. 89–94.