ФЕРМЕНТАЦИЯ БЕЛКОВ МОЛОКА МЕЗОФИЛЬНЫМИ ЛАКТОКОККАМИ И ТЕРМОФИЛЬНЫМИ СТРЕПТОКОККАМИ

Головач Т.Н.[2], Жабанос Н.К.[1], Фурик Н.Н.[1], Катович В.Е.[3], Емельянов С.А.[3], Лодыгин А.Д.[3], Курченко В.П.[2]

[1] РУП «Институт мясо-молочной промышленности», Минск

[2] Белорусский государственный университет, Минск

[3] Северо-Кавказский государственный университет, г. Ставрополь

Получены экспериментальные данные об особенностях гидролиза белков казеиновой фракции при ферментации обезжиренного молока мезофильными лактококками и термофильными стрептококками, влиянии активной кислотности среды на количество расщепленных субстратов. Уровень протеолитической активности Lactococcus spp. и Streptococcus spp. установлен на основании данных спектрофотометрических исследований и результатов ДСН-электрофоретического разделения образцов ферментированного обезжиренного молока.

Молочнокислые бактерии (МКБ): *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp. и *Streptococcus* spp. – являются Грам-положительными, неспорообразующими, каталаза-отрицательными и факультативно-анаэробными бактериями с ферментативным метаболизмом [1]. Они выделены из различных источников: кисломолочных продуктов, напитков, кормов [8]. В качестве заквасочных культур МКБ нашли широкое применение для получения ферментированных молочных продуктов. Большое экономическое значение имеют штаммы *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Кроме того, некоторые МКБ применяют как пробиотические микроорганизмы [11] и продуценты биологически активных пептидов [5, 9].

Для роста МКБ необходимы экзогенные источники пептидов и аминокислот. Они образуются путем гидролиза казеина – основного белка молока. Протеолиз казеина инициируется расщеплением бактериальной протеиназой, связанной с клеточной стенкой. Образовавшиеся олигопептиды поглощаются МКБ с участием специфического пептидного транспорта и в дальнейшем под действием различных внутриклеточных пептидаз гидролизуются на короткоцепочечные пептиды и аминокислоты [2, 7].

Сравнительный анализ протеиназ клеточной стенки (ПКС) гидролизующих казеин различными штаммами лактококков [13, 14] позволил выявить два типа этих ферментов: 1) HP- или PI-тип, предпочтительно расщепляющий β-казеин с/без незначительным количеством α_{s1}-казеина в течение 24 ч ферментации; 2) AMI- или PIII-тип, гидролизующий α_{s1}- и β-казеин, но с иной сайт-специфичностью, чем PI-тип.

Интерес к протеолитической системе МКБ связан с их широким применением в различных отраслях пищевой промышленности, в частности,

сыроделии [10], при изготовлении йогуртов [15], заквасок [12] и обработке мяса [3]. Исследования в данном направлении связаны с выявлением и количественной оценкой протеолитической активности МКБ, специфичностью действия.

Цель работы – установление особенностей ферментации белков молока протеолитическими системами мезофильных лактококков и термофильных стрептококков.

Материалы и методы

Для получения образцов ферментированных молочных белков применяли молоко обезжиренное сухое распылительной сушки по СТБ 1858 с м.д. белка 30% и производства «Fluka» (Швейцария) с м.д. белка 33,8%; в качестве маркеров использовали α-казеин (м.д. белка ≥70%), β-казеин (м.д. белка 98%) и к-казеин (м.д. белка ≥70%) производства «Sigma» (США). Перечень исследуемых штаммов МКБ (из Централизованной отраслевой коллекции РУП «Институт мясо-молочной промышленности») для получения ферментированного обезжиренного молока представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Перечень лактококков, используемых в эксперименте

Паспортный номер	Видовая принадлежность	Оптимальные условия культивирования	
		pH	T, °C
Мезофильные лактококки			
1031 M-A	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	6,6–6,8	30±1
2344 M-A	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	6,6–6,8	30±1
1940 M-ADf	*Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*	6,6–6,8	30±1
2071 M-ADf	*Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*	6,6–6,8	30±1
981 M-A	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	6,6–6,8	30±1
100 M-A	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	6,6–6,8	30±1
947 M-ADG	*Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*	6,6–6,8	30±1
1335 M-ADG	*Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*	6,6–6,8	30±1
1557 M-A	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	6,6–6,8	30±1
2325 M-A	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	6,6–6,8	30±1
970 M-AD	*Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*	6,6–6,8	30±1
17 M-AD	*Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*	6,6–6,8	30±1
Термофильные стрептококки			
439 ST-A	*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*	6,6–6,8	42±1
438 ST-A	*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*	6,6–6,8	42±1
613 ST-AV	*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*	6,6–6,8	42±1
1134 ST-AV	*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*	6,6–6,8	42±1

Определение протеолитической активности молочнокислых бактерий (согласно модифицированной методике [4]). Готовили 10% раствор сухого обезжиренного молока (СОМ) в дистиллированной воде; для отделения нерастворимого осадка полученный раствор центрифугировали при 4 g в течение 20 мин; отделяли супернатант и пастеризовали его при 85°С в течение 15 мин. МКБ культивировали в пастеризованном 10% растворе СОМ

в течение 18 ч при оптимальной температуре (таблица 1) и оценивали полученный сгусток (1-я перевивка); далее ферментированным СОМ, полученным на стадии 1-й перевивки, инокулировали очередную порцию пастеризованного молока (2-я перевивка), выдерживали в течение 24 ч; образцы хранили при 8°С. Для получение бактериальной суспензии образцы ферментированного СОМ смешивали с фосфатно-цитратным буфером (рН 7,0) в соотношении 2 : 3, центрифугировали при 6 g, 10 мин – 1-й цикл. Осадок ресуспендировали в фосфатном буфере, центрифугировали при 8 g, 20 мин – 2-й и 3-й циклы. Отобрали супернатант до конечного объема осадка 1,5 мл и измерили $ОП_{600}$ полученной бактериальной суспензии. С целью приготовления реакционной смеси 0,5 мл бактериальной суспензии смешивали с 0,5 мл фосфатно-цитратного буфера рН 5,5 и рН 6,5. В качестве субстрата использовали 0,5% раствор СОМ («Fluka», Швейцария) в фосфатно-цитратном буфере (рН 5,5/6,5).

Контрольная проба: 150 мкл субстрата смешивали с 150 мкл бактериальной суспензии и немедленно отбирали 50 мкл образца для ДСН-электрофореза. Для инактивации протеаз в 250 мкл смеси вносили 500 мкл 12% ТХУ и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре; центрифугировали при 13 g, 5 мин.

Опытные образцы: 150 мкл субстрата смешивали с 150 мкл бактериальной суспензии, инкубировали при оптимальной температуре (таблица 1) в течение 24 ч, отбирали 50 мкл для электрофоретического анализа; далее вносили 12% ТХУ и готовили аналогично контрольным образцам.

Определение протеолитической активности МКБ спектрофотометрическим методом. Полученные супернатанты опытных и контрольных образцов (после осаждения белка 12% ТХУ) оставляли для последующего определения ПА методом M. Kunitz (1946) [6] согласно описанию [4]. Принцип метода заключается в измерении количества неосаждаемых трихлоруксусной кислотой продуктов бактериального протеолиза. Расчет ПА в ед. Kunitz производили исходя из стандартной батериальной суспензии с $ОП_{600}$=1,0.

Контроль степени протеолиза ферментированных белков молока осуществляли согласно модифицированной методике (P. Kabadjova-Hristova et al., 2006), предполагающей использование ДСН-электрофоретического анализа в полиакриламидном геле [16].

Приготовление контрольных и опытных образцов ферментированного обезжиренного молока для нанесения на полиакриламидный гель: 50 мкл образца (реакционной смеси) немедленно ресуспендировали в 50 мкл буфера разделяющего геля, вносили 50 мкл диссоциирующей смеси и инкубировали на кипящей водяной бане, 10 мин; вносили 50 мкл раствора для окрашивания; полученные образцы наносили на гель и осуществляли электрофоретическое разделение белковой смеси [16].

Количественную оценку электрофорезов проводили с помощью системы гель-документации Image Master VDS–SL и программного обеспечения ImageMaster ID Software version 4.20 (Amersham Bioscience, США). В качестве единицы протеолитической активности (ПА) принято относительное изменение интенсивности окрашивания белковых полос (в отн. ед.), соответствующих на ДСН-электрофореграмме общему казеину или α-, β- и к-казеинам, в результате ферментации субстрата бактериальной суспензией со значением $ОП_{600}$=1,0.

Результаты и их обсуждение

Изучены особенности ферментации белков молока (казеиновой и сывороточной фракций) мезофильными лактококками и термофильными стрептококами. В качестве объекта исследований использовали молочнокислые бактерии, перечень которых представлен в таблице 1.

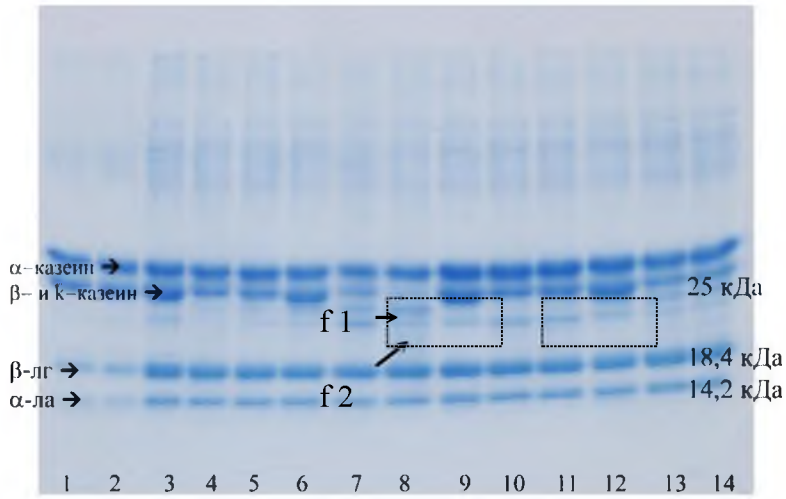
Протеолитическую активность анализировали при pH 5,5 и pH 6,5 в связи с тем, что значение активной кислотности исходного восстановленного СОМ составляет 6,5–6,6 ед. и оптимальные условия культивирования показаны при pH 6,6–6,8 (таблица 1), тогда как при ферментации молока значение активной кислотности понижается до ≤pH 5,5.

Осуществлен сравнительный анализ продуктов протеолиза белков молока ферментными системами представителей группы мезофильных лактококков: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (далее *Lc. lactis*) 1031 M-A, *Lc. lactis* 2344 M-A, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* (далее *Lc. diacetylactis*) 1940 M-ADf, *Lc. diacetylactis* 2071 M-ADf. В результате 2-х перевивок в пастеризованном обезжиренном молоке образовались плотные сгустки. Полученные бактериальные суспензии инкубировали с СОМ (2,5 мг/мл) при 30°C. На рисунке 1 представлена электрофореграмма продуктов микробного протеолиза. Очевидно, что большее количество субстрата расщепляется протеолитической системой *Lc. lactis* 2344 M-A при pH реакционной смеси 6,5. Для *Lc. lactis* 1031 M-A, *Lc. diacetylactis* 1940 M-ADf и 2071 M-ADf влияние активной кислотности на количество расщепленных α-, β- и к-казеина не установлено. В пептидном профиле СОМ, ферментированного *Lc. diacetylactis* 1940 M-ADf, выявлен 1 промежуточный продукт протеолиза f 2 (рисунок 1, дорожки 9–11), тогда как при использовании *Lc. lactis* 2344 M-A и *Lc. diacetylactis* 2071 M-ADf обнаруживаются 2 крупных пептида (f 1 и f 2) с аналогичной молекулярной массой и другие минорные компоненты (рисунок 1, дорожки 6–8 и 12–14). Это обусловлено сходными продуктами расщепления к- и β-казеинов, которые преимущественно подвергаются гидролизу. Кроме того, количество нативных сывороточных белков при ферментации СОМ не изменяется.

Определена протеолитическая активность мезофильных лактококков: *Lc. lactis* 981 M-A, *Lc. lactis* 100 M-A, *Lc. diacetylactis* 947 M-ADG и *Lc. diacetylactis* 1335 M-ADG. Все перечисленные штаммы обладали высокой

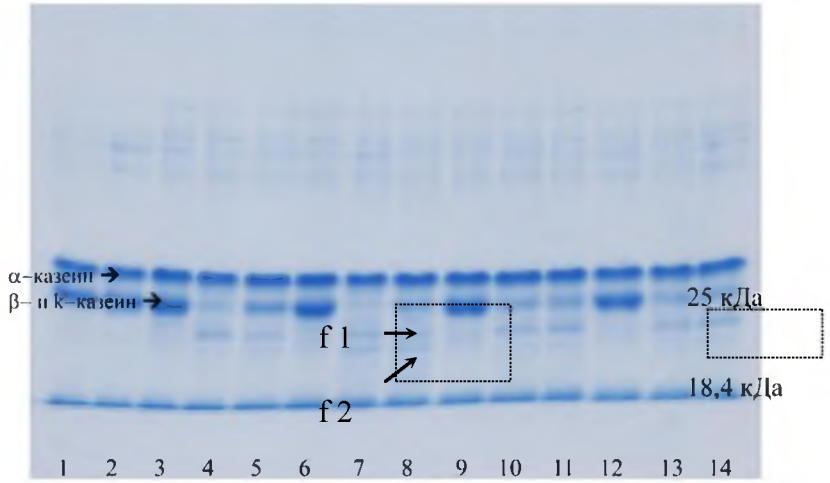
сквашивающей активностью, что сопровождалось образованием сгустков плотной консистенции.

Бактериальную суспензию использовали для определения ПА, что предусматривало применение ДСН-электрофореза (рисунок 1).



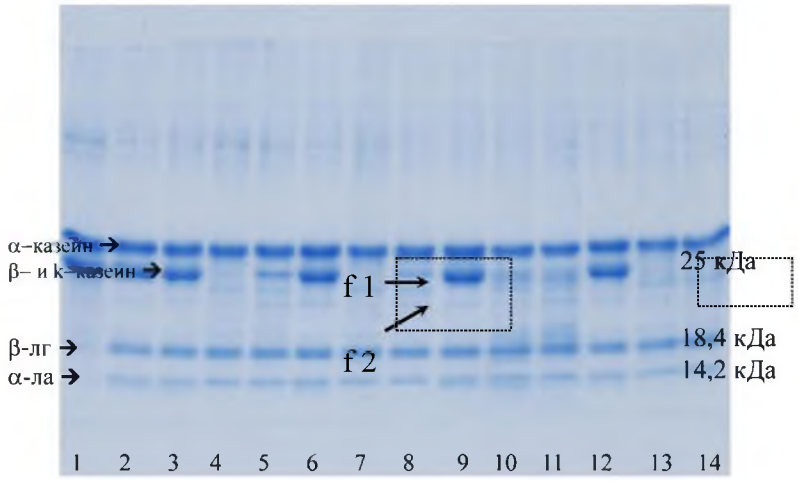
1 – контроль СОМ (2,5 мг/мл), pH 5,5, 2 – контроль СОМ (2,5 мг/мл), pH 6,5; 3 – *Lc. lactis* 1031 M-A (контроль, суспензия), 4 – продукты протеолиза при pH 5,5, 5 – при pH 6,5; 6 – *Lc. lactis* 2344 M-A (контроль, суспензия), 7 – продукты протеолиза при pH 5,5, 8 – при pH 6,5;
9 – *Lc. diacetylactis* 1940 M-ADf (контроль, суспензия), 10 – продукты протеолиза при pH 5,5,
11 – при pH 6,5; 12 – *Lc. diacetylactis* 2071 M-ADf (контроль, суспензия), 13 – продукты протеолиза при pH 5,5, 14 – при pH 6,5
Рисунок 1 – ДСН-электрофореграмма (12% ПААГ) образцов СОМ, ферментированного *Lc. lactis* 1031 M-A и 2344 M-A, *Lc. diacetylactis* 1940 M-ADf и 2071 M-ADf

В пептидном профиле СОМ, подвергнутого ферментации *Lc. lactis* 100 M-A, установлено наличие двух крупных пептидов (f 1 и f 2) (рисунок 2, дорожки 6–8), тогда как в случае *Lc. lactis* 981 M-A, *Lc. diacetylactis* 947 M-ADG и *Lc. diacetylactis* 1335 M-ADG обнаружен фрагмент f 1 и следовые количества f 2 (рисунок 2, дорожки 3–5 и 9–14). Это, вероятно, указывает как на сходную сайт-специфичность бактериальных эндопептидаз (1), так и различную глубину гидролиза белковых субстратов: к- и β-казеинов (2); α-казеин практически не расщепляется. В целом, для исследованных штаммов характерны аналогичные продукты протеолиза с молекулярной массой (mr) 18,4 кДа<mr<25 кДа. Для *Lc. lactis* 1031 M-A и *Lc. lactis* 2344 M-A очевидно возрастание количества гидролизованной казеиновой фракции при pH 5,5; в то же время для *Lc. diacetylactis* 1940 M-ADf и *Lc. diacetylactis* 2071 M-ADf влияние активной кислотности среды на глубину протеолиза белковых субстратов не установлено.



1 – контроль СОМ (2,5 мг/мл), pH 5,5, 2 – контроль СОМ (2,5 мг/мл), pH 6,5; 3 – *Lc. lactis* 981 M-A (контроль, суспензия), 4 – продукты протеолиза при pH 5,5, 5 – при pH 6,5; 6 – *Lc. lactis* 100 M-A (контроль, суспензия), 7 – продукты протеолиза при pH 5,5, 8 – при pH 6,5; 9 – *Lc. diacetylactis* 947 M-ADG (контроль, суспензия), 10 – продукты протеолиза при pH 5,5, 11 – при pH 6,5;
12 – *Lc. diacetylactis* 1335 M-ADG (контроль, суспензия),
13 – продукты протеолиза при pH 5,5, 14 – при pH 6,5
Рисунок 2 – ДСН-электрофореграмма (9% ПААГ) образцов СОМ, ферментированного *Lc. lactis* 981 M-A, *Lc. lactis* 100 M-A, *Lc. diacetylactis* 947 M-ADG и *Lc. diacetylactis* 1335 M-ADG

Изучены особенности ферментации белков молока представителями группы мезофильных лактококков: *Lc. lactis* 1557 M-A, *Lc. lactis* 2325 M-A, *Lc. diacetylactis* 17 M-AD и *Lc. diacetylactis* 970 M-AD. Для всех исследуемых штаммов после 2-х перевивок показано образование плотных сгустков. В СОМ, ферментированном *Lc. lactis* 1557 M-A, *Lc. lactis* 2325 M-A и *Lc. diacetylactis* 970 M-AD, выявлены аналогичные продукты микробного протеолиза (f 1 и f 2) (рисунок 3, дорожки 3–8 и 12–14). В то же время в пептидном профиле образца, полученного с применением *Lc. diacetylactis* 17 M-AD, показаны многочисленные промежуточные пептиды (рисунок 3, дорожки 9–11). Так сходный состав белков и пептидов характерен для СОМ, ферментированного *Lc. lactis* 1557 M-A и *Lc. lactis* 2325 M-A, тогда как для представителей другой группы – *Lc. diacetylactis* 17 M-AD и *Lc. diacetylactis* 970 M-AD – обнаружены существенные отличия в сайтах расщепления казеинов. Согласно данным ДСН-электрофоретического анализа, α-казеин гидролизуется значительно медленнее, чем β- и к-казеин, а микробные протеазы практически не реагируют с сывороточными белками. Бóльшая протеолитическая активность наблюдается при pH 5,5 при инкубации СОМ с *Lc. lactis* 1557 M-A; для *Lc. diacetylactis* 17 M-AD, *Lc. diacetylactis* 970 M-AD и *Lc. lactis* 2325 M-A значение активной кислотности среды (pH 5,5 и pH 6,5) не влияет на эффективность расщепления белков молока.

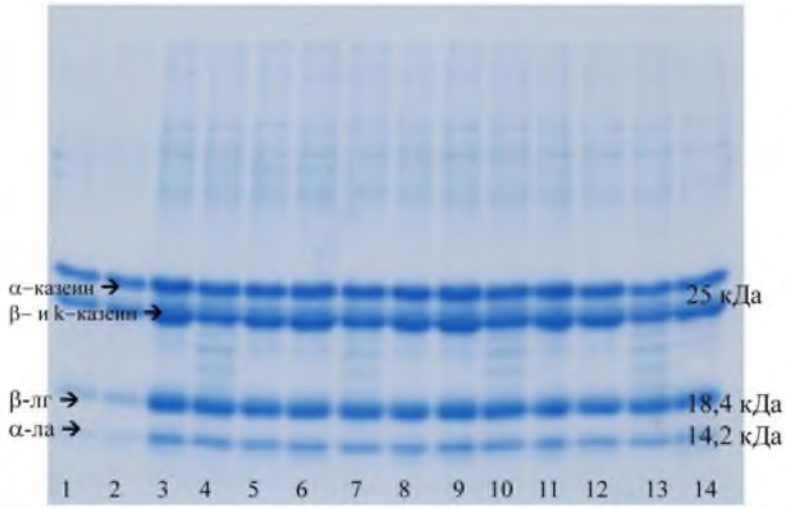


1 – контроль (смесь α-, β- и к-казеинов), 2 – контроль СОМ (2,5 мг/мл); 3 – *Lc. lactis* 1557 М-А (контроль, суспензия), 4 – продукты протеолиза при pH 5,5, 5 – при pH 6,5; 6 – *Lc. lactis* 2325 М-А (контроль, суспензия), 7 – продукты протеолиза при pH 5,5, 8 – при pH 6,5;
9 – *Lc. diacetylactis* 17 М-AD (контроль, суспензия), 10 – продукты протеолиза при pH 5,5,
11 – при pH 6,5; 12 – *Lc. diacetylactis* 970 М-AD (контроль, суспензия),
13 – продукты протеолиза при pH 5,5, 14 –при pH 6,5

Рисунок 3 – ДСН-электрофореграмма (9% ПААГ) образцов СОМ, ферментированных *Lc. lactis* 1557 М-А и 2325 М-А, *Lc. diacetylactis* 17 М-AD и 970 М-AD

Определена протеолитическая активность термофильных МКБ: *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* 439 ST-A, *Str. thermophilus* 438 ST-A, *Str. thermophilus* 613 ST-AV и *Str. thermophilus* 1134 ST-AV. Образование плотных сгустков при сквашивании СОМ (1–2-я перевивки) показано для всех перечисленных штаммов *Str. thermophilus.* Продукты ферментации СОМ термофильными МКБ отражены на рисунке 4. Гидролиз преимущественно проходил при pH 5,5, о чем также свидетельствовало образование промежуточных пептидов (рисунок 4, дорожки 4, 7, 10 и 13). Установлено, что протеолитические системы исследованных *Str. thermophilus* гидролизуют β- и к-казеин предпочтительнее, чем α-казеин; основные сывороточные белки: β-лактоглобулин и α-лактальбумин не используются в качестве источника белкового азота.

Согласно полученным экспериментальным данным исследованные штаммы разделены на группы в соответствии с уровнем протеолитической активности, оптимумом pH, субстратной специфичностью (таблица 2). К группе с минимальной ПА (0–0,5 отн. ед.) отнесены термофильные МКБ: *Str. thermophilus* 439 ST-A, *Str. thermophilus* 438 ST-A, *Str. thermophilus* 613 ST-AV, *Str. thermophilus* 1134 ST-AV. Для большинства мезофильных лактококков (11 из12 штаммов) значение ПА установлено в диапазоне 0,5–1,0 отн. ед.



1 – контроль СОМ (2,5 мг/мл), pH 5,5, 2 – контроль СОМ (2,5 мг/мл), pH 6,5;
3 – *Str. thermophilus* 439 ST-A (контроль, суспензия), 4 – продукты протеолиза при pH 5,5, 5 – при pH 6,5;
6 – *Str. thermophilus* 438 ST-A (контроль, суспензия), 7 – продукты протеолиза при pH 5,5,
8 – при pH 6,5; 9 – *Str. thermophilus* 613 ST-AV (контроль, суспензия), 10 – продукты протеолиза при pH 5,5, 11 – при pH 6,5; 12 – *Str. thermophilus* 1134 ST-AV (контроль, суспензия),
13 – продукты протеолиза при pH 5,5, 14 – при pH 6,5

Рисунок 4 – ДСН-электрофореграмма (12% ПААГ) образцов СОМ, ферментированного *Str. thermophilus* 439 ST-A, 438 ST-A, 613 ST-AV и 1134 ST-AV

Из них наиболее активными являются *Lc. lactic* 2344 M-A, *Lc. lactis* 2325 M-A и *Lc. diacetylactis* 970 M-AD (ПА достигает 0,83–1,02 отн. ед.). Так как исследованные мезофильные лактококки с низкой эффективностью гидролизуют α-казеин, они не могут быть отнесены к группе МКБ с высокой протеолитической активностью. В то же время по данным спектрофотометрических исследований у 9 из12 штаммов мезофильных лактококков значение ПА составило 20–40 ед. Kunitz (таблица 2).

Для представителей термофильных МКБ: *Str. thermophilus* 439 ST-A, *Str. thermophilus* 438 ST-A, *Str. thermophilus* 613 ST-AV, *Str. thermophilus* 1134 ST-AV – максимальное количество расщепленных белковых субстратов установлено при pH 5,5. Мезофильные лактококки *Lc. lactis* (3 из 6 штаммов) эффективнее гидролизуют казеиновую фракцию белков молока при значении pH реакционной смеси 5,5. Для всех штаммов *Lc. diacetylactis* не выявлено изменение ПА при исследуемых значениях активной кислотности (pH 5,5 и 6,5) (таблица 2). Отличия в уровне ПА и при различных показателях pH могут быть обусловлены образованием крупных промежуточных продуктов протеолиза (рисунок 1–3), видимых на ДСН-электрофореграмме, но осаждаемых трихлоруксусной кислотой, что приводит к заниженным значениям ПА при использовании спектрофотометрического метода.

Таблица 2 – Характеристика *Lactococcus* spp. и *Streptococcus* spp. согласно уровню протеолитической активности, оптимума pH, субстратной специфичности

Группы МКБ		Перечень МКБ
Уровень протеолитической активности, ПА	низкий 0–0,5 отн. ед. 0–20 ед. Kunitz	*Lc. diacetylactis* 1940 M-ADf*, *Str. thermophilus* 439 ST-A, *Str. thermophilus* 438 ST-A, *Str. thermophilus* 613 ST-AV, *Str. thermophilus* 1134 ST-AV
	средний 0,5–1,0 отн. ед. 20–40 ед. Kunitz	*Lc. lactis* 1031 M-A, *Lc. lactic* 2344 M-A**, *Lc. lactis* 981 M-A**, *Lc. lactis* 100 M-A**, *Lc. lactis* 1557 M-A, *Lc. lactis* 2325 M-A, *Lc. diacetylactis* 2071 M-ADf, *Lc. diacetylactis* 947 M-ADG, *Lc. diacetylactis* 1335 M-ADG, *Lc. diacetylactis* 17 M-AD, *Lc. diacetylactis* 970 M-AD
Предпочтительное значение pH	pH 5,5	*Lc. lactis* 981 M-A, *Lc. lactis* 100 M-A, *Lc. lactis* 1557 M-A, *Str. thermophilus* 439 ST-A, *Str. thermophilus* 438 ST-A, *Str. thermophilus* 613 ST-AV, *Str. thermophilus* 1134 ST-AV
	pH 6,5	*Lc. lactic* 2344 M-A
	не влияет	*Lc. lactis* 2325 M-A***, *Lc. lactis* 1031 M-A, *Lc. diacetylactis* 1940 M-ADf, *Lc. diacetylactis* 2071 M-ADf, *Lc. diacetylactis* 1335 M-ADG, *Lc. diacetylactis* 17 M-AD, *Lc. diacetylactis* 970 M-AD, *Lc. diacetylactis* 947 M-ADG
Субстратная специфичность	α-казеин	–
	β- и к-казеин	*Lc. lactis* 1031 M-A, *Lc. lactis* 981 M-A, *Lc. lactis* 100 M-A, *Lc. lactis* 1557 M-A, *Lc. lactis* 2325 M-A, *Lc. lactic* 2344 M-A, *Lc. diacetylactis* 1940 M-ADf, *Lc. diacetylactis* 2071 M-ADf, *Lc. diacetylactis* 1335 M-ADG, *Lc. diacetylactis* 17 M-AD, *Lc. diacetylactis* 970 M-AD, *Lc. diacetylactis* 947 M-ADG, *Str. thermophilus* 439 ST-A, *Str. thermophilus* 438 ST-A, *Str. thermophilus* 613 ST-AV, *Str. thermophilus* 1134 ST-AV

Примечания: * – по данным спектрофотометрических исследований штамм отнесен к группе со средним и ** – низким уровнем ПА; *** – оптимум pH 5,5.

Среди исследованной выборки мезофильных лактококков и термофильных стрептококков бóльшая часть преимущественно гидролизует β- и к-казеин, тогда как α-казеин практически не используется в качестве субстрата или расщепляется менее эффективно. Кроме того, анализ ДСН-электрофореграмм позволил установить, что микробные протеазы не гидролизуют основные сывороточные белки (β-лактоглобулин и α-лактальбумин).

Заключение

Охарактеризована протеолитическая активность представителей различных групп молочнокислых бактерий (*Lactococcus* spp. и *Streptococcus* spp.) на основании ДСН-электрофоретического анализа при

сопоставлении с результатами спектрофотометрических исследований. Данные, полученные спектрофотометрическим и электрофоретическим методами, в совокупности позволяют наиболее полно оценить как уровень ПА и влияние на него активной кислотности среды (по количеству неосаждаемых продуктов ферментативной реакции), так и качественный и количественный состав отдельных фракций (согласно белковым и пептидным профилям ДСН-электрофореграмм).

Результаты научно-исследовательской работы в дальнейшем позволят планировать компонентный состав ферментированных молочных продуктов на основе знаний об уровне ПА используемых МКБ, оптимальных значений каталитической активности микробных протеиназ, особенностей гидролиза белков казеиновой и сывороточной фракций с целью получения источника молочного белка с приемлемыми органолептическими свойствами и физико-химическими показателями.

Список литературы:

1 Axelsson, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology / L. Axelsson // In: Salminen S, von Wright A (eds) Lactic acid bacteria. Microbiology and functional aspects. Marcel Dekker, New York – 1998. – P. 1–72.

2 Christensen, J.E. Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria / J.E. Christensen [et al.] // Antonie Van Leeuwenhoek. – 1999. – Vol. 76. – P. 217–246.

3 Hammes, W.P. Lactic acid bacteria in meat fermentation / W.P. Hammes, A. Bantleon, S. Min // FEMS Microbiol Rev. – 1990. – Vol. 87. – P. 165–174.

4 Kabadjova-Hristova, P. Evidence for proteolytic activity of lactobacilli isolated from kefir grains // P. Kabadjova-Hristova, S. Bakalova, B. Gocheva, P. Moncheva // Biotechnol. Equip. - 2006. – Vol. 20. – P. 89–94.

5 Korhonen, H. Food-derived bioactive peptides - opportunities for designing future foods / H. Korhonen, A.M. Pihlanto // Curr Pharm Des. – 2003. – Vol. 9 – № 16. – P. 1227–1230.

6 Kunitz, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties / M. Kunitz // J. Gen. Physiol. - 1946. – Vol. 30. – P. 291–310.

7 Kunji, E.R.S. The proteolytic systems of lactic acid bacteria / E.R.S. Kunji [et al.] // Antonie Van Leeuwenhoek. – 1996. – Vol. 70. – P. 187–221.

8 Leroy, F. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry / F. Leroy, L. Devuyst // Trends Food Sci Technol. – 2004. – Vol. 15. – P. 67–78.

9 Meisel, H. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho-functional properties / H. Meisel, W. Bockelman // Antonie Van Leeuwenhoek. – 1999. – Vol. 76. – P. 207–215.

10 Peterson, S.D. Nonstarter lactobacilli in Cheddar cheese: a review / S.D. Peterson, R.T. Marshall // J. Dairy Sci. – 1990. – Vol. 73. – P. 1395–1410.

11 Saxelin, M. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms / M. Saxelin, S. Tynkkynen, T. Mattila-Sandholm, de W. Vos // Curr Opin Biotechnol. – 2005. – Vol. 16. – P. 204–211.
12 Spicher, G. Proteolytic activity of sourdough bacteria / G. Spicher, W. Nierle // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1988. – Vol. 28. – P. 487–492.
13 Visser, S. Comparative study of action of cell wall proteinases from various strains of *Streptococcus cremoris* on bovine α_{s1}-, β- and κ-casein / S. Visser [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1986. – Vol. 52. – P. 1162–1166.
14 Visser, S. Specificity of a cell-envelope-located proteinase (PIII-type) from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AMI in its action on bovine β-casein / S. Visser, AJ.P.M. Robben, C.J. Slangen // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1991. – Vol. 35. – P. 477–483.
15 Zourari, A. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review / A. Zourari, J.P. Accolas, M.J. Desmazeaud // Lait. – 1992. – Vol. 72. – P. 1–34.
Остерман, Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие) / Л.А. Остерман. – М.: Наука; 1981. – С. 56–65.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПИЩЕВОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ЛАКТОЗЫ

Евдокимов И.А., Анисимов Г.С., Шрамко М.И.
Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь,
ievdokimov@ncfu.ru

Проведен анализ мировой патентной ситуации в области получения лактозы, методов очистки сырья, кристаллизации и сушки. Выявлено стабильное развитие производства лактозы в мире, что подтверждает мировой рынок. Показана возможность получения аморфно-кристаллической формы лактозы из «идеального сырья» – пермеата обезжиренного молока.

Лактоза широко используется в пищевой промышленности: сухие смеси для детского питания, кондитерские изделия, приправы, заправки для салатов, хлебопечение, джемы, мармелады, напитки, мясопродукты, а также в фармацевтической промышленности: наполнитель таблеток, спреи, антибиотики, гомеопатические препараты и др. В нашей стране нет собственного производства фармакопейной, рафинированной и пищевой лактозы, мы импортируем лактозу фармацевтическую и пищевую из-за рубежа [2]. Востребованность лактозы на внутреннем и мировом рынках, а также имеющиеся ресурсы вторичного молочного сырья в России, дают возможность организовать производство этого продукта пищевого и фармакопейного качества в нашей стране.