

ГИДРОЛИЗОВАННЫЙ БЕЛКОВЫЙ КОМПОНЕНТ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Т.Н. Головач, аспирант

Научный руководитель – В.П. Курченко, к.б.н.

Институт мясо-молочной промышленности

Белорусский государственный университет

В качестве азотистой основы питательных сред для культивирования молочнокислых микроорганизмов используют гидролизованный белковый компонент [1, с. 86–88]. Технология его получения должна обеспечивать оптимальный состав пептидной и аминокислотной фракций, необходимый для роста и развития бактерий [2, с. 179–206]. В Республике Беларусь в промышленных условиях гидролизаты белков молока для питательных сред не изготавливаются. Новизна данного исследования состоит в разработке научно обоснованного подхода к созданию микробиологических питательных сред на основе гидролизованного белкового компонента, в получении новых данных о закономерностях ферментативного гидролиза казеиновой и сывороточной фракций молока, специфических потребностях в белковом компоненте различных групп молочнокислых бактерий.

Цель работы – разработка технологии получения ферментативных гидролизатов белков молока для микробиологических питательных сред.

Объектами исследования являются гидролизованный белковый компонент, протеолитические ферменты, казеиновая и сывороточная фракции молока, молочнокислые бактерии.

Для изготовления ферментативных гидролизатов использовали сухое обезжиренное молоко (СОМ) по СТБ 1858. Протеолиз проводили с применением трипсина, щелочной и нейтральной бактериальных эндопептидаз и комплексного препарата, содержащего грибные эндо- и экзопептидазы (далее экзопептидазы). Измерение α -аминного азота осуществляли методом формолового титрования, анализ белкового и пептидного профиля - методом ДСН-электрофореза. В работе использовали штаммы молочнокислых бактерий: *Lactococcus lactis* sbsp. *lactic* 1382, 19/1, 120/2 и 16/1; *Lc. lactis* sbsp. *diacetylactis* d 2461, 87/4 и d 57; *Lc. plantarum* 30/1; *Lactobacillus casei* 5/1 и 1196 M-OFR; *Lb. helveticus* 1191 TL-A; *Lb. acidophilus* 35/2; *Streptococcus salivarius* subsp.

thermophilus 5, 99/1 и 1104 ST-AV. Подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл среды и статистическую обработку проводили по СТБ ГОСТ Р 51446–2001 (ИСО 7218–96).

В рамках научно-исследовательской работы представлен обзор отечественных и зарубежных патентов и публикаций в области получения гидролизованного белкового компонента для микробиологических питательных сред. Установлено, что основными требованиями к источнику белкового азота являются: 1) глубокий гидролиз молочного сырья, обеспечивающий высокое содержание α -аминного азота; 2) преобладание в гидролизате короткоцепочечных пептидов и аминокислот; 3) оптимальный режим стерилизации, т.к. продолжительное высокотемпературное нагревание продуктов протеолиза приводит к их термоденатурации, химической модификации аминокислотных остатков - и впоследствии уменьшению биодоступности белковых гидролизатов.

В качестве молочного сырья для изготовления гидролизованного белкового компонента определено сухое обезжиренное молоко (СОМ), соответствующее естественным потребностям молочнокислых бактерий в питательных компонентах; для гидролиза подобраны ферменты с экзо- и эндопептидазной активностью животного, бактериального и грибного происхождения.

Изучена субстратная специфичность указанных протеаз по отношению к казеиновой и сывороточной фракциям молока. Согласно результатам ДСН-электрофоретического анализа, показано активное расщепление казеина эндопептидазами животного и бактериального происхождения. Выявлено, что щелочная бактериальная эндопептидаза и трипсин гидролизуют сывороточную фракцию молока эффективнее, чем нейтральная бактериальная эндопептидаза. Субстратная специфичность эндопептидаз в ходе ферментативной реакции убывала в ряду казеин – β -лактоглобулин – α -лактальбумин. На основании экспериментальных данных и информации о протеолитической активности, представленной производителями ферментных препаратов, определено оптимальное соотношение фермент/субстрат. Для всех белковых компонентов молока показана чувствительность к протеолизу грибной аминокептидазой, входящей в состав ферментного препарата новозим; его использование целесообразно в комплексе с другими эндопептидазами для увеличения выхода α -аминного азота.

Получены данные о закономерностях протеолиза белков молока, накоплении α -аминного азота в гидролизатах в зависимости от продолжительности ферментативного процесса. Установлено, что наибольшей степенью протеолиза казеиновой и сывороточной фракций характеризуются гидролизаты СОМ щелочной бактериальной эндопептидазой, тогда как в образцах, обработанных нейтральной бактериальной эндопептидазой и трипсином, показано частичное расщепление сывороточных белков. Предварительная тепловая обработка СОМ в оптимальных условиях обусловила возрастание степени протеолиза сывороточной фракции нейтральной бактериальной эндопептидазой за счет экспонирования дополнительных сайтов гидролиза, ранее скрытых в белковых молекулах.

С целью установления потребностей молочнокислых бактерий в источнике белкового азота получены образцы питательных сред № 1-3: образец № 1 изготовлен на основе гидролизата СОМ с применением нейтральной бактериальной эндопептидазы при фермент/субстратном соотношении (3%); образец № 2 представлен СОМ, гидролизованным при совместном использовании нейтральной бактериальной эндопептидазы (3%) и экзопептидазы (3%); образец № 3 содержал гидролизат СОМ выше указанной эндопептидазой (10%). Количество α -аминного азота в образцах № 1 и 3 составило 55-56 мг%, № 2 – 69-71 мг%. Так в гидролизате СОМ № 2 в сравнении с контролем (№ 1) за счет внесения фермента с экзопептидазной активностью увеличился выход свободных аминокислот и короткоцепочечных пептидов. Различия между образцами № 1 и № 3 обусловлены возрастанием глубины протеолиза белковых субстратов с увеличением дозы внесения фермента – 10%. Это связано, главным образом, с дальнейшим расщеплением сывороточной фракции, возрастанием количества короткоцепочечных пептидов, тогда как содержание α -аминного азота практически не изменяется.

Исследованы особенности накопления бактериальной биомассы различных групп молочнокислых бактерий при ферментации гидролизованного СОМ (образцы № 1-3) путем регистрации изменения активной кислотности среды, оптической плотности ($OP_{\lambda 540}$) и подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл среды. Согласно экспериментальным данным для представителей группы мезофильных лактобацилл (*Lb. plantarum* 30/1 и *Lb. casei* 5/1), мезофильных лактококков (*Lc. lactis* 1382 и *Lc. diacetylactis* d 2461) и комбинации мезофильных лактококков и термофильных молочнокислых стрептококков (*Lc. lactis* 19/1, 120/2 и 16/1; *Lc. diacetylactis* 87/4 и d 57 и *Str. thermophilus* 99/1) в качестве гидролизованного белкового компонента питательных сред, рекомендованы образцы № 2 и 3, полученные с использованием комбинации ферментов и нейтраль-

ной бактериальной эндопептидазы (10%), соответственно. В то же время при накоплении бактериальной биомассы *Lb. acidophilus* 35/2 и *Str. thermophilus* 5 наиболее предпочтительной является питательная среда № 2, обогащенная аминокислотами и короткоцепочечными пептидами.

Разработаны методические указания по изготовлению ферментативных гидролизатов белков молока для микробиологических питательных сред. Проведены контрольные выработки бактериальных концентратов различных видов на питательных средах, изготовленных по разработанным методическим указаниям, в промышленных условиях. Установлено, что полученные гидролизаты белков молока обеспечивают в процессе культивирования высокое содержание жизнеспособных клеток микроорганизмов в культуральной жидкости. Согласно результатам испытаний концентрат бактериальный сухой термофильного стрептококка *Str. thermophilus* 1104 ST-AV, концентрат бактериальный сухой «Пробилакт-7» (*Lb. helveticus* 1191 TL-A), концентрат моновидовой бактериальный сухой мезофильных лактобацилл *Lb. casei* 1196 M-OFR соответствуют требованиям ТНПА по показателям качества и безопасности. В связи с этим методические указания по изготовлению ферментативных гидролизатов белков молока для питательных сред могут быть применены для проведения гидролиза при получении сухих концентратов молочнокислых бактерий.

Экономический эффект от реализации научно-исследовательской работы заключается в повышении эффективности культивирования молочнокислых бактерий в питательных средах на основе гидролизатов белков молока и получении высококачественных бактериальных концентратов.

Список использованных источников

1. Frokjaer, S. Use of Hydrolysates for Protein Supplementation / S. Frokjaer // Food Technol. – 1994. – Vol. 48. – P. 86–88.
2. Pritchard, G. The physiology and biochemistry of the proteolytic system in lactic acid bacteria / G. Pritchard, T. Coolbear // FEMS Microbiol. Rev. – 1993. – Vol. 12. – P. 179–206.