

Зависимость относительной биологической ценности кисломолочных напитков от вида заквасочных микроорганизмов

Заслуженный работник пищевой индустрии РФ,
д-р техн. наук **З.С.ЗОБКОВА**
ВНИИ молочной промышленности

Биологическая ценность белков характеризуется их аминокислотным составом при условии достаточно высоких скоростей переваривания пищеварительными ферментами, усвояемости компонентов и их биоактивности, т.е. способности стимулировать процессы внутреннего обмена веществ, секреторной деятельности. Биологическая доступность белка и степень его усвоения зависят от многих факторов, в частности от природы белка и его структуры. Изменение биохимической структуры белка повышает доступность компонентов действию пищеварительных ферментов.

В процессе сквашивания молока происходит ряд химических изменений в компонентах сырого матрикса, что приводит к получению продуктов с улучшенными питательными свойствами (Hargrove & Alford, 1978; Alm, 1981, и др.). Исследования *in vivo* на животных показали, что предварительный гидролиз основных компонентов молока гидролазами заквасочных микроорганизмов улучшает биодоступность определенных ключевых питательных веществ, делая их более усвояемыми [1]. При этом отмечалось, что усвояемость (коэффициент эффективности) белка кисломолочных продуктов, таких как йогурт, выше по сравнению с белками молока, казеином, а также подкисленного молока и ацидофильного продукта (H.Lee, etc., 1988; Vass A., etc., 1984).

N.P.Wong и др. изучали происхождение ростостимулирующего фактора на крысах с рационами из молока, йогурта, молока, ферментированного *Str. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*, и молока с суспензией клеток *Str. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*. Молоко, ферментированное *Str. thermophilus*, и молоко с внесенной культурой *Str. thermophilus* стимулировало рост животных так же эффективно, как и йогурт. Сделан вывод, что *Str. thermophilus* улучшал рост эксперименталь-

ных животных на рационе с йогуртом, который стимулировался внутриклеточным фактором молочнокислых бактерий, а не ферментативными изменениями в молоке [2].

Ферментированные молочные продукты содержат более высокий уровень свободных аминокислот и более усвояемую форму углеводов, чем молоко. Определенные виды молочнокислых микроорганизмов способны накапливать также некоторые витамины, например B₉, B₁₂ (Rasic et al., 1971; Breslaw & Kleyn, 1973; Alm, 1982; Laico, 2012; Saubade, etc., 2017, и др.). Кисломолочные продукты обладают более высокой антиоксидантной активностью, чем молоко, вследствие высвобождения при протеолизе белков (α -лактальбумина, β -лактоглобулина и α -казеина) под действием протеиназ, пептидаз и аминокептидаз микроорганизмов биологически активных пептидов, содержащих аминокислоты триптофан, тирозин и метионин. Протеолиз также снижает антигенность сывороточного белка [3, 4].

При этом значительное влияние на антиоксидантную активность ферментированного продукта оказывают тип закваски, штамм микроорганизмов, продолжительность культивирования и хранения [5].

Бактериальные клетки рассматриваются как биокатализаторы многих жизненно важных процессов в пищеварительных трактах и биофабрики, продуцирующие разнообразные ферменты и биологически активные вещества. Ферменты обеспечивают клетки низкомолекулярными продуктами распада компонентов питания, которые являются основными или дополнительными факторами роста, необходимыми для полноценного развития микроорганизмов, а также могут быть использованы макроорганизмом [6, 7]. Образующиеся в результате протеолиза белков пептиды и аминокислоты являются источником азота для молочнокислых микроорганизмов. Это обеспечивает рост бактерий и определяет биологическую активность ферментированных молочных продуктов. В настоящее время известно, что некоторые штаммы

Lb. helveticus, *Lb. rhamnosus*, *Lb. bulgaricus* и *Lc. lactis subsp. cremoris* продуцируют биологически активные пептиды [8], которые, как считается, способствуют улучшению здоровья.

Многие молочнокислые микроорганизмы, включая *Lactococcus*, *Lactobacillus* и *Streptococcus*, считаются слабопротеолитическими штаммами. Тем не менее протеолиз является одной из основных и наиболее сложных ферментативных реакций, происходящих в молочных продуктах.

Протеолитическая активность зависит от множества факторов: условий культивирования (температуры, продолжительности, кислотности, состава среды, наличия ингибиторов или стимуляторов и др.). Имеющиеся данные свидетельствуют о специфичности уровня и спектра секреторируемых гидролаз в зависимости от таксономической принадлежности микроорганизма. По данным А.Просекова и др. [9], протеолитическая активность различных видов молочнокислых микроорганизмов в целом уменьшается в ряду: *Propionibacterium subsp.* → *Lc. lactis subsp. cremoris* → *Lb. bulgaricus*, *Lb. acidophilus* → *Lb. casei* → *Lc. lactis* → *Str. thermophilus*. При этом сочетание более активных штаммов с менее активными способствует увеличению общей протеолитической активности.

Т.Н.Головач и др. проанализировали результаты электрофоретического деления белков субстратов молочнокислых микроорганизмов. К группе с минимальной протеолитической активностью (0–0,5 отн. ед.) отнесены термофильные молочнокислые бактерии (*Str. thermophilus*). Для большинства мезофильных лактококков (11 из 12 штаммов) значение протеолитической активности установлено в диапазоне 0,5–1,0 отн. ед. (средний уровень *Lc. lactis* и *Lc. diacetylactis*) [10, 11].

По данным О.Н.Донкор и др. (2006), протеолитическая активность, специфичная для штамма, возрастала в последовательности *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* (Lb 1466), *Str. thermophilus* (St 1342) и *Lb. acidophilus* (La 4952 и L10), *Bifidobacterium* и *Lb. casei* (Lc 278).

Образец	Состав закваски	Количество живых клеток (средне-арифметическое значение, n=4), ед.	Стандартное отклонение, σ	Средняя ошибка среднего	ОБЦ, %
1	<i>Str. thermophilus</i> (6кб)	5469	1743	872	76
2	<i>Str. thermophilus</i> , <i>Lb. bulgaricus</i>	6209	1111	556	86
3 (контроль)	<i>Lc. lactis</i>	7198	544	272	100
4	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> , <i>Acetobacter</i> subsp. <i>aceti</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>	6668	1138*	569	93

*Критерий максимального относительного отклонения $r_4=1,44 < r_{табл}(4, 0,05)=1,69$.

Л.Г.Акопян установлено, что на определенных этапах развития культуры наблюдается как нарастание количества азота полипептидов и аминокислот в результате гидролиза белков молока, так и снижение его количества, что свидетельствует о потреблении растущими культурами усвояемых азотистых соединений полипептидов и аминокислот. В процессе длительного хранения (от 21 дня до 2 мес) сквашенного молока при -10°C молочнокислые бактерии теряют способность сбраживать углеводы молока, но сохраняли протеолитическую активность.

Исходя из того факта, что молочнокислые бактерии обладают различными профилями биологической активности, ожидается, что выбор наиболее высокоактивных заквасок (штаммов) будет способствовать оптимальному синтезу полезных компонентов в молочной матрице и может быть основой при разработке кисломолочных продуктов, обладающих более высокой биологической ценностью.

Цель работы – установить зависимость относительной биологической ценности продукта от вида заквасочных микроорганизмов для разработки критериев оценки эффективности технологических параметров производства кисломолочных продуктов.

Исследовали кисломолочные продукты, изготовленные из нормализованного и стерилизованного молока, сквашенные заквасками, представленными Центральной лабораторией микробиологии НИМИ, предназначенными для производства простокваша – *Str. thermophilus* (образец 1); *Lc. lactis* (образец 3); кисломолочного продукта «Тонус» – *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Acetobacter* subsp. *aceti*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* (образец 4); йогурт – *Str. thermophilus*, *Lb. bulgaricus* (образец 2). Образцом для сравнения служила простокваша, приготовленная с использованием *Lc. lactis* (контроль).

Кисломолочные продукты выработаны резервуарным способом в соответствии с технологическими инструкциями. Нормализованные смеси сквашивали при уровне кислотности $\sim 85^{\circ}\text{T}$. Получен-

ный кисломолочный сгусток частично охлаждали до $25-30^{\circ}\text{C}$, перемешивали и направляли на доохлаждение ($\leq 18^{\circ}\text{C}$) в холодильную камеру до $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Сравнительные биологические исследования продукта выполняли методами биотестирования на тест-организмах *Tetrahymena pyriformis* в условиях ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» (ФГБУ ЦНМВЛ) согласно ГОСТ 31674–2012 с учетом методических рекомендаций [12]. Количество клеток в одной пробе подсчитывали 10 раз с помощью аналитического комплекса для подсчета «БиоЛат-3». Каждая проба исследовалась в трехкратной повторности с вычислением среднего результата. Относительную биологическую ценность (ОБЦ) определяли по отношению количества клеток, выросших на опытном продукте, к количеству инфузорий, выросших на контрольном продукте, выраженному в процентах.

Учитывая предшествующий опыт определения относительной биологической ценности с применением *Tetrahymena pyriformis*, тест-культуры культивировали в условиях оптимального содержания белка в питательной среде 0,15 мг азота/мл и соотношения массовой доли жира и белка 0,9. Полученные данные приведены в таблице.

Показатели ОБЦ кисломолочных напитков, сквашенных различными видами молочнокислых микроорганизмов, в целом соотносились с потенциальной протеолитической способностью заквасок. Интервал варьирования ОБЦ составил 24 %. Максимальная величина ОБЦ наблюдалась у образцов кисломолочных напитков, изготовленных с использованием лактококков, минимальная – образцов, сквашенных термофильными стрептококками.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Vass, A. Experimental study of the nutritional biological characters of fermented milks/ A.Vass, S.Szakály, P.Schmidt// Acta Med Hung. 1984. № 41(2–3). P. 157–161.
- Wong, N.P. Contribution of *Streptococcus thermophilus* to growth-stimulating effect of yogurt on rats/ N.P.Wong, F.E.McDonough,

A.D.Hitchins// J Dairy Sci. 1983. № 66(3). P. 444–453.

3. Кручинин, А.Г. Использование протеолиза белков молока при разработке молочных продуктов со сниженной аллергенностью/ А.Г.Кручинин, К.А.Рязанцева, Е.Ю.Агаркова// материалы Международной научно-практической конференции, посвященной памяти Василия Матвеевича Горбатова «Развитие биотехнологических и постгеномных технологий для оценки качества сельскохозяйственного сырья и создания продуктов здорового питания». – М.: Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М.Горбатова. 2015. №1. С. 289–291.

4. Харитонов, В.Д. К вопросу о перспективных направлениях борьбы с аллергией/ В.Д.Харитонов [и др.]// Техника и технология пищевых производств. 2012. Т. 27. № 4. С.3–6.

5. Melini, F. Health-Promoting Components in Fermented Foods: An Up-to-Date Systematic Review/ F.Melini [et al.]// Nutrients. 2019. № 11(5). P. 1189. <https://doi.org/10.3390/nu11051189>.

6. Самарцев, А.А. Биологическая активность микроорганизмов-пробиотиков/ А.А.Самарцев [и др.]// Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т. 42. № 2. С. 187–194.

7. Netherwood, T. Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract/ T.Netherwood [et al.]// Appl. Environ. Microbiol. 1999. V. 65. P. 5134–5138.

8. Gobbetti, M. Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing/ M.Gobbetti [et al.]// CRC Crit Rev Food Sci Nutr. 2002. V. 42. P. 223–239.

9. Prosekov, A. The proteolytic activity research of the lactic acid microorganisms of different taxonomic groups/ A. Prosekov [et al.]// World Applied Sciences Journal. 2013. V. 23 (10). P. 1284–1290. DOI: 10.5829/idosi.wasj.2013.23.10.13143.

10. Головач, Т.Н. Изучение особенностей ферментации белков молока (казеиновой и сывороточной (фракций) мезофильными и термофильными лактобациллами/ Т.Н.Головач [и др.]// Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья: сб. научн. тр. 2011. Вып. 6. – Минск: РУП «Институт мясо-молочной промышленности», 2012. С. 263–272.

11. Головач, Т.Н. Комплексное применение молочнокислых бактерий различных групп для получения ферментированного белкового компонента молока с заданными свойствами/ Т.Н.Головач [и др.]// Труды БГУ. 2012. Т. 7. Ч. 1. Биотехнология. С. 205–214.

12. Грязнева, Т.Н. Методы лабораторной диагностики микотоксикозов. Токсикологическая оценка кормов на наличие микотоксинов с использованием простейших в качестве тест-объектов: методические рекомендации/ Т.Н.Грязнева, Н.В.Шайкова. – М.: ФГОУ ВПО МГАВМиБ, 2009. – 31 с.