

## **ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА СКОРОСТЬ РОСТА ЛАКТОКОККОВ**

*Сотченко О.Г., Дудко Н.В., Кравченко Н.С., Сафроненко Л.В.*

Важным элементом при разработке технологии получения бактериальных концентратов является подбор питательной среды для культивирования молочнокислых микроорганизмов. Питательная среда должна удовлетворять потребности исследуемых культур в источниках энергии и веществах для конструктивного метаболизма, а также иметь невысокую стоимость исходных компонентов. Молочнокислые бактерии относятся к микроорганизмам, для роста которых необходимы азотистые вещества и витамины. При использовании обезжиренного молока в качестве среды для роста молочнокислых бактерий потребности их в азотистом питании и витаминах в значительной мере удовлетворяются. Однако молоко, как среду для накопления клеток молочнокислых бактерий в ферментере, без специальной предварительной обработки использовать невозможно из-за коагуляции белков, что очень затрудняет отделение клеток.

В настоящее время установлено, что некоторые пептиды и аминокислоты усиливают рост молочнокислых бактерий. В связи с этим были проведены исследования по возможности использования для гидролиза различных источников белка и перевода их в более доступные для роста молочнокислых бактерий формы (пептиды и аминокислоты) ферментного препарата протосубтилин ГЗх ГОСТ 23636-90 70 ед/г.

При отработке режимов гидролиза белкового сырья использовались различные соотношения белок – фермент протосубтилин. Гидролиз проводили в течение 2 часов при температуре 55°C. Основные характеристики гидролизатов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Основные характеристики гидролизатов, полученных из различных источников белка

№ п/п	Источник белка	Доза фермента, %	рН среды до гидролиза	Аминный азот, мг%	рН среды до стерилизации	рН среды после стерилизации	Наличие осадка в среде после стерилизации
1	1,5 % казеин + сода	0,345	6,9	48	7,0	6,44	отсутствует
2	1,5% казеинат	0,345	6,96	42	6,84	6,24	отсутствует
3	4,5% СОМ	0,023	6,75	28	6,86	6,4	отсутствует
4	8% СОМ	0,615	6,76	103,6	6,86	6,0	большой осадок
5	15% СОМ	1,15	6,76	144,9	6,86	6,0	большой осадок

СОМ – сухое обезжиренное молоко

При гидролизе 8%-ого и 15%-ого сухого обезжиренного молока образовывался осадок после стерилизации, что, по-видимому, обусловлено диффузионным торможением доступа фермента к субстрату в связи, с чем и происходил не полный гидролиз белка. На полученных гидролизатах исследовали рост молочнокислых микроорганизмов, для чего 18-ти часовую исследуемую культуру в количестве 5% вносили в питательные среды следующего состава:

Гидролизат	X
Дрожжевой экстракт	0,2%
Натрий лимоннокислый	0,5%
Натрий уксуснокислый	0,2%
Марганец сернокислый	0,02%
Магний сернокислый	0,017%
Глюкоза	2%
рН	7,3

Культивирование проводили при 30 °С в течение 5 ч., после чего проводили измерение рН среды. Полученные данные представлены в таблице 2

Таблица 2. Активность роста молочнокислых микроорганизмов на полученных гидролизатах

№ п/п	Вид гидролизата	Доза гидролизата, %	Изменение рН при культивировании микроорганизмов									
			L2	L6 /1	d8/2	d6 8	dv57	dv60/2	St17	St64/3	Stv 25	Stv62
1	1,5 % казеин + сода	97,1	1,96	2,0	1,94	1,82	1,91	1,92	0,45	0,75	0,49	0,32
2	1,5% казеинат	50	1,85	1,88	1,82	1,72	1,82	1,83	0,5	0,96	0,29	0,15
3	4,5% СОМ	97,1	<b>1,97</b>	<b>2,0</b>	<b>1,98</b>	<b>1,83</b>	<b>1,95</b>	<b>1,96</b>	<b>0,75</b>	<b>0,76</b>	<b>1,19</b>	<b>0,94</b>
4	8% СОМ	97,1	1,16	1,24	1,12	1,0	1,08	1,01	0,02	0,15	0	0
5	15% СОМ	50	1,06	1,20	1,08	1,0	1,01	1,00	0,02	0,13	0	0

При использовании гидролизатов 4,5% СОМ, 1,5% казеин и 1,5 % казеинат не образовывался осадок после стерилизации и скорость роста всех исследуемых микроорганизмов была максимальной. Для дальнейших исследований выбран гидролизат 4,5% СОМ, так как он обеспечивает высокую скорость роста исследуемых культур, прост в приготовлении, технологичен, имеет более низкую стоимость.

Активность роста молочнокислых микроорганизмов на данном гидролизате сравнивали с активностью роста на ранее разработанном гидролизате СОМ с использованием поджелудочные железы крупного рогатого скота при продолжительности гидролиза 18 ч. при температуре 55 °С. Культивирование микроорганизмов проводили в течение 5 ч при температуре 30 °С. Полученные данные представлены в таблице 3.

Таблица 3. Активность роста молочнокислых микроорганизмов на гидролизатах с использованием фермента протосубтилин и поджелудочной железы крупного рогатого скота

№ п/п	Доза гидролизата в среде, %	Аминный азот, мг%	Изменение pH при культивировании микроорганизмов									
			L2	559/5	d6/4	21/11	dv57	dv180/3	St3	St17	Stv56/1	Stv62
<b>Гидролизат, полученный при использовании поджелудочные железы крупного рогатого скота</b>												
1	40	83	2,13	2,08	2,01	2,01	1,98	1,97	1,29	1,65	1,43	1,18
2	30	63	2,12	2,11	2,02	2,01	2,0	1,98	1,29	1,71	1,73	1,23
3	<b>20</b>	42	<b>2,16</b>	<b>2,14</b>	<b>2,04</b>	<b>2,01</b>	<b>2,01</b>	<b>2,0</b>	<b>1,72</b>	<b>1,83</b>	<b>1,7</b>	<b>1,51</b>
4	10	21	2,1	2,1	1,97	1,95	1,92	1,91	1,53	1,63	1,59	1,18
5	5	10	1,91	1,91	1,74	1,74	1,71	1,71	1,25	1,4	1,25	0,96
<b>Гидролизат, полученный при использовании фермента протосубтилин</b>												
6	<b>97,1</b>	48	<b>2,46</b>	<b>2,52</b>	<b>2,36</b>	<b>2,38</b>	<b>2,35</b>	<b>2,33</b>	<b>2,05</b>	<b>1,94</b>	<b>1,88</b>	<b>1,85</b>
7	50	24	2,22	2,43	2,26	2,25	2,26	2,27	1,9	1,86	1,87	1,84
8	25	12	2,12	2,16	1,96	1,97	1,86	1,93	1,66	1,67	1,59	1,51
9	15	7	1,95	2,02	1,8	1,76	1,76	1,7	1,4	1,46	1,4	1,1

Наибольшая скорость роста исследуемых культур наблюдалась на питательной среде содержащей 97,1% гидролизата, полученного при использовании фермента протосубтилин. Скорость роста культур на среде содержащей 20% гидролизата, полученного при использовании поджелудочные железы крупного рогатого скота была ниже, что подтверждается литературными данными о более сильном стимулирующем действии полипептидов на молочнокислые микроорганизмы, чем продуктов их дальнейшего гидролиза. Кроме того использование для гидролиза СОМ фермента протосубтилин имеет следующие преимущества по сравнению с использованием поджелудочные железы крупного рогатого скота:

- отсутствие предварительной стерилизации СОМ,
- сокращение времени гидролиза,
- исключение стадии фильтрации через ватно-марлевый фильтр полученного гидролизата, что позволяет проводить гидролиз в ферментере,
- стабилизация процесса гидролиза, так как качество поджелудочной железы зависит от многих факторов,

- снижение трудо- и энергозатрат.

В качестве источника витаминов группы В использовался дрожжевой экстракт или дрожжевой автолизат. Исследовали влияние жидкого дрожжевого автолизата и сухого дрожжевого экстракта на рост молочнокислых микроорганизмов, определяли его оптимальное содержание в составе питательной среды. Полученные данные представлены в таблице 4.

Таблица 4. Влияние количества жидкого дрожжевого автолизата и сухого дрожжевого экстракта на рост молочнокислых микроорганизмов

Доза в среде, %	Изменение рН при культивировании микроорганизмов				Изменение оптической плотности при культивировании микроорганизмов			
	L52	d8/2	dv114/2	Stv25	L52	d8/2	dv114/2	Stv25
<b>Сухой дрожжевой экстракт</b>								
Без	1,52	1,50	0,92	1,86	0,396	0,228	0,207	0,250
0,1	<b>1,96</b>	<b>2,01</b>	1,24	<b>1,98</b>	<b>0,482</b>	<b>0,412</b>	0,271	<b>0,445</b>
0,3	2,02	2,03	<b>1,37</b>	1,99	0,523	0,450	<b>0,452</b>	0,470
0,5	2,09	2,05	1,34	1,99	0,532	0,470	0,480	0,485
0,7	2,09	2,09	1,4	2,0	0,540	0,478	0,485	0,490
1	2,12	2,1	1,5	2,03	0,556	0,490	0,664	0,492
<b>Жидкий дрожжевой автолизат</b>								
2	<b>2,24</b>	<b>2,12</b>	<b>1,48</b>	<b>1,97</b>	<b>0,504</b>	<b>0,489</b>	<b>0,530</b>	<b>0,496</b>
5	2,21	2,1	1,47	1,95	0,502	0,475	0,509	0,495
10	2,09	1,85	1,37	1,80	0,417	0,379	0,486	0,411

Таким образом, для культивирования консорциумов, в состав которых входят вязкие расы *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, необходимо использовать питательные среды, содержащие 0,3% сухого дрожжевого экстракта или 2% жидкого дрожжевого автолизата. Для культивирования консорциумов, в состав которых входят культуры *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, невязкие расы *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* или *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* можно использовать питательные среды, содержащие 0,1 % сухого дрожжевого экстракта или 2% жидкого дрожжевого автолизата. Данные питательные среды будут использованы для получения бактериальной массы лактококков при производстве бактериальных концентратов.