

*Е.А. Двоеженова, Н.К. Жабанос, к.т.н., Д.В. Муха, Н.Н. Фурик к.т.н.
Институт мясо-молочной промышленности, Минск, Республика Беларусь*

БИОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУР МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ СЫРОВ С ПОНИЖЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ЖИРА

*E. Dvoezhenova, N. Zhabanos, D. Mukha, N. Furik
Institute for Meat and Dairy Industry, Minsk, Republic of Belarus*

BIOCHEMICAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA PROMISING FOR USE IN THE PRODUCTION OF REDUCED-FAT CHEESE

e-mail: lysosooome@gmail.com, nzhabanos@tut.by, gsinichkina@mail.ru, furik_nn@tut.by

В статье приведены результаты исследований липолитической и протеолитической активностей при разных условиях культивирования 27 штаммов лактобацилл, а также данные о способности продуцировать экзополисахариды. Свойства микроорганизмов являются определяющими биохимическими факторами в процессе созревания сыра с пониженным содержанием жира, для формирования органолептических характеристик продукта. Результаты экспериментов показали, что штаммы имеют штаммоспецифическую активность протеаз при инкубировании их при оптимальных и низких температурных режимах, при этом для большинства штаммов при снижении температуры культивирования наблюдается уменьшение протеолитической активности. Выявлено отсутствие липолитической активности у исследованных штаммов. Для отдельных штаммов обнаружена способность продуцировать экзополисахариды.

Ключевые слова: протеолитическая активность; липолитическая активность; экзополисахариды; молочнокислые бактерии; сыр с пониженным содержанием жира.

The article presents the results of studies of lipolytic and proteolytic activities under different cultivation conditions of 27 strains of lactobacilli, as well as data on the ability to produce exopolysaccharides. The properties of microorganisms are the determining biochemical factors in the process of ripening cheese with a reduced fat content, for the formation of the organoleptic characteristics of the product. The experimental results showed that the strains have strain-specific protease activity when incubated at optimal and low temperature conditions, while for most strains a decrease in proteolytic activity is observed when the cultivation temperature is lowered. The absence of lipolytic activity in the studied strains was revealed. The ability to produce exopolysaccharides was discovered for some strains.

Key words: proteolytic activity; lipolytic activity; exopolysaccharides; lactic acid bacteria; reduced-fat cheese.

Введение. За последние десятилетия возросла значимость правильного питания и связи между употребляемыми продуктами и здоровьем. Потребители чаще обращают внимание на состав продуктов [1]. Продукты из молока являются важной составляющей рациона питания. Высокая пищевая ценность кисломолочных продуктов обусловлена сбалансированностью пищевых веществ: белков, жиров, углеводов, макро- и микроэлементов (кальций, магний, цинк, фосфор) витамины группы В и витамины А, D и Е [2]. Ряд исследований показывают, что потребление молока и молочных продуктов связано со снижением риска детского ожирения [3], потенциально может снижать риск сахарного диабета [4], сердечно-сосудистых [5] и онкологических заболеваний [6], положительно влиять на минеральную плотность костной ткани [4].

В настоящее время продукты с пониженным содержанием насыщенных жирных кислот и высоким содержанием белка занимают важное место в структуре

сбалансированного рациона, что приводит к увеличению спроса на сыры с низким содержанием молочного жира и высокими органолептическими свойствами [7].

Возникает научный интерес к разработке технологий получения нежирных сыров с высокими потребительскими характеристиками, не уступающих полножирным аналогам. Так как молочный жир оказывает влияние на текстуру, аромат и вкус сыров, низкожирные сыры, изготовленные без изменения рецептуры, имеют твердую сухую зернистую и эластичную текстуру, невыраженный вкус с бульонным привкусом. Таким образом, производство сыров с низким содержанием жира с хорошими органолептическими показателями представляет собой серьезную проблему для молокоперерабатывающей промышленности [8], [9].

Основные стратегии улучшения текстуры и вкуса низкожирных сыров были сосредоточены на удержании влаги за счет добавления молочных белком [10], имитаторов жира (натрий-карбоксиметилцеллюлоза и воскообразный рисовый крахмал) [11]. Другие стратегии включали модификацию белков сыра путем обработки трансглутаминазой [11] или модификацию структуры жира путем гомогенизации молока [12]. Однако технологические усовершенствования процессов производства сыра не обязательно применимы ко всем сыроварням или сортам сыра, и могут повлечь за собой финансовые затраты. Например, использование добавок, такие как эмульгаторы и загустители, могут улучшить текстуру сыра, но оказывают неблагоприятное воздействие на формирование вкуса [13].

Основным подходом изготовления низкожирных сыров, является использование добавочные культуры, так как для улучшения вкусовых характеристик, важную роль играет подбор заквасочных культур [10].

Бактериальные закваски функционально необходимым компонент в сыроделии, включающий специально подобранные и подготовленные комбинации молочнокислых бактерий. В практике изготовления сыров с пониженным содержанием жира различные фирмы-изготовители заквасок рекомендуют использование наряду с основной, как правило, мезофильной лактококковой закваской, и «созревательные» культуры, включающих микроорганизмы, подобранные по ферментной активности, например, высокой аминопептидазной активности, но имеющие низкую кислотообразную активности,

На этом этапе созревания, под влиянием биохимической активности добавочных культур, основные компоненты молока – белок (протеолиз) и жир (липолиз), перетерпливают изменен с образованиями различных веществ формирующие текстуру, запах и вкус конечного продукта. Поэтому «созревательные» штаммы должны обладать высоким биохимическим потенциалом [14].

Наличие протеолитической активности у молочнокислых бактерий обогащает молоко биоактивными пептидами и свободными аминокислотами, которые в последующем участвуют в реакциях декарбоксилирования, дезаминирования, переаминирования и десульфуризации. Непосредственно эти молекулы ответственных за желаемые органолептические характеристики [15].

В зависимости от вида, подвида и даже штамма молочнокислые бактерии проявляют очень разнообразную протеолитическую активность. Однако в целом, протеолитическая активность лактобацилл выше, чем у лактококков. Из лактобацилл, используемых в молочной промышленности, наиболее протеолитически активными видами являются *Lb. casei*, *Lb. Delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus* в то время, как наименее активным видом является *Lb. plantarum* [16].

Для формирования вкуса сыра во время созревания также важен молочный жир. Липазы заквасочных микроорганизмов и липазы молока влияют на развитие вкуса сыра, поскольку ферментативный гидролиз триглицеридов до жирных кислот и глицерина, моно- или диглицеридов (липолиз) необходим для развития вкуса во

многих сортах сыра [17]. Обширный липолиз считается нежелательным во многих сортах сыра, так как высокий уровень жирных кислот в этих сырах приводит к прогорканию [18].

Молочнокислые бактерии синтезирующие экзополисахариды (ЭПС) улучшают вкусовые характеристики различных сыров, особенно сортов с пониженным содержанием жира, в которых снижение содержания жира отрицательно влияет на текстуру и пластичность сыра [19]. Экзопполисахариды представляют собой внеклеточные высокомолекулярные полимеры многих молочнокислых бактерий, играют важную роль при ферментации молочных продуктов из-за его положительного влияния на реологические и текстурные свойства. Использование заквасок, с культурами синтезирующими экзополисахариды, приводит к более высокому уровню влажности, за счет повышения способности связывания воды, уменьшению синерезиса, что приводит к получению низкожирного сыра с приближенной текстурой полножирного аналога [20].

Цель работы – оценить и подобрать перспективные штаммы мезофильных и термофильных лактобацилл обладающие сбалансированными биохимическими характеристиками для разработки технологии добавочной закваски для применения при изготовлении низкожирных сыров.

Материалы и методы исследований. Объектами исследования являлись 27 штаммов разных видов термофильных и мезофильных молочнокислых палочек из Республиканской коллекции промышленных штаммов заквасочных культур и их бактериофагов: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus. helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus gasseri* характеристики их биохимической активности.

Получение (16±2) часовых культур. В (15±1) мл MRS среды вносили (1±0,05)% культуры, инкубировали в термостате при (34±1)°С для мезофильных и (37±1)°С для термофильных микроорганизмов в течение (16±2).

Для определения протеолитической активности (далее ПА) использовали метод М. Е. Халл в модификации Залашко М.В. и соавторов [21]. Бактерии выращивали в течении (16±2) ч в среде MRS, после чего 0,1 мл выросшей культуры вносили в 100 мл пастеризованного молока и термостатировали при оптимальных температурах для каждой культуры в течении определенного времени, после чего сквашенное молоко тщательно перемешивали и 3 мл вносили в пробирку, содержащую 2 мл дистиллированной воды и 10 мл 10%-ной трихлоруксусной кислоты. Смесь тщательно ресуспендировали, выдерживали 10 мин при комнатной температуре, после чего фильтровали через двойной бумажный фильтр. 5 мл фильтрата переносили в колбу, содержащую 38 мл дистиллированной воды и 5 мл 1М Na₂CO₃, после чего добавляли 2 мл фенольного реактива Фолина-Циокальто, разбавленного дистиллированной водой в соотношении 1:6, тщательно перемешивали и выдерживали 5 мин, в результате чего раствор принимал голубую окраску, интенсивность которой определяли спектрофотометрически при 650 нм. В качестве контроля использовали молоко той же партии, обработанное аналогичным образом.

Протеолитическую активность определяли в мг% в пересчете на содержание тирозина и триптофана.

Определение наличия липолитической активности у бактерий методом диффузии из лунок агара. Бактериальные культуры выращивали в течении (16±2) ч при оптимальных температурах в жидкой среде MRS содержащей глицерин трибутират, после чего суспензию клеток тщательно перемешивали и наносили по 0,1 мл в лунки, которые прокалывали в толще соответствующей агаризованной среды MRS содержащей глицерин трибутират. Чашки Петри инкубировали при оптимальных температурах для бактерий в течении (72±2) ч. О наличии липолиза судили по наличию зон просветления среды вокруг лунок.

Качественное определение способности молочнокислых микроорганизмов продуцировать экзополисахариды (ЭПС)

Бактериальные культуры выращивали в течении (16±2) ч при оптимальных температурах в жидкой среде MRS. Методом штриха культуры высевали на плотную питательную среду MRS с добавлением 0,1% глюкозы или сахарозы и красителя рутениевого красного. Рабочий раствор рутения красного вносили в расплавленную стерильную питательную среду в количестве из расчета 80 мг/л и тщательно перемешивали.

Посевы инкубировали при оптимальной температуре развития микроорганизмов в течение 48–72 ч. При синтезе молочнокислыми бактериями ЭПС колонии имеют белую или розовую окраску, а при отсутствии синтеза – красный цвет.

Результаты и их обсуждение. Протеолитическую активность штаммов лактобацилл оценивали в несколько этапов. На первом этапе определяли наиболее протеолитически активные штаммы при ферментации пастеризованного молока при оптимальных для вида микроорганизмов температурных режимах. Протеолитическую активность определяли через (24±2) ч, (72±2) ч, (168±2) ч. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Протеолитическая активность штаммов лактобацилл

Видовая принадлежность	№ п/п	Паспортный номер	Протеолитическая активность мг%(тир+тпр) при сквашивании цельного молока в течении		
			(24±2) ч	(72±2) ч	(168±2) ч
1	2	3	4	5	6
<i>Lb. plantarum</i>	1	2640 ML-O	4,7±0,112	4,8±0,011	5,1±0,008
	2	1190 ML-AF	5,4±0,210	5,6±0,015	5,9±0,005
	3	1157 ML-AF	3,9±0,111	3,8±0,014	3,6±0,016
	4	2645 ML-O pl	4,4±0,188	4,7±0,019	4,8±0,014
	5	2785 ML-O	4,1±0,098	4,8±0,013	5,2±0,011
	6	2786 ML-O	3,3±0,158	3,5±0,007	3,9±0,013
<i>Lb. casei</i>	7	1209 ML-OFR	4,7±0,147	5,4±0,016	7,8±0,012
	8	1188 ML-OF	5,5±0,209	7,5±0,008	10,6±0,006
	9	1189 ML	5,6±0,112	5,9±0,005	9,4±0,018
	10	1206 ML-OFR	4,8±0,210	8,8±0,016	10,0±0,019
	11	1196 ML-OFR	3,7±0,156	7,4±0,012	8,1±0,007
<i>Lb. paracasei</i>	12	2799 ML-O	4,7±0,300	5,9±0,018	10,1±0,017
	13	2639 ML-O	4,9±0,166	8,3±0,017	9,6±0,012
<i>Lb. rhamnosus</i>	14	2637 TL-O	4,3±0,118	4,9±0,014	5,2±0,018
	15	2641 TL-O rh	3,8±0,205	4,4±0,006	5,8±0,013
	16	2642 TL-O	4,0±0,207	4,7±0,009	9,0±0,016
	17	2643 TL-O	4,3±0,213	4,4±0,017	4,5±0,017
<i>Lb. helveticus</i>	18	1191 TL-AF	20,9±0,212	18,6±0,012	17,6±0,011
	19	397 TL-AVF	13,4±0,111	15,7±0,011	17,1±0,015
	20	382 LA-AF	16,7±0,254	20,6±0,009	22,6±0,016
	21	2644 TL-AV	2,7±0,254	16,3±0,008	14,5±0,013
	22	2389 TL-AV	14,5±0,167	18,9±0,012	14,7±0,008
	23	2651 TL-AV	4,6±0,156	4,7±0,013	5,0±0,009
<i>Lb. gasseri</i>	24	2638 TL-O	4,3±0,298	5,2±0,015	6,0±0,005
	25	2648 TL-O	4,4±0,145	4,9±0,017	3,9±0,012
<i>Lb. sakei</i>	26	2800 ML-O	4,8±0,245	4,9±0,016	5,4±0,011
	27	2801 ML-O	3,9±0,178	4,0±0,011	4,1±0,019

Источник данных: собственная разработка.

В результате исследований установлено, что микроорганизмы обладают разными уровнями ПА. Культуры можно разделить на три группы исходя из протеолитической активности штаммов относительно друг друга:

- с низкой ПА (протеолитическая активность штаммов не превышает активность нативных протеаз молока ($(4 \pm 0,136)$ мг% тир+трп) на 2–3 мг%) – штаммы *Lb.plantarum*; *Lb. casei* 1209 ML-OFR, 1196 ML-OFR; *Lb. rhamnosus* 2637 TL-O, 2641 TL-O rh, 2643 TL-O; *Lb. helveticus* 2651 TL-AV; *Lb. gasserii* 2638 TL-O, 2648 TL-O; *Lb. sakei* 2800 ML-O, 2801 ML-O. Протеолитическая активность культур в среднем составила $(4,7 \pm 0,7)$ мг%. Уровень протеолиза значительно не изменялся в течение семи суток культивирования микроорганизмов;

- со средним уровнем ПА – *Lb. casei* 1188 ML-OF, 1189 ML, 1206 ML-OFR; *Lb. paracasei* 2799 ML-O, 2639 ML-O, *Lb. rhamnosus* 2642 TL-O. Активность протеаз микроорганизмов на протяжении семи суток культивирования увеличивалась с $(4,9 \pm 0,4)$ до $(9,8 \pm 0,5)$ мг% тир+трп;

- с высоким уровнем ПА – *Lb. helveticum* 1191 TL-AF, 397 TL-AVF, 382 LA-AF, 2644 TL-AV, 2389 TL-AV. Для штаммов 397 TL-AVF и 382 LA-AF протеолитическая активность увеличивалась на протяжении всего этапа культивирования с $(13,4 \pm 0,111)$ до $(17,1 \pm 0,015)$ мг% и с $(16,7 \pm 0,254)$ до $(22,6 \pm 0,016)$ мг%, соответственно. Культура *Lb. helveticum* 1191 TL-AF, наоборот, через (24 ± 2) ч имела наибольшую ПА $(20,9 \pm 0,212)$ мг%, которая к седьмым суткам снижалась до $(17,6 \pm 0,011)$ мг%. Протеолитическая активность штаммов *Lb. helveticum* 2644 TL-AV и 2389 TL-AV увеличивалась к (72 ± 2) ч культивирования ($(16,3 \pm 0,008)$ и $(18,9 \pm 0,012)$ мг%, соответственно), однако снижалась по окончании культивирования ($(14,5 \pm 0,013)$ и $(14,7 \pm 0,008)$ мг%, соответственно)

Штаммы *Lb.plantarum* 2640 ML-O, 1190 ML-AF, 1157 ML-AF, 2645 ML-O pl, 2785 ML-O, 2786 ML-O; *Lb. rhamnosus* 2637 TL-O, 2643 TL-O; *Lb. Helveticus* 1191 TL-AF, 2651 TL-AV; *Lb. gasserii* 2648 TL-O; *Lb. sakei* 2800 ML-O, 2801 ML-O через 24 ч культивирования проявляли высокую протеолитическую активность, которая по истечению времени ферментации молока незначительно изменялась (увеличивалась или уменьшалась). Так как бактерии в начале культивирования находятся в экспоненциальной фазе роста, которая характеризуется максимальной скоростью роста и постоянным увеличением популяции, бактериям необходимы питательные элементы (факторы роста) для их развития, одним из которых является аминокислоты [22]. Молоко является субстратом богатым белком, однако концентрация свободных аминокислот недостаточна для обеспечения роста клеток. Таким образом, молочнокислые бактерии зависят от сложной протеолитической системы, которая позволяет им использовать казеин в качестве дополнительного источника аминокислот. Следовательно в этой фазе роста они обладают высокой биохимической активностью, в частности высокому синтезу приклеточных протеаз и их активности [23].

Увеличение концентрации тирозина и триптофана через 72 и 168 часов культивирования для культур *Lb. casei* 1209 ML-OFR, 1188 ML-OF, 1189 ML, 1206 ML-OFR, 1196 ML-OFR; *Lb. paracasei* 2799 ML-O, 2639 ML-O; *Lb. Rhamnosus* 2642 TL-O; *Lb. helveticus* 397 TL-AVF, 382 LA-AF, 2644 TL-AV; *Lb. gasserii* 2638 TL-O может говорить о том, что часть клеток популяции, находясь в стационарной фазе, подвергаются автолизу в следствии чего среда пополняется аминокислотами и внутриклеточными протеазами [22].

Для штаммов *Lb. helveticus* 1191 TL-AF и 2389 TL-AV наблюдалось уменьшение протеолитической активности к седьмым суткам. В ответ на условия окружающей среды происходит регуляция экспрессии генов бактерий, следовательно протеолитическая активность либо увеличивается либо уменьшается [24]. Наличие в среде доступного азота в виде аминокислот и коротких пептидов снижает экспрессию генов протеолитических ферментов и генов системы ответственной за транспортировку пептидов внутрь клетки [25]. Короткие пептиды и аминокислотами (изолейцин, лейцин и валин) действуют как корепрессоры, в механизме азотной

катаболической репрессии. Концентрация источника углерода (в частности глюкозы) и активной кислотности среды влияет на экспрессию протеолитических ферментов [26].

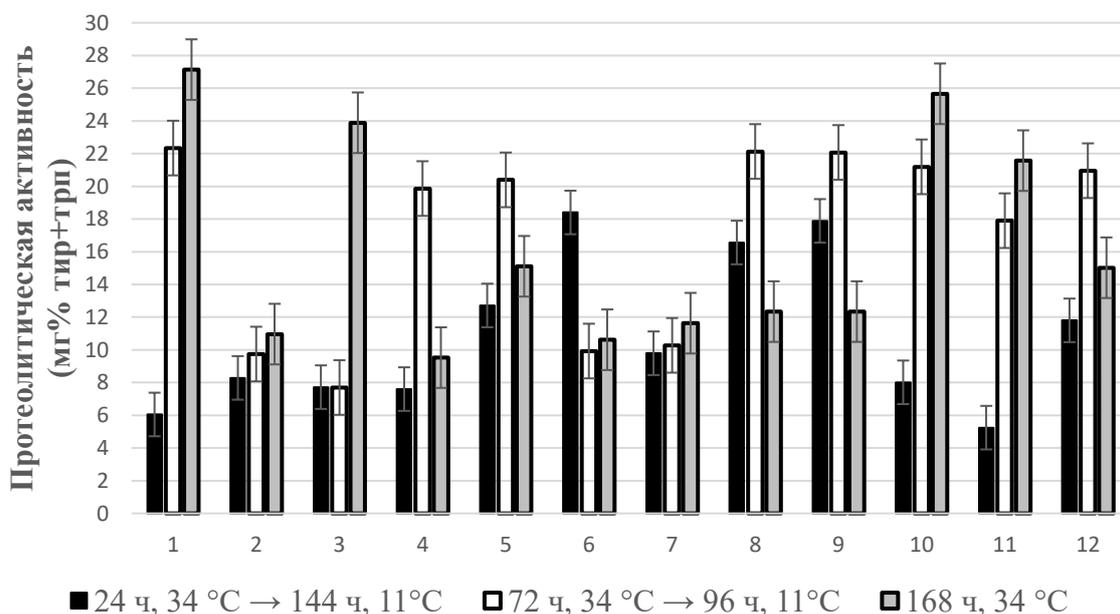
Из всех проанализированных штаммов, для дальнейшей работы отобраны культуры обладающие средней и высокой протеолитической активностью *Lb. Casei* 1209 ML-OFR, 1189 ML, 1206 ML-OFR, 1196 ML-OFR; *Lb. paracasei* 2799 ML-O, 2639 ML-O; *Lb. rhamnosus* 2642 TL-O; *Lb. helveticum* 1191 TL-AF, 397 TL-AVF, 382 LA-AF, 2644 TL-AV, 2389 TL-AV.

Протеолиз является основным процессом на этапе созревания сыров. Вследствие биохимической активности бактерий образуются короткие пептиды и растворимые азотистые основания, участвующие в формировании вкуса, текстуры и аромата на этапе созревания. Так как созревание сыра проходит при низких температурах, для предотвращения активного сбраживания лактозы культурами основной закваски, а в последствии во избежания повышенной кислотности сыра и рыхлой текстуры, добавочная культура должна иметь высокую биохимическую активность при низких температурах [27].

Исследования протеолиза белков молока 12-ти штаммов проводили при различных параметрах культивирования:

- 1 вариант – культивирование при $(34 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (24 ± 2) ч, а затем (144 ± 2) ч при $(11 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- 2 вариант – культивирование при $(34 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течении (72 ± 2) ч, затем при $(11 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течении (96 ± 2) ч;
- 3 вариант – культивирование при $(34 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течении (168 ± 2) ч.

Результаты анализа представлены на рисунке 1.



1 – *Lb. casei* 1209 ML-OFR, 2 – *Lb. casei* 1189 ML, 3 – *Lb. casei* 1206 ML-OFR,
 4 – *Lb. casei* 1196 ML-OFR, 5 – *Lb. paracasei* 2799 ML-O,
 6 – *Lb. paracasei* 2639 ML-O, 7 – *Lb. rhamnosus* 2642 TL-O,
 8 – *Lb. helveticum* 1191 TL-AF, 9 – *Lb. helveticum* 397 TL-AVF,
 10 – *Lb. helveticum* 382 LA-AF, 11 – *Lb. helveticum* 2644 TL-AV,
 12 – *Lb. helveticum* 2389 TL-AV

Рисунок 1 – Изменение протеолитической активности в процессе культивирования лактобактерий при разных условиях
 Источник данных: собственная разработка.

На основании анализа полученных результатов, штаммы можно разделить на 3 группы:

1-ая группа – штамм *Lb. paracasei* 2639 ML-O, для которого характерна высокая протеолитическая активность при 1-ом варианте культивирования ($18,4 \pm 0,077$) мг%, что на ($8,15 \pm 0,25$) мг% выше по сравнению с другими условиями инкубирования;

2-ая группа – штаммы *Lb. casei* 1196 ML-OFR, *Lb. paracasei* 2799 ML-O, *Lb. helveticum* 1191 TL-AF, *Lb. helveticum* 397 TL-AV F, *Lb. helveticum* 2389 TL-AV. Наибольшая ПА наблюдалась при 2-ом варианте инкубирования – ($20,7 \pm 0,68$) мг%, что на ($7,38 \pm 1,26$) мг% выше в сравнении с 1-ым и на ($8,02 \pm 0,85$) мг% выше в сравнении с 3-им вариантами.

3-я группа – штаммы *Lb. casei* 1209 ML-OFR, *Lb. casei* 1189 ML, *Lb. Casei* 1206 ML-OFR, *Lb. rhamnosus* 2642 TL-O, *Lb. helveticum* 382 LA-AF, *Lb. helveticum* 2644 TL-AV. Высокий протеолиз показан при 3-ем варианте инкубирования, ПА составила от 11 до 27 мг%. При этом культуры *Lb. casei* 1209 ML-OFR, *Lb. Casei* 1206 ML-OFR, *Lb. helveticum* 382 LA-AF, *Lb. helveticum* 2644 TL-AV имели ПА значительно ниже при первом варианте культивирования, в сравнении с третьим на ($17,85 \pm 1,63$) мг%, а культуры *Lb. casei* 1189 ML, *Lb. rhamnosus* 2642 TL-O фактически не отличались по уровню протеолиза.

При низких температурах снижается скорость химических реакций и диффузия питательных веществ в клетках микроорганизмов, следовательно протеолитическая активность снижается. Поэтому ПА при 1-ом условии культивирования ниже, чем при двух других вариантах.

Для дальнейших исследований отобраны штаммы имеющие высокую протеолитическую активность при первом варианте культивирования (не ниже 10 мг% тир+трп): *Lb. paracasei* 2799 ML-O, 2639 ML-O; *Lb. rhamnosus* 2642 TL-O; *Lb. helveticum* 1191 TL-AF, 397 TL-AVF, 2389 TL-AV; *Lb. casei* 1189 ML.

Липолитическая активность микроорганизмов осуществляет цепочечный гидролиз триацилглицеринов, разрушая эфирные связи с образованием свободных жирных кислот (масляная, капроновая, каприновая, каприловая, валериановая), глицерина и промежуточных продуктов, таких как моно- и диглицериды, что способствует формированию текстуры вкуса конечного продукта [28]. Степень липолиза молочнокислых бактерий помогает определить выбор штаммов, используемых в качестве заквасочных культур [29]. В сыры с длительным периодом созревания, липолитическая активность молочнокислых бактерий способствует развитию вкуса и служит субстратом для дальнейших реакций, приводящих к образованию конечных продуктов катаболизма [22]. В литературных источниках отмечено, что липолитической активностью обладают *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. bulgaricus*., *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus* [23].

У 27 штаммов мезофильных и термофильных молочнокислых палочек не выявлено выраженной липолитической активности: вокруг колоний изученных штаммов не наблюдали зон просветления среды.

Многие лабораторные штаммы способны к продуцированию экзополисахаридов (ЭПС), которые представляют собой внеклеточные высокомолекулярные полимеры, либо ковалентно связанные с поверхностью бактерий (капсульный ЭПС), либо ЭПС, которые секретируются в среду [32]. ЭПС, производимый молочнокислыми бактериями, играет важную роль в ферментации молочных продуктов из-за его положительного влияния на реологические и текстурные свойства. Использование заквасок, продуцирующих ЭПС, привело к более высокому уровню влажности, большей скорости протеолиза и более мягкой текстуре, чем у нежирного сыра без заквасок, продуцирующих ЭПС, при этом не влияя на вкусовой профиль сыра [33]. Помимо своих технологических свойств, экзополисахариды молочнокислых бактерий положительно влияют на здоровье

человека, в частности антиоксидантную, противоопухолевую, антибактериальную, иммунорегулирующую функции [13].

Проведена качественная оценка способности отобранных молочнокислых палочек продуцировать экзополисахариды. Источник углевода оказывает существенное влияние на синтез ЭПС молочнокислыми бактериями, поэтому использовали питательную среду MRS с добавлением 1% сахарозы или глюкозы и красителем рутением красным. Результаты исследования приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Качественная оценка штаммов *Lactobacillus* ssp. способности продуцировать экзополисахариды

Видовая принадлежность	№	Паспортный номер	Цвет колоний на питательной среде MRS с:	
			глюкозой	сахарозой
1	2	3	4	5
<i>Lb. paracasei</i>	1	2639 ML-O	розовый	розовый
	2	2799 ML-O	красный	красный
<i>Lb. rhamnosus</i>	3	2642 TL-O	белый	белый
<i>Lb. casei</i>	4	1189 ML-OFR	розовый	розовый
<i>Lb. helveticum</i>	5	1191 TL-AF	красный	красный
	6	397 TL-AV F	красный	красный
	7	2389 TL-AV	красный	красный

Источник данных: собственная разработка.

При анализе результатов исследований не выявлено заметных различий в способности продуцировать экзополисахариды при культивировании на питательных средах, имеющих разные источники углевода.

Выраженная способность продуцировать ЭПС наблюдалась для штамма *Lb. rhamnosus* 2642 TL-O, колонии которого имели белое окрашивание. Слабо выраженная способность синтезировать ЭПС наблюдалась у штаммов *Lb. paracasei* 2639 ML-O, *Lb. casei* 1196 ML-OFR.

Заключение. Проведены исследования биохимической активности 27 штаммов молочнокислых палочек из Республиканской коллекции промышленных штаммов заквасочных культур и их бактериофагов. Исходя из результатов экспериментальных данных установлено, что исследованные штаммы лактобацилл обладают штаммоспецифической протеолитической активностью и не обладают выраженной липолитической активностью.

Протеолитическую активность штаммов изучали при культивировании в цельном молоке при оптимальных температурах и при низких температурах характерных при условиях созревания сыра. Показано, что не все протеолитически активные штаммы сохраняют высокий протеолиз при низких температурах культивирования.

Только 3 из 7 протеолитически активных штаммов лактобацилл при низких условиях культивирования имели способность продуцировать экзополисахариды.

Для дальнейших исследований промышленно-значимых характеристик и созданию комбинаций микроорганизмов закваски используемой для изготовления низкожирных сыров отобрано 7 культур *Lb. paracasei* 2639 ML-O, 2799 ML-O; *Lb. rhamnosus* 2642 TL-O; *Lb. casei* 1196 ML-OFR; *Lb. helveticum* 1191 TL-AF, 397 TL-AVF, 2389 TL-AV.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ:

1. Reformulating foods to meet current scientific knowledge about salt, sugar and fats : Keeping Food Safety on the Agenda for 15 years – The SAFE consortium / N. Belc [et al.] // *Trends Food Sci. Technol.*, 2019. – Vol. 84 – P. 25-28.
2. Both low- and regular-fat cheeses mediate improved insulin sensitivity and modulate serum phospholipid profiles in insulin-resistant rats / A. R. Hanning [et al.] // *J. Nutr. Biochem.*, 2019. – Vol. 64 – P. 144-151.
3. Total dairy consumption in relation to overweight and obesity in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis / N. Babio [et al.] // *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.*, 2022. – Vol. 23 Suppl 1 – P. 13400.
4. Milk and dairy products: good or bad for human health? An assessment of the totality of scientific evidence / T. K. Thorning [et al.] // *Food Nutr. Res.*, 2016. – Vol. 60 – P. 10.3402/fnr.v60.32527.
5. Milk and dairy consumption and risk of cardiovascular diseases and all-cause mortality: dose-response meta-analysis of prospective cohort studies / J. Guo [et al.] // *Eur. J. Epidemiol.* – 2017. – Vol. 32, № 4. – P. 269-287.
6. Fermented dairy foods intake and risk of cancer / K. Zhang [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2019. – Vol. 144, № 9. – P. 2099-2108.
7. Low-fat cheese in the focus of dietary nutrition / S. Gm [et al.] // *Vopr. Pitan.* – 2022. – Vol. 91, № 5.
8. Cheeses with reduced sodium content: Effects on functionality, public health benefits and sensory properties / A. G. Cruz [et al.] // *Trends Food Sci. Technol.* – 2011. – Vol. 22, № 6. – P. 276-291.
9. Reduction of Sodium and Fat Levels in Natural and Processed Cheeses: Scientific and Technological Aspects / M. E. Johnson [et al.] // *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* – 2009. – Vol. 8, № 3. – P. 252-268.
10. Improvement of the quality of low-fat cheese using a two-step strategy : 2012 IDF International Symposium on Cheese Ripening and Technology / S. Skeie [et al.] // *Int. Dairy J.* – 2013. – Vol. 33, № 2. – P. 153-162.
11. Properties of polysaccharides and glutamine transaminase used in mozzarella cheese as texturizer and crosslinking agents / H. Li [et al.] // *LWT*, 2019. – Vol. 99 – P. 411-416.
12. Karaman, A. D. Improving quality characteristics of reduced and low fat Turkish white cheeses using homogenized cream / A. D. Karaman, A.S. Akalın // *LWT - Food Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 50, № 2. – P. 503-510.
13. Manufacture of low-fat Cheddar cheese by exopolysaccharide-producing *Lactobacillus plantarum* JLK0142 and its functional properties / J. Wang [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2019. – Vol. 102, № 5. – P. 3825-3838.
14. Influence of probiotic adjunct cultures on the characteristics of low-fat Feta cheese / M. E. Ahmed

- [et al.] // *Food Sci. Nutr.* – 2021. – Vol. 9, № 3. – P. 1512-1520.
15. Savijoki, K. Proteolytic systems of lactic acid bacteria / K. Savijoki, H. Ingmer, P. Varmanen // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2006. – Vol. 71, № 4. – P. 394-406.
16. Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria / M. Kieliszek [et al.] // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, № 7. – P. 1858.
17. McSweeney, P. L. H. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review / P. L. H. McSweeney, M. J. Sousa // *Le Lait.* – 2000. – Vol. 80, № 3. – P. 293-324.
19. Torino, M. I. Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages / M. I. Torino, G. Font de Valdez, F. Mozzi // *Front. Microbiol.*, 2015. – Vol. 6 – P. 834.
20. Hassan, A. N. ADSA Foundation Scholar Award : Possibilities and challenges of exopolysaccharide-producing lactic cultures in dairy foods / A. N. Hassan // *J. Dairy Sci.* – 2008. – Vol. 91, № 4. – P. 1282-1298.
21. М. В. Залашко. Исследования протеолитической активности молочнокислых бактерий / М. В. Залашко, Н. В. Образцова, Э. И. Савченко // *Наука и техника*, 1970. – С. 56-68.
21. М. В. Залашко. Issledovanija proteoliticheskoj aktivnosti molochnokislyh bakterij [Studies of proteolytic activity of lactic acid bacteria] / M. V. Zalashko, N. V. Obrazcova, Je. I. Savchenko // *Nauka i tehnika*, 1970. – S. 56-68.
22. В. В. Лысак. Микробиология : учебное пособие / В. В. Лысак. – Минск : БГУ, 2007. – 430 с.
22. V. V. Lysak. Mikrobiologija [Microbiology] : uchebnoe posobie / V. V. Lysak. – Minsk : BGU, 2007. – 430 s.
23. Growth phase and growth medium effects on the peptidase activities of *Lactobacillus helveticus* / O. Kenny [et al.] // *Int. Dairy J.* – 2003. – Vol. 13, № 7. – P. 509-516.
24. Microbial response to environmental stresses : from fundamental mechanisms to practical applications / N. Guan [et al.] // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2017. – Vol. 101, № 10. – P. 3991-4008.
25. Hebert, E. M. Nutritional requirements and nitrogen-dependent regulation of proteinase activity of *Lactobacillus helveticus* CRL 1062 / E. M. Hebert, R. R. Raya, G. S. De Giori // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2000. – Vol. 66, № 12. – P. 5316-5321.
26. Functional characterization of the proteolytic system of *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM 20451T during growth in sourdough / N. Vermeulen [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – Vol. 71, № 10. – P. 6260-6266.
27. Гудков А. В. Сыроделие : технологические, биологические и физико-химические аспекты / Гудков А. В. – Москва : ДеЛи принт, 2004. – 804 с.
27. Gudkov A. V. Syrodelie : tehnologicheskie, biologicheskie i fiziko-himicheskie aspekty [Cheese making: technological, biological and physico-chemical aspects] / Gudkov A. V. – Moskva : DeLi print, 2004. – 804 s.
28. Production and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum* suitable for cheese lipolysis / M. Esteban-Torres [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2014. – Vol. 97, № 11. – P. 6737-6744.

-
29. Tanasupawat, S. Characterization and lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat / S. Tanasupawat, M. Phoottosavako, S. Keeratipibul // *J. Appl. Pharm. Sci.* – 2015. – Vol. 5, № 3. – P. 006-012.
30. Collins, Y. F. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge / Y. F. Collins, P. L. H. McSweeney, M. G. Wilkinson // *Int. Dairy J.* – 2003. – Vol. 13, № 11. – P. 841-866.
31. Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins / I. García-Cano [et al.] // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 103, № 13. – P. 5243-5257.
32. Characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 isolated from Tibet Kefir / J. Wang [et al.] // *Carbohydr. Polym.*, 2015. – Vol. 125 – P. 16-25.
33. Isolation and characterisation of exopolysaccharide-producing *Weissella* and *Lactobacillus* and their application as adjunct cultures in Cheddar cheese / K. M. Lynch [et al.] // *Int. Dairy J.* – 2014. – Vol. 34, № 1. – P. 125-134.