

Յ. Խ. ԴԻԼԱՆՅԱՆ, Վ. Ա. ԿՄԱՆՅԱՆ

НАКОПЛЕНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ МОЛОЧНОКИСЛЫМИ ПАЛОЧКАМИ

Изучению биохимических свойств молочнокислых бактерий, входящих в состав заквасок, используемых при производстве молочных продуктов, придается большое значение. Роды, виды и отдельные штаммы молочнокислых бактерий продуцируют различные протеолитические ферменты, под влиянием которых в молочных продуктах наряду с образованием молочной кислоты происходит гидролиз белков. Ряд исследователей [8 и др.] выяснил, что молочнокислые палочки обладают более мощной протеолитической активностью, чем кокки, и более развитым комплексом пептидаз, а кокки—протеиназ. Браз и Аллен, культивируя молочнокислые стрептококки и палочки, установили, что первые расщепляли белок до протеоз и пептонов, а вторые—преимущественно до аминокислот.

В настоящей работе нами изучен характер распада белков и накопления аминокислот отдельными штаммами протеолитически активных палочек разных видов в одних и тех же условиях. Изучение этого вопроса даст нам дополнительные сведения о физиологических свойствах отдельных штаммов. Так как свободные аминокислоты являются обязательными компонентами любого вида сыра и они создают основной вкусовой фон, называемый сырным, мы отчасти сможем разрешить вопрос влияния отдельных видов на образование вкуса сыра.

Штаммы высевались в стерильное молоко и выдерживались в термостате при оптимальных температурах их развития (35—45°) в течение 15 суток. Ниже приведены данные по содержанию свободных аминокислот в молоке, в котором культивировались молочнокислые палочки.

Как видим из табл. 1, в молоке обнаружены 16 свободных аминокислот в количестве 1,214 мг%. По данным Диланяна [1] эта цифра равна 1,814 мг%. Данные Тихомировой [7] также говорят о том, что сумма свободных аминокислот в молоке колеблется от 0,5 до 2 мг%. Все исследования в дальнейшем велись с 47 протеолитически активными штаммами, которые были отобраны из большого числа молочнокислых палочек. В результате идентификации они были отнесены к 4 видам: *L. lactis* (17), *L. bulgaricum* (7), *L. helveticum* (14), *L. casei* (9 шт.). Затем штаммы, относящиеся к указанным видам, были исследованы на характер накопления свободных аминокислот. Определение свободных аминокислот производили по методике Ельцовой—Чеботарева. Количественное определение велось по методу Бодэ. Расчеты производились по калибровочным кривым. Накопление свободных аминокислот по видам приводится в табл. 2.

Таблица 1
Количество свободных аминокислот в молоке
(мг ‰)

Аминокислоты	Количество
Лизин + гистидин	0,180
Аргинин	0,135
Аспарагиновая кислота	0,152
Глицин + серин	0,142
Глутаминовая кислота + треонин	0,082
Аланин	0,082
Пролин	+
Валин + метионин	0,168
Фенилаланин	0,273
Лейцин + изолейцин	следы
Итого	1,214 мг‰

Таблица 2

Накопление свободных аминокислот отдельными видами молочнокислых палочек в заквашенном молоке (в мг ‰)

Аминокислоты	L. lactis M+m	L. bulgaricum M+m	L. helveticum M+m	L. casei L M+m
Цистин	15,1±7,9	12,0±6	21,9±13,1	15,2±6,1
Лизин + гистидин	19,0±10,0	13,3±7,1	20,0±12,6	17,8±13,1
Аргинин	14,3±13,7	12,1±8,3	13,4±10,1	10,7±3,2
Аспарагиновая кислота	20,2±14,4	6,9±3,4	14,9±8,1	32,0±17,3
Серин + глицин	22,3±7,3	22,9±11,3	34,5±6,0	21,3±9,6
Глутаминовая кислота + треонин	37,1±19,0	26,5±12,1	65,7±27,1	34,0±9,3
Аланин	11,6±6,2	11,1±8,3	29,3±21,3	24,0±11,2
Пролин	+	+	+	+
Тирозин	24,6±13,1	11,5±6,3	33,0±10,0	33,4±11,7
Валин + метионин	22,7±17,4	9,0±5,2	34,6±8,3	31,7±18,4
Триптофан	8,7±3,1	15,8±10,1	—	8,7±3,6
Фенилаланин	28,5±10	23,4±18,3	55,1±23,1	31,6±16,9
Лейцин + изолейцин				

У отдельных штаммов, в пределах вида *L. lactis*, количество аминокислот сильно колеблется. Так, например, суммарное накопление аминокислот у штамма № 1835 составляет 105,6 мг‰, в то время как у штаммов № 1623 и 1850 оно соответственно равно 335 и 347 мг‰. Штаммы *L. lactis* накапливают относительно много глутаминовой кислоты и треонина, затем фенилаланина с лейцином и изолейцином. Имеется ряд штаммов, который не накапливает серина и глицина (№ 1588, 1619, 1858, 1626), а большинство штаммов — триптофана. Штаммы 1623 и 1850

образуют отдельные аминокислоты почти в одинаковых количествах, а у остальных замечается большой диапазон колебаний (например, штамм 1760 образует 7,4 мг% валина с метионином, а штамм 1623 образует 55 мг%, или штамм 1808 аргинина совсем не накапливает, а 1850—71 мг%. Горькие и сладкие аминокислоты по виду *L. lactis* в целом составляют 99,1 и 71 мг%. Несмотря на такое преобладание аминокислот с горьким вкусом, встречаются отдельные штаммы, у которых аминокислот со сладким вкусом больше, чем с горьким, например, штамм 1762 образует 117,3 сладких против 95,9 мг% горьких, № 1622 накапливает в 1,5 раза больше сладких, чем горьких, а штамм 1582—почти в 4 раза.

Последовательность расположения в порядке убывания количества аминокислот у *L. bulgaricum* такая же, как и у *L. lactis*, а именно: глутаминовая кислота, фенилаланин и т. д. Внутри вида имеются штаммы как с низким, так и с высоким накоплением аминокислот (1591 образует 107,6, а 1749—299,4 мг%). Здесь также имеются два штамма № 1629 и 1749, накапливающие одинаковые количества отдельных аминокислот. В отличие от *L. lactis*, где все штаммы образовывали цистин, среди *L. bulgaricum* имеются три штамма (№ 1556, 1591 и 1632), не накапливающие цистина. В процентном отношении меньше всего накапливается аспарагиновая кислота. *L. bulgaricum* образует наибольшее количество триптофана по сравнению с другими видами. Этот вид накапливает как горькие, так и сладкие аминокислоты почти в одинаковых количествах (68,3 горьких против 60,5 мг% сладких) за исключением лишь одного штамма 1591, где количество сладких аминокислот в 3,5 раза больше, чем горьких.

L. helveticum отличается от предыдущих видов тем, что его отдельные штаммы накапливают аминокислоты в больших количествах (например, штаммы 64 и 1715 дают соответственно 543,9 и 527,4 мг%).

Главными компонентами аминокислотного состава являются глутаминовая кислота с треонином, составляющая до 20,5% от общей суммы аминокислот, фенилаланин с лейцином и изолейцином—16,4% и валин с метионином—10,7%. У *L. helveticum*, так же как и у *L. bulgaricum* меньше всего накапливается аспарагиновой кислоты. Среди штаммов *L. helveticum* накопления такой аминокислоты, как триптофан, нами не было обнаружено. Серина и глицина не накапливают штаммы 1666, 1574. Вид *L. helveticum*, так же как и *L. bulgaricum* накапливает примерно в равных количествах сладких и горьких аминокислот (129,5 сладких и 124,6 мг% горьких). Однако штамм 1890 накапливает горьких аминокислот больше, чем сладких (121 мг% против 98).

По количеству накопленных аминокислот отдельные штаммы *L. casei* приближаются к *L. helveticum* (57 дает 518,8, а 70—472,8 мг%). Однако процент образованных отдельных аминокислот внутри вида несколько иной: так, глутаминовая кислота с треонином составляет 14,3%, тирозин—14,1 и аспарагиновая кислота—13,6%. Отдельные штаммы отличаются друг от друга по количеству накопленных аминокислот в 2,5—

3 раза. Наши данные подтверждают данные Кнауца, Карниака и Юзевича [9], у которых эта цифра равна 3,3.

В отличие от видов *L. helveticum* и *L. bulgaricum* вид *L. casei* накапливает горьких аминокислот в 1,5 раза больше, чем сладких (130 против 85 мг%). Внутри вида встречаются штаммы, у которых это отношение приближается к 3,1 (штамм № 70).

Резюмируя сказанное, мы видим, что суммарное накопление свободных аминокислот у изученных видов происходит в убывающей степени в следующем порядке: *L. helveticum*, *L. casei*, *L. lactis*, *L. bulgaricum*. Такого явления не наблюдается в отношении накопления отдельных аминокислот у штаммов этих видов. Так, например, аргинина *L. lactis* накапливает больше чем *L. helveticum*, аспарагиновой кислоты и тирозина больше накапливается у *L. casei*, чем у остальных видов, а триптофана больше всего накапливает *L. bulgaricum*.

L. helveticum и *L. casei* местных молочнокислых штаммов накапливают большие количества аминокислот, чем *L. lactis*, *L. bulgaricum*. Эти данные по *L. helveticum* совпадают с данными Шидловской и Дьяченко, Кнауца, по *L. casei* с данными Кнауца: по *L. lactis* с данными Шидловской и Дьяченко и Кнауца и по *L. bulgaricum* с данными Кнауца. По суммарному накоплению аминокислот изученные нами штаммы *L. casei*, *L. helveticum* и *L. lactis* превосходят соответствующие виды, приведенные Шидловской и Дьяченко в 2,9, 1,3 и 2,2 раза. Исключение составляет лишь *L. bulgaricum*, активность которого по накоплению аминокислот ниже на 25%.

Все изученные нами виды по сравнению с данными Шидловской и Дьяченко образуют больше горьких аминокислот, сладкие же аминокислоты больше образуют только штаммы *L. casei* и *L. lactis*. Местные штаммы *L. lactis*, *L. helveticum* в больших количествах образуют все аминокислоты, за исключением аланина. По данным вышеприведенных авторов *L. casei* валина и лейцина не образует, в то время как у нас первый колеблется от 4 до 59,6 мг%, а второй—от 7,5 до 42,5 мг%. Исследованные нами молочнокислые палочки в отличие от сравниваемых накапливают такие аминокислоты, как тирозин, метионин и триптофан.

В ы в о д ы

1. Изученные нами местные штаммы молочнокислых палочек накапливают большие количества (более 500 мг%) свободных аминокислот.

2. Наибольшее количество свободных аминокислот накапливает вид *L. helveticum*, за ним в убывающем порядке следует *L. casei*, *L. lactis* и *L. bulgaricum*.

3. Все виды молочнокислых палочек в наибольших количествах накапливают глутаминовую кислоту и треонин.

4. Среди отдельных штаммов внутри видов наблюдаются сильные колебания. В накоплении аминокислот у отдельных штаммов превышение бывает трехкратное.

5. Виды *L. lactis*, *L. casei* и *L. bulgaricum* накапливают 19 свободных аминокислот, а *L. helveticum* — 18.

Ереванский зооветеринарный институт

Поступило 12.V 1968 г.

Ձ. Ք. ԴԻԼԱՆՅԱՆ, Վ. Հ. ԹՈՒՄԱՆՅԱՆ

ԱԶԱՏ ԱՄԻՆԱԹՔՈՒՆՆԵՐԻ ԿՈՒՏԱԿՈՒՄՐ ՊՐՈՏՆՈՒՄԻԿ ԱԿՏԻՎ
ԿԱԹՆԱԹՔՎԱՅԻՆ ՑՈՒՊԻԿՆԵՐԻ ԿՈՂՄԻՑ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Բազմաթիվ հետազոտողներ (Բոգդանով, Սկորոդումովա, Պալադինա, Ինիսով և ուրիշ.) ցույց են տալիս, որ կաթնաթթվային բակտերիաների տարբեր ցեղեր, տեսակներ և առանձին շտամներ արտադրում են զանազան պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ, որոնց ազդեցության տակ կաթնամթերքներում, կաթնաթթվի կուտակումից բացի, ընթանում է նաև սպիտակուցների հիդրոլիզը:

Բրազը և Ալլենը, հետազոտելով կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերը և ցուպիկները, հայտնաբերել են, որ առաջինները ճեղքում են սպիտակուցները մինչև պրոտոզներն ու պեպտոնները, իսկ երկրորդները՝ հիմնականում մինչև ամինաթթուները:

Այս աշխատության մեջ մենք ուսումնասիրել ենք սպիտակուցների քայքայման բնույթը և պրոտեոլիտիկ ակտիվ ցուպիկների տարբեր տեսակի առանձին շտամների կողմից ամինաթթուների կուտակումը միանման պայմաններում: Շտամները ցանվել են ստերիլ կաթի մեջ և պահվել թերմոստատում 15 օր, նրանց աճման համար օպտիմալ ջերմաստիճաններում (35—45°): Հետագա հետազոտությունները կատարվել են մեծ թվով կաթնաթթվային ցուպիկներից առանձնացված 47 պրոտեոլիտիկ ակտիվ շտամների վրա: Իդենտիֆիկացիայի միջոցով հայտնաբերվել է, որ նրանք պատկանում են 4 տեսակների՝ *L. helveticum*, *L. casei*, *L. bulgaricum* և *L. lactis*: Ազատ ամինաթթուները որոշվել են Չեբոտարևի և Նլցովայի մեթոդով:

Հետազոտություններից պարզվել է, որ մեր ուսումնասիրած կաթնաթթվային ցուպիկների տեղական շտամները կուտակում են մեծ քանակությամբ ազատ ամինաթթուներ (ավելի քան 500 մգ%): Ուսումնասիրված տեսակներից բոլորից շատ ամինաթթու կուտակում են *L. helveticum*-ը, այնուհետև *L. casei*-ն, *L. lactis*-ը և *L. bulgaricum*-ը: Կաթնաթթվային ցուպիկների բոլոր տեսակները բոլորից շատ կուտակում են զլուտամինաթթու և թրեոնին: Նույն տեսակի ներսում առանձին շտամների կողմից ազատ ամինաթթուների կուտակումը ուժեղ տատանվում է (մինչև եռակի անգամ): *L. lactis*, *L. casei* և *L. bulgaricum* տեսակները կուտակում են 19 ազատ ամինաթթուներ, իսկ *L. helveticum*-ը՝ 18:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Диланян З. Х. Сыроделне, Изд. пищ. пром., 1967.
2. Диланян З. Х. Молочное дело, Изд. «Колос», 1967.
3. Ельцова А. И., Чеботарев А. П. Пищевая технология, 151, 1958, 2.
4. Климовский И. И. Биохимические и микробиологические основы производства сыра. 1966.
5. Магакьян Д. Т. Прикладная биохимия и микробиология, 2, вып. 3, 6, 1966.
6. Сорокин Ю. Ю. Исследование и выбор протеолитически активных штаммов молочнокислых бактерий для производства голландского сыра, 1967.
7. Тихомирова Т. К. Молочная промышленность, 3, 1961.
8. Шидловская В. П., Дьяченко П. Ф. Протеолитическая активность молочнокислых бактерий, 1966.
9. Knaut T., Karniera H., Usajewich I. XVII Internationaler Milchwirtschaft congress München, 1966.
10. Miller I., Martin H., Kandeer O. Das aminosaurespectrum von joghurtmilchwissenschaft, 19, 1, 1964.