

З. Х. ДИЛАНЯН, Л. А. ОСТРОУМОВ

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ ПАЛОЧЕК В СВЯЗИ С ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАКВАСКАХ ДЛЯ СОВЕТСКОГО СЫРА

В основе производства натуральных сыров лежат биохимические превращения составных частей сырной массы (белка, молочного сахара, жира и других), происходящие под воздействием сычужного фермента и ферментов бактериального происхождения [1, 2, 3, 22]. Используемые в настоящее время закваски представляют собой комбинацию селекционных культур молочнокислых бактерий.

Особенно важная роль в сырах с высокими температурами второго нагревания принадлежит молочнокислым палочкам. Обычно в заквасках для сыров этого типа используются штаммы молочнокислых палочек *L. helveticum* и *L. lactis* [4, 5, 7]. Отдельные авторы рекомендуют вводить в заквасочные культуры *L. bulgaricum*, *L. casei*, *L. acidophilum* [3, 6, 8, 9].

Кроме видового состава микрофлоры, качество сыра во многом определяется индивидуальными особенностями культур, входящих в состав закваски, и взаимоотношениями между ними. Поэтому при подборе штаммов молочнокислых палочек для бактериальной закваски необходимо учитывать их физиолого-биохимические свойства, чувствительность к бактериофагу и способность вызывать пороки в сыре.

Исследованиями последних лет установлено, что на качество сыров существенно влияют такие свойства заквасочных культур, как протеолитическая активность, интенсивность кислотообразования, качество и тип образуемых карбонильных соединений, накопление свободных аминокислот и ряд других [10—16, 23—26].

Закваска, состоящая из штаммов молочнокислых культур с недостаточной протеолитической активностью, может быть причиной появления в сыре горького вкуса и других пороков [17—21].

Исходя из сказанного, при составлении опытных вариантов бактериальных заквасок для советского сыра нами изучались следующие основные свойства молочнокислых палочек: протеолитическая активность, способность накапливать свободные аминокислоты, титруемая кислотность, термоустойчивость, плотность образуемого сгустка и его способ-

ность к синерезису, количество образуемых ацетона и летучих кислот (табл. 1, 2).

Таблица 1

Свойства молочнокислых палочек
(характеристика отдельных представителей изученных штаммов)

Вид штамма	№ штамма	Кислотность, °Т		Протеолиз, мг 0,1 N	Синерезис, %	Плотность, г/см ³	Ацетон, мл/л	Летучие кислоты, мл	Термоустойчивость при 60 °С	
		за 1 сутки	за 7 суток						30 мин	60 мин
L. casei	B ₂	240	270	32	53	0,9	9,3	8,5	+	—
L. casei	B ₁₀	90	184	20	15	1,2	7,3	9,5	+	+
L. casei	B ₁₆	226	270	8	38	1,2	8,6	10,5	+	—
L. casei	116	180	310	14	42	1,0	10,3	10,0	+	+
Среднее (M+m)		+175 — 68	+258 — 55	+19 — 11	+38 — 16	+1,1 — 0,2	+ 8,8 — 1,2	+ 9,7 — 0,8	100%	50%
L. helveticum	A ₃	208	270	36	15	0,8	11,7	12,5	+	+
L. helveticum	A ₉	210	290	40	55	1,1	11,5	11,0	+	+
L. helveticum	B ₁	104	180	26	8	1,0	14,6	11,5	+	—
L. helveticum	B ₁₅	140	300	10	56	1,0	12,7	10,0	+	—
L. helveticum	B ₁₈	194	260	22	10	0,8	11,4	10,0	+	—
Среднее для 18 штаммов (M+m)		+164 — 35	+267 — 32	+26 — 9	+36 — 16	+0,9 — 0,05	+12,0 — 1,5	+11,0 — 1,5	100%	72%
L. lactis	A ₁	180	310	30	—	0,8	15,0	10,5	+	+
L. lactis	B ₁₃	120	200	22	28	0,6	13,9	11,0	+	+
L. lactis	10 ₁₀	150	200	34	33	0,9	14,5	10,0	+	+
L. lactis	10 ₁₃	120	300	18	46	0,6	17,0	10,0	+	+
L. lactis	11 ₅	200	290	28	28	0,8	16,5	11,0	+	+
Среднее для 12 штаммов (M+m)		+153 — 34	+257 — 53	+23 — 5	+38 — 16	+0,8 — 0,7	+16,0 — 1,2	+11,0 — 0,7	100%	100%
L. bulgaricum	B ₁₂	120	160	30	56	0,8	10,8	13,5	+	—
L. bulgaricum	1 ₁₅	150	242	18	53	0,7	11,3	15,0	+	—
L. bulgaricum	9 ₇	152	270	28	25	1,0	10,5	15,0	+	—
L. bulgaricum	10 ₁₉	104	170	24	55	0,7	11,5	14,0	+	—
Среднее для 7 штаммов (M+m)		+133 — 20	+217 — 53	+25 — 5	+42 — 13	+0,8 — 0,1	+11,2 — 0,7	+14,3 — 0,9	100%	—

Штаммы молочнокислых палочек выделялись из молока и советского сыра разного возраста. Всего было выделено около 300 различных штаммов, из которых по протеолитической активности и вкусу был отобран 41 штамм и идентифицирован как *L. helveticum*—18, *L. lactis*—12, *L. bulgaricum*—7 и *L. casei*—4.

Результаты исследований показали, что различные штаммы молочнокислых палочек одного и того же вида значительно отличаются по своим свойствам.

Титруемая кислотность через 24 час. культивирования при оптимальной температуре колебалась у штаммов *L. casei* от 90 до 240°Т, *L. helveticum*—110—210°Т, *L. lactis*—108—200°Т и *L. bulgaricum*—104—152°Т. Через 7 суток культивирования кислотность у штаммов названных выше видов соответственно варьировала в пределах 184—310°Т, 180—300°Т, 150—310°Т и 160—280°Т. Наибольшее число сильных кис-

Таблица 2

Накопление штаммами молочнокислых палочек свободных аминокислот
(характеристика отдельных представителей изученных штаммов)
(в % к общему количеству)

№№ штаммов		Лизин	Гистидин	Аргинин	Аспарагин. к-та ³	Серин	Глицин	Глутамин. кислота	Треонин	Аланин	Тирозин	Валин+ Метионин	Фенилала- нин	Лейцин+ изолейцин	Всего, мг %
L. casei	B ₂	—	—	—	9,3	—	8,0	31,3	—	—	—	10,1	29,6	11,7	3,750
	B ₁₀	—	—	2,9	5,9	11,9	7,7	10,2	5,0	4,3	—	12,9	—	30,2	5,945
	B ₁₉	—	9,1	—	7,1	6,5	6,2	24,0	10,0	—	—	7,7	20,1	9,3	4,800
	B ₁₆	5,9	5,6	—	8,8	7,6	2,8	14,8	7,4	—	—	9,2	26,4	11,5	4,210
Средние для 4 штаммов															
		1,5	3,7	0,7	7,7	6,5	6,2	20,1	5,6	1,1	—	10,0	19,0	17,0	4,7±0,9
L. helveticum	A ₂	8,2	7,7	20,0	—	—	11,8	—	5,1	4,0	—	13,1	—	30,1	5,755
	A ₃	—	—	11,1	5,8	22,0	4,7	—	4,0	—	10,3	7,3	—	34,8	10,575
	A ₉	—	—	—	5,3	4,3	9,3	38,5	—	—	12,8	5,7	23,6	—	6,550
	B ₁	—	10,9	10,9	—	11,8	9,8	8,9	4,1	—	6,9	9,8	15,0	11,9	7,615
	B ₁₅	9,2	4,8	16,2	6,3	9,5	4,7	19,3	12,3	2,5	—	10,9	—	4,3	9,485
Средние для 18 штаммов															
		6,7	5,8	8,7	7,2	7,7	5,5	12,2	6,3	3,3	3,0	10,0	11,0	12,6	7,5±2,4
L. lactis	A ₁	—	—	—	6,3	19,7	—	12,2	8,8	7,2	—	13,8	19,3	12,7	5,595
	A ₈	7,3	3,6	4,0	5,7	11,0	1,6	8,0	2,3	1,8	4,2	14,0	17,7	18,8	13,665
	B ₁₄	—	2,9	4,9	6,4	3,5	4,5	33,8	1,5	—	7,4	8,1	27,1	—	16,460
	B ₁₆	10,5	9,8	17,2	7,3	6,7	8,6	14,3	10,3	7,2	—	8,1	—	—	4,610
	B ₁₅	—	3,3	9,2	—	2,6	1,7	12,1	2,2	1,8	6,5	5,5	49,1	6,0	12,885
Средние для 12 штаммов															
		5,4	5,4	8,5	5,6	7,0	3,1	15,4	4,4	4,3	4,2	9,8	19,6	7,5	9,6±5,1
L. bulgaricum	B ₁₂	—	9,2	10,3	7,5	4,1	3,7	32,3	—	—	5,0	9,6	—	18,3	7,835
	B ₂₂	7,2	13,9	11,6	10,8	4,7	3,6	8,1	4,7	2,8	9,6	—	16,4	6,5	6,790
	B ₁₅	3,2	2,0	7,5	5,6	5,0	5,8	19,2	5,0	9,1	—	6,1	17,5	14,0	6,060
	B ₁₉	—	5,5	—	—	3,9	—	19,6	5,6	5,9	—	11,6	29,6	18,3	8,090
L. bulgaricum	B ₁₇	8,7	—	—	6,5	6,1	—	22,6	8,9	—	—	14,6	20,8	11,8	5,270
Средние для 7 штаммов															
		3,8	6,1	5,9	6,1	4,8	2,6	20,4	4,8	3,6	2,9	8,4	16,8	13,8	6,7±1,2

лотообразователей встречалось у штаммов L. lactis и L. helveticum, наиболее слабых — у L. bulgaricum.

Данные по протеолитической активности, определяемой методом Вильштеттера, приведены также в табл. 1.

Внутри каждого вида отмечены штаммы молочнокислых палочек со значительными различиями в протеолитической активности.

Активность сильных в протеолитическом отношении штаммов L. casei по сравнению со слабыми штаммами этого же вида выше в 3,0

раза, у *L. helveticum* — 3,3 раза, у *L. lactis* и *L. bulgaricum* — около 1,5 раза.

Большая часть изучаемых штаммов образовывала характерный плотный сгусток и обладала хорошей синергетической способностью. Изучение ее на приборе Мещерякова показало, что наибольшей плотностью обладали сгустки, образуемые штаммами *L. casei* и *L. helveticum* (1,1 и 0,9 г/см²). Принцип данного метода заключается в погружении конуса определенного веса и размеров в сгусток.

Синергетические свойства определяли по количеству выделившейся сыворотки после суточного культивирования штамма. В среднем она была одинакова у всех видов и составляла 36—42%.

Способность штаммов образовывать ацетон и летучие кислоты определялась методом, описанным Скородумовой [22]. Установлено, что все штаммы молочнокислых палочек характеризуются способностью образовывать данные соединения. Наибольшее количество ацетона образовывали штаммы *L. lactis* (16,0 мл/л), а летучих кислот — *L. bulgaricum* (14,3 мл/л), наименьшее — *L. casei* (8,8 и 9,7 мл/л).

Термоустойчивость штаммов устанавливали путем выдержки культуры при 60°C в течение 30 и 60 мин. Это свойство особенно важно при подборе штаммов для составления бактериальных заквасок для сыров с высокой температурой второго нагревания, которая, как правило, составляет 55—56°C.

Все исследуемые штаммы выдерживают нагревание до 60°C в течение 30 мин. Более длительная выдержка штаммов при 60°C (до 60 мин) по-разному сказалась на их жизнедеятельности. Среди *L. casei* погибло 50% штаммов, *L. helveticum*—28%, *L. lactis* — ни одного, а *L. bulgaricum*—100%.

В табл. 2 приводятся данные, характеризующие накопление штаммами молочнокислых палочек свободных аминокислот, количественное определение которых проводилось методом хроматографии на бумаге после культивирования штамма в течение 7 суток при оптимальной температуре в условиях свободного нарастания кислотности.

Изученные штаммы по суммарному продуцированию свободных аминокислот расположились в следующем порядке: *L. lactis* ($9,6 \pm 5,1$ мг %), *L. helveticum* ($7,5 \pm 2,4$ мг %), *L. bulgaricum* ($6,7 \pm 1,2$ мг %) и *L. casei* ($4,7 \pm 0,9$ мг %).

Однако внутри видов обнаружены резкие колебания по количеству образуемых аминокислот. Соотношение между наибольшим и наименьшим количествами аминокислот, накапливаемых штаммами одного вида, составило для *L. lactis* — 4,3, для *L. helveticum* — 3,0, для *L. bulgaricum* — 1,5 и для *L. casei* — 1,6.

Большим различием характеризуются штаммы по накоплению отдельных аминокислот.

Штаммы *L. casei* накапливают относительно много глютаминовой кислоты (20,1% общего количества), фенилаланина (19,0%), лейци-

на с изолейцином (17,9%), мало — аланина (1,1%), лизина (1,5%) и аргинина (0,7%), при полном отсутствии орнитина, цистина и тирозина. Имеется ряд штаммов, которые вообще не накапливают лизина, гистидина, аланина и аргинина.

У штаммов *L. helveticum* преобладают те же аминокислоты, что и у *L. casei*, но их относительное количество несколько иное: лейцин с изолейцином—12,6%, глутаминовая кислота—12,2%, фенилаланин—11,0%. Внутри вида встречаются штаммы диаметрально противоположные по качественному составу свободных аминокислот. Так, штамм A_2 , не образуя глутаминовой кислоты, серина, фенилаланина, тирозина и аспарагиновой кислоты, в большом количестве накапливает лейцин с изолейцином, аргинин, лизин и гистидин. В противоположность ему штамм B_1 совершенно не образует лейцина с изолейцином, аргинина, лизина, гистидина и аланина, накапливая много глутаминовой кислоты, фенилаланина, тирозина и некоторые другие аминокислоты. У отдельных штаммов данного вида обнаружено до 17—18, а у других—6—8 свободных аминокислот.

Среди штаммов *L. lactis* и *L. bulgaricum* доминируют фенилаланин и глутаминовая кислота, при малом количестве глицина, тирозина и аланина. Здесь также встречаются самые различные штаммы. Так, штаммы 10_6 , B_{14} , B_{12} образуют в 4 раза больше глутаминовой кислоты, чем штаммы A_8 , B_{13} , B_{22} .

Проведенные исследования по изучению способности молочнокислых палочек накапливать при культивировании в молоке свободные аминокислоты согласуются с более ранними работами других авторов (А. И. Чеботарев, З. Х. Диланян, В. А. Туманян, В. П. Шидловская, П. Ф. Дьяченко), которые также указывают на существование большого многообразия в количественном и качественном составе свободных аминокислот, образуемых молочнокислыми бактериями.

Результаты настоящей работы использованы для подбора штаммов молочнокислых палочек при составлении бактериальных заквасок при выработке советского сыра. Отбирались штаммы, имеющие сильную степень корреляционной связи между способностью накапливать свободные аминокислоты и аминокислотным составом высококачественного зрелого советского сыра. При этом учитывались другие свойства штаммов, их видовая принадлежность и взаимоотношения между собой.

Следует отметить, что подбор штаммов молочнокислых бактерий при составлении заквасок с учетом их основных физиолого-биологических свойств является одним из путей повышения качества отечественных сыров. Поэтому необходимо шире проводить биохимические исследования в этом направлении, с целью подбора штаммов, полностью отвечающих требованиям сыроделия.

Ереванский зооветеринарный институт,
кафедра молочного дела

Поступило 10.IX 1969 г.

2. Խ. ԴԻԼԱՆՅԱՆ, Լ. Ա. ՕՍՏՐՈՈՒՄՈՎ

ՍՈՎԵՏԱԿԱՆ ՊԱՆԻՐՆԵՐԻ ՀԱՄԱՐ ԲԱԿՏԵՐԻԱԿԱՆ ՄԱԿԱՐԳՆԵՐԻ ՄԵՋ
ՕԳՏԱԳՈՐԾՎՈՂ ԿԱԹՆԱԹՎԱՅԻՆ ՅՈՒՊԿԵՆԵՐԻ ՖԻԶԻՈԼՈԳՈ-
ԲԻՈՔԵՄԻԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել են Ալթայի երկրամասի կաթնամթերքներից անջատված 41 շտամների թթվի, ացետոինի, ցնդող և ամինաթթուների առաջացման, պրոտեոլիտիկ շիճուկի անջատման և ջերմադիմացկունության հատկությունները: Ապացուցված է, որ միևնույն տեսակի տարբեր շտամներ միմյանցից զանազանվում են իրենց հատկություններով այնպես, ինչպես առանձին տեսակներ: Ակտիվ թթու գոյացնող շտամներ հանդիպում են *L. lactis*, *L. helveticum* տեսակների մոտ, իսկ թույլ թթու գոյացողներ՝ *L. bulgaricum* տեսակի մոտ: Բարձր պրոտեոլիտիկ ակտիվություն ունեցող շտամներ հանդիպում են յուրաքանչյուր տեսակի մեջ:

Ուսումնասիրված շտամների մեծ մասը գոյացնում են ամուր, բնորոշ մաշկարդ և ունեն շիճուկ անջատելու լավ հատկություն: Հաստատված է, որ բոլոր շտամներն էլ ունեն ալբումին, և ցնդող թթուներ գոյացնելու հատկություն:

Ավելի շատ ալբումին է գոյացնում *L. lactis* տեսակը, իսկ ցնդող թթուներ՝ *L. bulgaricum* տեսակը: Բոլոր շտամները դիմանում են 60° ջերմությանը 30 րոպեի ընթացքում: Ավելի երկար տաքացումը տարբերություն է առաջացնում տեսակների միջև. *L. casei*-ից ոչնչանում է միայն 50%-ը, իսկ *L. bulgaricum*-ից՝ 100%-ը:

Հստ ամինաթթուների կուտակման ավելի ակտիվ են հանդիսանում *L. lactis* տեսակի շտամները (9,6 մգ%), իսկ *L. casei*-ի ակտիվությունը ավելի թույլ է (4,7 մգ%): Յուրաքանչյուր տեսակի մեջ ամինաթթուների կուտակման հատկությունը տատանվում է 1,5-ից մինչև 4,3 անգամ:

Առանձին շտամներ բնորոշվում են ամինաթթուների կուտակման մեծ տարբերությամբ: *L. casei* տեսակի շտամները կուտակում են համեմատաբար շատ գլուտամինալին թթու, ֆենիլալանին, լեյցին և քիչ քանակությամբ ալանին, լիզին, արգինին-օրնիտինի, ցիստինի և տիրոզինի լրիվ բացակայության դեպքում: *L. helveticum*-ի մոտ լրիվ գերակշռում են նույն ամինաթթուները, բայց նրանց հարաբերական քանակությունը մի փոքր տարբեր է: *L. lactis*, *L. bulgaricum* շտամների մոտ գերակշռում են ֆենիլալանինը և գլուտամինաթթուն-գլիցինի, տիրոզինի և ալանինի քիչ պարունակության դեպքում:

Ստացված տվյալները օգտագործվել են սովետական պանիրների համար մակարդների կազմելու ժամանակ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексеев В. Н. Процесс созревания сыров и пути его ускорения, ЦИНТИПищепром, 1963.
2. Белоусова Н. Н., Гибшман М. Р. Молочная промышленность, 11, 35, 1961.

3. Волкова М. А. Микробиологические исследования процесса созревания кавказско-швейцарских и прямоугольных сыров, Сельхозгиз, Ереван, 1935.
4. Диланян З. Х. Сыроделие, Пищепромиздат, М., 1957.
5. Диланян З. Х. Молочная промышленность, 8, 31, 1968.
6. Диланян З. Х. Сб. докладов межвузовской конференции по мол. делу, 1969.
7. Диланян З. Х., Саркисян Р. А., Макарян К. В. Промышленность Армении, 7, 1969.
8. Диланян З. Х., Тер-Казарьян С. Ш., Вегаетян К. В. Прикладная биохимия и микробиология, 1969.
9. Диланян З. Х., Туманян В. А. Биологический журнал Армении, XXI, 8, 1968.
10. Диланян З. Х., Тер-Казарьян С. Ш. Сб. докладов межвуз. конф. по мол. делу, 1969.
11. Климовский И. И. Биохимические и микробиологические основы производства сыров, Пищепромиздат, М., 1966.
12. Климовский И. И., Гудков А. В., Алексеев В. Н. Разработка и совершенствование способов производства и применение бактериальных заквасок и других биологических препаратов в сыроделии с целью улучшения их качества, ВНИИМС, Углич, 1967.
13. Климовский И. И., Звягинцев В. И., Гудкова А. В. Молочная промышленность, 5, 26, 1969.
14. Королев С. А. Техническая микробиология молока и молочных продуктов, 2-е изд., Пищепромиздат, М., 1940.
15. Сорокин Ю. Ю. Исследование и выбор протеолитически активных штаммов молочнокислых бактерий для производства голландского сыра. Автореферат канд. диссертации, 1967.
16. Фостер Э. М. и др. Микробиология молока, Пищепромиздат, М., 1961.
17. Чеботарев А. И. Биохимические основы созревания сыров, Вологда, 1959.
18. Шарп М. XIV Международный конгресс по молочному делу, Пищепромиздат, М., 351, 1958.
19. Шидловская В. П., Дьяченко П. Ф. Протеолитическая активность молочнокислых бактерий. ЦИНТИПищепром, 1966.
20. Czulak J. Austral. J. dairy sci., v. 14, p. 177, 1959.
21. Czulak J., Shimmin P. Ibid., v. 14, 2, p. 96, 1961.
22. Demeter K. J., Janoschek A., Lünter E. Milchwissenschaft. Bd. 8, 12, s. 420, 1953.
23. Emmons D. B. et al. J. dairy sci., v. 45, 3, p. 332, 1966.
24. Emmons D., J. dairy sci., 3, 332, 1966.
25. Gordon D., Spec B. Appl. microbiol., 4, p. 537, 1965.
26. Vedamuth E. R. et al. J. dairy sci., v. 49, p. 144, 1966.