

Л. Г. АКОПЯН, Ф. Г. САРУХАНЯН

## ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ СТРЕПТОКОККОВ

В производстве заквасок сыра и разных видов молочных продуктов большое значение имеют протеолитические свойства используемых в производстве молочнокислых стрептококков.

В нашей стране впервые провели опыты по отбору молочнокислых бактерий с высокой протеолитической активностью Скородумова и Шушина [8]. В дальнейшем Белоусова, Гибшман [2], Климовский [6], Белоусова [3], Сорокин [10], Богданов [5] показали, что при отборе штаммов, наряду с некоторыми особенностями, необходимо определять также их протеолитическую активность.

До последних лет господствовало мнение, что молочнокислые бактерии не способны подвергать протеолизу белки молока. Считалось, что основной белок молока (казеин), как источник азота, недоступен им. Кроме того, находили, что молочнокислая флора в молоке начинает активно развиваться только тогда, когда гнилостные бактерии расщепляют белки до более простых соединений азота [11, 13].

Однако многочисленные исследования [1, 4, 9, 16] показали, что основная роль в гидролитическом расщеплении белков молока принадлежит молочнокислым бактериям. Последние производят целый комплекс протеиназ, состоящих из протеаз и пептидаз, соотношение которых в клетке у разных видов и штаммов неодинаково.

Несмотря на то, что роль протеолиза в азотном питании молочнокислых бактерий еще не полностью выяснена, большинство исследователей утверждает, что культуры, отличающиеся высокой протеолитической активностью, более жизнеспособны [12, 14, 15].

Мы задались целью изучить протеолитическую активность устойчивых (0,4%) и неустойчивых к большим концентрациям фенола штаммов *Streptococcus lactis*, *Str. thermophilus*, *Str. diacetylactis*. Нашей задачей являлось также установление связи между энергией кислотообразования и протеолитической активностью молочнокислых стрептококков *Str. lactis*, *Str. thermophilus*. Всего было исследовано 97 штаммов культур, выделенных из эпифитной микрофлоры растений и молочных продуктов.

Для определения протеолитической активности использовали метод формольного титрования по Шилевичу [13], учитывающий содержание свободных карбоксильных и аминных групп (мг%), характеризующих общее содержание аминокислот и полипепти-

дов. Одновременно был использован метод Максимовой и Грудзинской [7], учитывающий количественное содержание некоторых аминокислот (тирозина, триптофана, цистеина); пересчет вели условно на тирозин (в  $\gamma$ /мл).

Полученные данные (табл. 1) показывают, что протеолитическая активность разных видов и штаммов молочнокислых стрептококков неодинакова.

Таблица 1

Протеолитическая активность молочнокислых стрептококков на 2-е и 7-е сутки их развития

| Вид и № штамма               | Источник выделения | 2-е сутки                 |                           | Содержание аминного азота, мг % | 7-е сутки                 |                           | Азот свободных аминок групп, мг % |
|------------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
|                              |                    | тирозин, $\gamma$ /мл     |                           |                                 | тирозин, $\gamma$ /мл     |                           |                                   |
|                              |                    | в 3-хлорук-сусной кислоте | без казеиновой сы-воротки |                                 | в 3-хлорук-сусной кислоте | без казеиновой сы-воротки |                                   |
| Контроль (стерильное молоко) | —                  | 180                       | 135                       | 8,4                             | —                         | —                         | —                                 |
| Str. thermophilus 20         | мацун              | 272                       | 204                       | 19,6                            | 272                       | 204                       | 19,6                              |
| 30                           | мацун              | 232                       | 174                       | 19,6                            | 210                       | 157                       | 16,8                              |
| 40                           | мацун              | 218                       | 163                       | 21,0                            | 256                       | 192                       | 25,2                              |
| 594                          | мацун              | 264                       | 198                       | 19,6                            | 288                       | 216                       | 19,6                              |
| 303                          | сыр                | 256                       | 192                       | 25,2                            | 226                       | 169                       | 16,8                              |
| 346                          | сыр                | 225                       | 169                       | 16,8                            | 248                       | 186                       | 19,6                              |
| 757                          | сыр                | 232                       | 174                       | 21,0                            | 272                       | 204                       | 25,2                              |
| Str. lactis 663              | сыр                | 194                       | 145                       | 11,2                            | 210                       | 157                       | 16,8                              |
| 689                          | сыр                | 240                       | 180                       | 16,8                            | 256                       | 192                       | 19,6                              |
| Str. diacetylactis 399       | сыр                | 180                       | 135                       | 9,6                             | 200                       | 150                       | 12,6                              |
| 701                          | мацун              | 194                       | 145                       | 11,5                            | 226                       | 169                       | 16,8                              |
| Контроль (стерильное молоко) | —                  | 170                       | 127                       | 8,4                             | —                         | —                         | —                                 |
| Str. thermophilus 108        | растения           | 184                       | 138                       | 8,4                             | 160                       | 120                       | 8,4                               |
| 168                          | растения           | 218                       | 163                       | 19,6                            | 200                       | 150                       | 16,8                              |
| Str. lactis 164              | растения           | 180                       | 135                       | 9,8                             | 210                       | 157                       | 12,6                              |
| 174                          | растения           | 200                       | 150                       | 9,6                             | 170                       | 127                       | 8,4                               |
| Str. diacetylactis 158       | растения           | 304                       | 228                       | 25,2                            | 232                       | 174                       | 21,0                              |
| 163                          | растения           | 264                       | 198                       | 18,2                            | 280                       | 210                       | 30,8                              |
| 244                          | растения           | 272                       | 204                       | 25,0                            | 240                       | 180                       | 19,6                              |
| 230                          | растения           | 226                       | 169                       | 16,8                            | 272                       | 204                       | 19,6                              |

Сравнительно активной протеолитической активностью обладали штаммы Str. thermophilus 20, 303, 594, 757; Str. lactis 689.

Небезынтересно, что в этом отношении между молочнокислыми стрептококками, выделенными из эпифитной микрофлоры растений и молочных продуктов, наблюдается существенное различие. Штаммы Str. thermophilus и Str. lactis, выделенные из молочных продуктов, оказались более активными, чем те же виды, выделенные из эпифитной микрофлоры. Штаммы вида Str. diacetylactis обладали высокой протеолитической активностью в случае, если они выделялись из растений.

Так, например, штамм Str. thermophilus 20 на 2-е и 7-е сутки брожения при расщеплении белка образовал тирозина 204  $\gamma$ /мл и 19,6 мг% аминного азота, а штамм 757 соответственно—174 и 204  $\gamma$ /мл тирозина и 21,0, 25,2 мг% аминного азота.

В то время как у штамма *Str. thermophilus* 108, выделенного из эпифитной микрофлоры растений на 2-е сутки брожения, показатель по тирозину равнялся 138  $\gamma$ /мл и 8,4% аминного азота, а на 7-е—150  $\gamma$ /мл тирозина и 16,8 мг% аминного азота.

Аналогичные данные получены в отношении испытанных штаммов *Str. lactis* и *Str. diacetylactis* (табл. 1).

Таблица 2

Протеолитическая активность высокофенолустойчивых молочнокислых стрептококков на 2-е и 7-е сутки развития

| Вид и № штамма               | Источник выделения | 2-ые сутки                |                           | Содержание аминного азота, мг % | 7-ые сутки                |                           | Азот свободных аминок групп, мг % |
|------------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
|                              |                    | тирозин, $\gamma$ /мл     |                           |                                 | тирозин, $\gamma$ /мл     |                           |                                   |
|                              |                    | в 3-хлорук-сусной кислоте | без казеиновой сы-воротки |                                 | в 3-хлорук-сусной кислоте | без казеиновой сы-воротки |                                   |
| Контроль (стерильное молоко) | —                  | 184                       | 138                       | 8,4                             | —                         | —                         | —                                 |
| <i>Str. thermophilus</i> 121 | растения           | 264                       | 198                       | 21,6                            | 288                       | 216                       | 25,2                              |
| 90                           | мацун              | 304                       | 228                       | 22,8                            | 316                       | 237                       | 23,7                              |
| 600                          | мацун              | 288                       | 216                       | 19,6                            | 264                       | 198                       | 16,8                              |
| 356                          | сыр                | 344                       | 258                       | 21,0                            | 354                       | 265                       | 28,0                              |
| 359                          | сыр                | 272                       | 204                       | 25,2                            | 272                       | 204                       | 25,2                              |
| <i>Str. lactis</i> 690       | сыр                | 248                       | 186                       | 21,0                            | 280                       | 210                       | 30,8                              |
| 691                          | сыр                | 272                       | 204                       | 25,2                            | 248                       | 186                       | 19,6                              |
| 695                          | сыр                | 304                       | 237                       | 30,8                            | 304                       | 237                       | 30,8                              |
| 713                          | сыр                | 280                       | 210                       | 42,0                            | 256                       | 192                       | 25,2                              |
| 365                          | молоко             | 256                       | 192                       | 19,6                            | 264                       | 198                       | 21,0                              |

Необходимо отметить также, что фенолустойчивые штаммы молочнокислых стрептококков вызвали более активный протеолиз, чем штаммы менее устойчивые. Так, фенолустойчивый штамм 695 *Str. lactis* на 2-е и 7-е сутки брожения накапливал 237  $\gamma$ /мл тирозина и 30,8 мг% аминного азота (табл. 2), тогда как нефенолустойчивый штамм 663 *Str. lactis* на 2-е сутки образовал 145, а на 7-е сутки—157  $\gamma$ /мл тирозина и соответственно 11,2 и 16,8 мг% аминного азота (табл. 1).

Интересно, что некоторые штаммы молочнокислых стрептококков высокую протеолитическую активность проявляют на вторые, тогда как другие на седьмые сутки брожения (табл. 1, 2, 3).

Мы не обнаружили корреляции между кислотообразующей способностью и протеолитической активностью.

Как видно из данных табл. 3, у штаммов *Str. thermophilus* 372, 736 на 2-е сутки брожения активность протеолиза была выше на 30—37  $\gamma$ /мл тирозина, чем на 7-е, несмотря на сравнительно низкую кислотность у них. Аналогичная картина наблюдалась у штаммов *Str. lactis* 602, 628.

Полученные данные позволяют сделать следующие выводы.

По протеолитической активности существуют различия между мо-

Таблица 3

Протеолитическая активность и кислотообразующая способность молочнокислых стрептококков на 2-е и 7-е сутки их развития

| Культура и № штамма          | Тирозин, γ/мл |       | Содержание амминого азота, мг % |      | Кислотность, °Т |     |
|------------------------------|---------------|-------|---------------------------------|------|-----------------|-----|
|                              | 2             | 7     | 2                               | 7    | 2               | 7   |
| Контроль (стерильное молоко) | 128           | —     | 8,4                             | —    | —               | —   |
| Str. thermophilus 9          | 145,5         | 120   | 16,8                            | 14,0 | 97              | 110 |
| 372                          | 241           | 204   | 28,0                            | 19,6 | 102             | 115 |
| 666                          | 138           | 228   | 14,0                            | 19,6 | 97              | 105 |
| 736                          | 150           | 120   | 14,0                            | 7,7  | 85              | 120 |
| Str. lactis 602              | 192           | 145,5 | 19,6                            | 16,8 | 108             | 114 |
| 628                          | 222           | 210   | 25,4                            | 19,6 | 93              | 124 |
| 663                          | 145,5         | 157,5 | 11,2                            | 16,8 | 87              | 100 |
| 643                          | 169,5         | 208   | 19,6                            | 28,0 | 110             | 120 |

молочнокислыми стрептококками, выделенными из эпифитной микрофлоры растений и молочных продуктов.

Штаммы Str. lactis, Str. thermophilus, выделенные из молочных продуктов, оказались более активными, чем те же виды, выделенные из эпифитной микрофлоры растений. Однако Str. diacetylactis обладали более высокой протеолитической активностью в случаях, когда они выделялись из эпифитной микрофлоры растений.

Высокофенолустойчивые штаммы проявляли более высокую протеолитическую активность, чем менее фенолустойчивые.

По данным наших исследований, у штаммов испытанных видов (Str. lactis, Str. thermophilus) не было обнаружено коррелятивной связи между энергией кислотообразования и протеолитической активностью.

Институт микробиологии  
АН АрмССР

Поступило 29.II 1972 г.

Լ. Գ. ԱԿՈՊՅԱՆ, Փ. Գ. ՍԱՐՈՒԽԱՆՅԱՆ

ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ՍՏՐԵՊՏԱԿՈԿԵՐԻ ՊՐՈՏԵՈԼԻՏԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների պրոտեոլիտիկ ակտիվության ուսումնասիրությունը մեծ նշանակություն ունի պանիրների մակարդակների տարբեր տեսակի կաթնամթերքների արտադրության գործում:

Ուսումնասիրվել է Հայաստանի տարբեր կաթնամթերքների և բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից մեկուսացված Str. lactis-ի, Str. thermophilus-ի, (Str. diacetylactis-ի ֆենոլադիմացկուն և ոչ բարձր տոկոս ֆենոլի խտություններին դիմացող 97 շտամների պրոտեոլիտիկ ակտիվությունը կաթնաթթվային խմորման տարբեր ժամանակներում:

Փորձերի արդյունքներից հանգել ենք հետևյալ եզրակացությունների.

Տարբերություններ գոյություն ունեն կաթնամթերքների և բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայից մեկուսացված կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների պրոտեոլիտիկ ակտիվության միջև: Կաթնամթերքներից մեկուսացված *Str. lactis*, *Str. thermophilus*-ի շտամները բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայի նույն ստրեպտոկոկների համեմատությամբ ինտենսիվ պրոտեոլիտիկ ակտիվություն են ցուցաբերել, մինչդեռ բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայի *Str. diacetilactis*-ի շտամները կաթնամթերքներից մեկուսացվածների համեմատությամբ ավելի բարձր պրոտեոլիտիկ ակտիվություն են ցուցաբերել:

Ոչ ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների համեմատությամբ, ֆենոլադիմացկուններն օժտված են բարձր պրոտեոլիտիկ ակտիվությամբ:

Փորձարկվող կուլտուրաների շտամների թթու առաջացման էներգիայի և պրոտեոլիտիկ ակտիվության միջև կորելյատիվ կապ չի հայտնաբերվել և շտամների մի մասը բարձր պրոտեոլիտիկ ակտիվություն են ցուցաբերել խլամորման երկրորդ, մյուսները՝ յոթերորդ օրը:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексеев В. Н. Центипищепромиздат (молочная), 3, М., 1963.
2. Белоусова Н. Н., Гибишман М. Р. Молочная промышленность, 6, 1956.
3. Белоусова Н. Н. Молочная промышленность, 11, 1961.
4. Богданов В. М. Микробиология, VI, 6, 1937.
5. Богданов В. М. Микробиология молока и молочных продуктов. М., 1965.
6. Климовский И. И. Молочная промышленность, 5, 1969.
7. Максимова А. К., Грудзинская Э. Е. Труды ВНИМИ, 6, 1968.
8. Скородумова А. М., Шушина Р. С. Микробиология, V, 4, 1936.
9. Скородумова А. М. Молочная промышленность, 9, 1957.
10. Сорокин Ю. Ю. Сборник докл. научной конф. по вопросам технологии и микробиологии молока и молочных продуктов. Вологда, 1964.
11. Тихомирова Т. В. Молочная промышленность, 3, 1961.
12. Чеботарев А. И. XVI Международный конгресс по молочному делу. М., 1963.
13. Шилович М. К. Определение содержания белков в молоке методом формольного титрования. Центральный ин-т научно-тех. информации пищевой промышленности. 1962.
14. Deutsch A., Samuelson E. XV IDC, London, 1959.
15. Williamson W. T., Tove S. B., Spech M. L. J. of Dairy Science, 47, 3, 1964.
16. Zant V., Nelson F. J. of Dairy Science, 36, 10, 1953.