

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЗАКОНОМЕРНОСТИ ГИДРОЛИЗА ЛАКТОЗЫ В СВЯЗИ С ПРОИЗВОДСТВОМ НАПИТКОВ

Изучены состав и свойства ферментного гидролизата молочного белка, дана характеристика фракций. Исследована характеристика фракций ферментного гидролизата молочного белка после оптимизации параметров технологического процесса. Изучено содержание фенилаланина в разных фракциях. Отмечены результаты сравнительного анализа исходного ферментного гидролизата молочного белка и полученного продукта. Обоснован режим реализации метода на полупромышленной установке.

Ферментация лактозы, молочный напиток, гидролиз, дрожжи, бактерии, активность сахарид.

Вопросы, связанные с кинетикой ферментативных реакций, детально изложены в специальных разделах биохимии и энзимологии, поэтому, используя основные принципы исследования процессов, связанных с ферментативным катализом, основное внимание уделим тем аспектам, которые необходимы для грамотного подхода к работе с биохимическими реакциями гидролиза: подбору условий для определения активности фермента, оптимальности действия температуры и рН.

В экспериментах препараты вносили в одинаковом количестве с учетом установленной активности, продолжительность ферментации в серии настоящих экспериментов была равной (за исключением тех случаев, когда не изучали кинетику процесса гидролиза). Учитывая, что как ферментные препараты, так и микроорганизмы весьма чувствительны к температуре, изучали ее влияние на ход процесса гидролиза лактозы. На рис. 1 показано влияние температуры на степень гидролиза лактозы.

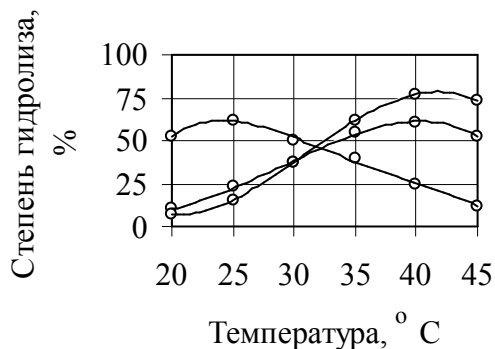


Рис. 1. Влияние температуры на степень гидролиза лактозы: 1 - дрожжи *K. lactis*; 2 - экстракт из *K. Lactis*; 3 - *Lactococcus lactis* spb. *lactis* с геном дрожжей *K. lactis*

Как и ожидалось, исследуемые препараты имели различный температурный оптимум действия. Максимальная степень гидролиза лактозы дрожжами *K. lactis* отмечена при температуре 25 ± 1 °C, дальнейшее увеличение температуры приводило к снижению степени гидролиза. В образце, ферментированном при 45 ± 1 °C, количество гидролизованной лактозы не превышало четверти ее содержания от начальной концентрации.

Линейная зависимость снижения степени гидролиза в исследуемом образце молока в интервале температур от 25 до 45 °C связана с падением активности дрожжей и снижением их способности утилизировать лактозу для собственной жизнедеятельности.

Иная зависимость была выявлена при исследовании степени гидролиза образцов, ферментированных соответствующей вытяжкой. При прочих равных условиях максимальная степень гидролиза (на уровне 60-65 %) получена при температуре 40 ± 1 °C. Дальнейшее как увеличение, так и уменьшение температуры неизбежно приводило к снижению данного показателя. Также весьма интересен тот факт, что в первых двух вариантах экспериментов максимальная степень гидролиза находилась примерно в одинаковых числовых диапазонах. Считаем, что данный факт является вполне закономерным, поскольку вид продуцента ферментного препарата является одним и тем же. Кроме того, следует отметить, что по своей природе выделенный ферментный препарат является термостабильным, поскольку даже при 65 ± 1 °C была установлена относительно высокая активность (на уровне 65-75 %) от первоначальной.

Максимальную степень гидролиза (более 75 %) получили в образце молока, ферментированном трансгенным микроорганизмом *Lactococcus lactis* spb. *lactis* с геном дрожжей *K. lactis*. Очевидно, что оптимум действия эндопептидазы β -галактозидазы и собственно жизнедеятельности микроорганизма находится в одном диапазоне действия. В этой связи естественно предположить, что данный вариант развития гидролитического процесса с точки зрения получения низколактозного продукта является вполне эффективным, несмотря на то, что полученный биопрепарат является трансгенным.

Известно, что регулирование концентрации ионов водорода позволяет существенно изменять скорость ферментативных реакций, обеспечивая заданные показатели. В наших опытах продемонстрированы особенности изменения показателя степени гидролиза в зависимости от рН (рис. 2).

Анализ полученных результатов показал, что приведенные кривые подчиняются тем же общим законам, что и данные, приведенные на рис. 1. Так, оптимум рН-действия биопрепаратов β -галакто-

зидаз напрямую зависит от оптимума активной кислотности микроорганизма (образцы 2 и 3). Напротив, в том случае, если активность эндопетидазы препарата β -галактозидазы при заданном уровне pH не совпадает с pH-оптимумом развития микроорганизма, максимальная степень гидролиза в большей степени зависит от того, какие условия являются наиболее рациональными для развития соответствующего микроорганизма (образец 1).

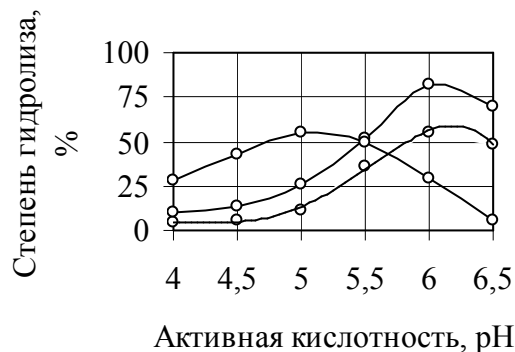


Рис. 2. Влияние активной кислотности на степень гидролиза лактозы: 1 - дрожжи *K. lactis*; 2 - экстракт из *K. lactis*; 3 - *Lactococcus lactis* spb. *lactis* с геном дрожжей *K. lactis*

В общем случае максимальной степенью гидролиза лактозы характеризуются образцы, полученные с использованием дрожжей *K. lactis* и экстракта из *K. lactis* (на уровне 60-65 %); у образца *Lactococcus lactis* spb. *lactis* с геном дрожжей *K. lactis* аналогичный показатель колебался на уровне 82-83 % от максимально возможного.

Анализ работ многочисленных публикаций показывает, что накопление продуктов трансгликозилирования оказывает существенное влияние на рост и развитие микроорганизмов. В диссертационной работе С.Г. Козлова показано, что подобные микроорганизмы обладают рядом ценных, как технологических, так и пробиотических свойств. С развитием знаний в области физиолого-биохимических свойств микрофлоры, а также влияния продуктов трансгликозилирования на жизнедеятельность пробиотиков становится очевидным интерес к результатам проведенных исследований другими авторами, поскольку синтезированные олигосахариды можно признать факторами стимуляции технологических свойств заквасочной микрофлоры.

В наших исследованиях рассмотрено влияние образующихся при ферментации продуктов трансгликозилирования на жизнедеятельность микроорганизмов.

В таблице 1 показана характеристика видов микроорганизмов, используемых в дальнейшем для получения низколактозных напитков.

Анализируя физиолого-биохимические свойства микроорганизмов, установлено, что они в значительной степени варьируют в зависимости от видового состава. Данный факт обусловлен различной активностью ферментных систем микрофлоры, которая определяет их пригодность для создания тех или иных видов молочных продуктов.

В наших исследованиях путем постановки специальных опытов, связанных с использованием чистых препаратов продуктов трансгликозилирования, установленных в сывороточных гидролизатах, определено изменение некоторых свойств микрофлоры, используемой в молочной промышленности (соотношение продуктов трансгликозилирования независимо от соотношения гидролизованной и негидролизованной сыворотки не изменяется).

Таблица 1

Характеристика микроорганизмов, отобранных для исследований

Вид микроорганизмов	Предельная кислотность, °Т	Общее количество бактерий, КОЕ/г×10 ⁹	Массовая доля растворимого азота, мг/100 г
<i>Lactobacterium acidophilum</i>	86	1,6	5,2
<i>Lbm. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricum</i>	77	1,8	4,8
<i>Lactococcus lactis</i>	90	1,2	5,3
<i>Bifidum longum</i> В379М	69	0,2	,5

К неперевариваемым олигосахаридам относятся: олигомеры из остатков фруктозы - фруктоолигосахариды, фруктаны, в том числе инулин; олигомеры из остатков глюкозы - глюкоолигосахариды, глюканы и декстраны; олигомеры из остатков галактозы - галактоолигосахариды, а также олигосахариды из растительных клеточных стенок.

Результаты хроматографического анализа состава олигосахаридов в сыворотке, подверженной гидролизу, позволили установить несколько интересных особенностей. Выявлено предпочтительное нарастание продуктов трансгликозилирования в смеси моносахаридов по определенной схеме. Так, при дозе ферментного препарата 0,04 % массовая доля продукта трансгликозилирования Gal β (1→6) Gal составила 62,0 % от общей концентрации веществ, задействованных в биотрансформации лактозы, что свидетельствует о доступности связи β (1→6) для полимеризации молекул галактозы. Используя рассматриваемый показатель в качестве объективной характеристики доступности связей для протекания ферментативных реакций доказано, что со значительным отрывом (в 4,8 и 5,8 раза) полимеризация происходит по механизму Gal β (1→6) Glc и Gal β (1→4) Glc соответственно. Аналогичная ситуация отмечается у сыворотки, гидролизованной β -галактозидазой в концентрации 0,06 %, поскольку динамика массовой доли продуктов трансгликозилирования в ряду β (1→4) Glc характеризуется аналогичной тенденцией.

Доказательством правомерности тезиса о доступности β -связей для реакции полимеризации углеводов в гидролизованной сыворотке может служить факт невысокого накопления продуктов трансгликозилирования, состоящих из более чем трех остатков простых сахаридов, поскольку максимальная концентрация продуктов трансгликози-

лирования не превышает 5 % даже при увеличении концентрации фермента до 0,06 %. Вероятно, в данном случае в качестве значимого фактора является продолжительность технологического процесса, которая сокращается до определенного периода, недостаточного для протекания процесса полимеризации. В связи с указанными причинами абсолютное содержание трисахаридов в гидролизованной сыворотке составляет 0,005-0,013 %, что в принципе из-за низкого значения является сложным для воспроизводимого детерминирования.

Под активностью ферментной системы понимали разницу в концентрации вещества (небелкового азота или лактозы), выявленную в неферментированной сыворотке, и сывороточной системы, состоящей из гидролизованной и нативной сыворотки, предварительно заквашенной микроорганизмами.

Результаты исследований показаны на рис. 3.

Анализ результатов исследований показывает, что продукты трансгликозилирования обладают разной способностью стимуляции ферментных систем микроорганизмов. Общими закономерностями являются:

- продукты трансгликозилирования не оказывают ингибирующего воздействия на активность ферментных систем микроорганизмов;

- олигосахариды, содержащиеся в гидролизованной сыворотке, в различной степени активизируют протеиназную и β -галактозидазную ферментные системы;

- активность ферментов имеет определенную зависимость от способности микроорганизмов утилизировать углеводы.

Показано, что избирательность бактерий вида *Lbm. acidophilum* и *Lbm. delbrueckii subsp. bulgaricum* в отношении ассимиляции некоторых простых моносахаридов и олигосахаридов, вероятно, является причиной толерантности ферментных систем при использовании данной микрофлоры, несмотря на то, что пептидазная активность термофильных палочек, как известно из литературных

данных, в отношении молочных белков достаточно высока.

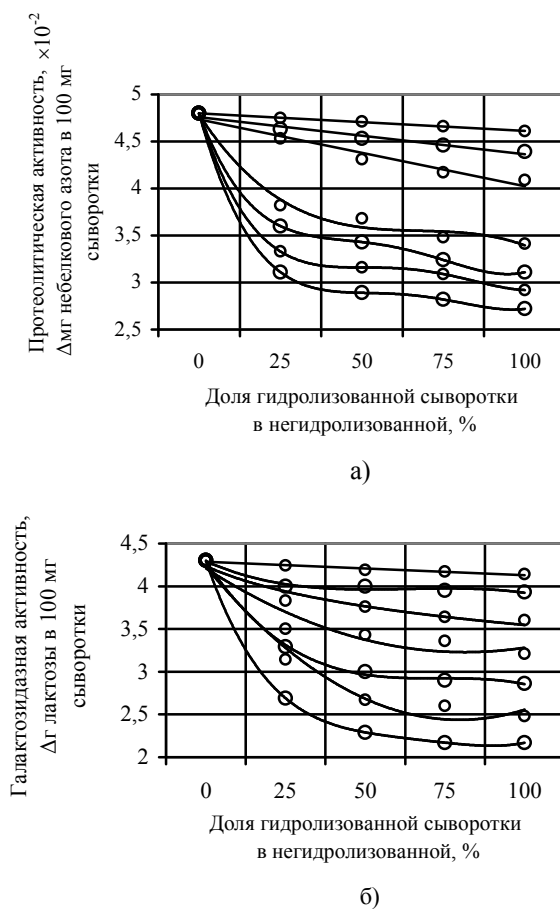


Рис. 3. Влияние гидролизованной сыворотки на активность (а) протеолитическую, (б) β -галактозидазную) микроорганизмов: 1 - *Lactobacterium acidophilum*; 2 - *Lbm. delbrueckii subsp. bulgaricum*; 3 - *Lbm. Helveticum*; 4 - *Lactococcus lactis C₃*; 5 - *L. lactis subsp. diacetylactis 681₁*; 6 - *L. lactis subsp. cremoris 97₂*; 7 - *Bifidum longum B379M*

Список литературы

1. Алиева, Л.Р. Разработка технологии напитков из молочной сыворотки с применением хитозана: автореф. дис... канд. техн. наук: 05.18.04: защищена 20.05.03 / Алиева Людмила Руслановна. - Ставрополь, 2003. - 19 с.
2. Антипова Л.В. Прикладная биотехнология / Л.В. Антипова, И.А. Глотова, А.И. Жаренов. - Воронеж, 2000. - 332 с.
3. Волкова, Т.А. Газированные напитки на основе молочной сыворотки / Т.А. Волкова, Э.Ф. Кравченко // Современные технологии пищевых производств нового поколения и их реализация на предприятиях АПК: тезисы докладов научно-практической конференции. - Углич, 2000. - С. 90-92.
4. Липатов Н.Н. Комплексные подходы и результаты совершенствования методологии математического моделирования биологической адекватности белковых компонентов продуктов специального и детского питания / Н.Н. Липатов, Ю.Г. Сажин, Е.И. Титов // В кн. «Научное обеспечение молочной промышленности»: Сборник научных трудов ВНИМИ. - М., 2000. - С. 25-31.

SUMMARY

A.V. Krupin

The analysis of influence of technology factors on law of hydrolysis of lactose in connection with manufacture of drinks

Process of a fermentation of components of milk in connection with possibility their use in technology of dairy drinks is studied. Influences of temperature, active acidity on degree of hydrolysis of lactose are investigated, changes of carbohydrates in milk are established. The way of processing of dairy carbohydrates in connection with its use in technology of dairy drinks is chosen. It is shown that selectivity of bacteria of kind *Lbm. acidophilum* and *Lbm. delbrueckii* subsp. *bulgaricum* concerning assimilation of some about-styh monosaccharides and oligosaccharides, possibly, is at the bottom of tolerance fermentnyh systems.

Lactose fermentation, dairy drink, hydrolysis, yeast, bacteria, activity, carbohydrates.

