

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ НА ОСНОВЕ ГИДРОЛИЗАТОВ БЕЛКОВ МОЛОКА

Т.Н. Головач

*РУП «Институт мясо-молочной промышленности», Минск, Республика Беларусь
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*

Сокращения

α -ла – α -лактальбумин;

β -лг – β -лактоглобулин;

БСА – бычий сывороточный альбумин.

Введение

В микробиологических питательных средах в качестве азотистой основы используют ферментативные гидролизаты белков молока. Ферментативное расщепление белкового компонента, в частности, казеиновой и сывороточной фракций, позволяет получить гидролизат с повышенной питательной ценностью. Это достигается за счет высвобождения в процессе протеолиза короткоцепочечных пептидов и аминокислот, которые непосредственно усваиваются бактериальной клеткой. Кроме того, наблюдается улучшение технологических характеристик питательных сред за счет повышения растворимости белковых гидролизатов в сравнении с нативными белками и их устойчивости к тепловой обработке [1, 2].

Технология получения гидролизованного белкового компонента для микробиологических питательных сред и его состав должны соответствовать специфическим потребностям молочнокислых бактерий. Основным требованием к гидролизату как к источнику белкового азота является усвоение продуктов протеолиза без дополнительной индукции синтеза бактериальных протеаз, что увеличивает продолжительность накопления биомассы. В связи с этим основными показателями питательной ценности среды являются глубина гидролиза белковых субстратов, содержание α -аминного азота.

Актуальным является определение способов, позволяющих увеличить степень гидролиза белков молока и выход свободных аминокислот. Комплексный подход, предусматривающий учет известных особенностей протеолитической системы промышленно ценных молочнокислых бактерий, исследование усвояемости белкового компонента с различными физико-химическими характеристиками: степенью гидролиза и содержанием α -аминного азота – направлен на разработку технологии гидролизатов молока, обладающих заданными технологическими свойствами и высокой биодоступностью.

Цель работы – установление потребностей молочнокислых бактерий различных групп в источнике белкового азота при использовании питательных сред на основе гидролизатов белков молока.

Методы исследования

Для изготовления гидролизатов применяли сухое обезжиренное молоко (СОМ) распылительной сушки по СТБ 1858; нейтральную бактериальную эндопептидазу (далее эндопептидазу, протеолитическая активность (ПА) 0,8 Е/г, Novozymes A/S, Дания) и комплексный препарат грибного происхождения, содержащий ферменты с эндо- и экзопептидазной активностью (далее экзопептидазу, ПА 2,66 Е/г, Novozymes A/S, Дания).

Получены образцы питательных сред № 1–3:

– образец №1 изготовлен на основе гидролизата СОМ с применением эндопептидазы при фермент/субстратном соотношении (3%);

– образец №2 представлен СОМ, гидролизованным при совместном использовании эндопептидазы (3%) и экзопептидазы (3%);

– образец №3 содержит гидролизат СОМ эндопептидазой (10%).

Глубину протеолиза белков молока в гидролизатах контролировали методом ДСН-электрофоретического анализа в полиакриламидном геле [3]. Электрофореграммы

обрабатывали с помощью программы ImageQuant 5.1. Содержание α -аминного азота в гидролизатах определяли формольным титрованием (по Серенсену) [4].

В работе использовали штаммы молочнокислых бактерий: *Lactococcus lactis* sbsp. *lactic* 19/1, 120/2 и 16/1; *Lc. lactis* sbsp. *diacetylactis* 87/4 и d 57; *Lc. plantarum* 30/1; *Lactobacillus casei* 5/1; *Lb. acidophilus* 35/2; *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* 5 и 99/1.

Молочнокислые бактерии группы мезофильных лактококков (*Lactococcus lactis* sbsp. *lactic* 19/1, 120/2 и 16/1; *Lc. lactis* sbsp. *diacetylactis* 87/4 и d 57) культивировали при $30 \pm 1^\circ\text{C}$; мезофильных лактобацилл (*Lb. plantarum* 30/1 и *Lb. casei* 5/1) – $33 \pm 1^\circ\text{C}$; термофильных лактобацилл (*Lb. acidophilus* 35/2) – $37 \pm 1^\circ\text{C}$, термофильных молочнокислых стрептококков (*Str. salivarius* subsp. *thermophilus* 5 и 99/1) – $42 \pm 1^\circ\text{C}$ и $45 \pm 1^\circ\text{C}$ (для определения КОЕ *Str. thermophilus* 99/1 в комбинации с мезофильными лактококками).

Подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл среды и статистическую обработку полученных данных производили согласно СТБ ГОСТ Р 51446–2001 (ИСО 7218–96) [5].

Посевной вносили в гидролизаты СОМ (образцы № 1–3) в концентрации 5%, продолжительность культивирования составила 5–6 ч. В эксперименте с ферментацией гидролизатов белков молока комбинацией молочнокислых бактерий (*Lc. lactis* 19/1, 120/2 и 16/1; *Lc. diacetylactis* 87/4 и d 57; *Str. thermophilus* 99/1) в среды № 1–3 вносили по 2% посевного 3 видов: *Lc. lactis* (19/1, 120/2 и 16/1), *Lc. diacetylactis* (87/4 и d 57) и *Str. thermophilus* (99/1) – и культивировали при $30 \pm 1^\circ\text{C}$.

Определение сквашивающей активности комбинации (*Lc. lactis* 19/1, 120/2 и 16/1; *Lc. diacetylactis* 87/4 и d 57; *Str. thermophilus* 99/1). Образцы ферментированных сред № 1–3 (заквасок) оставляли при 8°C 12 ч. В пастеризованное молоко вносили 3% закваски и инкубировали при $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Фиксировали время формирования сгустка.

Отделение бактериальных клеток от ферментированной культуральной жидкости осуществляли с использованием фильтров (Acrodisc LC PVDF Minispikes, 0.45 μm , 13 mm, Pall, Германия). Фильтраты анализировали методом ДСН-электрофоретического анализа [3].

Результаты и обсуждение

В рамках изучения питательной ценности гидролизатов с различной степенью протеолиза белков молока получены образцы сред № 1–3 на основе гидролизованного белкового компонента. Сравнительная характеристика питательных сред для культивирования молочнокислых бактерий представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика питательных сред на основе гидролизованного белкового компонента

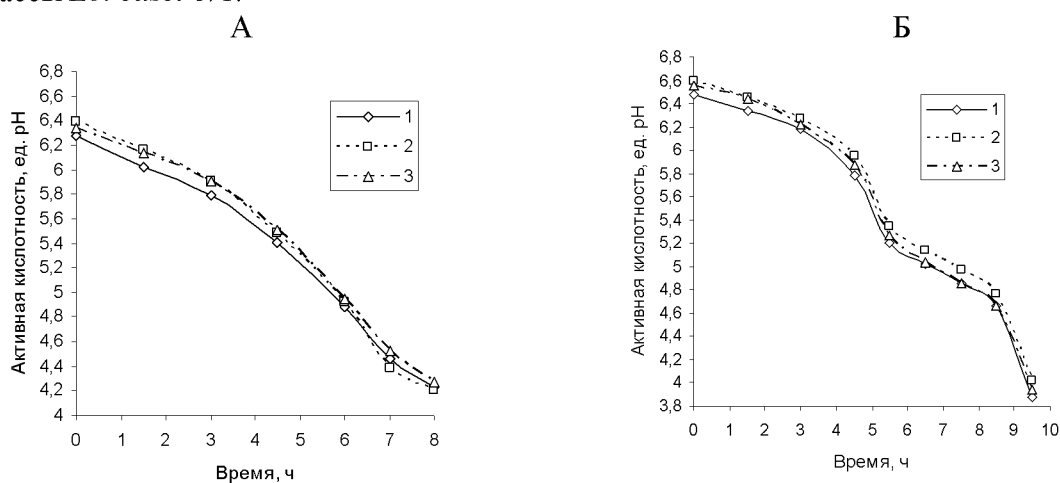
Образец №	Используемые ферменты и фермент/ субстратное соотношение	Содержание высокомолекулярной сывороточной фракции, %	Содержание α -аминного азота, мг%
1 – контроль	эндопептидаза – 3%	≈ 55	55–56
2	эндопептидаза – 3% экзопептидаза – 3%	32–34	69–71
3	эндопептидаза -10%	32–34	55–56

В образце № 2 в сравнении с контролем (№ 1) за счет внесения фермента с экзопептидазной активностью увеличивается выход свободных аминокислот и короткоцепочечных пептидов. Различия между образцами № 1 и № 3 обусловлены возрастанием глубины протеолиза белковых субстратов с увеличением дозы внесения фермента – 10%. Это связано, главным образом, с дальнейшим расщеплением сывороточной фракции, возрастанием количества короткоцепочечных пептидов, тогда как содержание α -аминного азота практически не изменяется.

Изучен процесс культивирования представителей **мезофильных лактобацилл**: *Lactobacillus plantarum* 30/1 и *Lactobacillus casei* 5/1. Оптимальными для роста данных

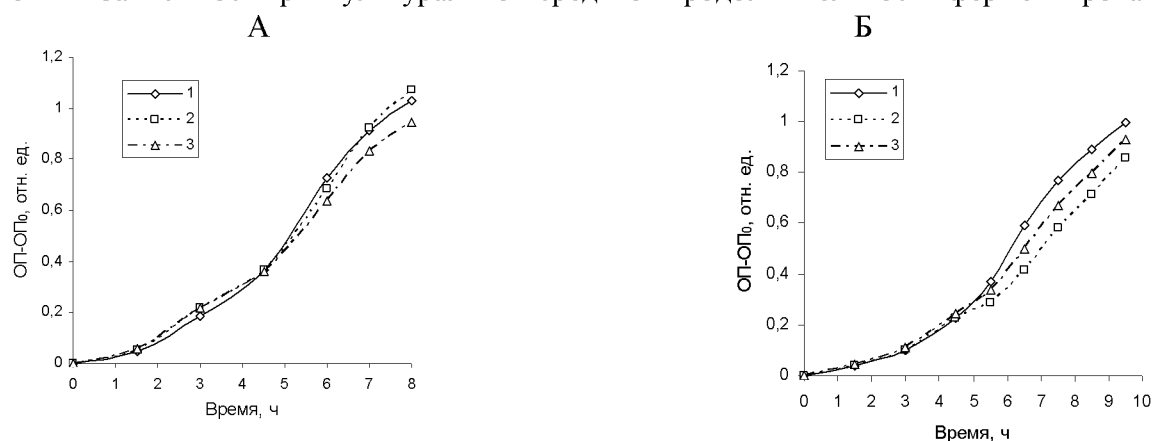
микроорганизмов являются рН 5,4–5,9 и температура $33\pm 1^\circ\text{C}$. О накоплении бактериальной биомассы судили по изменению активной кислотности среды, оптической плотности (ОП_{λ540}) и в результате подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ, по СТБ ГОСТ Р 51446–2001 (ИСО 7218–96)) в 1 мл среды.

Для анализируемых штаммов не установлены различия в динамике закисления культуральной среды (рисунок 1 А, Б). На значения ОП при ферментации *Lb. plantarum* 30/1 и *Lb. casei* 5/1 свыше 5 ч, когда рН снижается до $<5,5$, также оказывает влияние изменение растворимости гидролизованного СОМ (рисунок 2 А, Б). Количество клеток в 1 мл культуральной среды (ΔКОЕ) *Lb. plantarum* 30/1 при продолжительности процесса 6 ч достигало $9,27\times 10^8$ – образец среды № 1; $9,41\times 10^8$ – № 2; $7,18\times 10^8$ – № 3. Так сопоставимые данные о накоплении бактериальной биомассы показаны для образцов № 1 и 2. В средах на основе гидролизованного СОМ, ферментированных *Lb. casei* 5/1, ΔКОЕ образца №1 составило $1,22\times 10^8$, №2 – $1,13\times 10^8$, №3 – $1,32\times 10^8$ (рисунок 3). Таким образом, не установлено достоверного влияния глубины протеолиза молочного белка на накопление биомассы *Lb. casei* 5/1.



Lb. plantarum 30/1 (А) и *Lb. casei* 5/1 (Б): кривая 1 – образец среды № 1, кривая 2 – № 2, кривая 3 – № 3

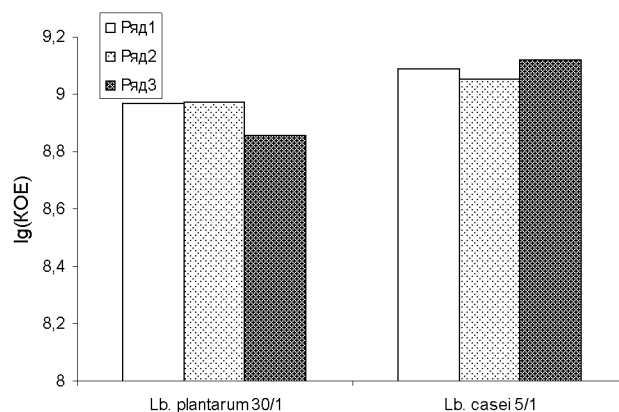
Рисунок 1 – Зависимость рН культуральной среды от продолжительности ферментирования



кривая 1 – образец среды № 1, кривая 2 – № 2, кривая 3 – № 3

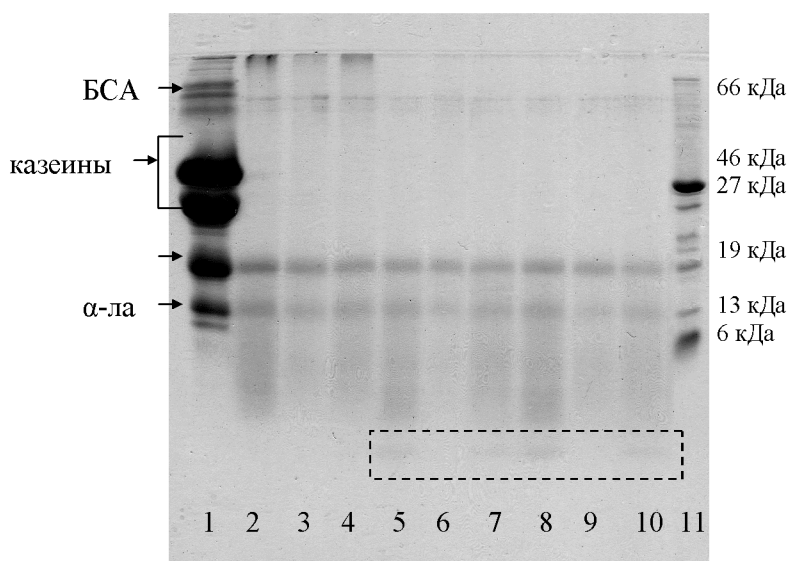
Рисунок 2 – Зависимость ОП культуральной среды от продолжительности ферментирования *Lb. plantarum* 30/1 (А) и *Lb. casei* 5/1 (Б)

В связи с тем, что среда на основе гидролизата № 1 характеризуется относительно низкой растворимостью в кислом диапазоне рН ($<5,5$), наиболее приемлемой для культивирования *Lb. plantarum* 30/1 является среда № 1, а для *Lb. casei* 5/1 – среды № 2–3.



кривая 1 – образец среды № 1, 2 – № 2, 3 – № 3

Рисунок 3 – Накопление бактериальной биомассы *Lb. plantarum* 30/1 (А) и *Lb. casei* 5/1 (Б)



1 – контроль СОМ; 2 – среда № 1; 3 – среда № 2; 4 – среда № 3; 5 – *Lb. casei* 5/1, ф-т № 1; 6 – *Lb. casei* 5/1, ф-т № 2; 7 – *Lb. casei* 5/1, ф-т № 3; 8 – *Lb. plantarum* 30/1, ф-т № 1; 9 – *Lb. plantarum* 30/1, ф-т № 2; 10 – *Lb. plantarum* 30/1, ф-т № 3; 11 – маркер
Рисунок 4 – Электрофореграмма продуктов ферментативного гидролиза СОМ и фильтратов культуральной среды *Lb. casei* 5/1 (А) и *Lb. plantarum* 30/1 (Б)

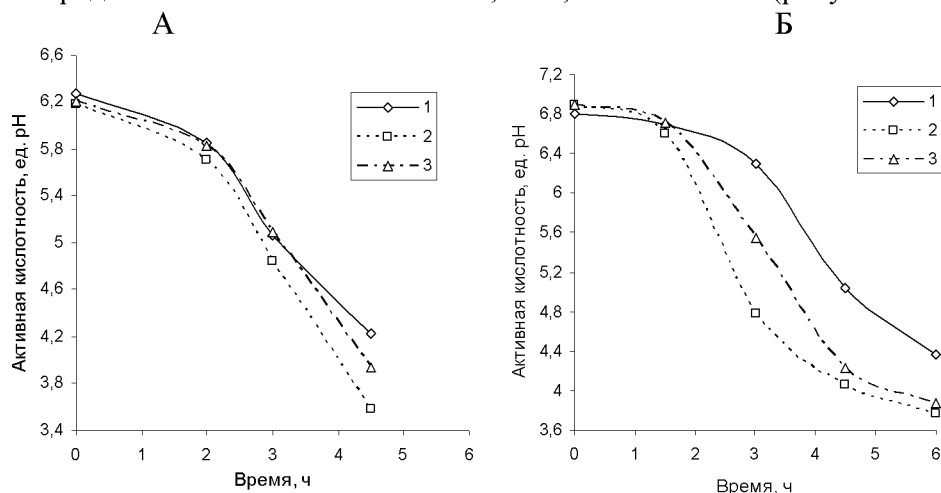
Кроме того, по данным ДСН-электрофореза в фильтратах обнаружены дискретные фракции с молекулярной массой $m_r < 6$ кДа (рисунок 4, прямоугольная область), которые свидетельствуют о дополнительном расщеплении продуктов частичного протеолиза белков молока в образцах среды № 1 и 3, вероятно, за счет действия внеклеточных или локализованных на клеточной стенке протеаз.

По литературным данным, у видов р. *Lactobacillus* обнаружены ферменты с эндо- и экзопептидазной активностью с внеклеточной, клеточносвязанной, внутриклеточной локализацией [6]. Очевидно, это обуславливает способность штаммов *Lb. plantarum* 30/1 и *Lb. casei* 5/1 активно развиваться на средах с различной степенью протеолиза белков молока и содержанием α-аминного азота. В то же время для данных бактерий не установлено расщепление высокомолекулярной фракции сывороточных белков (рисунок 4, дорожки 2–10). По данным Kojic et al. (1992), для протеолитических ферментов *Lactobacillus casei* показана высокая степень гомологии с протеолитическими ферментами лактококков [7].

На следующем этапе проведен анализ усвояемости гидролизованного белкового компонента СОМ штаммами *Lactobacillus acidophilus* 35/2 (группа **термофильных**

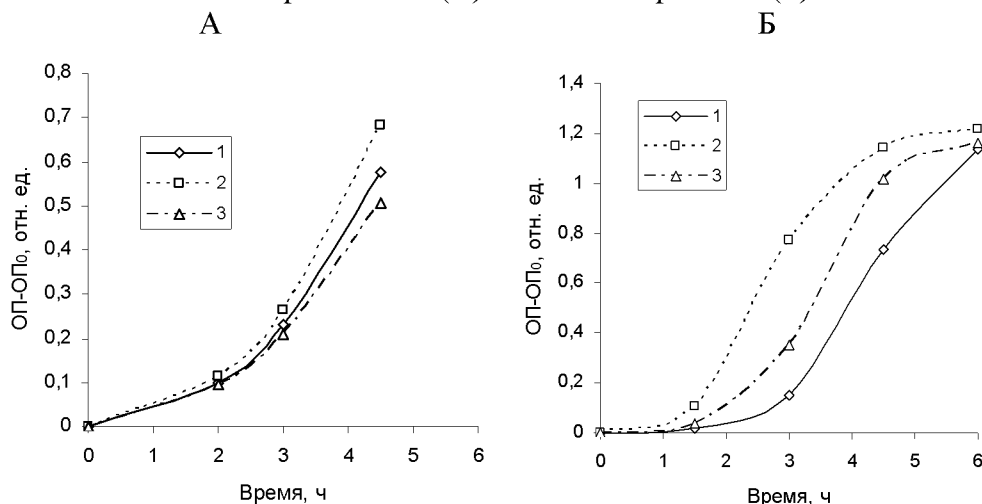
лактобацилл) и *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* 5 (группа **термофильных молочнокислых стрептококков**).

Увеличение активной кислотности и ОП культуральной среды *Lb. acidophilus* 35/2 показано в ряду – среда № 2 > № 3 > № 1 (рисунок 5, 6 А). Кроме того, в образце № 2 после 4,5 ч ферментирования установлено максимальное ΔКОЕ – $1,22 \times 10^8$, тогда как в 1 мл культуральных сред № 1 и № 3 накапливалось $1,07-1,08 \times 10^8$ клеток (рисунок 7 А).



кривая 1 – образец среды № 1, кривая 2 – № 2, кривая 3 – № 3

Рисунок 5 – Зависимость pH культуральной среды от продолжительности ферментирования *Lb. acidophilus* 35/2 (А) и *Str. thermophilus* 5 (Б)



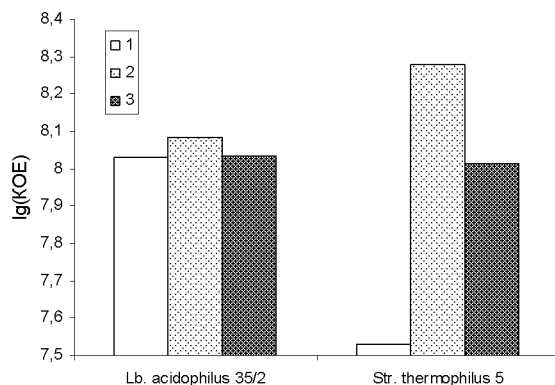
кривая 1 – образец среды № 1, кривая 2 – № 2, кривая 3 – № 3

Рисунок 6 – Зависимость ОП культуральной среды от продолжительности ферментирования *Lb. acidophilus* 35/2 (А) и *Str. thermophilus* 5 (Б)

По данным ДСН-электрофореза в процессе ферментирования *Lb. acidophilus* 35/2 пептидная фракция подвергалась дальнейшему расщеплению микробными протеазами (рисунок 8, в рамке). В то же время гидролиз сывороточных белков не установлен (рисунок 8, дорожки 2–7). Таким образом, наличие свободных аминокислот (среда № 2) стимулирует развитие *Lb. acidophilus* 35/2, в качестве альтернативного варианта возможно использование среды № 3. Образец № 1 не рекомендуется в связи со склонностью указанной среды к образованию преципитата в диапазоне pH, оптимальном для культивирования *Lb. acidophilus* 35/2.

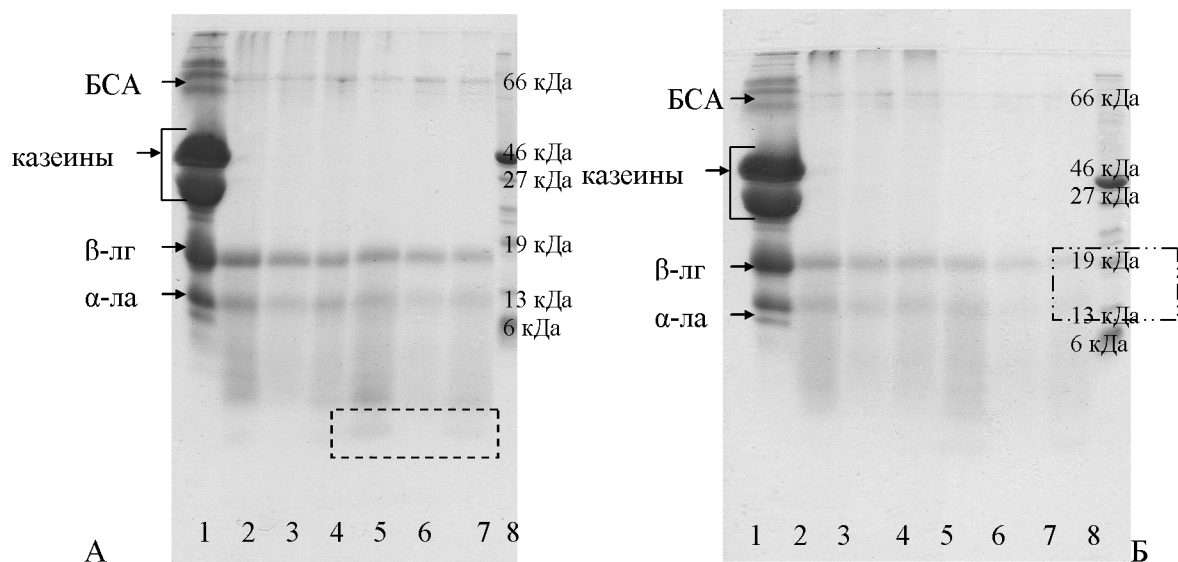
Для *Str. thermophilus* 5 показана аналогичная закономерность закисления культуральной среды и изменения ОП: среда № 2 > № 3 > № 1 (рисунок 5, 6 Б). Содержание клеток в питательной среде (ΔКОЕ) после 4,5 ч ферментирования составило для сред № 1 – $3,41 \times 10^7$, № 2 – $1,9 \times 10^8$, № 3 – $1,04 \times 10^8$. Следовательно, по отношению к контролю (среда

№ 1) количество клеток *Str. thermophilus* 5 в среде № 2 возросло в 5,6 раза, № 3 – в 3 раза. Согласно методу доверительных интервалов (СТБ ГОСТ Р 51446–2001, п. 9.3.5) различия ΔКОЕ образцов № 1 и № 2–3 достоверны.



кривая 1 – образец среды № 1, 2 – № 2, 3 – № 3

Рисунок 7 – Накопление бактериальной биомассы *Lb. acidophilus* 35/2 и *Str. thermophilus* 5



А: 1 – контроль СОМ; 2 – среда № 1; 3 – среда № 2; 4 – среда № 3; 5 – *Lb. acidophilus* 35/2, ф-т № 1; 6 – *Lb. acidophilus* 35/2, ф-т № 2; 7 – *Lb. acidophilus* 35/2, ф-т № 3; 8 – маркер;

Б: 1 – контроль СОМ; 2 – среда № 1; 3 – среда № 2; 4 – среда № 3; 5 – *Str. thermophilus* 5, ф-т № 1; 6 – *Str. thermophilus* 5, ф-т № 2; 7 – *Str. thermophilus* 5, ф-т № 3; 8 – маркер

Рисунок 8 – Электрофореграмма продуктов ферментативного гидролиза СОМ и фильтратов культуральной среды *Lb. acidophilus* 35/2 (А) и *Str. thermophilus* 5 (Б)

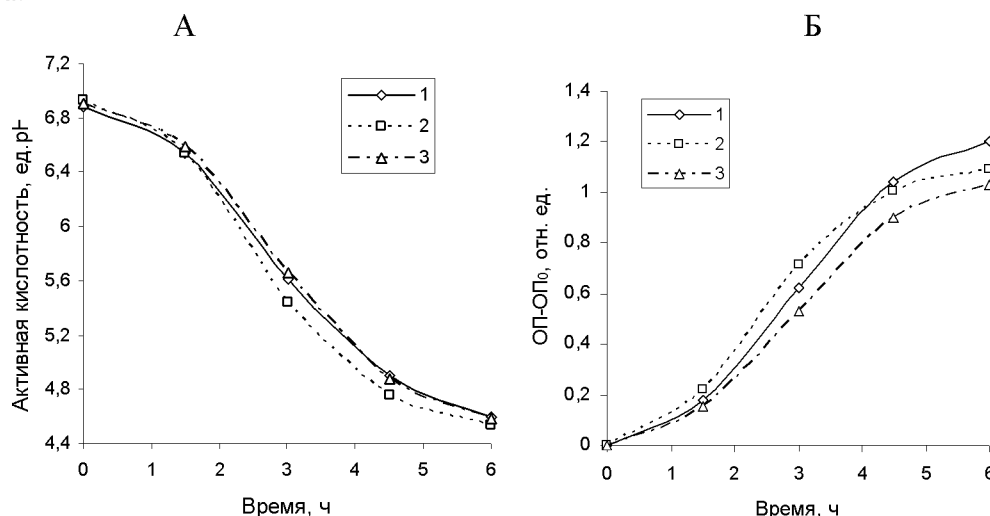
Таким образом, для образца среды с высоким содержанием α-аминного азота, а следовательно свободных аминокислот, показано максимальное накопление бактериальной биомассы *Str. thermophilus* 5. Меньший ростостимулирующий эффект установлен для образца среды № 3 (рисунок 7). По результатам ДСН-электрофореза, отличительной чертой *Str. thermophilus* 5 является дальнейшее расщепление сывороточных белков, содержащихся в гидролизате СОМ (рисунок 8, в рамке).

J. Meyer et al. (1989) обнаружили у штаммов *Lc. lactis* и *Str. thermophilus* внутриклеточные аргининаминопептидазы, лейцин-аминопептидазы, глицил-пролиндипептидазы и лейцил-лейцин-дипептидазы. Ферменты ассоциированы с клеточной стенкой, а также локализованы в мембранной и цитоплазматической клеточных фракциях [8]. В эксперименте с *Str. thermophilus* 5 показано предпочтительное поглощение свободных аминокислот и короткоцепочечных пептидов, что характерно для образцов сред № 2 и 3. Вероятно, уровень активности внеклеточных или ассоциированных с клеточной стенкой

микробных протеаз не обеспечивает в полной мере потребности *Str. thermophilus* 5 в расщепленном белковом субстрате, что обуславливает преимущества образцов среды № 2 и № 3.

Изучена динамика накопления бактериальной биомассы, закисления культуральной среды и прироста ОП при ферментации гидролизата СОМ комбинациями микроорганизмов: *Lc. lactis* 1 9/1, 1 20/2 и 1 6/1; *Lc. diacetylactis* 87/4 и d 57; *Str. thermophilus* 99/1. Оптимальными для культивирования комбинации являются рН 6,6–6,8 и температура $30 \pm 1^\circ\text{C}$.

Идентичный прирост активной кислотности установлен для образцов ферментированных сред № 1 и № 3. В то же время при культивировании в питательной среде № 2 значение рН было на 0,2 ед. ниже показаний образцов № 1 и № 3 (рисунок 9 А). Сравнительному анализу ΔОП подлежали культуральные среды № 2 и № 3, так как для них показана аналогичная растворимость в диапазоне рН 4,0–7,0. Для образца № 2 установлен бо́льший прирост биомассы (рисунок 9 Б). Стремительное увеличение ΔОП среды № 1, главным образом, объясняется уменьшением растворимости гидролизованного белкового компонента.

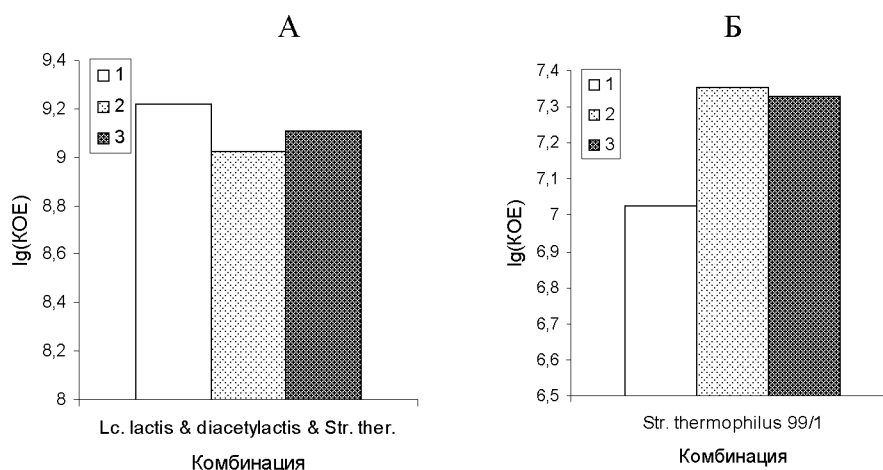


кривая 1 – образец среды № 1, кривая 2 – № 2, кривая 3 – № 3

Рисунок 9 – Зависимость рН (А) и оптической плотности культуральной среды (Б) от продолжительности ферментирования комбинации мезофильных лактококков (*Lc. lactis* 1 9/1, 1 20/2 и 1 6/1; *Lc. diacetylactis* 87/4 и d 57) и *Str. thermophilus* 99/1

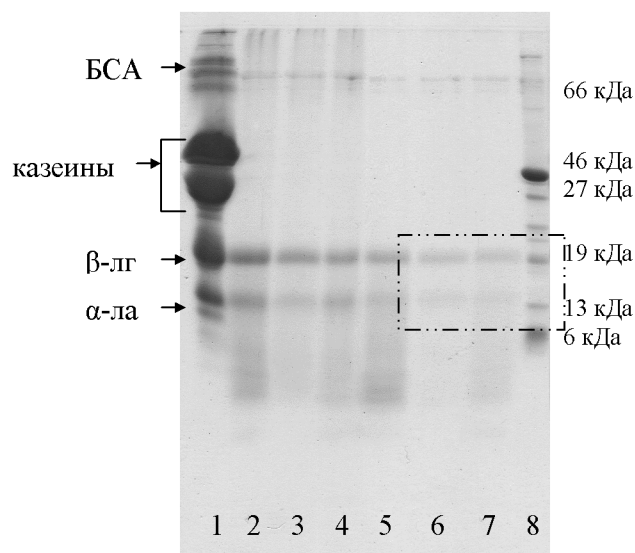
По истечении 4,5 ч в культуральной среде № 1 прирост ΔКОЕ достигал $1,64 \times 10^9$, № 2 – $1,05 \times 10^9$, № 3 – $1,28 \times 10^9$, из них молочнокислых стрептококков в образце № 1 – $1,06 \times 10^7$, № 2 – $2,26 \times 10^7$ и $2,14 \times 10^7$. Таким образом, комбинация активно развивалась на всех использованных питательных средах (рисунок 10А). В то же время в образцах № 2 и № 3 увеличилась доля *Str. thermophilus* 99/1 (рисунок 10Б) в ≈ 2 раза. Ранее наибольший прирост биомассы зафиксирован для среды № 2, обогащенной свободными аминокислотами. Вероятно, за счет протеолитической активности мезофильных лактококков увеличилась питательная ценность среды № 3. Согласно методу доверительных интервалов (по СТБ ГОСТ Р 51446-2001, п. 9.3.5) различия ΔКОЕ образцов № 1 и № 2–3 достоверны. ДСН-электрофоретический анализ показал уменьшение количества сывороточной фракции в фильтрах культуральной жидкости в сравнении с образцами сред № 1–3 (рисунок 11, дорожки 5–7, в рамке).

Проведена сравнительная оценка активности полученных заквасок № 1–3. В пастеризованный 10% раствор СОМ вносили закваску в концентрации 3% и инкубировали при $30 \pm 1^\circ\text{C}$ до образования сгустка. Для образцов № 2 и 3 время сквашивания составило около 5,5 ч, тогда как для образца № 1 – 6,5 ч. Таким образом, для получения активной поликомпонентной закваски оптимальными являются среды № 2 и № 3.



кривая 1 – образец среды № 1, 2 – № 2, 3 – № 3

Рисунок 10 – Накопление бактериальной биомассы мезофильных лактококков (*Lc. lactis* 1 9/1, 1 20/2 и 1 6/1; *Lc. diacetylactis* 87/4 и d 57) и *Str. thermophilus* 99/1



1 – контроль COM; 2 – среда № 1; 3 – среда № 2; 4 – среда № 3; 5 – комбинация, ф-т № 1; 6 – комбинация, ф-т № 2; 7 – комбинация, ф-т № 3; 8 – маркер

Рисунок 11 – Электрофореграмма продуктов ферментативного гидролиза COM и фильтратов культуральной среды комбинацией мезофильных лактококков (*Lc. lactis* 1 9/1, 1 20/2 и 1 6/1; *Lc. diacetylactis* 87/4 и d 57) и *Str. thermophilus* 99/1

В процессе культивирования молочнокислых бактерий на средах с гидролизированным молочным белком установлены следующие закономерности:

- максимальный выход бактериальной биомассы *Lactobacillus acidophilus* 35/2 и *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* 5 и кислотообразующая активность показаны при культивировании в питательной среде с высоким содержанием α -аминного азота;

- представители группы мезофильных лактобацилл (*Lactobacillus plantarum* 30/1 и *Lactobacillus casei* 5/1) активно развиваются в средах с различной степенью гидролиза белков молока;

- при культивировании комбинации мезофильных лактококков и термофильных молочнокислых стрептококков содержащиеся в питательной среде свободные аминокислоты и короткоцепочечные пептиды способствуют росту стрептококков;

- по данным ДНС-электрофоретического анализа микробные протеазы *Lactobacillus acidophilus* 35/2, *Lactobacillus plantarum* 30/1 и *Lactobacillus casei* 5/1 не расщепляют сывороточную фракцию молока;

– протеолитические ферменты *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* 5 используют в качестве субстрата основные сывороточные белки молока: α -лактальбумин и β -лактоглобулин.

Выводы

Согласно экспериментальным данным для представителей группы мезофильных лактобацилл (*Lb. plantarum* 30/1 и *Lb. casei* 5/1), комбинации мезофильных лактококков и термофильных молочнокислых стрептококков в качестве гидролизованного белкового компонента питательных сред рекомендованы образцы № 2 и 3, полученные с при совместном использовании ферментов с эндо- и экзопептидазной активностью (3%+3%) и эндопептидазы (10%) соответственно. В то же время при накоплении бактериальной биомассы *Lb. acidophilus* 35/2 и *Str. thermophilus* 5 наиболее предпочтительной является питательная среда, обогащенная свободными аминокислотами, в частности, на основе гидролизата СОМ с содержанием α -аминного азота 69–71 мг%, предполагающая применение комбинации протеаз (№ 2). Для данных штаммов допускается использование среды № 3: она содержит молочный белок, расщепленный эндопептидазой (10%).

Автор выражает благодарность Дымар Т.И. за помощь при получении посевного материала молочнокислых бактерий для ферментирования питательных сред.

Список литературы

1. Frokjaer, S. Use of Hydrolysates for Protein Supplementation / S. Frokjaer // Food Technol. – 1994. – Vol. 48. – P. 86–88.
2. Обеспечение безопасности и качества продуктов маслоделия и сыроделия [Электронный ресурс] / Украинский промышленный портал, 2008 – Режим доступа: http://euroinvest.com.ua/1/article_81.html. – Дата доступа – 04.06.2008.
3. Остерман, Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие) / Л.А. Остерман. – М.: Наука, 1981. – С. 56–65.
4. Практикум по биохимии: Методические указания / Сост.: О.А. Петров, С.Г. Пуховская. ГОУ ВПО Иван. гос. хим. – технол. ун-т. – Иваново, 2006. – С. 20–22.
5. СТБ ГОСТ Р 51446–2001 (ИСО 7218–96). Микробиология. Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований.
6. Pritchard, G. The physiology and biochemistry of the proteolytic system in lactic acid bacteria / G. Pritchard, T. Coolbear // FEMS Microbiol. Rev. – 1993. – Vol. 12. – P. 179–206.
7. Characterization of the cell-wall bound proteinase of *Lactobacillus casei* HN14 / M. Kojic [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1991. – Vol. 51, № 1. – P. 1753–1757.
8. Location of proteolytic enzymes in *Lactobacillus lactis* and *Streptococcus thermophilus* and their influence on cheese ripening / J. Meyer [et al.] // Milchwissenschaft. – 1989. – Vol. 44. – P. 678–681.

CULTIVATION OF LACTIC ACID BACTERIA IN NUTRIENT MEDIUM ON THE BASE OF MILK PROTEIN HYDROLYSATES

T.N. Halavach

*RUF «Institute of Meat and Dairy Industry», Minsk, Belarus
Belarusian State University, Minsk, Belarus*

The features of lactic acid bacteria cultivation in nutrient medium containing hydrolysed protein component with varying degree of casein and whey fractions proteolysis and the content of α -amino nitrogen 55–71 mg% were investigated. Milk proteins were hydrolysed with bacterial neutral endopeptidase and complex of this endopeptidase and enzyme preparation containing proteases with endo- and exopeptidase activity. For various groups of lactic acid microorganisms has been selected hydrolysed protein component that provides the maximum accumulation of bacterial biomass.