

**Баубекова А.С., Бари А.А., Джумагазиева А.Б., Канаят Ш.,
Конуспаева Г.С., Иващенко А.Т.
СОЗДАНИЕ НОВЫХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ
ИЗ ВЕРБЛЮЖЬЕГО МОЛОКА**

*Казахский национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан
konuspayevags@hotmail.fr*

В последние годы во всем мире значительно возросло число исследований о роли молочных и кисломолочных продуктов в рационе человека. Кисломолочные напитки, благодаря содержанию молочной кислоты и углекислого газа, обладают целым рядом замечательных свойств: они возбуждают аппетит, утоляют жажду, повышают выделение желудочного сока, усиливают перистальтику кишечника, улучшают работу почек и др. [1, 2]. По результатам многих исследований показано, что молочнокислые бактерии обладают антагонистической активностью, подавляют рост гнилостной микрофлоры [1]. В кисломолочных продуктах многие из питательных веществ молока становятся более доступными: так протеолитические ферменты молочной микрофлоры, частично расщепляют белки, что увеличивает полноту и скорость их усвоения [2, 3]. Сывороточные молочные белки верблюжьего молока считаются биологически активными веществами и некоторые из них обладают антиканцерогенными, антиоксидантными и иммуностимулирующими свойствами [4-7]. Установление полного белкового состава сыворотки имеет большое значение в технологии производства молочных продуктов и уточнение биологической активности отдельных белковых фракций [8].

Существенную роль в формировании физико-химических, органолептических, реологических и других характеристик кисломолочного продукта играют видовой состав микроорганизмов заквасок и их биохимическая активность. Таким образом, специальным подбором микрофлоры можно повышать по ряду позиций полезные свойства кисломолочных напитков, что позволяет создать новые кисломолочные продукты [3, 9].

Целью данной работы являлось исследовать свойства монокультурных заквасок в процессе приготовления кисломолочных продуктов из верблюжьего молока при наблюдении готовых продуктов в течение 5 суток на некоторые физико-химические параметры, а также на качественный и количественный состав белковых фракций для исследований протеолитической активности на SDS-PAGE.

Материалы и методы

Материалы и объекты исследования

В работе использовались 8 штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из природной симбиотической закваски шубата:

- 1 штамм – *Lactococcus casei. casei*
- 2,6,7 штаммы - *Lactococcus plantarum*
- 3 - штамм *Streptococcus diacetylactis*
- 4 штамм - *Lactococcus acidophilis*
- 5, 8 штаммы - *Streptococcus lactis* [10].

Использованные образцы свежего верблюжьего молока с ТОО «Даулет-Бекет» Илийского района Алматинской области.

Для проведения опыта использовали M17 (Германия) питательную среду: для выращивания стрептококков. Штаммы культивировали при 37° С.

Ход эксперимента:

Выделенные 8 штаммов молочнокислых бактерий из шубата культивировались для получения биомассы. Затем проводили заквашивание стерилизованного верблюжьего молока из расчета на 2% от объема молока. Сквашивание верблюжьего молока протекало в термостате при 37°С. Для наблюдения за действием 8 используемых штаммов снимали физико-химические показатели в динамике, по истечении 24, 72 и 120 часов.

Помимо этого, на момент исследований физико-химических свойств, изучался белковый состав сыворотки полученных продуктов на SDS-PAGE [11].

В работе исследовались следующие физико-химические параметры: рН среды – с помощью калиброванного рН-метра (рН-METER Аквилон); титруемая кислотность – по методу Тернера; значения жирности, плотности, СОМО – на автоматическом молочном анализаторе (Лактан 1-4); поверхностное натяжение – методом падающей капли; вязкость – на вискозиметре Освальда; количество витамина С – оксидоредуктазным методом; содержание общего белка – методом Лоури [12-16]. В качестве контрольного образца было использовано цельное стерилизованное верблюжье молоко.

Результаты и их обсуждение

Получение новых кисломолочных продуктов из верблюжьего молока проводили с помощью заквашивания выделенными культурами [10]. Алгоритм выполнения работы представлен на рис. 1.

В ходе приготовления кисломолочных продуктов из верблюжьего были исследованы основные параметры физико-химических свойств: жирность, СОМО, плотность, вязкость, поверхностное натяжение, кислотность, рН в течение первого, третьего и пятого дня, согласно выше представленного алгоритма (рис. 2, рис. 3, табл. 1).

По показателям жирности (рис. 2), можно в целом охарактеризовать использованные закваски по сравнению с контролем следующим образом: закваски, которые потребляют молочный жир (1-я, 3-я, 5-я); закваски, которые никак не используют молочный жир (2-я и 4-я); закваски, которые незначительно продуцируют жир. Интересно, что несмотря на предлагаемое деление, в 3-й и 6-й заквасках на пятый день брожения жирность в кисломолочном продукте незначительно возрастает.

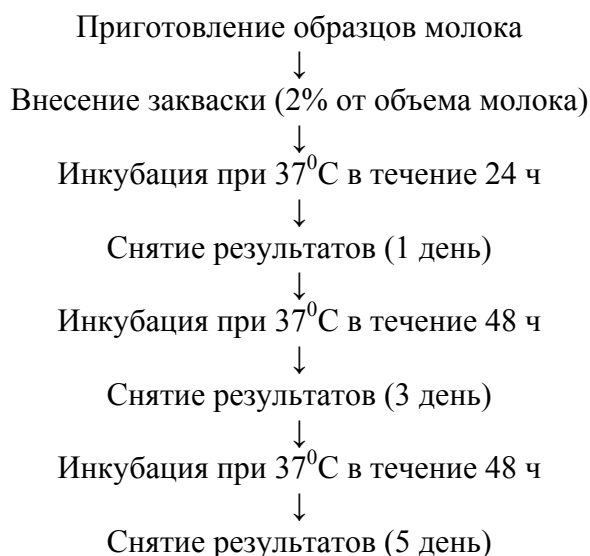


Рисунок 1 - Схема приготовления кисломолочного продукта из верблюжьего молока

Содержание аскорбиновой кислоты в ходе приготовления кисломолочных продуктов вызывает особый интерес (рис. 3). Следует отметить, что закваски по разному проявляют себя. Общее характерное проявление, это увеличение аскорбиновой кислоты по сравнению с контролем во всех вариантах в первый день брожения. Культура первой закваски очень активно «потребляет» аскорбиновую кислоту. Похоже, но менее активно ведут себя 5-я, 7-я и 8-я закваски. Затем наблюдается некоторое повышение содержания витамина С на третьи сутки в случае 2-й и 6-й заквасок. Особенно себя проявила закваска под номером 3, где в кисломолочном продукте уровень аскорбиновой кислоты держался постоянным в первые трое суток исследования. В случае с кисломолочным продуктом полученным с помощью заквашивания культуры №4 проявляется продуцирование витамина С на 5-е сутки.

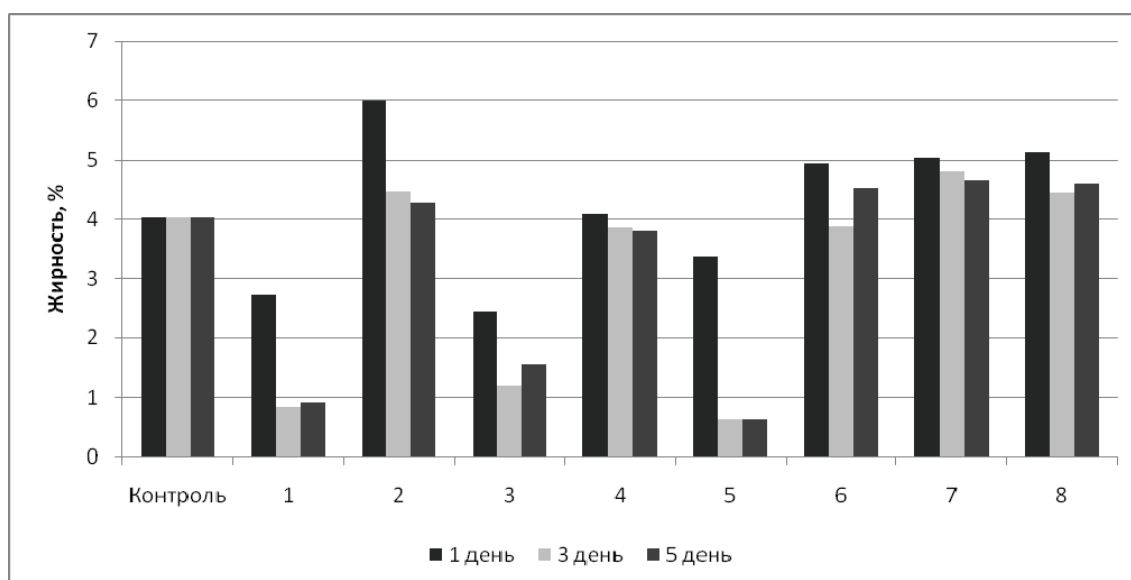


Рисунок 2 - Жирность кисломолочных продуктов из верблюжьего молока в ходе 1, 3 и 5 дня приготовления

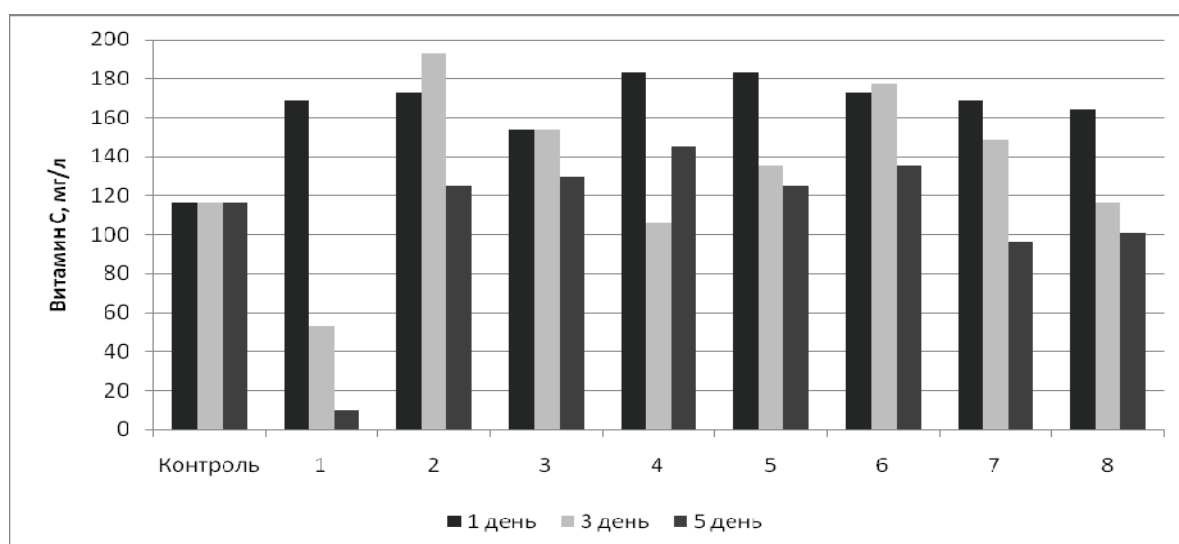


Рисунок 3 - Содержание витамина С в кисломолочных продуктах из верблюжьего молока в ходе 1, 3 и 5 дня приготовления

Через 24 ч после инокуляции заквасочных культур в верблюжье молоко наблюдается естественное увеличение кислотности среды во всех пробах (табл. 1). По сравнению с контролем (кислотность использованного молочного сырья – 20⁰T) кислотность повысилась более чем на 40⁰T. Максимальное значение в течение первых суток наблюдалось в пробах 6, 7 - заквашенных с помощью *Lactococcus plantarum* и 8 – со штаммами *Streptococcus lactis* (86, 105 и 91⁰T соответственно). Как следствие, после внесения закваски, в период инкубации молочнокислых бактерий, устанавливается кислая среда, основная часть белков казеинового комплекса коагулируется. При дальнейшем культивировании молочнокислых бактерий в верблюьем молоке, значение кислотности продолжало увеличиваться. Так, на 3-й и 5-й день эксперимента во всех вариантах кроме 2-й и 5-й пробы, значение кислотности превысило 100⁰T. Наиболее активными кислотообразователями показали себя пробы номер 4, 6, 7, 8, слабым – проба 1.

Значение pH среды понижается от значения 6,54 в контрольной пробе до минимального значения 4,9 в 6-й пробе. Через 72 ч значение pH с момента начала брожения по сравнению первым днем соответственно снижалось.

Плотность является физико-химическим показателем, который зависит от содержания жира, белка, углеводов, минеральных компонентов и витаминов или другими словами зависит от составляющих понятия «сухие вещества». Высокое значение показателя плотности наблюдается во 2-й пробе, полученный с помощью заквашивания штаммом *Lactococcus plantarum*, а наименьший – в контрольной пробе. Такие результаты дают возможность говорить что *Lactococcus plantarum* может перерабатывать отчасти жиры молока и/или продуцировать углеводы и/или белки и/или аминокислоты и/или витамины, которые потенциально влияют на увеличение значения плотности.

Известно, что по показателям вязкости можно рассчитывать технологические свойства кисломолочных продуктов. В результате данного исследования показатели вязкости возросли с 1,95кПа·с в контрольных образцах в среднем на 3,01кПа·с (таблица 1).

Таблица 1. Физико-химические свойства кисломолочных продуктов из верблюжьего молока на 1, 3 и 5 сутки сквашивания

Пробы	Сутки	Кислотность, °Т	pH	Поверхностное натяжение, Н/м	Вязкость, кПа·с	СОМО, %	Плотность, °А
Контроль		20	6,54	0,0500	1,95	9,12	30,84
1	1	64	5,17	0,0492	2,35	14,5	33,7
	3	82	5,11	0,0487	3,38	9,66	35,65
	5	94	4,8	0,0482	4,75	10,56	38,95
2	1	66	5,17	0,0519	3,07	11,49	38,13
	3	111	4,34	0,0513	4,19	10,81	36,86
	5	115	4,33	0,0505	6,26	10,67	36,54
3	1	61	5,04	0,0496	2,26	8,8	31,12
	3	98	4,5	0,0488	3,44	8,59	31,26
	5	108	4,48	0,0483	4,82	9,26	33,41
4	1	75	5,04	0,0508	3,68	10,24	35,07
	3	120	4,5	0,0502	5,13	10,57	36,48
	5	121	4,48	0,0500	6,45	10,55	36,49
5	1	53	5,19	0,0505	2,49	9,85	33,8
	3	95	4,87	0,0501	3,21	8,25	31,55
	5	87	4,8	0,0492	4,9	8,55	31,71
6	1	86	4,9	0,0506	3,28	11,15	37,72
	3	120	4,44	0,0503	4,65	10,54	37,03
	5	121	4,45	0,0499	5,96	11,17	38,24
7	1	105	4,58	0,0501	2,84	11,19	37,86
	3	125	4,36	0,0498	3,37	11,32	38,56
	5	125	4,42	0,0491	5,31	11,29	38,57
8	1	91	4,92	0,0514	4,08	10,72	36,47
	3	109	4,56	0,0512	4,83	11,14	38,03
	5	127	4,61	0,0506	5,32	11,21	38,35

Так, культуры, обладающие слабым кислотообразованием, обладали высокой липолитической активностью – проба 1, 3, 5 (0,85, 1,21 и 0,63% соответственно). В других случаях в 2, 7, 8 пробах жирность увеличивалась по сравнению с контрольной пробой (контроль - 4,03%).

Для полной характеристики исследуемых заквасок, была исследована протеолитическая активность выделенной культуры микроорганизмов. Для этого, в ходе эксперимента проводилась суб-выборка образцов для проведения SDS-PAGE по Лаэмли (1970), на качественный и количественный состав белковых фракций сыворотки полученных новых кисломолочных продуктов из верблюжьего молока.

В среднем по итогам электрофореза были ярко выражены 5 фракций сыворотки, которые представлены в таблице 2. В ходе проведения эксперимента разными заквасками наблюдается уменьшение количества фракций в полиакриламидном геле, а самое главное «тяжелые» белковые фракции уменьшаются, а взамен увеличивается содержание «легких» фракций. Это можно объяснить присутствием активного протеолиза, который стимулирует расщепление белковых фракций с высоким молекулярным весом.

Из таблицы 2 видно, что все использованные микроорганизмы активно участвуют в протеолизе высокомолекулярных белковых фракций. Так, к 3-му дню во всех пробах 1-ая фракция белков с молекулярным весом 220 кДа полностью исчезает. Белковые фракции 2 и 3 также подвержены распаду под действием микроорганизмов, с образованием более мелких пептидов, о чем свидетельствует относительное увеличение содержания фракций 4 и 5 в пробах 6, 7, 8 - *Lactococcus plantarum* и *Streptococcus lactis* к третьим суткам. В дальнейшем (к пятым суткам) эта фракция белков снижается, за счет использования микроорганизмами расщепивших пептидов в собственном метаболизме.

В пробах с культурами 6, 7 и 8, первая (наиболее тяжелая) фракция белков распадается уже в первые 24 часа, что можно объяснить активным кислотообразованием в первые часы культивирования (таблица 1). Хотя данные о связи протеолитической активности и активности кислотообразования противоречивы, однако в случае использования следующих микроорганизмов: *Lactococcus casei*, *Lactococcus plantarum*, *Streptococcus diacetilactis*, *Lactococcus acidophilis*, *Streptococcus lactis*, эта закономерность подтверждается.

Применительно к производству кисломолочных продуктов основную роль, играет протеолитическая активность микроорганизмов, проявляющаяся в первые часы развития культуры и необходима для жизнедеятельности самих клеток. В этот период суммарное количество накопленных аминокислот ничтожно с точки зрения повышения питательной ценности продукта. Однако в дальнейшем, в процессе созревания и хранения продукта, в нем может еще продолжаться ферментативный гидролиз белка, приводящий к накоплению более существенных количеств свободных аминокислот, и, следовательно, к обогащению аромата, вкуса и запаха продукта [16].

Как видно из таблицы 2, наблюдаются отличия протеолитической активности заквасочных культур между собой, не только в скорости протеолиза, но также и в различии протеолиза белковых фракций. Так, штаммы 1, 6, 7, 8 оказывали протеолитическое действие на фракции 1, 2, 5; штаммы 2, 3, 4, 5 на фракции 1, 2, 3. При этом наиболее высокую протеолитическую активность проявили штаммы 6, 7, 8.

На основании проведенных экспериментов и полученных результатов можно сделать выводы: исследованный фракционный состав белков исходного молока и приготовленных кисломолочных продуктов из него методом электрофореза свидетельствуют о том, что происходит относительное уменьшение содержания сывороточных белков, которые подвергаются расщеплению под влиянием ферментов микроорганизмов. Гидролиз сывороточных белков подтверждается также появлением более легких электрофоретически более подвижных фракций. Наблюдение за изменением концентрации белка показало, что в процессе протеолиза, протекающего при ферментации верблюжьего молока, происходят: распад белков, образование и накопление свободных аминокислот и пептидов, т.е. созревание кисломолочного продукта из верблюжьего молока приводит к обогащению его пептидами, которые легче усваиваются организмом и имеют лечебное действие.

Таблица 2 - Динамика изменения белковых фракций под действием молочнокислых бактерий, выделенных из шубата

Проба 1								
Фракция	Контроль Mw (Da)		1 День		3 День		5 День	
1	78,5%	220.000	26,9%	218.351	-	-	-	-
2	1,6%	170.000	0,4%	171.799	2,7%	91.921	-	-
3	12,7%	116.000	47,9%	117.640	19,7%	82.878	5,1%	89.886
4	4,9%	76.000	14,9%	76.000	0,2%	62.933	94,9%	62.219
5	2,3%	53.000	9,6%	54.744	77,4%	57.234	-	-
Проба 2								
Фракция	Контроль Mw (Da)		1 День		3 День		5 День	
1	78,5%	220.000	78,8%	218.351	-	-	-	-
2	1,6%	170.000	0,1%	168.885	-	-	-	-
3	12,7%	116.000	13,9%	115.446	-	-	-	-
4	4,9%	76.000	4,8%	75.108	97,4%	74.660	5,5%	89.570
5	2,3%	53.000	2,4%	53.472	2,6%	52.513	94,5%	61.270
Проба 3								
Фракция	Контроль Mw (Da)		1 День		3 День		5 День	
1	78,5%	220.000	79,2%	220.000	-	-	-	-
2	1,6%	170.000	0,1%	170.000	-	-	-	-
3	12,7%	116.000	13,7%	118.180	-	-	-	-
4	4,9%	76.000	4,8%	75.551	96,8%	75.323	99,1%	77.396
5	2,3%	53.000	2,2%	52.244	3,2%	52.903	0,9%	53.126
Проба 4								
Фракция	Контроль Mw (Da)		1 День		3 День		5 День	
1	78,5%	220.000	72,6%	224.478	-	-	-	-
2	1,6%	170.000	0,1%	170.593	-	-	-	-
3	12,7%	116.000	17,8%	113.762	-	-	-	-
4	4,9%	76.000	6,6%	73.818	96,9%	76.926	99,2%	77.034
5	2,3%	53.000	2,9%	53.000	3,1%	52.903	0,8%	53.000
Проба 5								
Фракция	Контроль Mw (Da)		1 День		3 День		5 День	
1	78,5%	220.000	20,0%	229.701	-	-	-	-
2	1,6%	170.000	0,6%	176.884	-	-	-	-
3	12,7%	116.000	35,4%	120.301	-	-	-	-
4	4,9%	76.000	34,9%	76.918	95,6%	78.121	98,6%	77.492
5	2,3%	53.000	9,1%	53.472	4,4%	53.322	1,4%	54.384
Проба 6								
Фракция	Контроль Mw (Da)		1 День		3 День		5 День	
1	78,5%	220.000	-	-	-	-	-	-
2	1,6%	170.000	-	-	-	-	-	-
3	12,7%	116.000	3,9%	91.921	-	-	1,4%	94.699
4	4,9%	76.000	96,1%	81.887	92,6%	79.859	98,6%	71.993
5	2,3%	53.000	-	-	7,4%	53.584	-	-
Проба 7								
Фракция	Контроль Mw (Da)		1 День		3 День		5 День	
1	78,5%	220.000	-	-	-	-	-	-
2	1,6%	170.000	2,8%	93.036	-	-	-	-
3	12,7%	116.000	26,1%	83.001	-	-	0,7%	95.159
4	4,9%	76.000	0,2%	63.800	5,9%	89.411	99,3%	71.686
5	2,3%	53.000	70,9%	58.101	94,1%	60.954	-	-
Проба 8								
Фракция	Контроль Mw (Da)		1 День		3 День		5 День	
1	78,5%	220.000	-	-	-	-	-	-
2	1,6%	170.000	2,6%	93.160	-	-	-	-
3	12,7%	116.000	25,2%	83.869	-	-	1,8%	94.084
4	4,9%	76.000	0,2%	64.667	2,2%	90.360	98,2%	70.305
5	2,3%	53.000	72,0%	58.473	97,8%	61.112	-	-

Таким образом, выделенные микроорганизмы, использованные в качестве заквасок, оказались активными кислотообразователями, которые в процессе своей жизнедеятельности способны образовывать витамин С и обладающие высокой протеолитической активностью. Полученные нами данные позволяют использовать их в будущем для создания симбиотических заквасок при получения новых кисломолочных продуктов. Далее, с помощью соответствующего подбора чистых культур молочнокислых бактерий для заквасок можно получать продукты с заданными физико-химическими и биохимическими свойствами.

Литература

1. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования – М.: Наука, 1975. - С.17-20.
2. Банникова А.А. и др. Микробиологические основы молочного производства. / Справочник // Королева, В.Ф. Семенихина – М.: Агропромиздат, 1987. - С. 400.
3. Инструкция по приготовлению и применению заквасок для кисломолочных продуктов на предприятиях молочной промышленности. – М.: ВНИМИ, 1993. – 59 с.
4. Rao M. B., Gupta R. C. & Dastur N. N. (1970) Camel's milk and milk products. *Indian Journal of Dairy Science*. V. 23: p. 71-78.
5. Farah Z. Composition and characteristics of camel milk // *J. Dairy Res.*, (1993). (60): p. 603-626.
6. Мусаев З.М., Тореханов А.А. Верблюдоводство Казахстана: тенденции и проблемы развития//Вестник с/х науки Казахстана. - 2006.- №11.- С. 54.
7. Ручкина Г.А., Вахитова Р.З. Верблюдоводство: учебное пособие для студ. вузов. Костанай.: ТОО «Костанайполиграфия» 2008. - 142 с.
8. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов: учебник для техникумов молочной промышленности/. – М.: Пищевая промышленность, 1980. - 272 с.
9. Твердохлеб П.В., Диланян З.Х., Чекулаева Л.В., Шиллер Г.Т. Технология молока и молочных продуктов. – М.: Агропромиздат, 1991.
10. Baubekova A. Microflora of camel milk and shubat. Report of training at CIRAD. September 2009. - 8 p.
11. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970, 227 (5259): 680–685.
12. ГОСТ 3624-92. Молоко и молочные продукты. Титрометрические методы определения кислотности.
13. Паспорт прибора Лактан 1-4 17601008 ТУ 4215-002-01173145-97. Россия.
14. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. - Vol. 193. - P. 265–275.
15. Peterson GL. Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Fair and Randall // *Anal. Biochem.* 1979. - Vol. 100. - P. 201–220.
16. Инихов Т.С., Брис М.П. Методы анализа молока и молочных продуктов: справочное руководство. – М.: Пищевая промышленность, 1971. – 423 с.
17. Банникова Л.А. и др. Микробиологические основы молочного производства: справочник. – 1987. - 400 с.

Түйін

Мақалада монодақылдар негізінде алынған ұйытқылар арқылы түйе сүтінен жасалған сүт қышқылды өнімдерді зерттеу нәтижелері көрсетілген. Пайдаланған ұйытқылардан активті қышқыл түзу, өмір сүру нәтижесінде С витаминін түзу және протеолитикалық қабілеттіктері бар екенін анықталған.

Summary

In this article gives the results of investigating the milk acid products from the camel milk of those obtained with the aid of the ferments on the basis mono cultures of bacteria's. The cultures possessed the high activity of formed acid and vitamin C, and manifested the high proteolytic activity.