

УДК 637.146:[579.864+579.873]

β- ГАЛАКТОЗИДАЗНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІЙ ЯК КРИТЕРІЙ ВІДБОРУ ШТАМІВ ДО СКЛАДУ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

О.І. Потемська, науковий співробітник, E-mail: ksyushahappy2@gmail.com

Н.Ф. Кігель, доктор технічних наук, головний науковий співробітник, E-mail: nfkigel@ukr.net

С.Г. Даниленко, кандидат технічних наук, старший науковий співробітник, E-mail: svet1973@gmail.com

К.В. Копилова, доктор сільськогосподарських наук, заступник директора, E-mail: kopylket@ukr.net

Відділ біотехнології, Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук
вул. Є. Сверстюка, 4 а, м. Київ, Україна, 02002

Анотація. β-галактозидазна активність є одним з критеріїв відбору штамів до складу бактеріальних препаратів для кисломолочних продуктів спеціального призначення. Саме цей фермент є ключовим у розщепленні лактози молока мікроорганізми закваски. Одним з важливих критеріїв для складання заквашувальних композицій у виробництві кисломолочних продуктів є їхній склад.

У роботі охарактеризовано основні етапи підбору культур лакто-, біфідо-, пропіоновокислих бактерій та створення на їхній основі композицій з високою β-галактозидазною активністю для виробництва ферментованих молочних продуктів. Встановлено, що в результаті розвитку штамів термофільних стрептококів у молоці значно зменшується вміст лактози, що свідчить про їхню здатність до продукування β-галактозидази в більшій кількості, порівнянно з *Bifidobacterium ssp* та *Propionibacterium freudenreichii ssp. schermanii*. Найбільшу β-галактозидазну активність проявляє симбіоз мікроорганізмів, що складається з термофільних стрептококів, біфідобактерій та пропіоновокислих бактерій, а саме – 604 А/хв. Утилізація лактози в готовому продукті для досліджених штамів та їхніх комбінацій варіює в межах від 12,1 % до 35,8 % від початкової її концентрації. Показано, що β-галактозидазна активність та утилізація лактози в готовому продукті є штамоспецифічними ознаками. За результатами проведених досліджень для виробництва кисломолочного продукту спеціального призначення рекомендовано використання композиції на основі штамів *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis* та *Propionibacterium freudenreichii ssp. schermanii*, що входять до складу бактеріального препарату.

Ключові слова: кисломолочний продукт, лактоза, β-галактозидазна активність, заквашувальний препарат.

β -GALACTOSIDASE ACTIVITY OF BACTERIA AS A CRITERION OF SELECTION OF STRAINS FOR THE COMPOSITION OF STARTER CULTURES

O. Potemska, Research Fellow, E-mail: ksyushahappy2@gmail.com

N. Kigel, Doctor of Technical Sciences, Senior Researcher, E-mail: nfkigel@ukr.net

S. Danylenko, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, E-mail: svet1973@gmail.com

K. Kopylova, Doctor of Agricultural Sciences, Deputy Director, E-mail: kopylket@ukr.net

Department of Biotechnology, Institute of Food Resources of the National Academy of Agrarian Sciences
Street Ye.Sverstiuk, 4a, Kyiv, Ukraine, 02002

Annotation. β-galactosidase activity is one of the criteria of the selection of strains for the composition of bacterial preparations for sour-milk products of special purpose. This enzyme is key in the cleavage of milk lactose by starter microorganisms. One of the important criteria for the formulation of starter compositions in the production of fermented milk products is their composition.

The main stages of the selection of lactobacillus, bifidobacterium and propionic acid bacteria and the creation of their compositions with high β-galactosidase activity for the production of fermented dairy products are presented in this paper. It is found that strains of thermophilic streptococci in their development in the milk lead to the greatest reduction of lactose, this indicating of their high ability of producing β-galactosidase activity as compared to *Bifidobacterium ssp*, and *Propionibacterium freudenreichii ssp. schermanii*. The highest β-galactosidase activity manifests symbiosis microorganisms *Streptococcus thermophilus*, bifidobacteria and propionic acid bacteria, namely – 604 A/min. The quality and biological value of sour-milk products directly depend on the starter preparations used. Therefore, in order to obtain fermented milk products of special purpose with low lactose concentration, high-activity strains of microorganisms were studied. The utilization of lactose in the finished product, in the strains studied and their combinations studied varies widely from 12,1 % to 35,8 % of its initial concentration. It is shown that β-galactosidase activity and utilization of lactose in the finished product are strain-specific features. As a result of studies carried out, the use of *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis* and *Propionibacterium freudenreichii ssp. schermanii* strains, formulating new starter culture, is recommended for sour-milk products of special purpose.

Key words: fermented milk product, lactose, β-galactosidase activity, starter culture.

Copyright © 2015 by author and the journal "Food Science and Technology".

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY). <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



DOI: <http://dx.doi.org/10.15673/fst.v11i3.604>

Вступ. Формулювання проблеми

Перспективним соціально важливим напрямом прикладної біотехнології є розробка бактеріальних препаратів для ферментованих молочних напоїв функціонального призначення з пониженим

вмістом лактози і підвищеним вмістом біологічно активних речовин. Відомо, що деякі люди страждають на непереносимість лактози, що пов'язано з генетично обумовленим дефіцитом ферменту β-галактозидази. Цей фермент розщеплює лактозу на

моносахариди – глюкозу та галактозу, таким чином, він є ключовим у розщепленні лактози молока мікроорганізмами закваски під час ферментації.

Актуальним є дослідження β -галактозидазної активності окремих штамів та їх композицій, як основної складової для заквашувальних культур. Отримані дані можуть бути використані для відбору мікроорганізмів для створення бактеріальних комбінацій заквасок. Результати виконаних досліджень дозволять отримати молочні продукти зі зниженим вмістом лактози.

Аналіз літератури

Як відомо, у деяких людей вживання навіть декілька ковтків молока тягне за собою прояв різних симптомів – від незначного здуття живота до тимчасових порушень у психіці. Реакції виникають через непереносимість лактози чи алергію на молочний білок. У дітей можуть співіснувати обидві реакції. Молоко є першим стороннім джерелом білка для дитини і важливим джерелом поживних речовин, тому його не можна вилучати з раціону дітей. Лактазну недостатність вперше, біля 400 років до нашої ери, описав Гіппократ, однак, її клінічні симптоми стали визнаними в практичній медицині впродовж останніх 50 років [1].

Лактазна недостатність (ЛН), в основі якої лежить порушення розщеплення лактози в тонкій кишці ферментом лактазою (β -галактозидазою), широко розповсюджена та зустрічається практично у всіх вікових групах населення. Поширеність ЛН неоднакова у різних регіонах земної кулі: Швеція, Данія – 3 %, Фінляндія, Швейцарія – 16 %, Англія – 20 – 30 %, Франція – 42 %, країни Південно-Східної Азії, афроамериканці США – 80 – 100 %, європейська частина Росії – 16 – 18 %. Особливе значення проблема ЛН має в ранньому дитинстві, оскільки лактоза складає приблизно 80 – 85 % вуглеводів грудного молока [2].

Деякі випадки непереносимості лактози є широко відомими. Наприклад, деякі захворювання системи травлення та пошкодження тонкого кишечника можуть знижувати кількість вироблених ферментів. Інколи нездатність організму виробляти лактазу є вродженою, проте, для більшості людей недостатність лактази природно розвивається з часом. Після досягнення дворічного віку, організм дитини починає виробляти менше лактази. Проте безліч людей не мають жодних симптомів лактазної недостатності, доки не стають значно старшими [3,4].

Лактазну недостатність поділяють на первинну вроджену лактазну недостатність та вторинну лактазну недостатність. Лікування первинної лактазної недостатності проводиться протягом всього життя, вторинної – до відновлення продукції своєї лактази в слизовій оболонці кишківника [5].

Натепер, одним із підходів до лікувально-реабілітаційних заходів для дітей з вторинною лактазною недостатністю рекомендується застосовувати пробіотики, до складу яких залучено мікроорганізми з високим рівнем β -галактазної активності. Пробиотики, що застосовуються при ЛН, поряд зі здатністю розщеплювати лактозу, повинні активізувати ферментативну активність індигенної мікрофлори кишківника, а також не містити лактози у своєму складі. Загалом лактазна активність пробіотичних препаратів здатна забезпечити належний рівень розщеплення лактози у кишківнику та її засвоєння у кишківнику споживачів різного віку з вторинною ЛН. З цього погляду, заслуговують на увагу препарати, які містять штами лактобактерій, наприклад «Лацидофіл» (Інститут Розель, Канада) та вітчизняний мультипробіотик «Симбітер ацидофільний». Комбінований пробіотик Біфіформ® є комплексним препаратом у вигляді розчинних у кишківнику капсул (виробник «Ферросан А/С», Данія), він належить до сучасних пробіотиків, не містить лактози і може бути рекомендований для корекції вторинної ЛН, яка розвивається внаслідок порушення мікробіоти тонкої кишки [2,6,7].

При розробці сучасних технологій готової продукції необхідно дотримуватися таких вимог, як технологічність, комплексність, екологічність, біобезпечність, енергоекономічність та ін. Застосування в складі заквасок спеціальних мікроорганізмів з високою здатністю до синтезу β -галактозидази є актуальним та має практичну значимість для виробництва низьколактозних молочних продуктів. Створення нових видів молочних продуктів, здатних задовольнити потреби різних груп населення, в тому числі з різними захворюваннями і патологіями, належить до найважливіших задач молочної промисловості.

Відомо, що кисломолочні продукти містять меншу кількість лактози і збагачені ферментами, вітамінами, антибактеріальними речовинами, поліпептидами, вільними амінокислотами, органічними кислотами, що підвищують їхню біологічну активність, визначають специфічні, пробіотичні та бажані технологічні властивості. Тому створення заквасок на основі мікроорганізмів з високою біохімічною активністю є однією із вимог до штамів, які залучають до їхнього складу.

Для зниження масової частки лактози в молочної сировині найчастіше застосовують наступні способи:

- ферментативний гідроліз;
- мембранні методи оброблення молока.

Опосередкованою ознакою β -галактозидазної активності молочнокислих і біфідобактерій є їхня кислотоутворювальна здатність, що дозволяє визначити кількість розщепленої лактози та індекс лактозозброжджувальної активності. Встановлено, що в порівнянні з біфідобактеріями, болгарською паличкою та лактококами, найбільш

лактазопродуктивними штамами є термофільні молочнокислі стрептококи. Фермент, що продукують *S. thermophilus*, характеризується високою активністю і стабільністю за рН молока 6,68 [9].

Водночас, як показали F. Bouzar, J. Cernung, M. Desmazeaud, *S. thermophilus* (за активного росту) до настання стаціонарної фази росту майже вдвічі менше розщеплюють лактозу порівняно з лактобацилами *L. delbrueckii*, відповідно 14 – 28 % та 42 % від її початкової кількості у молоці [10].

Розщеплення лактози є першою стадією ферментування лактози. Лактоза транспортується у *S. thermophilus* за допомогою лактозопермеази (білка LacS), котра може діяти, як лактозо-галактозний антипортер або як галактозид-протонна симпортна система. Галактозо-негативний фенотип *S. thermophilus* призводить до надлишку галактозидів з будь-якого боку клітинної мембрани за розвитку його у молоці. Такий фенотип енергетично більш вигідний, крім того, функціонування LacS, як антипортеру, сприяє швидшому росту та розмноженню мікроорганізмів [11,12]. У такий спосіб β-D-галактозидаза розщеплює лактозу до глюкози та галактози. Глюкозний залишок вступає у реакції гліколізу з формуванням лактату, тоді як LacS за нормальних умов секретує галактозу назовні в обмін на лактозу [13,14]. Галактоза утворюється під час гідролізу лактози β-D-галактозидазою, при цьому глюкозний залишок майже повністю використовується клітиною для енергетичних та синтетичних потреб, а галактозний – виводиться назовні завдяки функціонуванню LacS, як лактозно-галактозного антипортера [15].

Виведення галактози в обмін на лактозу є швидким та енергетично вигідним процесом, тому не дивно, що більшості штамів *S. thermophilus* притаманний галактозо-негативний фенотип [11,13]. Проте повна утилізація галактози є бажаною у багатьох промислових виробництвах, зокрема в тих випадках, коли накопичення галактози у молоці або сирі призводить до розвитку дефектів молочних продуктів (потемніння продукту або росту небажаних гетероферментативних МКБ). Окрім того, споживання галактози у великій кількості є небезпечним, оскільки викликає накопичення токсичного галактітолу у тканинах людини [12].

Виявлено штами біфідобактерій, які не тільки проявляють здатність продукувати β-галактозидази, що здатні розщеплювати лактозу, але також продукують суміш галактоолігосахаридів, яка містить до 35 % дисахаридів галабіози (Gal (α1-6) -Gal). Останній, як відомо, є антиадгезивним засобом, здатним запобігати адгезії токсинів, наприклад шигатоксину, і патогенів, таких як *E. Coli* [16].

Свідчення щодо продукування пропіоновокислими бактеріями β-галактозидаз в науковій літературі відсутні, оскільки лактоза ними безпосередньо не засвоюється [17].

Таким чином, актуальність проблеми посилення β-галактозидазної активності у штамів молочнокислих мікроорганізмів, що застосовуються в біотехнології молочних продуктів, зумовила необхідність проведення досліджень у цій галузі.

Мета представленої роботи – підбір культур лакто-, біфідо- та пропіоновокислих бактерій з високою β-галактозидазною активністю, які можна залучати для виробництва ферментованого кисло-молочного напою спеціального призначення.

Визначена мета роботи обумовила необхідність вирішення таких основних задач:

- дослідити утилізацію лактози окремими штамами молочнокислих бактерій (МКБ), пропіоновокислих бактерій (ПКБ), біфідобактерій (ББ) та їхніх комбінацій;
- визначити β-галактозидазну активність.

Матеріали та методи досліджень

Об'єктами досліджень слугували штами МКБ, ББ та ПКБ із колекції промислово-цінних штамів ІПР НААН та їхні заквашувальні комбінації. Здатність досліджуваних штамів *S. thermophilus* утилізувати різноманітні цукри визначали у середовищі MPC (середовище de Man, Rogosa and Sharpe) [18], пропіоновокислі бактерії – на лактатному середовищі, а біфідобактерії – на гідролізатно-молочному середовищі з єдиним джерелом вуглеводу за кінцевою величиною активної кислотності поживного середовища (рН) [19].

Рівень споживання лактози досліджували через 5 годин культивування бактерій у відновленому знежиреному молоці методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі LC-6A (Shimadzu) на колонці SCR-101N (Shimadzu). Елюентом слугувала деіонізована дегазована вода, температура термостата колонок 60 °С, детектор рефрактометричний, швидкість елюції 0,2 см³/хв.

Активність β-галактозидази бактерій оцінювали, використовуючи хромогенний субстрат о-нітрофеніл-β-D-галактопіранозид. За одиницю ферментативної активності приймали таку кількість ферменту, яка каталізує гідроліз 1,0 мкМ його з утворенням забарвленого о-нітрофенолу при рН 4,6 і 30 °С за 1 хвилину [20]. β-галактозидазну активність визначати за формулою:

$$\beta = 1000 \times \left(\frac{A_{420}}{t \times V} \right), A/\text{хв} \quad (1)$$

де t – тривалість реакції (10 хв); V – об'єм зразка для аналізу; A_{420} – оптична густина.

Результати досліджень та їхнє обговорення

Враховуючи те, що глюкоза, утворена внаслідок гідролізу лактози, є основним енергетичним джерелом живлення мікроорганізмів, важливо було дослідити активність споживання лактози молока штамами, які вже застосовують у виробництві кис-

ломолочних продуктів або можуть бути використані для ротації.

Досліджено, як змінювалась концентрація лактози при заквашуванні молока різними культурами або їхньою комбінацією (табл. 1).

Таблиця 1 – Утилізація лактози промисловими штамами та їх комбінаціями

№ п/п	Назва культур	Утилізація лактози, %
1	<i>S. thermophilus 381</i>	28,4
2	<i>S. thermophilus 2120</i>	12,8
3	<i>S. thermophilus ct-4</i>	32,4
4	<i>B. bifidum 4101</i>	17,1
5	<i>B. longum 4201</i>	12,1
6	<i>B. adolescentis 4400</i>	16,7
7	<i>P. freudenreichii ssp. schermanii 110</i>	21,8
8	Комбінація <i>S. thermophilus</i> 1:1:1	32,5
9	БТП-Ф*	35,8
10	Контроль (К)**	15,8

*БТП-Ф-композиція (ББ+термофільні стрептококи+ПКБ)

**Контроль (К) – кисле молоко.

Як свідчать дані табл. 1, штами *S. thermophilus ct-4* і *S. Thermophilus 381* показали найвищий рівень гідролізу лактози – 32,4 % та 28,4 % відповідно. Дещо менший цей показник у ПКБ – 21,8 %. Водночас штами біфідобактерій мають найнижчий показник утилізації лактози:

B. Longum 4201 – 12,1 %, *S. Thermophilus 2120* – 12,8 %. Такі результати узгоджуються з літературними даними [9].

Високий рівень утилізації лактози спостерігали у комбінаціях мікроорганізмів порівняно з окремими штамами. Так, комбінуння штамів *S. thermophilus* у співвідношенні 1:1:1 сприяло зниженню кількості лактози після ферментації до 32,5 %, а показник утилізації лактози при застосуванні сухого бактеріального препарату БТП-Ф складає 35,8 %. Отже, рівень споживання лактози є штамоспецифічною ознакою і у досліджених штамів та комбінацій варіює в межах від 12,8 % до 35,8 % від початкової її концентрації

Деякими авторами показано, що біфідобактерії мають низьку β-галактозидазною активність і це є однією з причин їхнього слабого розвитку в молоці. Виявлено, що активізація росту біфідобактерій в молоці шляхом введення ферменту β-галактозидази, або за рахунок високої β-галактозидазної активності інших заквашувальних культур, пов'язана з підвищенням власної β-галактозидазної активності біфідобактерій. За таких умов біфідобактерії здобувають здатність вилучати з лактози необхідну для свого розвитку глюкозу. У зв'язку з цим доцільно культивувати біфідобактерії в молочному середовищі разом з термофільним стрептококом, який відрізняється високою β-галактозидазною активністю [21]. Також проведено дослідження β-галактозидазної активності зазначених вище штамів та їх комбінацій (рис.1).

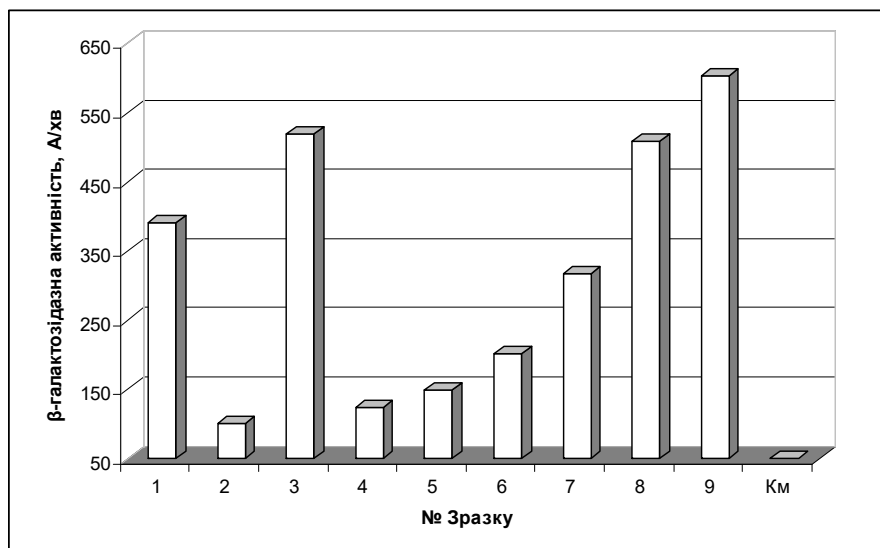


Рис. 1. β-галактозидазна активність досліджуваних штамів та їх композицій

1– *S. thermophilus 381*; 2 – *S. thermophilus 2120*; 3 – *S. thermophilus ct-4*; 4 – *B. bifidum 4101*; 5– *B. longum 4201*; 6 - *B. adolescentis 4400*; 7 – *P. freudenreichii ssp. schermanii 110*; 8 – комбінація *S. thermophilus* 1:1:1; 9 – композиція БТП-Ф; 10 – Контроль (К)

Аналіз β-галактозидазної активності взятих для дослідження штамів та їхніх комбінацій пока-

зав, що найменшою β-галактозидазною активністю володіли штами *B. longum 4201*, *B. adolescentis*

4400, *B. bifidum* 4100, що є однією з причин їхнього слабого розвитку в молоці, а найбільшою β-галактозидазною активністю – *S. thermophilus* ct-4 (519 А/хв). Штам *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* H-110 мав середнє значення β-галактозидазної активності при дослідженні його у чистій культурі, що входить до композиції. Композиція всіх штамів у співвідношенні 3%+5%+2% (молочнокислі стрептококи + біфідобактерії + пропіоновокислі бактерії) показала найкращий результат щодо накопичення β-галактозидази (604 А/хв).

Висновок, що штами термофільних стрептококів *S. thermophilus* 381 та *S. thermophilus* ct-4 при розвитку в молоці призводять до найбільшого зниження лактози, це свідчить про їхню вищу здатність до продукування β-галактозидази серед лактококів у порівнянні з іншими штамми.

Як видно з рисунку 1, окремі штами *S. thermophilus* мають нижчі показники β-галактозидазної активності порівняно з їхніми комбінаціями, що свідчить про виникнення синергізму їх β-галактозидазних властивостей.

Результати досліджень свідчать про доцільність залучення культур термофільного стрептокока з високою β-галактозидазною активністю до складу заквашувальної композиції для стимуляції росту біфідобактерій в молоці при виробництві кисло-

молочних продуктів та біологічно активних добавок з пробіотичними властивостями.

Апробація результатів досліджень За результатами досліджень було розроблено біотехнологію бактеріального препарату «БТП-Ф» для кисломолочного продукту спеціального призначення «Даринка». Технологію продукту було впроваджено у виробництво.

Висновки

Таким чином, проведені дослідження дозволили:

- показати, що штамоспецифічною ознакою є утилізація лактози в готовому продукті. Цей показник у досліджених штамів та комбінацій варіює в межах 12,8 – 35,80 % від початкової її концентрації;
- виявити штами різних таксономічних груп, що відрізняються високою здатністю до синтезу ферменту β-галактозидази та створити композиції на їх основі. Найвищою β-галактозидазною активністю відрізнялась композиція БТП-Ф (604 А/хв).;
- встановити, що, з метою забезпечення ефективного зниження рівня лактози, доцільно поєднувати штами з високим та низьким рівнем β-галактозидазної активності, оскільки це дозволяє скоротити термін ферментації та зниження рівня лактози у кінцевому продукті.

Список літератури:

1. Бабаян, М. Л. Лактазная недостаточность: современные методы диагностики и лечения [Текст] / М. Л. Бабаян // Медицинский совет. – 2013. – № 1. – С. 24–27. DOI: <http://dx.doi.org/10.21518/2079-701X-2013-1-24-27>
2. Марушко, Ю.В. Актуальні питання діагностики та терапії вторинної лактазної недостатності у дітей [Текст] / Ю.В. Марушко, М.Г. Грачова, Т.В. Ювіца // Современная педиатрия. – 2014. – 64, № 8. – С. 110-114.
3. Бельмер, С. В. Современный взгляд на переносимость лактозы [Текст] / С. В. Бельмер // Педиатрия. (Прил. к журн. Consilium Medicum). – 2012. – № 4. – С. 7–10.
4. Абатуров, А.Е. Лактазная недостаточность у детей [Текст] / А.Е. Абатуров, А.А. Никулина, Л.Л. Петренко // Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. – 2015. – 7, №2. – С. 51-63
5. Shaukat, A. Systematic review: effective management strategies for lactose intolerance. [Text] / A. Shaukat, M.D. Levitt, V.C.Taylor // Ann Intern Med. – 2010. – №12, (152). – P. 797-803. DOI: 10.7326/0003-4819-152-12-201006150-00241.
6. Лактазная недостаточность у больных с постинфекционным синдромом раздраженного кишечника и роль микрофлоры кишечника в ее развитии (результаты рандомизированного двойного слепого контролируемого исследования) [Текст] / П. Л. Щербак, А. И. Парфенов, И. Н Ручкина и др. // Экспериментальная и клиническая. Гастроэнтерология – 2012. – № 5. – С. 91-98.
7. Сравнительная оценка эффективности различных схем профилактического приема мультипробиотика «СИМБИТЕР» в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании у детей [Текст] / О.В. Выговская, В.В. Бережной, Р.А. Моисеенко и др. // Современная педиатрия. – 2011. – 35, № 1. – С. 111-116
8. Шадрін, О.Г. Проблеми діагностики лактазної недостатності у дітей раннього віку [Текст] / О.Г. Шадрін, К.О. Хомтувська // Дитячий лікар. – 2014. – 34, № 5. – С. 5-9.
9. Ганина, В.И. β-галактозидазная активность молочнокислых бактерий и бифидобактерий [Текст] / Ганина В.И., Калинина Л.В., Большакова Е.В. // Молочная промышленность. – 2002. – № 8. – С. 36-37.
10. Bouzar, F. Exopolysaccharide production and texture-promoting abilities of mixed-strain starter cultures in yogurt production [Text] / F. Bouzar, J. Cernung, M. Desmazeaud // Journal of dairy science. – 1997. – 80, №10. – P. 2310-2317. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76181-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76181-2)
11. Levander, F. Enhanced exopolysaccharide production by metabolic engineering of *Streptococcus thermophilus* [Text] / F. Levander, M. Svensson, P. Radstrom // Applied and environmental microbiology. – 2002. – 68, № 2. – P. 784-790. DOI: 10.1128/AEM.68.2.784-790.2002
12. Molecular and biochemical analysis of the galactose phenotype of dairy *Streptococcus thermophilus* strains reveals four different fermentation profiles [Text] / F. Vin, P. Rådström, L. Herman, L. Vuyst // Applied and environmental microbiology. – 2005. – 71, № 7. – P. 3659-3667. DOI:10.1128/AEM.71.7.3659-3667.2005
13. Zisu, V. Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275 [Text] / B. Zisu, N. P. Shah // Journal of dairy science. – 2003. – 86, № 11. – P. 3405-3415. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73944-7

14. Audet, P. Sugar utilization and acid production by free and entrapped cells of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, and *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* in a whey permeate medium [Text] / P. Audet, C. Paquin, C. Lacroix // Applied and environmental microbiology. – 1989. – 55, № 1. – P. 185-189.
15. Enzymes involved in carbohydrate metabolism and their role on exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus* [Text] / A. Escalante, C. Wacher-Rodarte, M. Garcia-Garibay, A. Farres // Journal of applied microbiology. – 1998. – 84, № 1. – P. 108-114.
16. Intra- and extracellular β -galactosidases from *Bifidobacterium bifidum* and *B. infantis*: molecular cloning, heterologous expression, and comparative characterization. [Text] / P.L. Moller, F. Jorgensen, O.C. Hansen et al. // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – 67, № 5. – P. 2276-2283 DOI: 10.1128/AEM.67.5.2276-2283.2001
17. Данилов, М.Б. Активность β -галактозидазы микроорганизмов, используемых в производстве молочных продуктов [Текст] / М.Б. Данилов. // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2001. – № 7. – С. 30-31.
18. de Man, J.C. A medium for the cultivation of lactobacilli. [Text] / J.C. de Man, M. Rogosa, M.E. Sharpe. // J. Appl. Bacteriol. – 1960. – 23, № 1. – P. 130-135 DOI: 10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x
19. Payne, J.F. Note: evaluation of selective media for the enumeration of Bifidobacteria sp. in milk / J.F. Payne, A.E. Morris, P. Beers. // J. Appl. Microbiol. – 1999. – 86, № 2. – 353-358. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00671.x
20. Hekman, Sh. Survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum in ice cream for use as a probiotic food [Text] / Sh. Hekman, D. McMakon // J. Dairy Scien. – 1992. – 75, №6. – P. 1415-1422. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(92)77895-3
21. Синбиотики в технологии продуктов питания: Монография / И.А. Рогов, Е.И. Титов, В.И. Ганина, Н.В. Нефёдова, Г.В. Семёнов, С.И. Рогов. М.: МГУПБ, 2006.-218с.: ил.56

β - ГАЛАКТОЗИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ, КАК КРИТЕРИЙ ОТБОРА ШТАММОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

О.И. Потемская, научный сотрудник, E-mail: ksyushahappy2@gmail.com

Н.Ф. Кигель, доктор технических наук, главный научный сотрудник, E-mail: nfkigel@ukr.net

С.Г. Даниленко, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, E-mail: svet1973@gmail.com

К.В. Копылова, доктор сельскохозяйственных наук, заместитель директора, E-mail: kopylket@ukr.net

Отдел биотехнологии, Институт продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук Украины
ул. Е. Сверстюка, 4 а, г. Киев, Украина., 02002

Аннотация. β -галактозидазная активность является одним из критериев отбора штаммов в состав бактериальных препаратов для кисломолочных продуктов специального назначения. В работе охарактеризованы основные этапы подбора культур лакто-, бифидо- и пропионовокислых бактерий и создание на их основе композиций с высокой β -галактозидазной активностью для производства ферментированных молочных продуктов. Установлено, что результатом развития штаммов термофильных стрептококков в молоке является максимальное снижение содержания лактозы, это свидетельствует об их высокой способности к продуцированию β -галактозидазы по сравнению с *Bifidobacterium ssp* и *Propionibacterium ssp*. Наибольшую β -галактозидазную активность проявляет симбиоз микроорганизмов, состоящий из термофильных стрептококков, бифидобактерий и пропионовокислых бактерий, а именно – 604 А/мин. Утилизация лактозы в готовом продукте для исследованных штаммов и их комбинаций варьирует в пределах от 12,1 % до 35,8 % от начальной ее концентрации. По результатам проведенных исследований для производства кисломолочного продукта специального назначения рекомендуется использовать композицию на основе штаммов *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum* *B. adolescentis* и *Propionibacterium freudenreichii ssp. schermanii*, входящих в состав бактериального препарата.

Ключевые слова: кисломолочный продукт, лактоза, β -галактозидазная активность, бактериальный препарат.

References

1. Babayan ML. Lactase deficiency: latest diagnostic methods and treatment. Meditsinskiy Sovet. 2013; 1: 24–27 DOI: <http://dx.doi.org/10.21518/2079-701X-2013-1-24-27>
2. Marushko YuV., Grachova MG., IovItsa TV. Actual questions of diagnostics and therapy of secondary lactase deficiency in children. Sovremennaya pediatriya. 2014; 8(64): 110-114.
3. Belmer SV. A modern look at the intolerance of lactose. Pediatrics. (Pril. k zhurn. Consilium Medicum). 2012 Apr; 4: 7–10.
4. Abaturov AE, Nykulyna AA., Petrenko LL. Lactase insufficiency in children. International Journal of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology. 2015; 2(7): 51-63
5. Shaukat A., Levitt MD, Taylor BC. Systematic review: effective management strategies for lactose intolerance. Ann Intern Med. 2010 Jun; 152(12): 797-803. DOI:10.7326/0003-4819-152-12-201006150-00241.
6. Shcherbakov PL, Parfenov AY, Ruchkyna YN, Fadeeva NA, Hubyina AV, Melyk-Ahadzhanian NB, et al. Lactase insufficiency in patients with postinfectious irritable bowel syndrome and the role of intestinal microflora in its development (results of a randomized, double-blind, controlled study). Experimental & clinical gastroenterology. 2012; 5: 91-98.
7. Kramarev SA, Vyigovskaya OV, Berezhnoy VV, Moiseenko RA, Ursulenko SV., Vlasenko NA, Andrievskaya NM, et al. Comparative potency assignment of various schemes of prophylactic administration of multiprobiotic symbiter in the double-blind placebo-controlled study in children. Sovremennaya Pediatriya. 2011 Jan; 1(35): 111-116.
8. Shadrin OG, Homutovska KO. Problems of diagnostics of lactase deficiency in children of early age. DI. 2014 Jul; 5(34): 5-9.
9. Ganina VI, Kalinina LV, Bolshakova EV. β – galaktozidaznaya aktivnost molochnokislykh bakteriy i bifidobakteriy. Molochnaya promyshlennost. 2002; 8: 36-37
10. Bouzar F, Cernung J, Desmazeaud M. Exopolysaccharide production and texture-promoting abilities of mixed-strain starter cultures in yogurt production. J. of dairy science. 1997; 80(10): 2310-2317. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76181-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76181-2)

11. Levander F, Svensson M, Radstrom P. Enhanced exopolysaccharide production by metabolic engineering of *Streptococcus thermophilus*. Applied and environmental microbiology. 2002; 68(2): 784-790. DOI: 10.1128/AEM.68.2.784-790.2002
12. Vin F, Rådström P, Herman L, Vuyst L. Molecular and biochemical analysis of the galactose phenotype of dairy *Streptococcus thermophilus* strains reveals four different fermentation profiles. Applied and environmental microbiology. 2005; 71(7): 3659-3667 DOI:10.1128/AEM.71.7.3659-3667.2005
13. Zisu B, Shah NP. Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. J. of dairy science. 2003; 86(11): 3405-3415. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73944-7
14. Audet P, Paquin C, Lacroix C. Sugar utilization and acid production by free and entrapped cells of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, and *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* in a whey permeate medium. AEM.1989; 55(1): 185-189.
15. Escalante A, Wachter-Rodarte C, Garcia-Garibay M, Farres A. Enzymes involved in carbohydrate metabolism and their role on exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*. J. Appl. Microb. 1998;84(1): 108-114.
16. Moller PL., Jorgensen F., Hansen OC., Madsen SM., Stougaard P. Intra- and extracellular β -galactosidases from *Bifidobacterium bifidum* and *B. infantis*: molecular cloning, heterologous expression, and comparative characterization. Appl. Environ. Microbiol. 2001; 67(5): 2276-2283. DOI: 10.1128/AEM.67.5.2276-2283.2001
17. Danilov, M.B. Aktivnost The β -galactosidase activity of microorganisms used in the production of dairy products Storage and processing of farm products. 2001 Jul; 7: 30-31.
18. de Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E. A medium for the cultivation of lactobacilli. J. Appl. Bacteriol, 1960 Apr; 23(1): 130-135. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x
19. Pain J.F., Morris A.E., Beers P. Note: evaluation of selective media for the enumeration of Bifidobacteria sp. in milk. J. Appl. Microbiol, 1999; 86(2): 353-358. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00671.x
20. Hekman Sh, McMakon D. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. J. Dairy Sci. 1992; 75(6): 1415-1422. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(92)77895-3
21. Rogov IA, Titov EI, VI. Ganina, NV. Nefyodova, GV. Semyonov, Rogov SI, editors. Symbiotics in food technology. M.: MGUPB; 2006.

Отримано в редакцію 10.07.2017
 Прийнято до друку 22.08. 2017

Received 10.07.2017
 Approved 22.08. 2017