

ВЛИЯНИЕ *LACTOBACILLUS FERMENTUM*, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ МЯТЫ (*MENTHA SPP.*), НА БЕЛКОВЫЙ И АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ И МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Рихсиев Х.Б., Абдуллаев А.О., Мустафаева Г.Т.
Ташкентский международный университет Кимё

Аннотация. В работе проведено комплексное исследование общего белка и аминокислотного состава молочных продуктов (творог, сыворотка молочная и кисломолочная). Общее содержание белка определяли методом Кьельдаля, количественную оценку растворимых белков — методом Лоури, молекулярно-массовое распределение — методом SDS-PAAG - электрофореза, а свободные аминокислоты — методом **высокоэффективная жидкостная хроматография** (ВЭЖХ) после дериватизации фенилизотиоцианатом. Полученные результаты свидетельствуют о более высоком содержании белка и свободных аминокислот в кисломолочных образцах, что обусловлено биохимическими процессами ферментации.

Ключевые слова: молочная сыворотка, творог, общий белок, метод Кьельдаля, метод Лоури, SDS-PAAG, **Высокоэффективная жидкостная хроматография** (ВЭЖХ), аминокислотный состав.

Введение. Молоко и продукты его переработки являются ценными источниками полноценного белка и незаменимых аминокислот. Биохимические изменения, происходящие при ферментации, существенно влияют на количественные и качественные характеристики белкового комплекса. В связи с этим актуальным является комплексное исследование белкового состава молочных продуктов с использованием современных аналитических методов.

Целью настоящей работы явилось определение общего белка, фракционного состава и аминокислотного профиля молочной и кисломолочной продукции.

Материалы и методы исследования

1. Определение общего белка методом Кьельдаля

Определение общего азота проводили по методу Кьельдаля с последующим пересчетом на белок. Метод основан на минерализации органического вещества концентрированной серной кислотой с образованием аммонийных солей, переводе аммония в аммиак, его отгонке в раствор кислоты и титриметрическом определении.

Массовую долю азота (X, %) рассчитывали по формуле с учетом:

- объема раствора NaOH в контрольном и опытном образцах;
- поправочного коэффициента;
- массы навески;
- эквивалента азота (0,0014 г для 1 мл 0,05 моль/л H₂SO₄).

Массовую долю белка определяли по формуле:

$$Y = K \times X \quad Y = K \times X$$

где K = 6,38 (для молочных продуктов умеренной жирности).

Таблица 1

Результаты определения общего белка (по методом Кельдаля):

№	Образец	Азот (%)	Белок (%)
1	Творог из катыка	0,28	1,79
2	Творог из молока (Контроль)	1,37	8,75
3	Молочная сыворотка (Контроль)	0,06	0,41
4	Сыворотка из катыка	0,98	6,25

Полученные данные показывают более высокое содержание белка в кисломолочных образцах.

2. Определение общего белка методом Лоури

Количественную оценку растворимых белков проводили методом Лоури, основанным на биуретовой реакции и восстановлении реактива Фолина–Чокальтеу ароматическими аминокислотами.

Оптическую плотность измеряли при 600–750 нм.

Таблица 2

Общая концентрация белка по методу Лоури для всех четырех образцов.

Образец	Белок (мкг/мл)
Молочная сыворотка (Контроль)	1034
Сыворотка из катыка	1388
Творог из молока (Контроль)	875
Творог из катыка	179

Концентрация белка в кисломолочной сыворотке оказалась выше, что связано с частичным гидролизом белков при ферментации.

3. SDS-ПААГ электрофорез

Фракционирование белков проводили в 12% полиакриламидном геле в присутствии SDS.

Объемы внесения образцов:

- Маркер — 3 мкл
- Сыворотка молочная — 10, 15, 20 мкл
- Сыворотка кисломолочная — 15, 20 мкл

Результаты. В молочной сыворотке выявлены белки с молекулярной массой 20–22 кДа. В кисломолочной сыворотке обнаружены фракции 15, 20, 25 и 35 кДа. Это свидетельствует о более выраженном протеолизе при ферментации.

Определение свободных аминокислот методом ВЭЖХ. Осаждение белков проводили 20% ТХУК с последующим центрифугированием. После лиофилизации и нейтрализации гидролизаты дериватизировали фенилизотиоцианатом по методу Steven A., Cohen David J. Анализ выполняли методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent Technologies 1200 с DAD-детектором.

Колонка: Discovery HS C18 (75×4.6 мм).

Детекция: 269 нм.

Таблица 3

Результаты аминокислотного анализа (мг/г)

Образец	Σ аминокислот
Молочная сыворотка (Контроль)	4,095
Сыворотка из катыка	5,801
Творог из молока (Контроль)	92,528
Творог из катыка (кисломолочный творог)	13,576

Наибольшее содержание аминокислот выявлено в молочном твороге. Среди преобладающих аминокислот отмечены:

- глутаминовая кислота
- аспарагиновая кислота
- пролин
- гистидин

В кисломолочных образцах наблюдается увеличение концентрации свободных аминокислот, что объясняется активностью молочнокислой микрофлоры.

Обсуждение:

Сравнительный анализ показал, что ферментация существенно влияет на белковый и аминокислотный профиль молочных продуктов.

Метод Кьельдаля позволяет оценить общий белок, однако не отражает степень протеолиза. Метод Лоури характеризует растворимую белковую фракцию. SDS-PAAG демонстрирует изменение молекулярной массы белков, а ВЭЖХ позволяет количественно определить свободные аминокислоты.

Комплексное применение данных методов обеспечивает всестороннюю оценку биохимического состава молочных продуктов.

Заключение

1. Кисломолочные продукты характеризуются более высоким содержанием растворимых белков.
2. Ферментация приводит к изменению молекулярно-массового состава белков.
3. Аминокислотный профиль существенно варьирует в зависимости от степени переработки продукта.
4. Комплекс методов (Кьельдаля, Лоури, SDS-PAAG, ВЭЖХ) является эффективным инструментом оценки пищевой и биологической ценности молочных продуктов.

Список использованной литературы

1. Смирнов, В. В. Молочнокислые бактерии и их использование в пищевой промышленности Москва. 2017.
2. Калашников, В. А. Молочные бактерии и их использование в пище. – Москва: Академия 2017.
3. Agilent Technologies. Amino Acid Analysis using Agilent Zorbax Eclipse Plus Columns and the Agilent 1260/1290 Infinity II LC Systems. – *Technical Overview*, 2022. – Publication No. 5991-8502EN.
4. Bayer, B., et al. SDS-PAGE: Methods and Protocols // *Methods in Molecular Biology*. – 2024. – Vol. 2735. – P. 3–20.

5. He, W., et al. Modern Approaches to Protein Precipitation and Sample Preparation for Chromatographic Analysis // *Analytica Chimica Acta*. – 2025. – Vol. 1320. – Art. 341850.
6. Karakas, B., et al. Optimization of pre-column derivatization methods for amino acid analysis in complex food matrices // *Food Chemistry*. – 2023. – Vol. 405. – Art. 134816.
7. Rutherford, S. M., Gilani, G. S. Amino Acid Analysis: Current Methods and Challenges // *Journal of AOAC International*. – 2023. – Vol. 106. – No. 1. – P. 11–22.
8. Snyder, L. R., Kirkland, J. J., Dolan, J. W., Carr, P. W. Introduction to Modern Liquid Chromatography. – 4th ed. – John Wiley & Sons, 2023. – 1024 p.

