

## МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИЙ ФЕРМЕНТ ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ И ЭКСТРАКТОВ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Павлова Е.Е.<sup>1</sup>, Вашневская А.В.<sup>2</sup>, Суворова П.А.<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>магистрант 2 года обучения, <sup>2</sup>студентки 3 курса ВГУ имени П.М. Машерова,

г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель – Жерносеков Д.Д., доктор биол. наук, доцент

**Ключевые слова.** Вешенка обыкновенная, глубинное культивирование, ксилотрофные грибы, молокосвертывающий фермент.

**Keywords.** Oyster mushroom, deep cultivation, xylotrophic fungi, milk-clotting enzyme.

Биотехнология, как динамично развивающаяся область науки, открывает перспективы для биосинтеза биологически активных соединений с использованием разнообразных биологических объектов, включая грибы. В контексте поиска перспективных продуцентов особого внимания заслуживает род *Pleurotus* (Вешенка), характеризующийся комплексом ценных пищевых, медицинских и биотехнологических свойств, обусловленных его метаболическим потенциалом и способностью к эффективной переработке органических субстратов. Дальнейшие исследования, направленные на оптимизацию условий культивирования и разработку эффективных методов выделения целевых соединений из биомассы и культуральной жидкости *Pleurotus*, представляются актуальными и перспективными для развития инновационных биотехнологических решений.

*Pleurotus ostreatus* (Вешенка обыкновенная) является перспективным продуцентом молокосвертывающего фермента, представляющего интерес для пищевой промышленности, в частности, для производства сыров. В отличие от традиционных сычужных ферментов животного происхождения, ферменты грибного происхождения являются альтернативным и востребованным источником. Молокосвертывающий фермент *P. ostreatus* представляет собой внеклеточную протеазу, относящуюся к классу аспарагиновых протеаз. Эти ферменты характеризуются наличием активного центра, содержащего два остатка аспарагиновой кислоты, необходимых для каталитической активности. Фермент обладает специфичностью к пептидной связи между фенилаланином и метионином в  $\kappa$ -казине, основном белке молока. Расщепление этой связи приводит к дестабилизации мицелл и их агрегации, что и вызывает свертывание молока.

Целью нашей работы было сравнение молокосвертывающей активности культуральной жидкости и экстрактов плодовых тел *Pleurotus ostreatus*.

**Материал и методы.** Исходный штамм *Pleurotus ostreatus x floridanus*, гибрид (*P. ostreatus x P. florida*) 462 был предоставлен Государственным научным учреждением «Институтом леса Национальной академии наук Беларусь» из коллекции грибов ГНУ «Института леса НАН Беларусь». Для исследования молокосвертывающей активности в плодовых телах вешенки обыкновенной грибы приобретались в магазине торговой сети «Евроопт». В первом случае для оценки молокосвертывающей активности использовалась культуральная жидкость, полученная после 14-дневной инкубации мицелия на жидкой картофельно-сахарозной среде [1]. Во втором случае молокосвертывающая активность определялась в гомогенате, полученном из плодовых тел. Для приготовления гомогената использовался 0,01М ацетатный буфер с pH 4,7. Разрушение клеточной стенки происходило за счет реакции «замораживание-оттаивание». Супернатант для определения молокосвертывающей активности получали после центрифugирования в течение 20 минут при 10000 об/мин (модель центрифуги – TG16G).

Молокосвертывающая активность (МСА) определялась методом, описанным в работе [2], и выражалась в единицах Сокслета (SU). Одна единица Сокслета соответствует

количеству фермента, необходимому для свертывания 1 см<sup>3</sup> субстрата за 40 минут при температуре 35 °С. Расчет единиц Сокслета проводился по следующей формуле:

$$SU = (M \times 2400) \div (E \times t),$$

где:

М – объем субстрата (см<sup>3</sup>);

Е – объем ферментного экстракта (мл);

т – время свертывания (с).

В качестве субстрата для определения молокосвертывающей активности использовалось два вида молока: коровье пастеризованное молоко с массовой долей жира 3,3% и безлактозное молоко с массовой долей жира 3,2%.

**Результаты и их обсуждение.** Экспериментально была подтверждена и определена молокосвертывающая активность ферментных препаратов Вешенки обыкновенной, полученных в результате глубинного культивирования и выделенных из плодовых тел. Результаты активности ферментного препарата на коровьем молоке представлены в таблице.

Таблица – Активность ферментного препарата на коровьем молоке

Ферментный препарат	MCA, ед/см <sup>3</sup>
Полученный при глубинном культивировании	19
Выделенный из плодовых тел	9,06

Кроме того, ферментный препарат, выделенный из плодовых тел, показал молокосвертывающую активность на безлактозном молоке в качестве субстрата равную 13,33 ед/см<sup>3</sup>.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют говорить о возможности получения молокосвертывающего ферментного препарата, как из плодовых тел Вешенки обыкновенной, так и методом глубинного культивирования, отдавая при этом предпочтение тому способу, который будет в наибольшей степени удовлетворять потребности производителя.

Особого внимания заслуживают результаты исследования, полученные нами на безлактозном молоке. Известно, что разработка безлактозных пищевых продуктов функционального назначения для удовлетворения потребностей потребителей является сегодня одним из приоритетных направлений пищевой промышленности. Рынок безлактозных молочных продуктов является самым быстрорастущим сегментом молочной промышленности. В современной научной литературе содержатся рекомендации по использованию безлактозных молочных продуктов для обеспечения людей, чей организм не способен переваривать лактозу, необходимыми питательными веществами, присутствующими в обычных молочных продуктах, такими как кальций и витамины [3]. В этом плане предлагаемый нами ферментный препарат из экстракта плодовых тел вешенки обыкновенной приобретает особую ценность.

1. Жерносеков, Д. Д. Применение ксилотрофных грибов рода Pleurotus и Trichoderma в современной биотехнологии / Д. Д. Жерносеков // Весник ВДУ, 2022. – №3 (116). – С. 17–22.
2. Purification and characterization of milk-clotting enzyme from edible mushroom Pleurotus florida / A. Bakr [et al.] // Letters in Applied NanoBioScience, 2022. – Vol. 11, № 2. – P. 3362–3373.
3. Хелеф, Мухаммед Эль Амине. Безлактозные молочные продукты: перспективы производства / Мухаммед Эль Амине Хелеф, Ю. В. Голубцова, С. А. Иванова // Новые технологии. – 2022. – Т. 18, №3. – С. 94–105.