

## Исследование аминокислотной активности лакто- и бифидобактерий в процессе ферментации

Людмила Э. Глаголева<sup>1</sup>  
Михаил И. Корыстин<sup>1</sup>  
Александр А. Родионов<sup>1</sup> rodionovast@mail.ru  
Наталья А. Пастухова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> кафедра сервиса и ресторанного бизнеса, Воронеж. гос. ун-т. инж. техн., пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394066, Россия

**Реферат.** В работе оценена роль лакто- и бифидобактерий как источника аминокислот, являющихся структурным элементом ряда биологически активных веществ, продуцируемых индигенной микрофлорой организма человека и участвующих в разнообразных обменных процессах организма хозяина. Исследования аминокислотной активности консорциума бифидобактерий, состоящего из *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4 или лактобактерий *Lactobacillus casei rhamnosus* проводили по окончании процесса ферментации молока с исходной титруемой кислотностью 19 °Т при температуре 38–40 °С в течение 12–16 часов до достижения титруемой кислотности 85–100 °Т, образования плотного геля и накопления биомассы бифидобактерий или лактобактерий до концентраций не менее 10<sup>9</sup> КОЕ/г. Массовую долю белка определяли методом Кьельдаля, аминокислотный состав - методом ионообменной хроматографии с помощью жидкостного хроматографа Shimadzu LC-20 Prominence. В результате проведенной ферментации исследуемых систем было установлено увеличение массовой доли белка в продукте, что свидетельствует о накоплении белков бактериального происхождения – для консорциума бифидобактерий – в количестве 1%, для лактобактерий в количестве – 0,2%. При ферментации *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4 установлен следующий ряд преимущественного синтеза аминокислот: аланин, глутаминовая кислота, метионин, глицин, гистидин, серин, треонин, тирозин, валин, пролин. При ферментации *Lactobacillus casei rhamnosus* установлен преимущественный синтез метионина, аланина, глутаминовой кислоты, аргинина, серина, гистидина, треонина, валина, изолейцина, лейцина, тирозина, триптофана. Полученные данные необходимы для оценки коррекции пищевого статуса при введении в рацион пробиотических продуктов с использованием данного консорциума бифидобактерий или лактобактерий *Lactobacillus casei rhamnosus* в организации детского, геронтологического, профилактического и диетического питания.

**Ключевые слова:** бифидобактерии, лактобактерии, ферментированные молочные продукты, заменимые, незаменимые аминокислоты

## Study amino acid activity lacto-, bifidobacteria during fermentation

Lyudmila E. Glagoleva<sup>1</sup>  
Mikhail I. Korystin<sup>1</sup>  
Aleksandr A. Rodionov<sup>1</sup> rodionovast@mail.ru  
Natalia A. Pastukhova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> service and restaurant business department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394066, Russia

**Summary.** The paper evaluated the role of lactobacilli and bifidobacteria, as a source of amino acids, are the building blocks of a number of biologically active substances produced by the indigenous microflora of the human body and involved in various metabolic processes of the host organism. Research Consortium bifidobacteria amino activity consisting of *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4 or *Lactobacillus casei rhamnosus* carried *Lactobacillus* after fermentation of milk with initial acidity titrated 19 °T at 38–40 °C for 12–16 hours until the titratable acidity 85–100 °T, dense gel formation and accumulation of biomass of bifidobacteria and lactobacilli to a concentration of not less than 10<sup>9</sup> cfu/g. The mass proportion of protein was determined by the Kjeldahl method, the amino acid composition – by ion exchange chromatography using the liquid chromatography Shimadzu LC-20 Prominence. As a result of fermentation was investigated systems installed increasing mass fraction of protein in the product, indicating that the accumulation of bacterial proteins – for bifidobacteria consortium - in an amount of 1%, in an amount of lactobacilli to – 0.2%. Fermentation *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4 installed next row preferential synthesis of amino acids: alanine, glutamic acid, methionine, glycine, histidine, serine, threonine, tyrosine, valine, proline. Fermentation *Lactobacillus casei rhamnosus* installed advantageous synthesis of methionine, alanine, glutamic acid, arginine, serine, histidine, threonine, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, tryptophan. The data needed to assess the nutritional status of correction, when introduced into the diet of probiotic products with this consortium of bifidobacteria or lactobacilli *Lactobacillus casei rhamnosus* in the organization of children, gerontology, and preventive diet.

**Keywords:** bifidobacterium, lactobacillus, fermented dairy products, nonessential, essential amino acids

Для цитирования

Глаголева Л. Э., Корыстин М. И., Родионов А. А., Пастухова Н. А. Исследование аминокислотной активности лакто- и бифидобактерий в процессе ферментации // Вестник ВГУИТ. 2016. № 4. С. 160–165. doi:10.20914/2310-1202-2016-4-160-165

For citation

Glagoleva L. E., Korystin M. I., Rodionov A. A., Pastukhova N. A. Study amino acid activity lacto-, bifidobacteria during fermentation. *Vestnik VSUET* [Proceedings of VSUET]. 2016. no. 4. pp. 160–165. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2016-4-160-165

### Введение

Нормофлора человека в результате многообразия клеточного метаболизма бактерий различных групп и штаммов, входящих в ее состав, выполняет многообразные функции в морфогенезе и деятельности различных систем организма человека. В данных процессах участвуют ферменты, витамины, гормоны, экзо- и эндотоксины, а также различные соединения, обладающие биологической активностью, продуцируемые индигенной микрофлорой, населяющей различные биотопы хозяина. Установлены факторы, негативно, влияющие на численность и активность микробиоты, а также отрицательные последствия дисбактериозов: ослабление иммунного статуса организма, нарушение кроветворения, снижение детоксикационной функции кишечника, трансформация проканцерогенных веществ в канцерогенные, повреждение слизистой кишечника с последующим перерождением в опухолевые клетки [1–5]. Доказанное важное значение лакто- и бифидобактерий в гомеостазе и поддержании здоровья организма человека определяет актуальность разработки новых технических и технологических решений в области проектирования продуктов питания [6]. В настоящее время обогащение пищевых продуктов пробиотическими микроорганизмами превышает концентрации, ранее принятые стандартами по производству кисломолочной продукции –  $10^6$  КОЕ/мл. В настоящее время пищевая промышленность представляет ассортимент продуктов, содержащих  $10^7$ – $10^9$  КОЕ/мл – «Бифишка», «Нарине», «Нарине форте», разработана линейка продуктов – бактериальных концентратов, содержащих не менее  $10^9$  КОЕ/мл лакто- и бифидобактерий, полученных на основе заквасок прямого внесения – консорциумов микроорганизмов производства ООО «Биопродукт»: «Бифилюкс», «Иммунолакт», «Лактиналь», «Биоматрикс». Достижение указанных концентраций бактерий в активной форме приводит к возрастанию массовой доли белка в продукте и изменению его аминокислотного состава. Накопление аминокислот бактериального происхождения является важным критерием для оценки количества продуктов микробного биосинтеза – биологически активных веществ, продуцируемых бифидофлорой. Исследование изменений аминокислотного состава и оценка биологической ценности молочных ферментированных продуктов с высоким содержанием биомассы пробиотической микрофлоры – актуальная научная задача.

Цель данной работы – исследование процесса накопления аминокислот в результате ферментации молока консорциумом бифидобактерий, состоящим из *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4 и лактобактериями *Lactobacillus casei rhamnosus*.

### Материалы и методы

Ферментацию молока с исходной титруемой кислотностью  $19^\circ \text{T}$  осуществляли консорциумом бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4 или *Lactobacillus casei rhamnosus* при температуре  $38$ – $40^\circ \text{C}$  в течение  $12$ – $16$  часов до достижения титруемой кислотности  $85$ – $100^\circ \text{T}$ , образования плотного геля и накопления биомассы бифидобактерий или лактобактерий до концентраций не менее  $10^9$  КОЕ/г. Массовую долю белка определяли методом Къельдаля, аминокислотный состав ферментированных систем определяли методом ионообменной хроматографии с помощью жидкостного хроматографа Shimadzu LC-20 Prominence.

### Результаты и обсуждение

В результате проведенной ферментации исследуемых систем было установлено увеличение массовой доли белка в продукте, что свидетельствует о накоплении белков бактериального происхождения – для консорциума бифидобактерий – в количестве  $1\%$ , для лактобактерий в количестве –  $0,2\%$ .

Изменение аминокислотного состава по незаменимым и заменимым аминокислотам для исследуемых консорциумов представлено на рисунках 1–4.

Из экспериментальных результатов, представленных на рисунках 1–4, видно, что изменение профиля аминокислот специфично для исследуемого консорциума бифидобактерий и для исследуемого штамма лактобактерий, что свидетельствует об уникальной метаболической активности исследуемых микроорганизмов в процессе ферментации.

Сравнительный градиент изменения концентраций отдельных аминокислот отражен на рисунке 5.

Изменение аминокислотного профиля исследуемых ферментированных систем влечет изменение не только их функциональных свойств, исследование которых затруднительно вследствие многообразия корректируемых функций, но и изменение биологической ценности ферментированных продуктов (таблица 1).

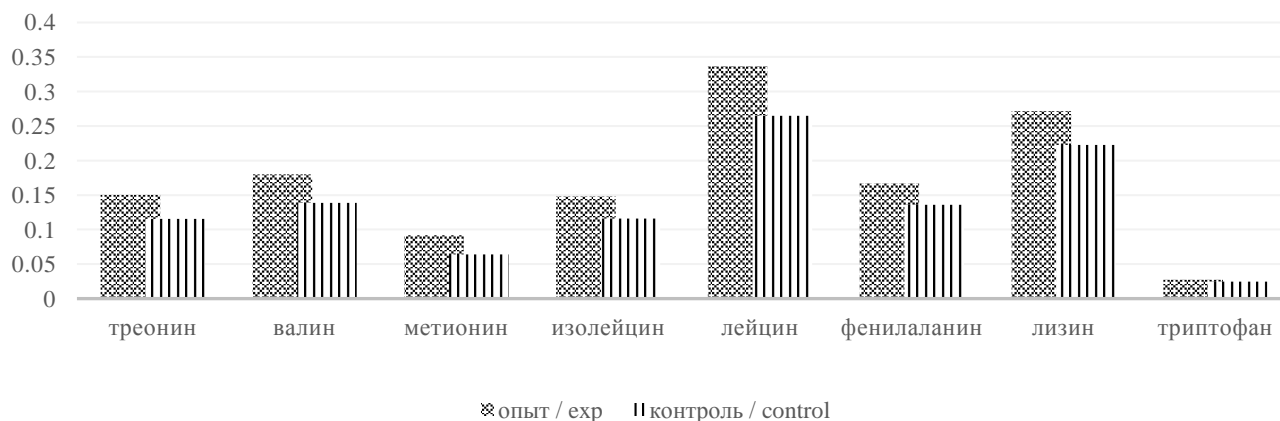


Рисунок 1. Содержание незаменимых аминокислот в молочной среде, ферментированной консорциумом *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4

Figure 1. The content of essential amino acids in breast environment, fermented consortium *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4

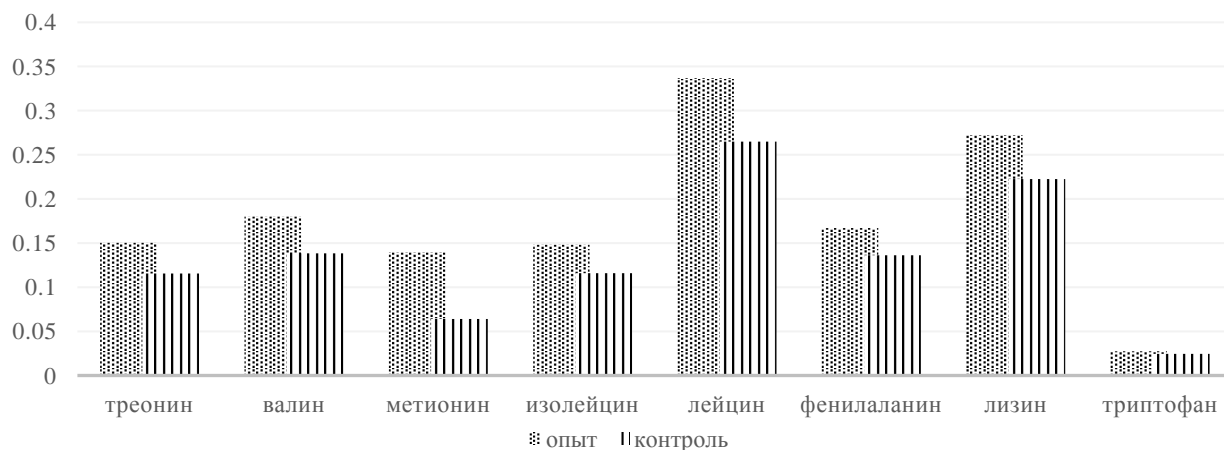


Рисунок 2. Содержание незаменимых аминокислот в молочной среде, ферментированной штаммом *Lactobacillus casei rhamnosus*

Figure 2. The content of essential amino acids in the medium of lactic fermented strain *Lactobacillus casei rhamnosus*

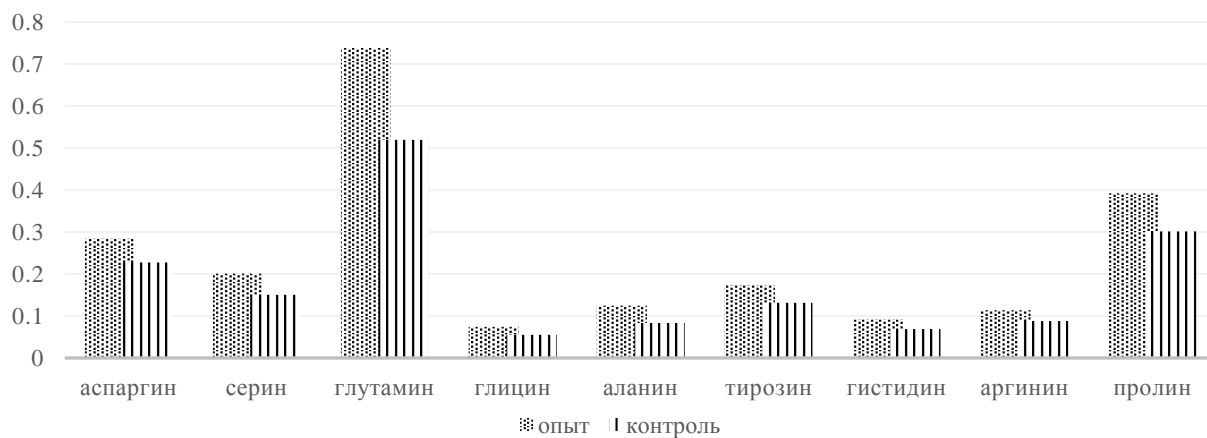


Рисунок 3. Содержание заменимых аминокислот в молочной среде, ферментированной консорциумом *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4

Figure3. The content of amino acids in breast environment, fermented consortium *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4

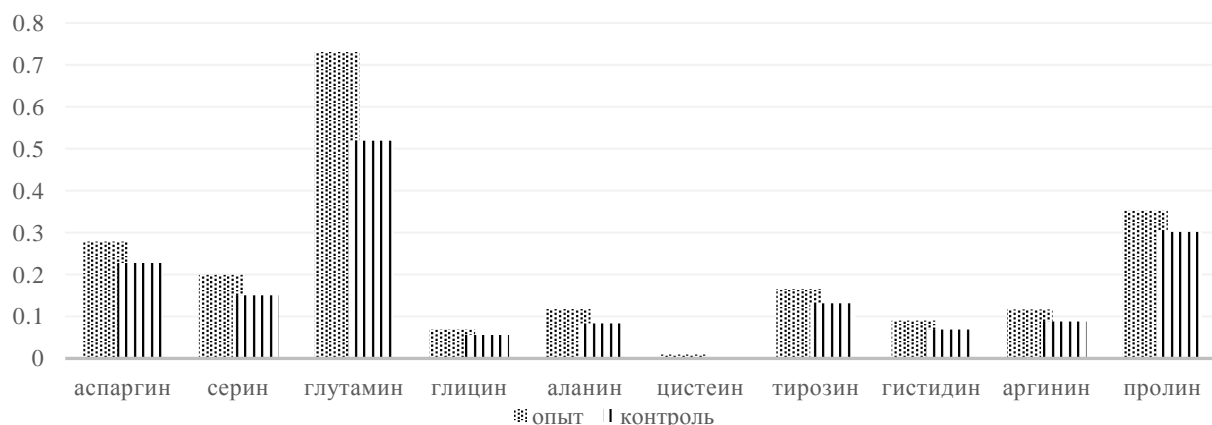


Рисунок 4. Содержание заменимых аминокислот в молочной среде, ферментированной штаммом *Lactobacillus casei rhamnosus*

Figure 4. The content of amino acids in the milk medium fermented strain *Lactobacillus casei rhamnosus*

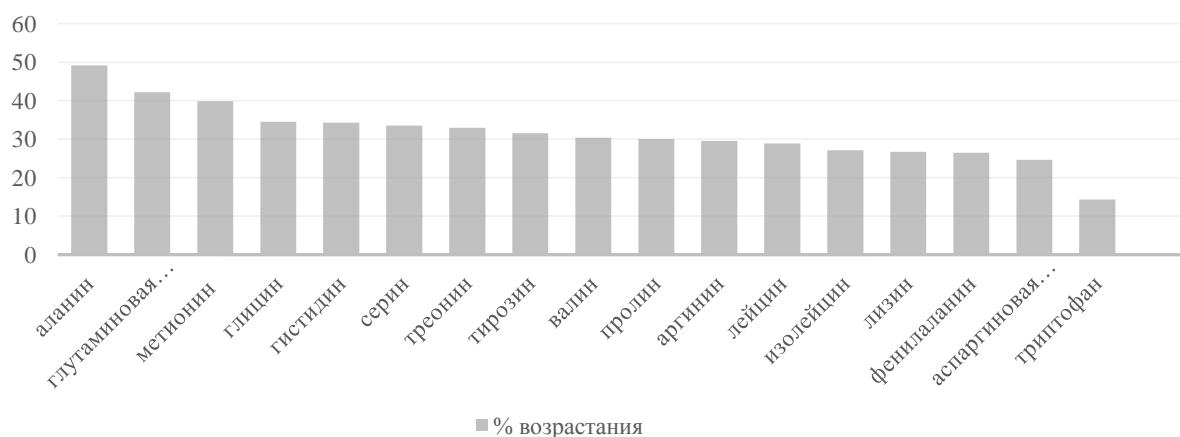


Рисунок 5. Профиль изменения количества аминокислот при ферментации консорциумом *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4

Figure 5. Profile change number of amino acids in the fermentation consortium *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4

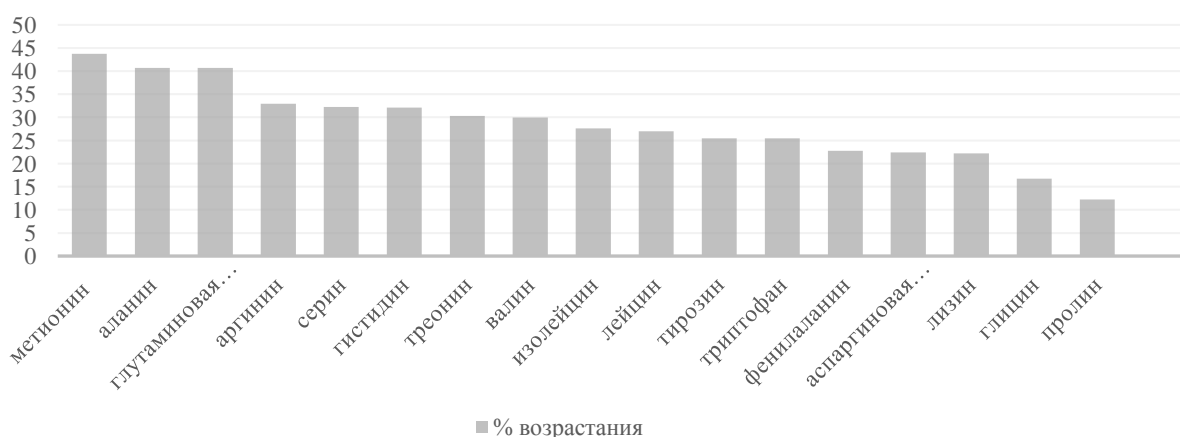


Рисунок 6. Профиль изменения количества аминокислот при ферментации штаммом *Lactobacillus casei rhamnosus*

Figure 6. Profile change number of amino acids in the fermentation of a strain of *Lactobacillus casei rhamnosus*

Аминокислотный скор ферментированных продуктов

Table 1

Amino acid swift fermented products

Незаменимые аминокислоты / Essential amino acids	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> Y-4	<i>Lactobacillus casei</i> <i>rhamnosus</i>	Контроль Control
	Опыт experiment	Опыт experiment	
Треонин / Threonine	109,6	107,5	82,5
Валин / Valine	103,2	102,8	77,2
Изолейцин / Isoleucine	105,2	105,7	82,8
Лейцин / Leucine	139,4	137,2	108,1
Лизин / Lysine	146,5	141,0	115,6
Триптофан / Tryptophan	80,0	79,0	70,0
Метионин + цистеин / Methionine + Cysteine	73,1	82,6	52,3
Фенилаланин + тирозин / Phenylalanine + tyrosine	164,3	158,2	127,2

Полученные результаты свидетельствуют, что в результате ферментации консорциумом бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis* или штаммом *Lactobacillus casei rhamnosus* происходит неравномерное накопление аминокислот, входящих в состав синтезируемых микроорганизмами веществ белковой природы, обладающих различной биологической ценностью и функциональным воздействием на организм.

При ферментации *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4 установлен преимущественный синтез таких аминокислот как: треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, лизин, триптофан, аспарагиновая кислота + аспарагин, серин, глутаминовая кислота + глутамин, тирозин, гистидин, аргинин, пролин.

При ферментации *Lactobacillus casei rhamnosus*: треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, лизин, триптофан,

аспарагиновая кислота + аспарагин, серин, глутаминовая кислота + глутамин, цистеин, тирозин, гистидин, аргинин, пролин.

### Заключение

Установлена разница аминокислотной активности исследуемого консорциума бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* Y-4 и штамма *L. casei rhamnosus* при ферментации молока до достижения концентрации пробиотической микрофлоры не менее  $10^9$  КОЕ/мл, что может выражаться в формировании различных функциональных биокорректирующих свойств биопродуктов, производимых с применением данных микроорганизмов, что обуславливает необходимость разработки и внедрения комплексных схем применения ферментированных продуктов в терапевтических целях с учетом метаболической аминокислотной активности различных консорциумов.

### ЛИТЕРАТУРА

1 Loiko N.G., Kozlova A.N., Nikolaev Y.A., Gal'chenko V.F. et al. Changes in the phase variant spectra in the populations of lactic acid bacteria under antibiotic treatment // Microbiology (Mikrobiologiya). 2014. V. 83. № 3. P. 195–204.

2 Олескин А.В., Шендеров Б.А. Биополитический подход к реабилитологии: потенциальная роль микробной нейробиологии // Вестник восстановительной медицины. 2013. № 1. С. 60–67.

3 Калюжин О.В., Бунятян К.А., Инвиева Е.В., Ананьев Д.П. и др. Бронхит в профилактике послеоперационных осложнений и коррекции расстройств иммунной системы и кишечной микрофлоры у больных колоректальным раком // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". 2013. № 1. С. 52–54.

4 Roberfroid M.B. Prebiotics: the concept revisited // J. Nutr. 2007. V. 137. № 3. P. 830–837.

5 Backhed F. Programming of host metabolism by the gut microbiota // Ann Nutr Metab. 2011. V. 58. № 2. P. 44–52.

6 Глаголева Л.Э., Рясина Л.О., Родионов А.А., Пастухова Н.А. Перспективы инновационных продуктов здорового питания на основе БАД «Витазар» // Вестник Воронежского Государственного университета инженерных технологий 2016. № 1 (67). С. 122–127.

### REFERENCES

1 Loiko N.G., Kozlova A.N., Nikolaev Y.A., Gal'chenko V.F. et al. Changes in the phase variant spectra in the populations of lactic acid bacteria under antibiotic treatment. Microbiology (Mikrobiologiya). 2014, vol. 83, no. 3, pp. 195–204.

2 Oleskin A.V., Shenderov B.A., Biopolitics, human microbiota and neurochemistry. *Vestnik vosstanovitel'noi meditsiny* [Journal of rehabilitation medicine] 2013, no. 1, pp. 60–67. (in Russian)

3 Kalyuzhin O.V., Bunyatyan K.A., Inviyaeva E.V. Bion 3 in the prevention of post-operative complications, and disorders of the immune system correction and intestinal microbiota in patients with colorectal cancer. *Chelovek I ego zdorov'e* [Kursk scientific-practical herald "Persons and his health"] 2013, no. 1, pp. 52–54. (in Russian)

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Людмила Э. Глаголева** д. т. н., профессор, кафедра сервиса и ресторанного бизнеса, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394066, Россия,

**Михаил И. Корыстин** к. т. н., доцент, кафедра сервиса и ресторанного бизнеса, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394066, Россия,

**Александр А. Родионов** аспирант, кафедра сервиса и ресторанного бизнеса, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394066, Россия, rodionovast@mail.ru

**Наталья А. Пастухова** студент, кафедра сервиса и ресторанного бизнеса, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394066, Россия,

#### КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

**Людмила Э. Глаголева** предложила методику проведения эксперимента

**Михаил И. Корыстин** консультация в ходе исследования

**Александр А. Родионов** написал рукопись, корректировал её до подачи в редакцию и несёт ответственность за плагиат

**Наталья А. Пастухова** обзор литературных источников по исследуемой проблеме

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 31.10.2016

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 18.11.2016

4 Roberfroid M.B. Prebiotics: the concept revisited. *J. Nutr.*, 2007, vol. 137, no. 3, pp. 830–837.

5 Backhed F. Programming of host metabolism by the gut microbiota. *Ann Nutr Metab.*, 2011, no. 58, vol. 2, pp. 44–52.

6 Glagoleva L.E., Ryaskina L.O., Rodionov A.A., Pastukhov N.A. Prospects of innovative products on the basis of a healthy diet supplement "Vitazar". *Vestnik VGUIT*. [Proceedings of Voronezh State University engineering technology] 2016, no. 1 (67), pp. 122–127. (in Russian)

#### INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Lyudmila E. Glagoleva** doctor of technical sciences, professor, service and restaurant business department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394066, Russia,

**Mikhail I. Korystin** candidate of technical sciences, assistant professor, service and restaurant business department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394066, Russia,

**Aleksandr A. Rodionov** graduate student, service and restaurant business department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394066, Russia, rodionovast@mail.ru

**Natalia A. Pastukhova** student, service and restaurant business department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394066, Russia,

#### CONTRIBUTION

**Lyudmila E. Glagoleva** proposed a scheme of the experiment

**Mikhail I. Korystin** consultation during the study

**Aleksandr A. Rodionov** wrote the manuscript, correct it before filing in editing and is responsible for plagiarism

**Natalia A. Pastukhova** review of the literature on an investigated problem

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 10.31.2016

ACCEPTED 11.18.2016