

## ПОТРЕБЛЕНИЕ И НАКОПЛЕНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПРИ ЛАКТОФЕРМЕНТАЦИИ БЕРЕЗОВОГО СОКА

*И.Б. Развязная, В.Н. Тимофеева*

Проведен сравнительный анализ качественного и количественного состава белка в свежем березовом соке и соке, подвергнутом целенаправленному молочнокислому брожению. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в свежем березовом соке было идентифицировано 13 свободных аминокислот, в том числе две незаменимых. Суммарное содержание свободных аминокислот после лактоферментации березового сока увеличилось более чем в десять раз.

### Введение

Задача обеспечения населения продуктами функционального питания или здорового питания определяет приоритетные направления исследований в области пищевой химии. Лидером в индустрии негазированных напитков по-прежнему остается рынок натуральных соков. По прогнозам специалистов маркетинговой сферы, в ближайшие годы сегмент соков и соко-содержащих напитков останется одним из самых быстрорастущих на мировом рынке. При этом вкусовые предпочтения уже, как правило, являются установившимися. В связи с этим, позиционируя соковую продукцию, производители акцентируют внимание потребителей на ее свойствах, полезных для здоровья. Одним из направлений работы является создание соко-содержащей продукции, обогащенной белками [1].

Безалкогольные напитки, изготавливаемые с использованием современных технологий, являются сложносоставленными продуктами, обладающими различными функциональными свойствами и способными обогащать организм биологически активными веществами [2]. В производстве напитков за рубежом широко используются достижения микробиологии. На ее достижениях основано производство ферментируемых напитков. Соки подвергаются ферментации сознательно с помощью бактерий. Использование ферментации придает продукту натуральность, естественность и дает новый рынок на рынке соков.

На кафедре технологии пищевых производств учреждения образования «Могилевский государственный университет продовольствия» проводятся исследовательские работы, связанные с изучением химико-технологических свойств березового сока и созданием на его основе новых консервированных продуктов. В рамках исследований представляло интерес изучить изменение свободных аминокислот в процессе целенаправленной ферментации молочнокислыми бактериями березового сока.

### Результаты исследований и их обсуждение

Химический состав березового сока колеблется в зависимости от места произрастания деревьев, климатических условий, срока сбора и даже высоты подсочки. Наиболее богат по составу сок, собранный в начале и середине сокодвижения. Нами установлено, что содержание растворимых сухих веществ изменяется на протяжении периода подсочки в пределах от 1,4 до 0,8%. Основная часть сухих веществ – это редуцирующие сахара, массовая доля которых составляет от 1,37 до 0,7%. При этом сок, собранный на территории Брестской области, содержал больше растворимых сухих веществ, чем сок, собранный на территории Могилевской области.

На перерабатывающих предприятиях традиционно выпускают консервированный березовый сок с сахаром и различные наименования купажированных березовых соков. Но, несмотря на очень широкий ассортимент купажированных напитков на основе березового сока, потребительский рынок требует новые виды консервированного березового сока.

Свежий березовый сок – нестойкий в хранении продукт, который способен быстро и самопроизвольно сбразиваться и превращаться в «березовый квас». При этом основная часть микроорганизмов березового кваса составляют молочнокислые бактерии. Кроме того, обнаружено присутствие дрожжей, энтерококков, микромицетов. Однако непостоянный состав микрофлоры спонтанно сброженного березового сока (березового кваса) не позволяет предвидеть конечный биохимический состав продукта, а следовательно, и рекомендовать напиток в лечебно-профилактическом питании. С связи с этим для получения ферментированного продукта, обогащенного ценными биологически активными веществами и безопасного для потребления, целесообразно использовать чистые культуры микроорганизмов. При этом ферментация молочнокислыми бактериями может не только улучшить вкусовые особенности соков, но и придаст им большую биологическую ценность и повысит их стойкость к хранению [3].

Поэтому при разработке технологии березового сока, подвергнутого целенаправленному молочнокислому брожению, ферментацию проводили, используя пробиотическую DVS-культуру Lbc. casei-01 компании «CHR Hansen» (Дания). Одним из критериев при выборе данной культуры являлось образование Lbc. casei в процессе молочнокислого брожения 100% L(+) изомера молочной кислоты, в то время как некоторые молочнокислые бактерии синтезируют D(-) изомер либо смесь L(+) и D(-) изомеры молочной кислоты. При этом по рекомендациям FAO/ВОЗ следует ограничивать потребление D(-) изомера молочной кислоты.

D(-) молочная кислота является промежуточным продуктом распада глицина. Она усваивается организмом очень медленно и может накапливаться в большом количестве, вызывая ацидоз в результате нарушения деятельности кишечной микрофлоры.

L(+)молочная кислота – это основной продукт метаболизма в организме человека, т.к. играет важную роль в синтезе гликогена, аминокислот и промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты. Она легко ассимилируется, поэтому наличие ее в продуктах питания не приводит к нарушению деятельности микробного циноза кишечника.

Целью проведенного исследования являлось изучение потребления и накопления свободных аминокислот при лактоферментации березового сока. Объектами исследований являлись свежий березовый сок, березовый сок, подвергнутый целенаправленному молочнокислому брожению (лактоферментированный сок) и березовый квас. Березовый квас приготовили в соответствии с рекомендациями института питания АМН СССР (1946 г.) по традиционному рецепту: в подготовленные бутылки налили сок, добавили сахар, 2–3 изюминки, укупили и оставили на 3–4 дня в прохладном месте.

Определение содержания азотистых веществ и белка проводили по методу Кьельдаля на аналитическом анализаторе белка Kjeltac 2200. Определение качественного и количественного состава свободных аминокислот – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием прибора Agilent 1200. Разделение аминокислот происходит в хроматографической колонке Zorbax Eclipse AAA 3,0 x 150 мм; 3,5 мкм. Для измерения концентрации аминокислот применялся флуоресцентный детектор видимой области 450 нм. Количественные расчеты проводили по площадям пиков. Перед началом анализа проб несколько раз анализировали стандартные растворы аминокислот для определения времени выхода и оценки качества разделения пиков.

Азотистые вещества имеют существенное значение для формирования питательных и органолептических свойств продуктов (вкуса, аромата, цвета, консистенции), стойкости при хранении и сохранности витаминов. Так, свободные аминокислоты принимают участие в реакциях, связанных с образованием аромата и цвета (реакции Майяра), входят в состав ферментов, принимающих участия в дыхании при хранении сырья, в изменениях свойств сырья при переработке, в состав ферментов пектолитического действия, которые к концу созревания плодов обуславливают их размягчение [4]. В процессе молочнокислого брожения аминокислоты могут подвергаться ферментативным изменениям с образованием органических кислот, альдегидов, аминов и других соединений, многие из которых обладают сильно выра-

женными вкусовыми свойствами. Аминокислоты, образующиеся в результате распада белков и не использованные микроорганизмами для синтеза клеточных белков и других азотсодержащих веществ, подвергаются дальнейшим ферментативным превращениям. Микроорганизмы расщепляют аминокислоты с образованием многочисленных промежуточных продуктов (органических кислот, альдегидов и пр.), накапливаемых в питательной среде.

Известно [5,6], что молочнокислые бактерии в условиях нормального роста и развития разлагают аминокислоты незначительно, но при созревании и хранении молочных продуктов, когда имеет место автолиз бактериальных клеток с освобождением эндоферментов, происходит более интенсивное изменение аминокислот. Способностью разлагать свободные аминокислоты также обладают встречающиеся в молочных продуктах дрожжи, пропионово-кислые бактерии, микрококки и гнилостные бактерии. К процессам диссимиляции аминокислот относятся реакции дезаминирования, переаминирования, декарбоксилирования и др.

Наличие тесной связи между обменом аминокислот и обменом углеводов у микроорганизмов подтверждается прохождением реакций ферментативного переаминирования (трансаминирования), в результате которых аминокислоты от аминокислот переносятся на кетокислоты без освобождения при этом аммиака. Процесс переноса аминокислот является обратимым и происходит при участии аминотрансфераз (трансаминаз). Особенно интенсивно аминокислоты переносятся к пировиноградной,  $\alpha$ -кетоглутаровой и щавелевоуксусной кислотам с образованием соответствующих аминокислот и  $\alpha$ -кетоаналогов исходных аминокислот. Таким образом, в клетках микроорганизмов аминокислоты переносятся на кетокислоты с образованием, главным образом, глутаминовой кислоты или аланина (у некоторых это может быть аспарагиновая кислота).

Кроме процессов дезаминирования, переаминирования и декарбоксилирования возможны и другие ферментативные и неферментативные изменения аминокислот. Например, возможен ферментативный распад аминокислот при взаимодействии с дикарбонильными соединениями (пировиноградной, щавелево-уксусной кислотами и др.). При этом одновременно с декарбоксилированием аминокислоты происходят ее переаминирование с дикарбонильным соединением. В результате из аминокислоты образуется альдегид, а из дикарбонильного соединения – аминокетон.

В результате исследований установлено, что в свежем березовом соке содержится 0,13 г/л азота, а после лактоферментации его количество снижается вдвое (0,07 г/л). Содержание же белка остается примерно постоянным (0,45 г/л в свежем и 0,44 г/л в лактоферментированном).

Известно, что микроорганизмы способны синтезировать все аминокислоты, входящие в состав их белка либо непосредственно за счет неорганических форм азота, либо за счет диссимиляции углеродсодержащих соединений. При этом существует четкая взаимосвязь азотного и углеводного обменов. Редуцирующие сахара включаются в окислительные процессы и служат не только источником энергии, но и дают промежуточные соединения (катаболиты), которые затем используются клеткой для различных анаболических процессов клетки (образование аланина, валина, лейцина из пировиноградной кислоты, синтез серина, глицина, цистеина из фосфоглицериновой кислоты).

Параллельно в ходе лактоферментации наблюдали снижение содержания сахаров, которые расходуются клеткой на синтез свойственных микробной клетке белков. Таким образом, азотистый обмен характеризуется анаболическими процессами синтеза аминокислот, являющимися «строительными блоками» различных компонентов клетки.

Дальнейший интерес представляло изучить качественный и количественный состав свободных аминокислот в березовом соке и продуктах его переработки. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в свежем березовом соке было идентифицировано 13 свободных аминокислот, в том числе две из восьми незаменимых для организма человека. Кроме того, следует отметить наличие в свежем соке глутаминовой кислоты, изолейцина, пролина и особенно валина, которые необходимы для развития молочнокислых бактерий [5, 6].

Количественный состав свободных аминокислот в свежем березовом соке, «березовом квасе» и лактоферментированном соке представлен в таблице 1. Параллельно нами исследовалось изменение в составе свободных аминокислот после пастеризации лактоферментированного сока.

Таблица 1 – Содержание свободных аминокислот в березовом соке и продуктах его переработки

Наименование аминокислоты	Содержание аминокислоты, мг/100г			
	свежий сок	лактоферментированный сок		березовый квас
		до пастеризации	после пастеризации	
Незаменимые аминокислоты				
Треонин	–	–	0,034	–
Валин	следы	–	0,043	–
Изолейцин	следы	–	–	–
Фенилаланин	–	0,152	0,128	Следы
Метионин	–	0,042	–	Следы
Заменимые аминокислоты				
Глутамат	0,2531	1,133	0,056	0,1623
Серин	следы	0,032	Следы	–
Гистидин	–	–	–	0,1182
Глицин	0,0055	0,222	0,282	–
Аргинин	–	0,199	0,250	3,7544
Аланин	следы	0,041	0,219	0,1355
Пролин	следы	0,812	0,764	0,3238
Цистеин	следы	1,522	–	–

Из таблицы видно, что претерпел изменения как качественный, так и количественный состав свободных аминокислот. При этом многие аминокислоты были использованы в цикле жизнедеятельности молочнокислых бактерий для синтеза бактериального белка. Полученные нами данные согласуются с результатами аналогичных исследований при сквашивании молока. Так, во всех молочных продуктах интенсивно накапливаются глутаминовая кислота и пролин, в кефире также увеличивается содержание лизина и гистидина, в некоторых других продуктах – количество аспарагиновой кислоты, аланина, серина и т. д. [5].

По аминокислотному составу лактоферментированные напитки превосходят исходный сок. Суммарное содержание свободных аминокислот после ферментации березового сока увеличилось более чем в десять раз. При этом увеличение содержания свободных аминокислот способствует повышению биологической ценности нового продукта. В то же время суммарное содержание свободных аминокислот в «березовом квасе» примерно в 1,4 раза выше по сравнению с соком, подвергнутом целенаправленному молочнокислому брожению. Такую разницу можно объяснить внесением в сбраживаемый субстрат ягод изюма, а также деятельностью иных штаммов *Lactobacillus casei* с участием дрожжей. Также следует отметить практически полное отсутствие в «березовом квасе» и свежем березовом соке незаменимых аминокислот, в то время как в лактоферментированном соке они присутствуют. Таким образом можно заключить, что путем соответствующего подбора штаммов молочнокислых бактерий можно обеспечить в готовом продукте определенный набор свободных аминокислот, что отразится на вкусовых свойствах готового продукта и его биологической ценности.

После пастеризации суммарное содержание свободных аминокислот в лактоферментированном

ванном соке снизилось в среднем на 17%. В то же время были обнаружены еще 2 незаменимые аминокислоты (треонин и валин), которые отсутствовали до пастеризации, не был обнаружен метионин. Перераспределение в содержании аминокислот в лактоферментированном соке также можно связать с разрушением белков сока под воздействием высокой температуры при проведении пастеризации и высвобождением кислот из связанного состояния. Однако, несмотря на незначительное суммарное содержание аминокислот в готовом продукте, имеющиеся аминокислоты, благодаря многим уникальным особенностям этих природных веществ, выполняют важную роль в жизнедеятельности организма человека в целом.

### **Заключение**

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии изучено изменение в качественном и количественном составе свободных аминокислот березового сока и продуктах его переработки. Показано, что качественный аминокислотный состав продуктов переработки березового сока существенно отличается от исходного сырья. Суммарное содержание свободных аминокислот после лактоферментации березового сока увеличилось более чем в десять раз.

### **Литература**

- 1 Куркина, О.С. Гидроколлоиды для сокодержаших напитков / О.С. Куркина, Н.С. Колмакова // Пиво и напитки. – 2008. – № 3. – С.44–45
- 2 Орещенко, А.В. Пищевая комбинаторика – теория разработки новых видов безалкогольных напитков / А.В. Орещенко, А.Д. Дурнев // Пищевая промышленность. – 1999– №12. – С.15–17
- 3 Ферментований березовий сік та напої на його основі: одержання, властивості, лікувальна дія, технології виробництва / В.В. Кожухар [та інші.]; під ред. В.В Кожухаря. – Полтава: РВВ ПУСКУ, 2008. – 149 с.
- 4 Пищевая химия / А.П. Нечаев [и др.]; под ред. А.П.Нечаева. – СПб: ГИОРД, 2003. – 640с.
- 5 Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов / К.К. Горбатова и др. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 344 с.
- 6 Банникова, Л.А. Микробиологические основы молочного производства / Л.А. Банникова, Н.С. Королева, В.Ф. Семенихина; под ред. Я.И. Костина. – М.: Агропромиздат, 1987. – 400 с.

*Поступила в редакцию 4.10.2010*