



Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ *BACILLUS SUBTILIS* НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ БОБОВ *VIGNA RADIATA L.*

Art Laid

Мальцева Е.М., Борисова И.С.

Кемеровский государственный медицинский университет, г. Кемерово

Аннотация

в работе представлены результаты измерения содержания фенольных соединений после щелочной ферментации бобов маш (*Vigna radiata L.*), пробиотическими культурами *Bacillus subtilis* 534 («Споробактерин») и одомашненной культуры *Bacillus subtilis natto*. Установлено, что максимальное накопление фенольных соединений при ферментации *Bacillus subtilis* 534 наблюдалось после их ферментации в течение 48 часов и увеличивалось на 32,69±0,36 % по сравнению с образцами, которые не подвергались ферментации. При ферментации *Bacillus subtilis natto* значительный прирост содержания фенольных соединений замечен после 48 часов ферментации (на 48,34±0,29 %) и продолжал незначительно расти при 72 часовой ферментации. Увеличение концентрации флавонов происходит при ферментации в течение 24 часов, затем содержание флавонов значительно снижается.

Цель исследования

изучить влияние щелочной ферментации различными штаммами *Bacillus subtilis* на количественное содержание фенольных соединений и флавоноидов бобов маша (*Vigna radiata L.*).

Введение

Одной из важнейших пищевых бобовых культур являются бобы маш, или бобы мунг (*Vigna radiata L.*), которые содержат полноценный легкоусвояемый белок, ценные водорастворимые волокна, полиненасыщенные жирные кислоты, макро- и микроэлементы (кальций, железо, цинк и др.), витамины и минорные биологически активные соединения (гидроксикоричные кислоты, флавоноиды, сапонины [1]. Содержащиеся в бобах маш антипитательные вещества – фитиновая кислота, вербаскоза, ингибиторы трипсина, препятствующие биодоступности макро- и микронутриентов, легко устраняются термической обработкой, проращиванием или ферментацией.

Материалы и методы исследования

В работе использованы бобы маша, купленные в торговой сети г. Кемерово. Перед ферментацией бобы замачивали водой очищенной и оставляли для набухания на 10-12 часов при комнатной температуре. После чего воду сливали и пропаривали набухшие бобы в стерильной емкости при температуре 120 °С 30 минут. Оставшие бобы инокулировали лекарственным препаратом «Споробактерин» (ООО «Бакорен», Россия, серия 550819), содержащим стандартизованный штамм *Bacillus subtilis* 534, или *Bacillus subtilis natto* в соотношении 100:1. Ферментация проводилась при температуре 40°С, пробы отбирались через 24, 48 и 72 часа ферментации. Сравнением служил образец бобов без ферментации.

Пробоподготовку, определение общего содержания фенольных соединений (общий фенольный индекс, ОФИ) ферментированных бобов маша проводили в соответствии с методиками, описанными в [4].

Идентификацию флавоноидов проводили общепринятыми фитохимическими реакциями (Гринкевич, Сафронич, 1983 г) и методом ТСХ в системе растворителей этилацетат – метанол – муравьиная кислота безводная – вода (30:4:2:1) на хроматографических пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» Хроматограмму проявляли в УФ-свете после обработки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида. УФ-спектр исследуемых извлечений снимали в интервале длин волн 230-450 нм.

Количественное определение флавонов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина проводили методом дифференциальной спектрофотометрии, основанной на реакции с алюминия хлоридом при длине волны 392 нм [5]. Расчет проводили с использованием теоретически рассчитанного значения удельного показателя поглощения стандартного образца 2''-О-рамнозида витексина, равное 232.

Спектрофотометрические исследования проводили на фотометре КФК-3 и спектрофотометре СФ-2000 (Россия) в кварцевых кюветках с толщиной поглощающего слоя 10 мм.

Все измерения выполнены в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов измерения и корреляционный анализ выполнен с применением стандартной программы Microsoft Office Excel.

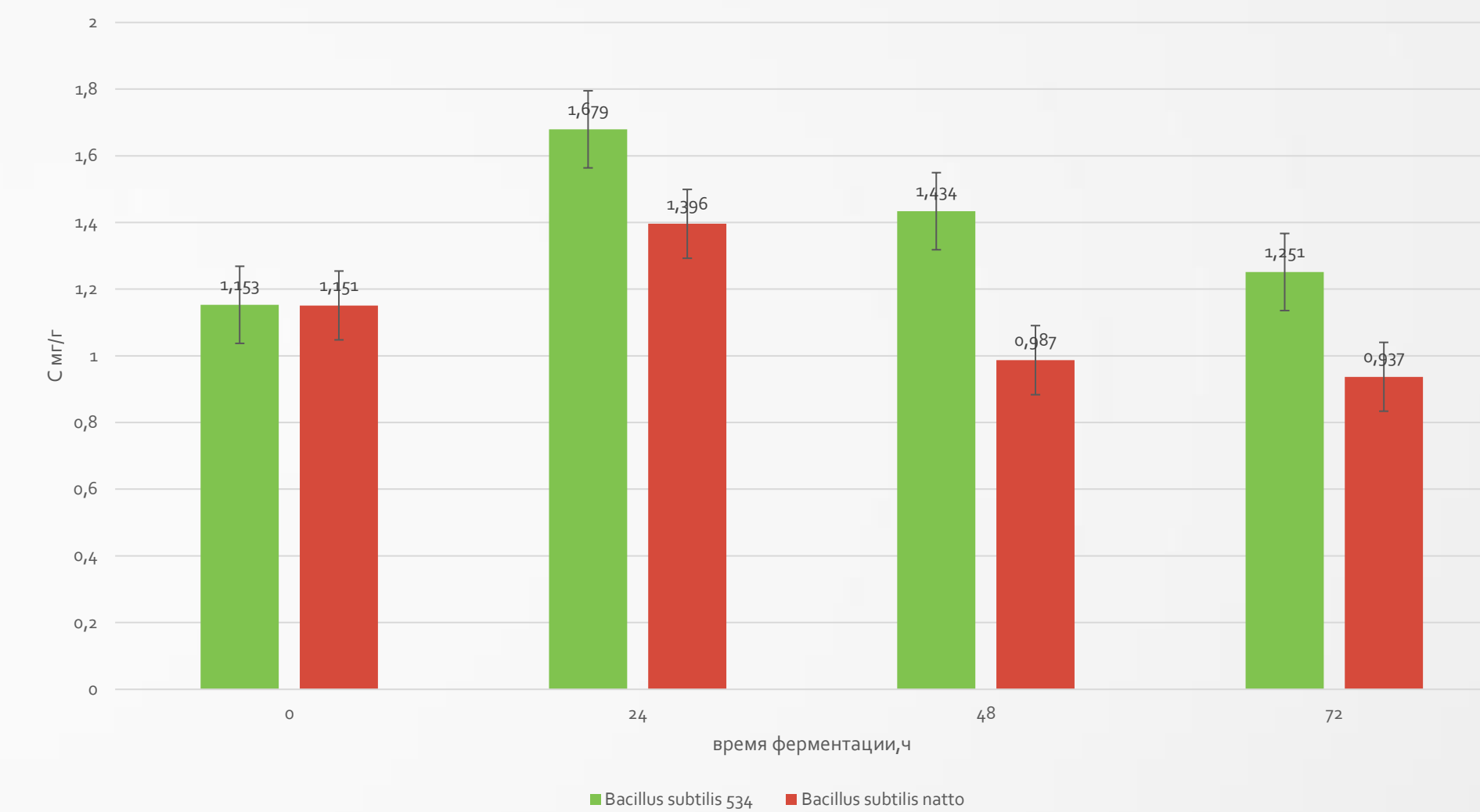


Рисунок 3. Содержание суммы флавоноидов (мг/г) в зависимости от времени ферментации (часы) бобов маша (*Vigna radiata L.*)

Результаты исследования и их обсуждение

В настоящем исследовании установлено, что максимальное накопление фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту при ферментации бобов маша *B. subtilis* 534 наблюдалось через 48 часов и увеличивалось на 32,69±0,36 % по сравнению с образцами, которые не подвергались ферментации. При ферментации *B. subtilis natto* значительный прирост содержания фенольных соединений также после 48 часов ферментации (на 48,34±0,29 %) и продолжал незначительно расти при ферментации в течение 72 часов (рис.1).

УФ-спектр (рис.2) водно-спиртовых извлечений не ферментированных и ферментированных бобов маша в интервале длин волн от 200 до 500 нм соответствует УФ-спектру витексина или его О-гликозидов [5]. В спектре наблюдаются 2 максимума поглощения в области 272±2 нм и 335±нм. Качественные реакции и ТСХ-скрининг подтвердили наличие флавонов.

Определение количественного содержания суммы флавоноидов в исследуемых извлечениях проводили в пересчете на витексина 2''-О-рамнозид с использованием показателя удельного показателя поглощения 232 [5]. Результаты измерений приведены на рис.3.

Полученные данные показывают, что значительный прирост содержания флавонов на 45,62±0,21 % наблюдается после 24-часовой ферментации *B. subtilis* 534, ферментация *B. subtilis natto* увеличивает содержание флавонов только на 21,29±0,15%. Наблюдается также значительное снижение содержания биологически активных флавонов после 48- и 72-часовой ферментации штаммом *B. subtilis natto*.

Рис 1. Содержание фенольных соединений (мг/г) в пересчете на галловую кислоту в зависимости от времени ферментации (часы) бобов маша (*Vigna radiata L.*)

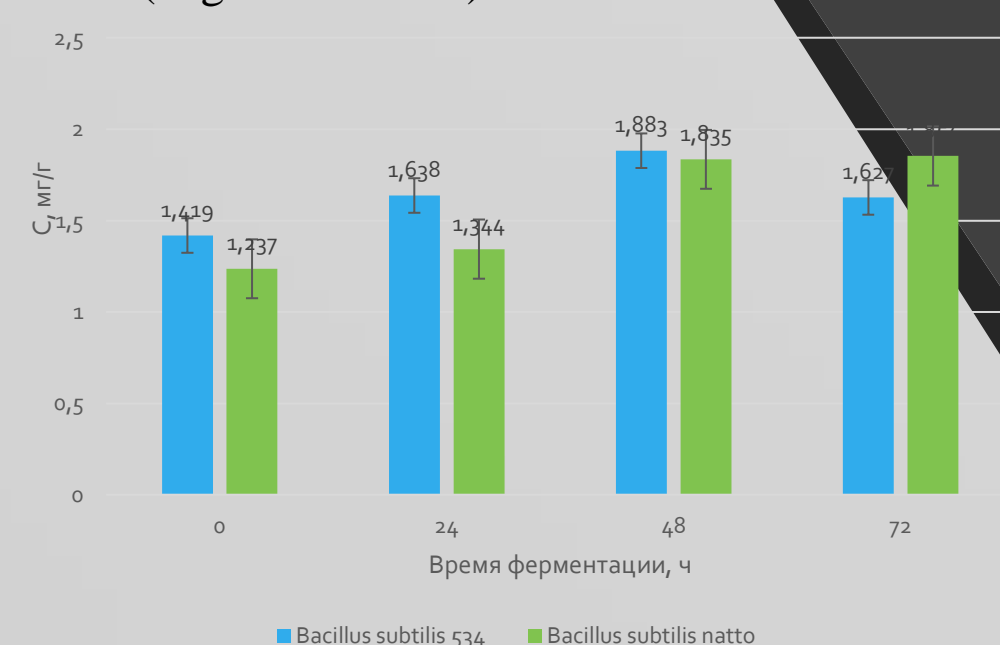
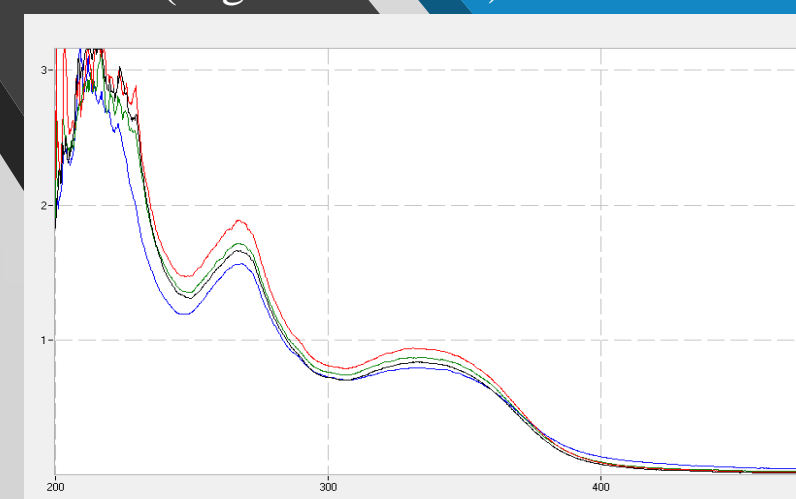


Рис. 2. УФ-спектр водно-спиртовых извлечений из ферментированных *Bacillus subtilis* 534 и не ферментированных бобов маша (*Vigna radiata L.*)



Выводы:

Результаты, полученные в ходе настоящего исследования, показали, что щелочная ферментация *B. subtilis* 534 и *B. subtilis natto*, бобов маша повышает общее содержание фенольных соединений и биологически активных флавонов. Штамм *Bacillus subtilis* 534 показал более высокую ферментативную активность при биоконверсии флавонов в сравнении со штаммом *Bacillus subtilis natto*.

Список литературы

- Hou D, Yousaf L, Xue Y, et al. Mung Bean (*Vigna radiata L.*): Bioactive Polyphenols, Polysaccharides, Peptides, and Health Benefits. *Nutrients*. 2019;11(6):1238. doi:10.3390/nu11061238
- Kärland A, Gómez-Gallego C, Korhonen J, Palo-Oja OM, El-Nezami H, Kolehmainen M. Harnessing Microbes for Sustainable Development: Food Fermentation as a Tool for Improving the Nutritional Quality of Alternative Protein Sources. *Nutrients*. 2020;12(4):1020. Published 2020 Apr 8. doi:10.3390/nu12041020
- Яргин С. В. Фитоэстрогены и продукты из сои: плюсы и минусы // Главный врач Юга России. 2019. Т. 69. №. 5. С. 35-37.
- Мальцева Е.М., Борисова И.С. Влияние ферментации с использованием пробиотика *Bacillus subtilis* 534 на содержание фенольных соединений и антиоксидантную активность соевых бобов // в сборнике: «Медико-биологические и нутрициологические аспекты здоровьесберегающих технологий». Материалы I Международной научно-практической конференции. 2020. С. 82-87.
- Куркин В.А., Морозова Т.В., Правдивцева О.Е., Куркина А.В. Количественное определение суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного // Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т 52. №10. С. 34-38.

Контакты

Ваше имя отчество фамилия
Мальцева Елена Михайловна

e-mail:
elen-malceva@yandex.ru