

# Характеристика метаболитного комплекса, продуцируемого *L.reuteri* LR1

А. В. Бегунова, Н. А. Жижин

Всероссийский  
научно-исследовательский  
институт молочной  
промышленности, г. Москва,  
Российская Федерация

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Молочнокислые микроорганизмы обладают ценными биотехнологическими и пробиотическими свойствами. Пробиотические свойства часто опосредованы биологически активными метаболитами, продуцируемыми этими микроорганизмами. Способности молочнокислых микроорганизмов к продуцированию биологически активных соединений в последние годы уделяется особое внимание, так как определено их положительное влияние на организм человека. Однако существует огромный пробел в знаниях, касающихся состава метаболитных комплексов, который требует изучения, чтобы обеспечить безопасность их применения.

**Цель:** Исследование метаболитного комплекса, продуцируемого *L. reuteri* LR1, полученного при культивировании штамма в питательной среде MRS — бульон при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 24 ч.

**Материалы и методы:** Объектом исследований являлся бесклеточный супернатант (метаболитный комплекс), полученный при культивировании штамма *Lactobacillus reuteri* LR1 из коллекции ФГАНУ «ВНИМИ». Антимикробную активность МК *L. reuteri* LR1 по отношению к *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538, *S. typhimurium* ATCC 14028 определяли методом диффузии в агар. Антиоксидантную активность образцов определяли флуоресцентным методом ORAC. Содержание органических и аминокислот в МК проводили методом капиллярного электрофореза. Идентификацию вторичных метаболитов, присутствующих в МК проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС).

**Результаты:** Определена биологическая активность МК, продуцируемого *L. reuteri* LR1. Охарактеризован состав бесклеточного метаболитного комплекса, секретированного *L. reuteri* LR1 при культивировании в питательной среде MRS-бульон при температуре  $37^\circ\text{C}$  в течение 24 ч. Подтверждено наличие аминокислот и органических кислот в МК и определено их содержание. Кроме того, определены вторичные метаболиты, присутствующие в МК, некоторые из них обладают подтвержденной биологической активностью.

**Выводы:** Полученные результаты могут быть полезны для прогнозирования пробиотического потенциала МК, однако необходимо определить вероятную корреляцию между составом МК и его полезными свойствами, что позволит определить новые возможности применения МК, продуцируемых пробиотическими микроорганизмами.

**Ключевые слова:** метаболитный комплекс, *L. reuteri*, биологическая активность

### Корреспонденция:

Анна Васильевна Бегунова,  
e-mail: abegunova@yandex.ru

### Конфликт интересов:

авторы сообщают  
об отсутствии конфликта  
интересов.

**Поступила:** 08.08.2023

**Принята:** 15.11.2023

**Опубликована:** 30.11.2023

**Copyright:** © 2023 Авторы



Для цитирования: Бегунова, А.В., & Жижин, Н.А. (2023). Характеристика метаболитного комплекса, продуцируемого *L.reuteri* LR1. *FOOD METAENGINEERING*, 1(3), 11-20. <https://doi.org/10.37442/fme.2023.3.28>

# Characteristics of the Metabolite Complex Produced *L.reuteri* LR1

Anna V. Begunova, Nikolay A. Zhizhin

All-Russian Dairy Research Institute,  
Moscow, Russian Federation

## ABSTRACT

**Introduction:** Lactic acid microorganisms have valuable biotechnological and probiotic properties. Probiotic properties are often mediated by biologically active metabolites produced by these microorganisms. The ability of lactic acid microorganisms to produce biologically active compounds has received special attention in recent years, as their positive effect on the human body has been determined. However, there is a huge knowledge gap regarding the composition of metabolite complexes that requires study to ensure their safe use.

**Purpose:** study of the metabolite complex produced by *L. reuteri* LR1, obtained by cultivating the strain in the MRS broth nutrient medium at a temperature of  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  for 24 hours.

**Materials and Methods:** The object of research was a cell-free supernatant (metabolite complex) obtained by cultivating the *Lactobacillus reuteri* LR1 strain from the collection of the All-Russian Dairy Research Institute. The antimicrobial activity of MK *L. reuteri* LR1 against *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538, *S. typhimurium* ATCC 14028 was determined by the agar diffusion method. The antioxidant activity of the samples was determined using the ORAC fluorescence method. The content of organic and amino acids in LA was determined by capillary electrophoresis. Identification of secondary metabolites present in metabolite complex was carried out using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

**Results:** The biological activity of metabolite complex produced by *L. reuteri* LR1 was determined. The composition of the cell-free metabolite complex secreted by *L. reuteri* LR1 during cultivation in the MRS broth nutrient medium at a temperature of  $37^\circ\text{C}$  for 24 hours was characterized. The presence of amino acids and organic acids in LA was confirmed and their content was determined. In addition, secondary metabolites present in metabolite complex have been identified, some of them have confirmed biological activity.

**Conclusion:** The results obtained may be useful for predicting the probiotic potential of metabolite complex, however, it is necessary to determine the likely correlation between the composition of metabolite complex and its beneficial properties, which will allow us to identify new possibilities for the use of metabolite complex produced by probiotic microorganisms.

**Keywords:** metabolite complex, *L. reuteri*, biological activity

### Correspondence:

Anna Vasilevna Begunova  
e-mail: abegunova@yandex.ru

### Conflict of interest:

The authors report the absence of a conflict of interest.

**Received:** 08.08.2023

**Accepted:** 15.11.2023

**Published:** 30.11.2023

**Copyright:** © 2023 The Authors



## ВВЕДЕНИЕ

Высокое качество и безопасность пищевых продуктов всегда были в центре внимания пищевой промышленности и обеспечиваются не только качеством исходного сырья и параметрами технологического процесса, но и внесением различных пищевых добавок. Однако современные потребители хотя и не могут объяснить, как добавки влияют на здоровье, обычно проявляют неприязнь к ним, считая вредными (Żółkiewicz, 2020). По этой причине проводятся исследования по разработке продуктов с использованием натуральных пищевых ингредиентов для обеспечения качества и безопасности продуктов питания (Guimarães, 2020). В настоящее время ученые пытаются получить новые природные сбалансированные комплексы, безопасные для использования в качестве натуральных добавок для обогащения продуктов и/или со свойствами биоконсервантов (Соколова, 2015).

Молочнокислые бактерии с пробиотическими свойствами относятся к натуральным функциональным ингредиентам, используемым при производстве продуктов. Первоначально считалось, что их полезное воздействие заключается в улучшении микробиоты кишечника за счет конкурентного с патогенными бактериями или ингибирования их роста (Abrahamsson, 2009). Позже было показано, что пробиотические микроорганизмы проявляют более специфические эффекты, связанные с продуцированием биологически активных метаболитов (Бегунова, 2021).

Способности молочнокислых микроорганизмов к продуцированию биологически активных ингредиентов в последние годы уделяется особое внимание, так как эти микроорганизмы имеют статус «GRAS» («общепризнанный безопасный») и поэтому могут быть использованы не только в качестве заквасочных культур, но и рассматриваться в качестве продуцентов природных биологически активных молекул (Mora-Villalobos, 2020). Анализ литературы показал, что почти во всех исследованиях, связанных с безопасностью пищевых продуктов, авторы исследовали бесклеточные супернатанты заквасочных и пробиотических микроорганизмов, которые содержали биологически активные вещества (Moradi, 2020). Эти биологически активные бесклеточные супернатанты часто оказывают сходное с пробиотическими микроорганизмами или дополнительное воздействие на здоровье потребителей.

Польза пробиотических микроорганизмов и их бесклеточных супернатантов постоянно подтверждается. Бесклеточные супернатанты представляют собой биоактивные растворимые факторы (продукты метаболизма), вырабатываемые живыми пробиотическими микроорганизмами, и могут проявлять несколько видов биологической активности, включая антимикробную активность (Barros, 2020). Отсутствие способности передавать устойчивость к антибиотикам, отсутствие способности к синтезу биогенных аминов, большой срок хранения, определенный химический состав и безопасность, простота использования и стабильность позволяют потенциально рассматривать бесклеточные супернатанты как ценные пищевые ингредиенты.

*Limosilactobacillus reuteri* (*L. reuteri*), ранее известная как *Lactobacillus reuteri* является пробиотическим видом, безопасность которого доказана многочисленными клиническими исследованиями (Mu, 2018). Этот вид обитает в различных местах организма и младенцев и взрослых людей, включая желудочно-кишечный тракт, влагалище, грудное молоко человека (Abrahamsson, 2009). Терапевтический потенциал различных штаммов *L. reuteri* изучался при различных заболеваниях, и результаты во многих случаях обнадеживают. Исследования Ang et al показали, что *L. reuteri* облегчает вирусную инфекцию секретируя метаболиты, содержащие противовирусные компоненты (Ang, 2016). Результаты другого исследования убедительно указывают на участие метаболитов *L. reuteri* в иммуномодуляции кишечника (Thomas, 2016). Значительное количество исследований были сосредоточены на определении антимикробной активности *L. reuteri* и бесклеточных супернатантов *L. reuteri*. У бесклеточного супернатанта *L. reuteri* AN417 выявлены антимикробные свойства сходные с действием живых клеток по отношению к *Porphyromonas gingivalis*, который является грамотрицательным, облигатным анаэробом, вызывающим заболевания пародонта (Yang, 2021). Бесклеточный супернатант *L. reuteri* DSM 17938 проявлял противомикробную активность, причем наибольшая эффективность выявлена в отношении грамотрицательных бактерий (Maccelli, 2020). Кроме того, в зависимости от условий культивирования у четырех штаммов *L. reuteri in vitro* определили продукцию органических кислот, этанола и реутерина, для которых подтверждены противомикробные свойства (Greifová, 2017). Показано, что синтез этих антимикробных метаболитов и антимикробная

А. В. Бегунова, Н. А. Жижин

активность полученных бесклеточных супернатантов зависит от используемого штамма и условий культивирования.

Существует огромный пробел в знаниях, касающихся состава метаболитных комплексов, который требует изучения, чтобы обеспечить безопасность их применения. Цель данной работы - исследование метаболитного комплекса (бесклеточного супернатанта) *L. reuteri* LR1, полученного при культивировании штамма в питательной среде MRS - бульон при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 24 ч.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объекты исследования

Метаболитный комплекс (бесклеточный супернатант), полученный при культивировании штамма *Limosilactobacillus reuteri* LR1 (ранее *Lactobacillus reuteri*) из коллекции Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ФГАНУ «ВНИМИ»).

### Оборудование и инструменты

Отделение клеток продуцента бесклеточного метаболитного комплекса проводили с использованием центрифуги Rotanta 46 R (Hettich, Германия). Антиоксидантную активность образцов определяли флуоресцентным методом ORAC с помощью микропланшетного фотометра-флуориметра BioTek Synergy 2 ("BioTek", США).

Определение содержания органических кислот в МК и его аминокислотного состава проводили с использованием системы капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ®-205» (ООО «Люмэкс-маркетинг», Санкт-Петербург, Россия) с ПО «Эльфوران».

Идентификацию вторичных метаболитов проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) с использованием хроматографа модели GC-8860 оснащенный масс-спектрометрическим детектором 5977 B (Agilent Technologies, США). Разделение компонентов было проведено на колонке HP-5 MS длиной 30 м, диаметром 0,25 мм и толщиной пленки 0,25 мкм. Для идентификации полученных аналитов использовалась библиотека NIST 20L.

## Процедура исследования

Для получения бесклеточного метаболитного комплекса (МК) в питательную среду MRS-бульон (ООО НПЦ «Биокомпас-С») вносили 3% инокулята *L. reuteri* LR1 и инкубировали 24 ч при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ . По окончании инкубирования удаляли клетки центрифугированием и получали МК, как описано ранее в работе (Бегуновой, 2023). Затем определяли биологическую активность полученного МК. Антимикробную активность МК *L. reuteri* LR1 определяли методом диффузии в агар. В качестве тест-штаммов использовали *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. Антиоксидантную активность образцов определяли флуоресцентным методом ORAC, как описано ранее Бегуновой (2021). Содержание органических кислот в МК и его аминокислотный состав проводили с использованием системы капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ®-205» (ООО «Люмэкс-маркетинг», Санкт-Петербург, Россия) с ПО «Эльфوران», следуя подходу Rozhkova (2023).

Для идентификации вторичных метаболитов, присутствующих в МК, продуцируемом *L. reuteri* LR1 при культивировании в питательной среде MRS-бульон в течение 24 ч были приготовлены лиофилизированные образцы. Профиль МК был определен посредством экстракции ацетоном в ультразвуке с последующим упариванием в токе азота. Полученный экстракт растворяли в 1 см<sup>3</sup> гексана и проводили идентификацию метаболитного профиля с использованием метода газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС). С использованием библиотеки NIST 20L. Все эксперименты были проведены в трех повторностях и выражены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение, кроме анализа ГХ-МС. Построение графиков, таблиц проводили с использованием Microsoft Office (Microsoft, США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование метаболитного комплекса (бесклеточного супернатанта), продуцируемого *L. reuteri* LR1 при культивировании в питательной среде MRS - бульон позволит охарактеризовать его состав и обосновать свойства.

При изучении биологической активности МК *L. reuteri* LR1 определяли его антиоксидантную и антимикробную активности (Таблица 1).

Таблица 1

### Биологическая активность МК *L. reuteri* LR1

Образец	Антиоксидантная активность, мкмоль ТЭ/г сухого препарата	Антимикробная активность (диаметр зоны ингибирования, мм)		
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	<i>S. aureus</i> ATCC 6538
Контроль (MRS)	121,6 ± 9,7	<5	<5	<5
МК <i>L. reuteri</i> LR1	168,86 ± 5,9	12 ± 1	10 ± 1	11 ± 1

Установлено, что МК *L. reuteri* LR1 обладает выраженной биологической активностью. Учитывая то, что биологическую активность МК обуславливают метаболиты, продуцируемые штаммом во время роста, провели исследования по определению метаболитов, содержащихся в составе МК *L. reuteri* LR1.

## Анализ метаболитов

### Содержание органических кислот в МК *L. reuteri* LR1

Лактобациллы синтезируют короткоцепочечные кислоты в результате ферментации углеводов с образованием пирувата гликолитическим путем или фосфоке-толазным путем для гетероферментативных бактерий. Данные по содержанию органических кислот в МК, продуцируемом *L. reuteri* LR1 представлены в Таблице 2.

Таблица 2

### Профиль органических кислот в МК *L. reuteri* LR1

Наименование образцов	Содержание органических кислот, мг/дм <sup>3</sup>		
	Молочная кислота (лактат)	Уксусная кислота (ацетат)	Янтарная кислота (сукцинат)
Контроль	<0,1	211,1 ± 12	<0,1
<i>L. reuteri</i> LR1	5330,0 ± 32	3570,0 ± 21	1110,0 ± 5,5

*L. reuteri* LR1 является факультативным гетероферментативным микроорганизмом (Suissa, 2022), поэтому в наших условиях культивирования, гидролиз глюкозы, которая является единственным углеводом в MRS - бульоне, проходил с продукцией молочной, уксусной кислот. Наличие ацетата в МК так же может быть результатом метаболизма цитрата, который входит в состав

питательной среды MRS. Похожие результаты показаны в работе Zalánet al. (2010) для некоторых штаммов *Lactobacillus*. Кроме того, показано наличие янтарной кислоты (сукцината), что можно объяснить использованием штаммом *L. reuteri* LR1 цитрата, либо аспаргиновой кислоты в процессе своего роста. Kaneuchi et al. (1988) показали, что *Lactobacillus* способны производить сукцинат из цитрата, подтверждая, что эта особенность характерна для этого вида. Являясь слабыми органическими кислотами, молочная и уксусная кислоты обладают способностью проникать в бактериальные мембраны, что негативно сказывается на основных метаболических процессах и приводит к гибели микроорганизмов (Nataraj, 2020). Действительно, молочная и уксусная кислота обычно считаются биоконсервантами, подавляющими рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, дрожжей и плесневых грибов (Axel, 2016). Более того, молочная кислота потенцирует антимикробную активность уксусной кислоты, может действовать как антиоксидант (Horlacher, 2023) и может снижать усвояемость крахмала путем ингибирования амилолитических пищеварительных ферментов (Rul, 2022).

### Содержание аминокислот в МК *L. reuteri* LR1

Одними из наиболее изученных натуральных аминокислот, применяемых в пищевых продуктах, являются те, которые производятся молочнокислыми бактериями. Аминокислотный состав питательной среды и МК, полученного через 24 ч культивирования *L. reuteri* LR1 представлен в Таблице 3. Общее содержание аминокислот незначительно снизилось, однако соотношение заменимых и незаменимых аминокислот в процессе накопления МК не изменилось.

Таблица 3

Профиль аминокислот МК *L.reuteri* LR1

Наименование аминокислоты	Контроль	<i>L.reuteri</i> LR1	Δ, %
<i>Незаменимые АК</i>			
Триптофан (Trp)	3,69 ± 0,6	6,27 ± 0,9	69,92
Валин (Val)	109,49 ± 16	115,71 ± 17	5,68
Лейцин+изолейцин (Leu+Ile)	39,43 ± 6	34,79 ± 5,2	-11,77
Лизин (Lys)	26,79 ± 4	25,78 ± 3,9	-3,77
Метионин (Met)	101,90 ± 15	106,58 ± 16	4,60
Фенилаланин (Phe)	55,88 ± 8	54,94 ± 8	-1,67
Треонин (Thr)	48,79 ± 7	51,00 ± 7,7	4,53
<i>Условно-незаменимые АК</i>			
Тирозин (Tyr)	69,70 ± 3,1	70,21 ± 3,2	0,74
Цистеин (Cys-Cys)	63,23 ± 9	41,73 ± 6	-34,01
Гистидин (His)	177,25 ± 14	183,63 ± 15	3,60
Аланин (Ala)	149,38 ± 22	162,00 ± 24	8,45
<i>Заменимые АК</i>			
Глутаминовая кислота + глутамин (Glu+Gln)	179,38 ± 27	135,75 ± 20	-24,33
Аспаргиновая кислота + аспаргин (Asp+Asn)	116,75 ± 18	99,54 ± 15	-14,80
Аргинин (Arg)	97,16 ± 15	108,55 ± 16	11,73
Пролин (Pro)	209,63 ± 42	197,25 ± 39	-5,91
Серин (Ser)	64,69 ± 4,2	63,91 ± 4,2	-1,21
Глицин (Gly)	206,38 ± 9	233,75 ± 11	13,27

В процессе роста на питательной среде MRS-бульон *L.reuteri* LR1 статистически значимых ( $p < 0,05$ ) изменений содержания аминокислот по сравнению с MRS-бу-

льоном практически не наблюдалось. Исключение составил триптофан, содержание которого в МК возросло на 69,92%. Кроме того, выявлено статистически значимое снижение цистеина (34,01%) и глутаминовой кислоты и глутамина (24,3%), что вероятно связано с использованием *L.reuteri* LR1 этих аминокислот как источника азота.

Увеличение содержания триптофана в бесклеточном МК позволяет предположить, что *L.reuteri* LR1 обладает способностью продуцировать эту аминокислоту внеклеточно. Триптофан является предшественником стимулятора роста серотонина, который выполняет функцию нейромедиатора и отвечает за здоровье нервной системы и эмоциональное поведение человека, считается, что триптофан и его метаболиты являются одним из основных элементов иммунного баланса в кишечнике (Agarkova, 2021). Исследования, проведенные Torkova et al. (2015) подтвердили, что триптофан обладает антиоксидантной активностью, которая выше, чем у тирозина, метионина, цистеина и гистидина. Учитывая, что исследования по применению молочнокислых бактерий для получения внеклеточных аминокислот очень ограничены, необходимы дальнейшие исследования.

**Определение вторичных метаболитов МК *L. reuteri* LR1**

Профиль летучих соединений сублимированного МК, полученного через 24 ч культивирования *L. reuteri* LR1 в питательной среде MRS - бульон представлены на Рисунках 1, 2.

Рисунок 1

**Хроматографический анализ методом ГХ-МС, показывающий пики основных соединений, содержащихся в МК *L. reuteri* LR1**

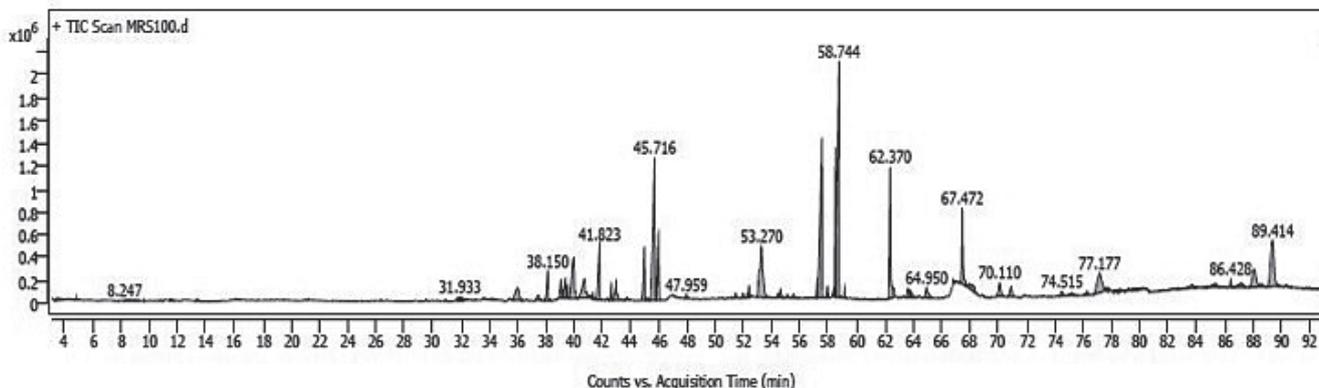
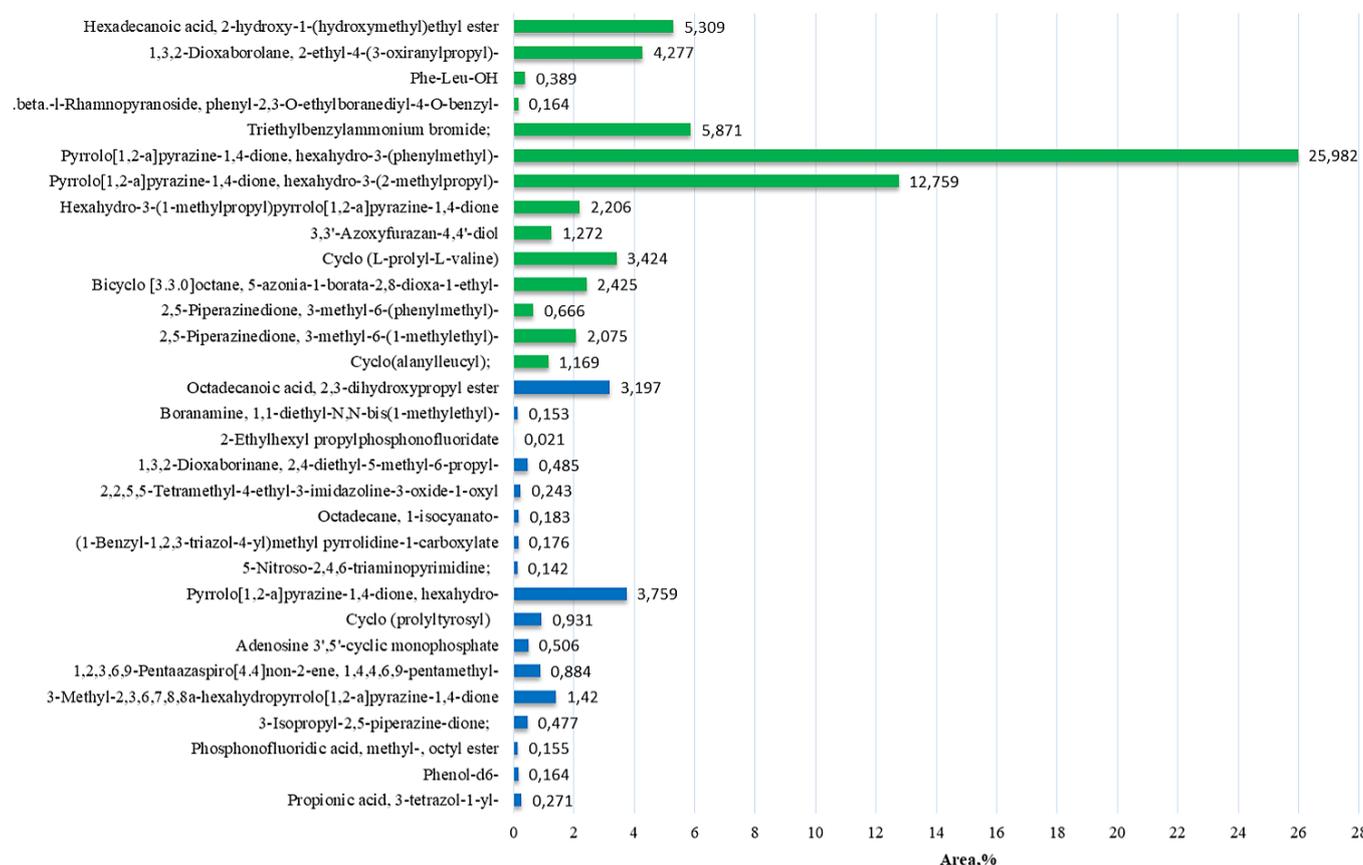


Рисунок 2

Метаболиты, идентифицированные в МК *L. reuteri* LR1



Всего с помощью ГХ-МС в МК *L. reuteri* LR1 было обнаружено 31 органическое соединение, 17 из которых было специфичными для данного штамма в наших условиях культивирования. Среди них особое внимание следует уделить пирроловым соединениям и циклическим пептидам. Некоторые из циклических пептидов, выявленные в МК, обладают биоактивными способностями (Alberdi-Cedeño, 2017), они были обнаружены и в пищевых продуктах, например, в хлебе, пиве, кофе и др. Описано, что циклические дипептиды в зависимости от состава обладают антиоксидантной активностью, способностью ингибировать продукцию афлатоксинов, антимикробной и фунгицидной активностью, антимутагенными свойствами (Alberdi-Cedeño, 2017). Кроме того, пиррольные соединения, например, пирроло[1,2-а]пиразин-1,4-дион, гексагидро-3-(2-метилпропил) обладают антиоксидантными свойствами (Chang, 2021). Аденозин-3',5'-циклический монофосфат необходим для синтеза I –арабиноизомеразы. Hamadah et al. (1972)

выдвинули гипотезу, что его увеличение в тканях головного мозга опосредует антидепрессивное действие электросудорожной терапии. Учитывая то, что биологическая активность соединений связана с их химической структурой, присутствие соединений с антимикробной и антиоксидантной активностью будет способствовать стабильности полученного МК в хранении.

Moradi et al. (2019) охарактеризовали состав бесклеточных супернатантов других видов (*L. salivarius*, *L. casei* 431 и *L. acidophilus* LA5), определив в них такие продукты метаболизма, как короткоцепочечные жирные кислоты, органические кислоты, углеводороды, фенол, аминокислоты, бензойные кислоты, спирт, сахара, пептиды, и т. д., что согласуется с нашими исследованиями.

А. В. Бегунова, Н. А. Жижин

## ВЫВОДЫ

Продуцируемые пробиотическими микроорганизмами метаболитные комплексы известны своей пользой для здоровья и возможностью промышленного применения. Однако не существует единого мнения по поводу их получения и использования. Это связано с тем, что на количество, состав и свойства МК влияют многие факторы. В результате проведённых исследований мы определили биологическую активность МК, продуцируемого *L. reuteri* LR1 во время роста на питательной среде MRS и оценили его метаболический профиль. Показано, что МК, продуцируемый *L. reuteri* LR1 содержит метаболиты, биологическая активность которых описана в литературе. В МК, продуцируемом *L. reuteri* LR1, обнаружены молочная, уксусная и янтарная кислоты, которые обладают антимикробным потенциалом. Другими соединениями, которые были обнаружены и идентифицированы с помощью ГХ-МС, были циклические дипептиды, пиррольные соединения и др., которые также обладают антимикробной и антиоксидантной активностью. Полученные результаты позво-

ляют предположить, что МК *L. reuteri* LR1 потенциально можно рассматривать как ингредиент для обеспечения безопасности пищевых продуктов. При этом стоит отметить, что для обеспечения доказательной базы функциональных свойств определенных компонентов необходимо проводить дополнительные исследования их биоактивных свойств. В дальнейшей работе планируется определить, как содержание этих соединений, продуцируемых *L. reuteri* LR1 во время роста коррелирует с антимикробной, антиоксидантной активностью.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Анна Васильевна Бегунова:** концептуализация, проведение исследования, визуализация, анализ результатов, написание-рецензирование и редактирование рукописи.

**Жижин Николай Анатольевич:** разработка методологии исследования, работа с программным обеспечением, проведение исследования, написание - подготовка черновика рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Бегунова, А. В., Жижин Н. А. (2023) Оценка углеводного профиля метаболитного комплекса *Lacticaseibacillus rhamnosus* F. *Пищевая промышленность*, 2, 11–14. <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.2.2.002>
- Begunova, A. V., & Zhizhin, N. A. (2023). Evaluation of the carbohydrate profile of the metabolic complex *Lacticaseibacillus rhamnosus* F. *Food Industry*, 2, 11–14. (In Russ.) <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.2.2.002>
- Бегунова, А. В., Савинова, О. С., Моисеенко, К. В., Глазунова, О. А., Рожкова, И. В., & Фёдорова, Т. В. (2021). Характеристика и функциональные свойства лактобацилл, выделенных из кефирных грибков. *Прикладная биохимия и микробиология*, 57(4), 362–373. <https://doi.org/10.31857/S0555109921040036>
- Begunova, A. V., Savinova, O. S., Moiseenko, K. V., Glazunova, O. A., Rozhkova, I. V., & Fedorova, T. V. (2021). Characterization and functional properties of lactobacilli isolated from kefir grains. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 57(4), 362–373. (In Russ.) <https://doi.org/10.31857/S0555109921040036>
- Соколова, О. В., & Федотова, О. Б. (2015). О возможностях обогащения поликомпонентных кисломолочных продуктов витаминами и аминокислотами в нативной форме. В *Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова* (No. 1, pp. 430–432). Федеральный научный центр пищевых систем им. ВМ Горбатова РАН.
- Sokolova, O. V., & Fedotova, O. B. (2015). On the possibilities of enriching multicomponent fermented milk products with vitamins and amino acids in their native form. In *The International Scientific and Practical Conference dedicated to the memory of Vasily Matveyevich Gorbatov* (No. 1, pp. 430–432). V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences. (In Russ.)
- Abrahamsson, T. R., Sinkiewicz, G., Jakobsson, T., Fredrikson, M., & Björkstén, B. (2009). Probiotic lactobacilli in breast milk and infant stool in relation to oral intake during the first year of life. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 49(3), 349–354. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31818f091b>
- Agarkova, Y., Fedotova, O., & Chilikin, A. (2021, March). The prospect of using natural psychobiotics in dairy products to stabilize the diet. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 677(3), 032051. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/3/032051>

- Alberdi-Cedeño, J., Ibargoitia, M. L., & Guillén, M. D. (2017). Bioactive compounds detected for the first time in corn oil: Cyclic dipeptides and other nitrogenated compounds. *Journal of Food Composition and Analysis*, *62*, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.06.005>
- Ang, L. Y. E., Too, H. K. I., Tan, E. L., Chow, T. K. V., Shek, P. C. L., Tham, E., & Alonso, S. (2016). Antiviral activity of *Lactobacillus reuteri* Protectis against Coxsackievirus A and Enterovirus 71 infection in human skeletal muscle and colon cell lines. *Virology Journal*, *13*, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0567-6>
- Axel, C., Brosnan, B., Zannini, E., Peyer, L. C., Furey, A., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2016). Antifungal activities of three different *Lactobacillus* species and their production of antifungal carboxylic acids in wheat sourdough. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *100*, 1701–1711. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7051-x>
- Barros, C. P., Guimaraes, J. T., Esmerino, E. A., Duarte, M. C. K., Silva, M. C., Silva, R., Ferreira, B., Sant'Ana, A., Freitas, M., & Cruz, A. G. (2020). Paraprobiotics and postbiotics: Concepts and potential applications in dairy products. *Current Opinion in Food Science*, *32*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.003>
- Chang, H. M., Foo, H. L., Loh, T. C., Lim, E. T. C., & Abdul Mutalib, N. E. (2021). Comparative studies of inhibitory and antioxidant activities, and organic acids compositions of postbiotics produced by probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* strains isolated from Malaysian foods. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*, 602280. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.602280>
- Greifová, G., Májková, H., Greif, G., Body, P., Greifová, M., & Dubničková, M. (2017). Analysis of antimicrobial and immunomodulatory substances produced by heterofermentative *Lactobacillus reuteri*. *Folia Microbiologica*, *62*, 515–524. <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0524-9>
- Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Silva, R., Rocha, R. S., Graça, J. S., Esmerino, E. A., ... & Cruz, A. G. (2020). Impact of probiotics and prebiotics on food texture. *Current Opinion in Food Science*, *33*, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.002>
- Hamadah, K. H. G. G. D., Holmes, H., Barker, G. B., Hartman, G. C., & Parke, D. V. W. (1972). Effect of electric convulsion therapy on urinary excretion of 3', 5' cyclic adenosine monophosphate. *British Medical Journal*, *3*(5824), 439–441. <https://doi.org/10.1136/bmj.3.5824.439>
- Horlacher, N., Oey, I., & Agyei, D. (2023). Learning from tradition: Health-promoting potential of traditional lactic acid fermentation to drive innovation in fermented plant-based dairy alternatives. *Fermentation*, *9*(5), 452. <https://doi.org/10.3390/fermentation9050452>
- Kaneuchi, C., Seki, M., & Komagata, K. (1988). Production of succinic acid from citric acid and related acids by *Lactobacillus* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, *54*(12), 3053–3056. <https://doi.org/10.1128/aem.54.12.3053-3056.1988>
- Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Schroedter, L., Olszewska-Widdrat, A., López-Gómez, J. P. (2020). Multi-product lactic acid bacteria fermentations: A review. *Fermentation*, *6*(1), 23. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010023>
- Maccelli, A., Carradori, S., Puca, V., Sisto, F., Lanuti, P., Crestoni, M.E., & Grande, R. (2020). Correlation between the antimicrobial activity and metabolic profiles of cell free supernatants and membrane vesicles produced by *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. *Microorganisms*, *8*(11), 1653. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111653>
- Moradi, M., Kousheh, S. A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J. T., Yilmaz, N., & Lotfi, A. (2020). Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *19*(6), 3390–3415. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12613>
- Moradi, M., Mardani, K., & Tajik, H. (2019). Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. *LWT*, *111*, 457–464. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.072>
- Mu, Q., Tavella, V. J., & Luo, X. M. (2018). Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases. *Frontiers in microbiology*, *9*, 757. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00757>
- Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V., & Yadav, H. (2020). Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial Cell Factories*, *19*(1), 1–22. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01426-w>
- Rozhkova, I. V., Yurova, E. A., & Leonova, V. A. (2023). Evaluation of the Amino Acid Composition and content of organic acids of complex postbiotic substances obtained on the basis of metabolites of probiotic bacteria *Lactocaseibacillus paracasei* ABK and *Lactobacillus helveticus* H9. *Fermentation*, *9*(5), 460. <https://doi.org/10.3390/fermentation9050460>
- Rul, F., Béra-Maillet, C., Champomier-Vergès, M. C., El-Mecherfi, K. E., Foligné, B., Michalski, M. C., Milenkovic, D., & Savary-Auzeloux, I. (2022). Underlying evidence for the health benefits of fermented foods in humans. *Food & Function*, *13*(9), 4804–4824. <https://doi.org/10.1039/D1FO03989J>
- Suissa, R., Oved, R., Jankelowitz, G., Turjeman, S., Koren, O., & Kolodkin-Gal, I. (2022). Molecular genetics for probiotic engineering: Dissecting lactic acid bacteria. *Trends in Microbiology*, *30*(3), 293–306. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.07.007>
- Thomas, C. M., Saulnier, D. M., Spinler, J. K., Hemarajata, P., Gao, C., Jones, S. E., Grimm, A., Balderas, M. A., Burstein, M. D., Morra, C., Roeth, D., Kalkum, M., & Versalovic, J. (2016). FolC2-mediated folate metabolism contributes to suppression of

- inflammation by probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Microbiology Open*, 5(5), 802–818. <https://doi.org/10.1002/mbo3.371>
- Torkova, A., Koroleva, O., Khrameeva, E., Fedorova, T., & Tsentulovich, M. (2015). Structure-functional study of tyrosine and methionine dipeptides: An approach to antioxidant activity prediction. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 25353–25376. <https://doi.org/10.3390/ijms161025353>
- Yang, K. M., Kim, J. S., Kim, H. S., Kim, Y. Y., Oh, J. K., Jung, H. W., Park, D., Bae, K. H. (2021). *Lactobacillus reuteri* AN417 cell-free culture supernatant as a novel antibacterial agent targeting oral pathogenic bacteria. *Scientific Reports*, 11(1), 1631. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80921-x>
- Zalán, Z., Hudáček, J., Štětina, J., Chumchalová, J., & Halász, A. (2010). Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. *European Food Research and Technology*, 230, 395–404. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1179-9>
- Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M., Feleszko, W. (2020). Postbiotics — a step beyond pre-and probiotics. *Nutrients*, 12(8), 2189. <https://doi.org/10.3390/nu12082189>