

# ПЕРСПЕКТИВЫ ПРАКТИЧЕСКОЙ РЕАЛИЗАЦИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

I. Khamagaeva, I. Kruchkova

## **Perspectives of Practical Realization of Biotechnological Potential of Probiotic Microorganisms**

*The main results of using biotechnological potential of probiotic microorganisms to create bacterium concentrates have been summerized. Perspectives of using unique peculiarities of metabolism of propionic and bifidobacteriums in different spheres of the modern food biotechnology have been considered.*

В настоящее время проблема изучения микробной экологии человека выдвигается в разряд наиболее актуальных и перспективных. Разработка и массовое использование пробиотиков и пробиотических продуктов, оптимизирующих микробиоценоз пищеварительного тракта, в первую очередь детей, а затем и взрослого человека, является эволюционно обоснованным микрoэкологическим базовым приёмом поддержания физического и духовного здоровья, увеличения продолжительности и активности жизни населения и важнейшей предпосылкой появления нового здорового поколения.

В связи с этим в XXI в. стоит перспективная научно-техническая проблема: на базе достигнутого уровня биотехнологии развить новые направления, отвечающие современной концепции здорового питания. Это совершенствование и выход на новый качественный уровень по производству и использованию микроорганизмов-пробиотиков.

Микроорганизмы, входящие в состав пробиотиков, хорошо приживаются в естественной среде и продуцируют биологически активные вещества (витамины, антибиотики, ферменты и другие метаболиты), нормализуют физиологические процессы, предотвращают дисбактериоз и другие расстройства органов пищеварения, что способствует улучшению усвоения пищи и повышают резистентность организма.

Создание препаратов на основе живых микроорганизмов является одним из самых сложных направлений в биотехнологии, а бактериальные концентраты для производства кисломолочных продуктов должны содержать не только высокое количество жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов, но и активно ферментировать молоко и пищевые среды. На основании многолетних фундаментальных исследований по изучению физиолого-биохимических и биотехнологических свойств пробиотических микроорганизмов бифидобактерий и пропионовокислых бактерий на кафедре технологии молока и молочных продуктов Восточно-Сибирского государственного технологического университета разработан эффективный биотехнологический способ их активизации в молоке. Установлено, что активизация роста пробиотических микроорганизмов связана с повышением собственной  $\beta$ -галактозидазной активности, в результате чего они приобретают способность накапливать из лактозы необходимые для своего роста соединения: глюкозу и олигосахариды и расти в молоке без стимуляторов роста. Выявлены основные закономерности влияния условий культивирования пробиотических микроорганизмов на сохранение их высокой ферментативной активности после обезвоживания, регидратации и при хранении. Разработанный способ активизации

бифидобактерий и пропионовокислых бактерий в молоке позволил создать принципиально новую технологию получения жидких, замороженных и сухих концентрированных препаратов из монокультур бифидобактерий *Bifidobacterium longum* V379M и пропионовокислых бактерий *Propionibacterium freudereichii* subsp. *shermanii* – КМ 186, активно ферментирующих молоко и пищевые среды без стимуляторов роста. Высокая активность инокулята позволяет исключить дорогостоящие компоненты и способствует накоплению в питательной среде естественных протекторов, что обуславливает максимальную выживаемость пробиотических микроорганизмов и высокую активность ферментации молока. Технология концентрированных заквасок, разработанная в ВСГТУ, по сравнению с отечественными и зарубежными аналогами имеет следующие преимущества:

- бактериальные концентраты бифидобактерий и пропионовокислых бактерий (закваски прямого внесения) активно ферментируют молоко и пищевые среды;
- для получения биомассы пробиотических микроорганизмов при изготовлении концентратов используется дешёвая питательная среда на основе творожной сыворотки;
- использование бактериальных концентратов в условиях производства позволяет интенсифицировать технологический процесс и гарантирует высокое качество готового продукта;
- внеклеточные метаболиты (витамины, экзополисахариды, антимикробные и антимуtagenные вещества), синтезируемые пробиотическими микроорганизмами в процессе ферментации молока, повышают пробиотический эффект кисломолочных продуктов.

На основе анализа биотехнологических свойств пробиотических микроорганизмов созданы различные варианты комплексных заквасок: бифидобактерий и пропионовокислых бактерий; бифидобактерий и молочнокислых бактерий; пропионовокислых бактерий и молочнокислых бактерий, позволяющие в максимальной степени реализовать физиолого-биохимический и технологический потенциал микроорганизмов.

Установлено, что антагонистическая активность комплексных заквасок по отношению к патогенным и условно-патогенным бактериям, а также их устойчивость к желчи, фенолу, повышенным концентрациям хлористого натрия значительно выше по сравнению с монокультурами, входящими в их состав. Теоретически обоснованы защитные функции синтезируемых экзополисахаридов, которые обеспечивают гибкую адаптацию бактерий и предохраняют отдельные клетки и популяцию в целом от неблагоприятных факторов внешней среды (изменение температуры, низкие значения pH, замораживание и обезвоживание). Показано, что при совместном культивировании экзополисахариды, синтезируемые пропионовокислыми бактериями, стимулируют рост бифидобактерий. Отмечен активный рост пропионовокислых бактерий в консорциуме микроорганизмов кефирной закваски при утилизации лактата, образуемого молочнокислой микрофлорой, что свидетельствует о симбиотических взаимоотношениях микроорганизма.

При исследовании роли физических взаимодействий, когезии клеток в стабилизации консорциумов установлена наиболее высокая когезивность у бифидобактерий и

пропионовокислых бактерий, клетки которых взаимодействуют между собой с образованием субколониальных ассоциаций, контактирующих с молочнокислыми бактериями, отражая закономерность развития популяций в консорциуме как самоорганизующихся многоклеточных систем. В результате экспериментальных исследований установлена антимуtagenная активность бифидобактерий и пропионовокислых бактерий, а также некоторых заквасочных культур молочнокислых бактерий. Показано, что жизнеспособные клетки пробиотических микроорганизмов проявляют более высокий антимуtagenный эффект в отношении мутагенеза индуцируемого азидом натрия, чем культуральная жидкость. Особое внимание было уделено антимуtagenной активности бактериальных концентратов бифидобактерий (*B. longum* B379M) и пропионовокислых бактерий (*P. shermanii* – КМ 186), которые нашли широкое практическое применение при производстве кисломолочных продуктов. Наиболее эффективными носителями антимуtagenной активности были пропионовокислые бактерии *P. shermanii* – КМ 186, которые в ферментированном молоке на 70 % снижали мутагенность азидов натрия. Антимуtagenность концентрата бифидобактерий *B. longum* B379M также была весьма высокой и составила 60 %. Молочнокислые бактерии *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* вязкий, болгарская палочка и кефирная грибковая закваска также обладали выраженной антимуtagenной активностью, но она была ниже, чем у пропионовокислых и бифидобактерий. Выявлено, что совместное культивирование бактерий разных таксономических групп повышает антимуtagenную активность.

Антимуtagenез, вероятно, связан с дисмутагенной активностью микроорганизмов, хотя не исключается механизм биоантимуtagenеза. Антимуtagenны пробиотических бактерий можно отнести к наиболее физиологичным и эффективным природным источникам, так как они синтезируются при производстве кисломолочных продуктов и усиливают их пробиотический эффект. Обнаружено, что в процессе ферментации молока пропионовокислые бактерии синтезируют большое количество витамина В12. Включение пропионовокислых бактерий в состав комбинированных концентратов обогащает кисломолочные продукты витамином В12.

Доказана возможность использования кедрового шрота в качестве источника пребиотических волокон при производстве пробиотических молочных продуктов. Показано, что кедровый шрот стимулирует рост бифидобактерий и пропионовокислых бактерий и повышает реологические свойства и качество синбиотических кисломолочных продуктов. С целью повышения степени удовлетворения потребностей и желаний потребителей были разработаны инновационные пробиотические продукты нового поколения для профилактики йоддефицитных и селендефицитных состояний. Подобраны оптимальные дозы йодида калия и селенита натрия при культивировании пробиотических микроорганизмов. Установлено, что пропионовокислые бактерии обладают более высокой устойчивостью к селениту натрия и йодиду калия. Отмечено, что с повышением концентрации селенита натрия в питательной среде увеличивается содержание экзополисахаридов, вязкость культуральной жидкости, антимуtagenная активность и выход биомассы. Выявлено, что пробиотические бактерии обладают способностью накапливать селен в высоких концентрациях и противостоять токсическому действию микроэлемента, тогда как йодид калия при более низких концентрациях задерживает их

рост. Полученные результаты свидетельствуют о том, что пробиотические бактерии являются перспективными объектами биотехнологического получения органических форм йода и селена. Использование пропионовокислых бактерий для ферментативного йодирования и селенирования позволяет получить БАДы с полифункциональными свойствами. Высокая ферментативная активность пробиотических микроорганизмов способствует более эффективному протеканию реакций йодирования и селенирования аминокислот в питательной среде, что повышает биодоступность микроэлементов. Широкое использование разработанных БАД «Йодпропионикс», «Йодбифивит», «Селенпропионикс», «Селенбифивит» для профилактики алиментарных заболеваний, обусловленных дефицитом микроэлементов, позволит не только восполнить дефицит йода и селена в организме, но также нормализовать микробиоценоз кишечника человека.

Впервые разработан бактериальный концентрат для производства кисломолочного продукта «Курунга». Установлено, что использование инокулята, полученного методом автоселекции кефирной закваски и термофильных лактобактерий, позволяет создать консорциум микроорганизмов, по составу близкий к естественной закваске. Выявлена высокая антимикробная активность бактериального концентрата к *Micobacterium tuberculosis*. Применение симбиотической закваски в комплексной терапии способствует уменьшению частоты и тяжести побочных реакций на противотуберкулезные препараты и токсикоаллергических реакций на микобактерии туберкулеза.

Практическую реализацию результаты исследований нашли в разработке широкого спектра пробиотических кисломолочных продуктов и биологически активных добавок «Бифивит», «Тараг обогащенный», «Паста бифидная», «Творог бифидный», «Целебный», «Пропионикс кефирный», «Бифипропионикс», «Кремовит» и др. ВСГТУ является держателем подлинников нормативной документации на производство пробиотических молочных продуктов («Бифивит», «Бодровит», «Целебный»), заквасок прямого внесения бифидобактерий и пропионовокислых бактерий («Бифивит» и «Пропионикс») и биологически активных добавок («Концентрат бифидобактерий жидкий», «Йодпропионикс», «Селенпропионикс», «Курунгин»), действующих в Российской Федерации. Концентраты пробиотических микроорганизмов и БАДы имеют удостоверения о государственной регистрации. Производство бактериальных концентратов и биологически активных добавок организовано на базе учебно-научно-инновационного комплекса (УНИК) ВСГТУ. Лаборатория выпускает закваски прямого внесения бифидобактерий *B. longum* В379М и пропионовокислых бактерий *P. shermanii* – КМ 186, активно ферментирующие молоко и пищевые среды, обладающие высокой скоростью роста при биотехнологической обработке молочного, мясного, хлебопекарного сырья и обеспечивающие высокое количество жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов в готовом продукте. УНИК поставляет бактериальные концентраты пробиотических микроорганизмов молочным предприятиям Сибири и Дальнего Востока. Биологически активные добавки пробиотических микроорганизмов реализуются через организации здравоохранения и аптечную сеть. Клиническая апробация БАДов и кисломолочных продуктов, а также длительное применение в питании детей и взрослых различных возрастных групп показали их высокую эффективность.

Полученные результаты дают важные импульсы для дальнейших фундаментальных исследований в области антимутагенеза пробиотических микроорганизмов и поиска

штаммов с выраженной антимуtagenной и иммуногенной активностью и изучении возможных механизмов их действия, что позволит создать комплексные пробиотические мультиштаммовые препараты и пищевые продукты с антимуtagenными свойствами, использование которых в здоровом питании обеспечит устойчивость организма к вредным воздействиям окружающей среды и различным инфекционным заболеваниям.