

И.С. Хамагаева, д-р техн. наук, проф., e-mail: tmmp@esstu.ru
Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, г. Улан-Удэ

УДК: 637.146.33:579.86:579.872

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Обобщены основные результаты, полученные под руководством автора, реализации биотехнологического потенциала пробиотических микроорганизмов для получения биологически активных добавок – синбиотиков, экзополисахаридов, улучшающих реологические свойства биопродуктов и препаратов для деградации холестерина.

Рассмотрены перспективы использования уникальных особенностей метаболизма пробиотических микроорганизмов в различных сферах биотехнологии.

Ключевые слова: бифидобактерии, пропионовокислые бактерии, пробиотики, синбиотики, экзополисахариды, холестерин.

I.S. Khamagaeva, Dr. Sc. Engineering, Prof.

PROSPECTS FOR THE USE OF PROBIOTIC MICROORGANISMS IN MODERN BIOTECHNOLOGY

The article summarizes the key findings obtained under the author's supervision of the biotechnological potential of probiotic microorganisms for biologically active additives production – synbiotics, exopolysaccharides, improving the rheological properties of biological products and preparations for the degradation of cholesterol.

The prospects for the use of the unique features of the metabolism of probiotic microorganisms in various fields of biotechnology are considered.

Key words: bifidobacteria, propionic acid bacteria, probiotics, synbiotics, exopolysaccharides, cholesterol.

Среди научных направлений ВСГУТУ важное место занимают исследования физиологии и биохимии пробиотических микроорганизмов. На основании полученных результатов исследований разработаны научные основы успешной реализации их метаболического потенциала в биотехнологии.

Необходимой предпосылкой для проведения данных исследований явился созданный нами биотехнологический способ активизации бифидобактерий и пропионовокислых бактерий. Впервые была доказана возможность получения бифидогенных олигосахаридов методом трансгликозилирования. Изучен механизм их стимулирующего действия на развитие бифидобактерий и пропионовокислых бактерий, что позволило привлечь широкий спектр пробиотических микроорганизмов для скрининга и дальнейших исследований.

Данные о бифидобактериях и пропионовокислых бактериях, их способности синтезировать антиоксидантные ферменты, витамины, антимуутагенные вещества, экзополисахариды, органические кислоты существенно расширяют спектр потенциальных продуцентов этих биорегуляторов, а также создают реальные предпосылки для разработки и внедрения новых биотехнологий в пищевой и медицинской промышленности.

Наконец, большое научно-практическое значение имеют разработанные авторами способы биодеградации холестерина, что открывает широкие перспективы для создания биопрепаратов для лечения и профилактики гиперхолестеринемии.

Ниже представлен более детальный анализ основных результатов изучения структурно-функциональной организации анаэробных пробиотических микроорганизмов и перспектив их реализации в биотехнологии.

Перспективы использования культуральной жидкости пробиотических микроорганизмов

В процессе жизнедеятельности пробиотических микроорганизмов синтезируется значительное количество биологически активных веществ, которые играют важную роль в формировании высокого качества пищевых продуктов. Известно, что ценные метаболиты не только накапливаются в биомассе, но и остаются в культуральной жидкости – побочном продукте, получаемом при производстве концентратов пробиотических бактерий, и поэтому представляет интерес ее использование при производстве продуктов питания.

Установлено, что в культуральной жидкости концентратов пробиотических микроорганизмов накапливаются ценные метаболиты, и их количество зависит от видовой и штаммовой принадлежности. Выявлено, что дезинтеграция клеток пропионовокислых бактерий повышает содержание антиокислительных ферментов, каталазы, супероксиддисмутазы, пероксидазы, витамина В₁₂, экзополисахаридов и антимуtagenных веществ. Методом капиллярного электрофореза установлено высокое содержание органических кислот, лимонной, янтарной, пропионовой кислот, обладающих высокой антиокислительной активностью. Установлено, что биотехнологическая обработка пищевого сырья культуральной жидкостью повышает его функционально-технологические свойства, сдерживает окислительные процессы при производстве и удлиняет сроки хранения [3, 5].

Влияние пребиотиков на физиолого-биохимические свойства бифидобактерий

В настоящее время наиболее изученным и практически реализованным направлением поддержания микробной экологии человека на оптимальном уровне является использование препаратов бифидобактерий. Многолетние клинические наблюдения за лечебной и профилактической эффективностью бифидобактерий показали, что они не обладают побочными эффектами при длительном применении и могут быть рекомендованы для производства продуктов функционального питания для ежедневного употребления людьми всех возрастов.

Бифидобактерии, присутствующие в пищевых продуктах, очень чувствительны к факторам окружающей среды, к низким значениям рН, отсутствию ростовых факторов, поэтому для удлинения сроков сохранения бифидобактерий в жизнеспособном состоянии необходимо исследовать факторы, повышающие их устойчивость в процессе производства и хранения.

Для улучшения технологических и функциональных характеристик отобранных для производства пробиотиков, а также для конструирования новых препаратов с заданными свойствами необходимо использовать различные биотехнологические приемы, повышающие биохимическую активность и пробиотические свойства.

Известно, что пребиотики активизируют рост бифидобактерий и играют важную роль в поддержании их жизнедеятельности. Однако до настоящего времени остаются неизученными вопросы, касающиеся влияния пребиотиков на физиолого-биохимические и технологические свойства бифидобактерий. В связи с этим детальное исследование данной проблемы и создание бактериальных концентратов с высокими функциональными свойствами открывают широкие перспективы для расширения ассортимента инновационных пробиотических продуктов и отвечают запросам потребителей.

В результате проведенных исследований выбраны оптимальные дозы пребиотиков, обеспечивающие активный рост бифидобактерий. Установлено, что высокомолекулярные полисахариды повышают адгезивные свойства, приводят к агрегации клеток бифидобактерий и формируют микроколонии. Ферментация бифидобактериями сложных углеводов способствует повышению их антимуtagenной и холестеринметаболизирующей активности. Выявлено, что адгезия и агрегация бифидобактерий на биоволокнах повышают их устойчивость к низким значениям рН и продлевают сроки хранения бактериальных концентратов.

Полученные результаты позволили разработать технологию бактериальных концентратов-синбиотиков с высокими функциональными свойствами и пролонгированными сроками хранения [1].

Экзополисахариды как факторы повышения реологических свойств биопродуктов

Производство пробиотических пищевых продуктов, сохраняющих стабильные показатели качества при хранении, – одна из важнейших задач пищевой промышленности. Интенсивное расширение ассортимента продуктов привело к использованию в технологии пищевых добавок. Для улучшения реологических характеристик и увеличения срока годности применяют стабилизаторы, консерванты и антиоксиданты различного происхождения. Однако до последнего времени не решены все аспекты биобезопасности, возникающие при использовании в производстве продуктов питания пищевых добавок.

В последние годы за рубежом внимание акцентируется на новых стартовых культурах, синтезирующих экзополисахариды, которые являются не только натуральной альтернативой пищевым добавкам, улучшающим реологические показатели пищевых продуктов, но и выступают в роли факторов, способствующих адгезии полезных микроорганизмов на стенках кишечника. Особый интерес к ЭПС-активным культурам пробиотических микроорганизмов обусловлен тем, что на международном уровне молочнокислым и бифидобактериям присвоен статус безопасности GRAS (Generally recognized as safe), что подтверждает возможность применения ЭПС-продуцирующих штаммов этих микроорганизмов в производстве безопасных продуктов питания.

С учетом биотехнологического потенциала выбрано оптимальное соотношение культур *Bifidobacterium bifidum* 8₃, *Lactococcus lactis subsp. cremoris* 24₄, *Propionibacterium shermanii* AC-2503 для создания консорциума пробиотических микроорганизмов, обладающего высокой биохимической активностью и экзополисахаридным потенциалом.

Установлены основные закономерности биосинтеза экзополисахаридов пробиотическими микроорганизмами в зависимости от условий культивирования. Отмечено, что добавление селенита натрия в питательную среду стимулирует синтез экзополисахаридов и образование микроколоний, что способствует адаптации микроорганизмов к высоким концентрациям селена. Максимальное количество экзополисахаридов отмечено в стационарной фазе роста. Показано, что применение бактериального концентрата улучшает структурно-механические свойства, снижает интенсивность гидролитических и окислительных процессов и повышает хранимоспособность готового продукта. Разработан способ направленного микробного синтеза экзополисахаридов, перспективного для использования в ряде отраслей пищевой промышленности [4, 8, 10].

Биодеградация холестерина

Перспективность использования пробиотических микроорганизмов в биотехнологии обусловлено их способностью не только синтезировать различные полезные продукты, но и разлагать или деградировать широкий спектр токсичных соединений.

В последние годы накоплено значительное количество данных о том, что резидентная и транзитная микрофлора хозяина, синтезируя, трансформируя или разрушая экзогенные и эндогенные стерины, активно участвует в холестериневом метаболизме. Это позволяет рассматривать микрофлору хозяина как важнейший метаболический и регуляторный орган, участвующий в кооперации с клетками хозяина в поддержании гомеостаза холестерина.

Анализ опубликованных в литературе данных о биологически активных соединениях, продуцируемых пробиотическими микроорганизмами, показал, что до настоящего времени биотехнологический потенциал анаэробных микроорганизмов бифидобактерий, пропионовокислых и лактобактерий практически не используется. Лактобактерии длительное время привлекают внимание биотехнологов ввиду их потенциального значения для сохранения здоровья, профилактики и лечения многих заболеваний. Увеличивается число публикаций о способности некоторых штаммов лактобактерий проявлять гипохолестеринемический эффект, т.е. снижать уровень холестерина в крови.

Гиперхолестеринемия – это повышение уровня холестерина в крови, которое может привести к развитию таких тяжелых заболеваний, как атеросклероз, атеротромбоз, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, ожирение, гипертония и др. Причиной повышения

уровня холестерина в крови могут служить его избыточное поступление с пищей и недостаточный распад холестерина в организме. Холестерин откладывается в местах повреждения стенки сосудов и вызывает в последующем образование атеросклеротической бляшки [2], что приводит к развитию сосудистых заболеваний.

Актуальность проведения исследований в области микробной экологии, изучения метаболизма холестерина пробиотическими микроорганизмами определяется необходимостью создания биопродуктов массового потребления для поддержания и сохранения здоровья населения, которые составят достойную конкуренцию лекарственным средствам.

Были отобраны штаммы пробиотических микроорганизмов, характеризующиеся высокой холестеринметаболизирующей активностью, которая зависит от видовой и штаммовой принадлежности. Наиболее высокими холестериндеградирующими свойствами обладает штамм *Lactobacillus helveticus* 3₅₋₁, который разрушает до 51% холестерина за 24 ч культивирования. *P. shermanii* связывает 46,32% холестерина. Среди штаммов бифидобактерий наибольший гипохолестеринемический эффект проявляет *B. longum* DK-100, который разрушает 42,13% животного холестерина. Показано, что наибольшее количество холестерина разрушается в конце экспоненциальной фазы роста.

Доказано, что при совместном культивировании штаммов *L. helveticus* и *P. shermanii* наблюдается повышение холестеринметаболизирующих, пробиотических свойств, что свидетельствует о прочных симбиотических связях между культурами в комбинированной закваске.

На основании анализа биотехнологического потенциала *L. helveticus* и *P. shermanii* выбрано оптимальное соотношение 5:95, при котором отмечены хорошие органолептические, физико-химические и пробиотические свойства, а также высокая холестеринметаболизирующая активность (63,0%).

Подобраны оптимальные условия культивирования для получения биомассы монокультуры *L. helveticus* и комбинированной закваски с высоким титром жизнеспособных клеток и холестеринметаболизирующей активностью [6, 9].

Известно наличие обратной связи между содержанием полиненасыщенных жирных кислот в рационе человека и концентрацией холестерина и триглицеридов в крови. Исследование образа жизни, здоровья и особенностей питания жителей Средиземноморья или людей, регулярно употребляющих рыбу, показало, что низкий уровень сердечно-сосудистых заболеваний среди групп населения обусловлен высоким уровнем потребления полиненасыщенных жирных кислот (в основном ω -3).

Биологические эффекты полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) ω -3 прежде всего связывают с их влиянием на функции мембран клеток. Являясь эссенциальным компонентом фосфолипидов всех клеточных мембран, ПНЖК ω -3 определяют их текучесть, тем самым они могут влиять на свойства мембраносвязанных рецепторов, сигнальную трансдукцию, активность большого числа мембраносвязанных ферментов [2].

Необходимо отметить, что до сих пор недостаточно изучена роль ПНЖК в процессах, связанных с гипохолестеринемией.

Проведение исследований влияния полиненасыщенных жирных кислот на холестеринметаболизирующую активность бифидобактерий открывает широкие перспективы для создания продуктов функционального питания для профилактики заболеваний, вызванных повышенным уровнем холестерина в крови.

Впервые установлено, что полиненасыщенные жирные кислоты кедрового и льняного масла обладают бифидогенными свойствами. Выбрана оптимальная доза внесения кедрового и льняного масла – 1,5% от объема питательной среды, которая обеспечивает активный рост бифидобактерий.

Отмечено высокое разрушение холестерина в процессе культивирования штамма *B. longum* DK-100, которое составляет 68,09% при добавлении кедрового и 74,39% – льняного масла. Установлено, что внесение кедрового и льняного масла в питательную среду в

2 раза повышает холестеринметаболизирующую способность бифидобактерий по сравнению с контролем.

Разработана технология пробиотических биологически активных добавок, обогащенных полиненасыщенными жирными кислотами.

Отмечено, что при культивировании пробиотических микроорганизмов с кедровым и льняным маслом происходит увеличение содержания линолевой и уменьшение содержания линоленовой кислот, что приводит к оптимальному соотношению ω -6 и ω -3 жирных кислот, при культивировании бифидобактерий с кедровым маслом [7].

На базе биотехнологического центра ВСГУТУ проведены доклинические исследования на крысах линии Вистар инновационных препаратов на основе биомассы бифидобактерий, содержащих полиненасыщенные жирные кислоты.

Результаты исследований показали высокую эффективность разработанных биологически активных добавок. При введении в рацион крыс пробиотических БАД с льняным маслом коэффициент атерогенности снижался на 83%, а с кедровым маслом – на 86%. Отмечено достоверное повышение липопротеидов высокой плотности и снижение липопротеидов низкой плотности.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения пробиотических БАД с полиненасыщенными жирными кислотами для профилактики и лечения больных с повышенным уровнем холестерина в крови.

Следует отметить, что опытно-промышленная проверка пробиотических биологически активных добавок была проведена на базе ООО «МИП «Бифивит».

В заключение следует подчеркнуть, что полученные результаты открывают широкие перспективы для поиска новых штаммов пробиотических микроорганизмов, синтезирующих ценные биологически активные вещества с целью последующей реализации их уникального метаболизма в биотехнологии.

Библиография

1. Гамзякова И.В., Замбалова Н.А., Хамагаева И.С. Качественная характеристика бактериального концентрата, обогащенного пищевыми волокнами // Вестник ВСГУТУ. – Улан-Удэ, 2012. – № 1 (36). – С. 72–77.
2. Кравченко Л.В., Аксенов И.В. [и др.]. Влияние полиненасыщенных жирных кислот ω -3 на некоторые показатели антиоксидантного потенциала крыс // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82, №2. – С. 4–9.
3. Хамагаева И.С., Дарбакова Н.В. Качество культуральной жидкости пропионовокислых бактерий // Молочная промышленность. – 2009. – № 11. – С. 73–74.
4. Хамагаева И.С., Кузнецова О.С. Влияние селенита натрия на метаболизм пробиотических микроорганизмов // Молочная промышленность. – 2010. – № 2. – С. 74–75.
5. Хамагаева И.С., Тумунова С.Б., Замбалова Н.А. Исследование внеклеточных метаболитов, синтезируемых пробиотическими микроорганизмами // Молочная промышленность. – 2010. – № 7. – С. 27–28.
6. Хамагаева И.С., Цыбикова А.Х., Замбалова Н.А. Холестеринметабилизирующая активность пробиотических микроорганизмов // Молочная промышленность. – 2011. – № 10. – С. 56–57.
7. Хамагаева И.С., Замбалова Н.А., Буянтуева Л.В. Управление качеством пробиотической биологически активной добавки с холестеринметаболизирующей активностью // Вестник ВСГУТУ. – 2013. – № 3. – С. 54–61.
8. Хамагаева И.С., Тумунова С.Б., Ханхалдаева С.Г.-Д. и др. Зависимость структурно-механических свойств ферментированных сгустков от микрофлоры закваски // Молочная промышленность. – 2013. – № 7. – С. 60–61.
9. Хамагаева И.С., Замбалова Н.А., Цыбикова А.Х. Создание биопрепаратов для снижения уровня холестерина // Вестник БНЦ СО РАН. – Улан-Удэ, 2014. – № 1 (13). – С. 66–74.
10. Хамагаева И.С., Хазагаева С.Н., Замбалова Н.А. Создание консорциума пробиотических микроорганизмов с высокой биохимической активностью и экзополисахаридным потенциалом // Вестник ВСГУТУ. – Улан-Удэ, 2014. – №1 (46). – С. 97–102.

Bibliography

1. *Gamzyakova I.V., Zambalova N.A., Khamagaeva I.S.* Qualitative characteristic of bacterial concentrate rich in dietary fiber // *ESSUTM Bulletin*. – Ulan-Ude, 2012. – N 1 (36). – P. 72–77.
2. *Kravchenko L.V., Aksenov I.V. [et al.]*. Influence of ω -3 polyunsaturated fatty acids on some parameters of the antioxidant capacity of rats // *Nutrition*. – 2013. – Vol. 82. – N 2. – P. 4–9.
3. *Khamagaeva I.S., Darbakova N.V.* The quality of the culture fluid of propionic acid bacteria // *Dairy Industry*. – 2009. – N 11. – P. 73–74.
4. *Khamagaeva I.S., Kuznetsova O.S.* Effect of sodium selenite on the metabolism of the probiotic microorganisms // *Dairy industry*. – 2010. – N 2. – P. 74–75.
5. *Khamagaeva I.S., Tumunova S.B., Zambalova N.A.* Investigation of extracellular metabolites synthesized by probiotic microorganisms // *Dairy Industry*. – 2010. – N 7. – P. 27–28.
6. *Khamagaeva I.S., Tsybikova A.H., Zambalova N.A.* Cholesterol metabolizing activity of probiotic microorganisms // *Dairy Industry*. – 2011. – N 10. – P. 56–57.
7. *Khamagaeva I.S., Zambalova N.A., Buyantueva L.V.* Control quality of a probiotic dietary supplement reducing cholesterol // *ESSUTM Bulletin*. – 2013. – N 3. – P. 54–61.
8. *Khamagaeva I.S., Tumunova S.B., Hanhaldava S.G-D. et al.* The dependence of the structural and mechanical properties of fermented sourdough microflora clots // *Dairy industry*. – 2013. – N 7. – P. 60–61.
9. *Khamagaeva I.S., Zambalova N.A., Tsybikova A.H.* Creation of bioproducts for cholesterol reducing // *Buryat Scientific Center Bulletin, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences*. – Ulan-Ude, 2014. – N 1 (13). – P. 66–74.
10. *Khamagaeva I.S., Hazagaeva S.N., Zambalova N.A.* Creation of a probiotic microorganisms consortium with high biochemically active exopolysaccharide potential // *ESSUTM Bulletin*. – Ulan-Ude, 2014. – N 1 (46). – P. 97–102.