РАЗДЕЛ VIII. ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

Бояринева И.В.

Теоретические и практические основы создания поликомпонентных пробиотических ассоциаций

Хабаровский государственный университет экономики и права
(Россия, Хабаровск)

doi: 10.18411/scienceconf-09-2019-15

idsp: scienceconf-09-2019-15

Аннотация

В статье представлены данные о необходимости создания новых поликомпонентных пробиотических систем с целью их применения в комплексных терапевтических мероприятиях. Доказана возможность производства многовидовых микробных ассоциаций на основе пробиотических культур в промышленных условиях и их применение в производстве кисломолочных продуктов.

Ключевые слова: пробиотики, поликомпонентные ассоциации, штаммы, пропионовокислые бактерии, кефирная грибковая закваска

Abstract

The article presents data on the need to create new multicomponent probiotic systems for the purpose of their use in complex therapeutic measures. The possibility of producing multi-species microbial associations based on probiotic cultures under industrial conditions and their use in the production of dairy products has been proved.

Keywords: probiotics, multicomponent associations, strains, propionic acid bacteria, kefir fungal yeast

Введение

Современные клинические исследования открывают все новые стороны позитивного воздействия пробиотиков на физическое состояние человека, что позволяет расширить сферу их применения в комплексных лечебно-профилактических мероприятиях при некоторых инфекционных и неинфекционных патологических состояниях, в частности, хеликобактер-ассоциированной язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, гемобластозах и солидных опухолях, дислипидемии и ротавирусной инфекции [1]. Однако развитие новых клинических направлений подразумевает создание инновационных технологий, позволяющих в полной мере реализовывать биологический потенциал поликомпонентных пробиотических средств [2].

Основным направлением прикладных исследований в этой связи является создание стандартных условий производства, оптимизация технологических процессов и внедрение инновационных методик получения пробиотиков [2].

Моновидовые пробиотики, в т.ч. лактосодержащие, обладают ограниченными биологическими свойствами, обусловленными потенциалом одного вида бактерий, и уступают по терапевтической эффективности комплексным препаратам. Конструирование новых пробиотиков не исключает использование потенциала известных производственных штаммов, оптимальное сочетание которых существенно влияет на качественные характеристики комплексных препаратов [3].

При конструировании новых поликомпонентных синбиотических препаратов необходимо использовать современные принципы оценки биосовместимости, включающие подтверждение видовой подлинности отобранных производственных штаммов, синергизма пробиотических штаммов внутри поликомпонентной ассоциации, эффективности и безопасности их взаимодействия с индигенной микрофлорой человека,

сохранности при добавлении пребиотиков, микроэлементов, витаминов и антиоксидантов. Создавая биофармацевтическое производство, следует придерживаться разработанной структуры и основных принципов построения современного биотехнологического участка – стандартных условий, универсальности [2].

Созданная научная концепция, включающая структуру и основные принципы построения современного биотехнологического участка, позволяет решать широкий спектр промышленных задач по выпуску большого ассортимента конкурентоспособных поликомпонентных пробиотических субстанций и готовых фармакологических форм [2].

До недавнего времени при отборе штаммов для создания бактериальных заквасок использовались только стандартные микробиологические подходы оценки стартерных культур, такие как выделение, идентификация таксономического положения на основе изучения их морфологических, физиолого-биохимических свойств, определение условий культивирования и их технологических свойств. Однако применение только этих традиционных технологий не всегда позволяет эффективно отбирать безопасные и технологичные штаммы молочнокислых бактерий для использования их в качестве заквасочных культур в производстве кисломолочных продуктов и пробиотических препаратов. Многими исследователями отмечалось, что у микробиологов возникают трудности при идентификации на видовом и дифференциации на внутривидовом уровне бактерий различных родов факультативных анаэробов. Особенно трудно идентифицировать виды внутри родов: *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* с помощью классических фенотипических методов [4-8]. В этой связи особую актуальность приобретает использование современных фундаментальных научных достижений изучения бактериального генетического разнообразия в прикладных областях науки. Фенотипическая характеристика штамма, применяемая для идентификации, паспортизации и типирования штаммов бактерий, в настоящее время уже не является достаточной для установления таксономического положения изучаемого организма и целостной характеристики его свойств. В отношении штаммов молочнокислых бактерий, практически используемых в пищевой промышленности, применение современных молекулярно-биологических подходов для таксономической идентификации, молекулярно-генетической паспортизации, генотипирования бактерий позволит выбирать лучшие стартовые культуры для промышленного применения и получения качественных и безопасных пищевых продуктов, и бактериальных препаратов [9].

Теоретически обоснована необходимость использования молекулярно-биологических подходов для отбора бактериальных стартерных культур при создании заквасок для биотехнологии, позволяющих гарантировать выпуск качественных и безопасных кисломолочных продуктов и пробиотических препаратов [9].

Действующим началом пробиотических препаратов являются живые бифидобактерии, которые обладают антагонистической активностью против широкого спектра патогенных и условнопатогенных бактерий, основное назначение – обеспечение быстрой нормализации микрофлоры кишечного и уrogenитального трактов [10,11].

Бифидосодержащие препараты применяются с целью нормализации микробиоценоза желудочно-кишечного тракта, повышения неспецифической резистентности организма, стимуляции функциональной деятельности пищеварительной системы, для профилактики госпитальных инфекций в родильных домах и больницах [12].

Одним из представителей нормальной микрофлоры человека являются пропионовокислые бактерии, которые способны приживаться в кишечнике, оказывать стимулирующее влияние на иммунную систему человека. Положительная роль пропионовокислых бактерий обусловлена образованием пропионовой кислоты, ферментов и витамина B12.

Классические пропионовокислые бактерии образуют ряд белковых бактериоцинов. Штамм *P. thoenii* и *P. jensenii* образуют термоустойчивые белки, ингибирующие ряд грамотрицательных и грамположительных бактерий, дрожжей и плесеней [13].

У пропионовокислых бактерий обнаружено не только стимулирующее действие на переваривающую способность макрофагов печени и селезенки, но и их бактерицидное действие в отношении *Salmonella typhimurium* и *Listeria monocytogenes* [14].

В ряде исследований установлено, что пропионовокислые бактерии значительно замедляют рост различных (включая злокачественных) опухолей, а также инвазию опухоли за счет усиления защитных реакций организма. Иммуноterapia рака, в том числе с использованием пропионибактериум, наиболее эффективна после операции, а также после химиотерапевтической ремиссии лейкемии, поскольку при этом удаляются источники диссимилиации опухолевых клеток [15,16].

Пропионовокислые бактерии известны выраженным антимутагенным действием. Поскольку в естественных условиях микроорганизмы постоянно подвергаются действию мутагенов, у них сформировался эндогенный и экзогенный защитные механизмы: у всех живых существ образуются молекулы, способные к осуществлению антимутагенеза. Антимутагены пропионовокислых бактерий повышают активность ферментных систем, участвующих в детоксикации поступающих в клетку веществ, оказывая влияние на окислительно-восстановительный потенциал организма – эти процессы приводят к снижению мутаций [17].

Объекты и методы исследований

Объектами исследований служили штаммы пропионовокислых бактерий *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* KM 186, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* AC-2500, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* AC-2503 и кефирная грибковая закваска.

Основные физико-химические и микробиологические показатели сырья, заквасок и кисломолочных продуктов определяли стандартными и общепринятыми в исследовательской практике методами.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что кефирная грибковая закваска обладает достаточно высокой антимутагенной активностью. Доказано, что степень ингибирования кефирной грибковой закваски на 17% ниже, чем у пропионовокислых бактерий. Следует отметить, что наиболее сильное ингибирующее действие обнаружено у комбинированной закваски, состоящей из кефирной грибковой закваски и пропионовокислых бактерий *Pr. Shermanii* KM 186. Микроорганизмы комбинированной закваски синтезируют значительные количества антиокислительных ферментов: супероксиддисмутазы, пероксидазы и каталазы. Одновременное присутствие этих ферментов позволяет клетке удалять супероксидные и пероксидные радикалы, образованные в окислительных реакциях.

Важно подчеркнуть, высокую антибиотическую активность комбинированной закваски, состоящей из кефирной грибковой закваски и пропионовокислых бактерий *Pr. Shermanii* KM 186, в сравнении с отдельными культурами. Бактерицидное действие комбинированной закваски по отношению к *E. Coli* проявлялось в разведении 1:8, а к *S. Sonnei* 1:16. Бактериостатическое действие закваски по отношению к этим культурам отмечено в разведениях 1:16 и 1:128, соответственно.

Разработанная ассоциация микроорганизмов отличается высокой антибиотической и витаминообразующей активностью. Доказано, что в результате введения пропионовокислых бактерий в кефирную грибковую закваску, в кефирном продукте увеличивается содержание витаминов группы В [18].

Исследована биохимическая активность закваски, состоящей из чистых культур *Pr. Shermanii* и симбиотической закваски кефирных грибов и пропионовокислых бактерий на адаптированной смеси. Доказано, что пропионовокислые бактерии, а также ассоциация микроорганизмов пропионовокислых бактерий и кефирной грибковой закваски

отличаются высокой биохимической активностью при культивировании на адаптированной смеси. Выявлено, что при культивировании заквасок на адаптированной смеси увеличивается продолжительность ферментации. При этом количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий остается на достаточно высоком уровне [19].

Выводы

Анализ теоретических и практических разработок свидетельствует о том, что многоштаммовые заквасочные ассоциации обладают выраженными пробиотическими свойствами при культивировании на молочном сырье и адаптированной смеси. Это позволяет получить в производственных условиях кисломолочные продукты для детского и диетического питания с высоким титром жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий. Так, на Комбинате детского питания г. Хабаровска налажен выпуск пробиотических кисломолочных продуктов на основе комбинированных заквасочных культур и пропионовокислых бактерий. Кисломолочные продукты характеризуются хорошими органолептическими показателями – имеют приятный кисломолочный вкус, содержат высокое количество клеток пропионовокислых бактерий 10^9 к.о.е. в см³ и витамина В12. Адаптированные кисломолочные продукты характеризуются низкой кислотностью, нежной консистенцией и содержат высокое количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий, что очень важно при производстве продуктов детского питания, обладающих лечебно-профилактическими свойствами.

1. Сидоренко С.В. Диагностика и лечение инфекций, вызываемых *Helicobacter pylori* // Антибиотики и химиотерапия. 2001. – т. 46. - №8. – с. 23-31.
2. Алешкин А.В. Поликомпонентные пробиотические препараты –конструирование, производство и стратегия их продвижения на Российском фармацевтическом рынке: автореф. дис. док. биол. наук. Москва, 2011. – 47 с.
3. Несчислав В. А. Пробиотики: микробиологические и технологические аспекты получения, контроля и конструирования препаратов. Автореф. дис. док. мед. наук. Пермь, 2005. – 46 с.
4. Dellaglio F., Felis G.E., Castioni A. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *indicus* subsp. nov., isolated from Indian dairy products // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2005. – V.55. – N. 1. – P. 401-404.
5. Giraffa G. Enterococci from foods // FEMS Microb. Rev. 2002. – V.26. – N. 2. – P. 163-171.
6. Giraffa G., Chanishvili N., Widyastuti Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology // Res. Microbiol. – 2010. – V.161. N.6. – P. 480-487.
7. Andrighetto C., Kniff E., Lombardi A., Torriani S., Vancanneyt M., Kersters K., Swings J., Dellaglio F. Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian cheeses // J. Dairy Res. 2001. – V. 68. – N. 2. – P. 303 -316.
8. Стоянова Л.Г., Сульимова Т.Д., Ботина С.Г., Нетрусов А.И. Выделение и идентификация бактериоцинопродуцирующих штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* из свежего молока // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. – Т. 42. - №5. – с. 560-568.
9. Ботина С. Г. Молекулярно-биологические подходы к отбору бактериальных культур при создании заквасок для биотехнологии. Автореф. дис. д-ра биологич. наук. – Москва. – 2011. – 46 с.
10. Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией. Журн. микробиол. 2004. № 1. – с. 84-92.
11. Звягинцева Т.Д., Сергиенко Е.И. Дисбактериоз кишечника: клиническое значение и перспективы лечения. Эксперим. клин. гастроэнтерол. 2003. № 3. С.70-74.
12. Н.М. Грачева, В.М. Бондаренко / Пробиотические препараты в терапии и профилактике дисбактериоза кишечника. – НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского МЗ РФ, г. Москва, НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН Инфекционные болезни, 2004, №2(2). – с. 53-58.
13. Воробьева Л.И. Пропионовокислые бактерии. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 288 с.
14. Isenberg H.D., Painter B.D. Indigenous and pathogenic microorganisms of humans // in: Manual of Clinical Microbiol. – Eds. E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler et al. 3rd end. Washington: A.S.M. 1980. p. – 25-39.
15. Воробьева Л.И. Наипольнейшие из анаэробов. Пропионовокислые бактерии для биотехнологии // Химия и жизнь. 1984. - №5. – С. 19-22.
16. Johnns A.T. Mechanism of the propionic acid formation by propionibacteria // J. Cen. Micr. 1986. – Vol. 5. – P. 337-345.

-
17. Воробьева Л.И. и др. Антимутагенность пропионовокислых бактерий // Микробиология. – 1991. – т. 60. - №6. – С. 83-89.
 18. И.В. Бояринева, И.С. Хамагаева, Н.Ю, Потапчук / Исследование пробиотических свойств комбинированной закваски // Кемерово: Техника и технология пищевых производств. – 2013. – №1. – с. 54-58.
 19. И.В. Бояринева, И.С. Хамагаева / Исследование биохимической активности пропионовокислых бактерий и комбинированной закваски на основе адаптированной смеси // Кемерово: Техника и технология пищевых производств. – 2013. – №4. – с. 35-38.
-