

ИССЛЕДОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАД НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИЙ *BIFIDOBACTERIUM* И *LACTOBACILLUS*

И.С. Милентьева, А.М. Федорова, Ю.А. Ерофеева
 Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия

Аннотация

Основной целью настоящего исследования является исследование и разработка технологии получения пробиотических биологически активных добавок (БАД) на основе метаболитов бактерий *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*.

Ключевые слова: пробиотики, БАД, метаболиты, бактериоцины, ЖКТ, профилактика.

Здоровая микрофлора кишечника напрямую влияет на здоровье человека. В связи с этим возникает необходимость поддержания функционирования микрофлоры кишечника. Прием пробиотических препаратов может помочь справиться с данной проблемой [1].

Пробиотические препараты представляют собой биопрепараты, в состав которых входят функционально значимые культуры микроорганизмов. Основной составляющей таких препаратов являются культуры бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacteria*, а также комбинации различных их штаммов.

Сегодня бактериальная резистентность к антибиотикам стремительно увеличивается, что в свою очередь влечет к снижению антимикробной терапии. Еще одной причиной негативного применения антибиотиков заключается в пагубном воздействии на микрофлору желудочно-кишечного тракта организма. Именно использование в препаратах бактериоцинов может стать главным решением проблем, связанных с применением антибиотиками.

Бактериоцины являются антимикробными веществами, которые синтезируются обширной группой бактерий. Главной отличительной характеристикой бактериоцинов от антибиотиков, действующих как ингибиторы метаболитов, является то, что бактериоцины повреждают структуру клетки бактерий и впоследствии вызывает ее гибель [2].

На данный момент создание антимикробного пробиотического консорциума является актуальной задачей, который сможет использоваться в качестве профилактического и/или лечебного средства. Основным решением данной задачи может стать создание продукта на основе пробиотических штаммов микроорганизмов, которые способны активно взаимодействовать друг с другом [3].

Методом совместного культивирования изучена биосовместимость штаммов между собой, а также подобраны консорциумы для дальнейшего исследования. Результаты исследования антагонистической активности бактерий и их симбиотических консорциумов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты биосовместимости штаммов микроорганизмов

№	Консорциумы	Биосовместимость
1	<i>Bifidobacterium animalis</i> AC-1560 + <i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579	+
2	<i>Bifidobacterium animalis</i> AC-1560 + <i>Lactobacillus paracasei</i> B-2430	-

3	<i>Bifidobacterium animalis</i> AC-1560 + <i>Lactobacillus casei</i> B-9227	+
4	<i>Bifidobacterium longum</i> AC-1257 + <i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579	+
5	<i>Bifidobacterium longum</i> AC-1257 + <i>Lactobacillus paracasei</i> B-2430	–
6	<i>Bifidobacterium longum</i> AC-1257 + <i>Lactobacillus plantarum</i> B-884	+
7	<i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579 + <i>Lactobacillus paracasei</i> B-2430	–
8	<i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579 + <i>Lactobacillus plantarum</i> B-884	+
9	<i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579 + <i>Lactobacillus casei</i> B-9227	+
10	<i>Lactobacillus paracasei</i> B-2430 + <i>Lactobacillus plantarum</i> B-884	+

Антагонистическую активность штаммов и их консорциумов проверяли методом лунок. Результаты данного исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты антагонистической активности штаммов микроорганизмов и их консорциумов

№	Штаммы микроорганизмов (консорциумы)	Зоны задержки роста, мм
1	<i>Bifidobacterium animalis</i> AC-1560	10–14
2	<i>Bifidobacterium longum</i> AC-1257	9–14
3	<i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579	20–24
4	<i>Lactobacillus paracasei</i> B-2430	10–12
5	<i>Lactobacillus plantarum</i> B-884	6
6	<i>Lactobacillus casei</i> B-9227	6–16
8	<i>Bifidobacterium animalis</i> AC-1560 + <i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579	10–20
9	<i>Bifidobacterium animalis</i> AC-1560 + <i>Lactobacillus casei</i> B-9227	13–18
10	<i>Bifidobacterium longum</i> AC-1257 + <i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579	20
12	<i>Bifidobacterium longum</i> AC-1257 + <i>Lactobacillus casei</i> B-9227	18–22
13	<i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579 + <i>Lactobacillus plantarum</i> B-884	12
14	<i>Bifidobacterium bifidum</i> AC-1579 + <i>Lactobacillus casei</i> B-9227	14–23
15	<i>Lactobacillus paracasei</i> B-2430 + <i>Lactobacillus plantarum</i> B-884	15–30

Полученные результаты показали, что симбиотические препараты имеют высокую активность по отношению к условно-патогенному микроорганизму *Escherichia coli* по сравнению с индивидуальными штаммами.

С целью определения наличия пептидов в культуральной жидкости проводили белковый гель-электрофорез. Исходя из данных, полученных в таблице 2, были выбраны 6 консорциумов с наибольшей антагонистической активностью по отношению к условно-патогенному микроорганизму *Escherichia coli*. Электрофоретическим дорожкам, представленным на рисунке 1, соответствуют пептиды, выделенные из следующих консорциумов микроорганизмов:

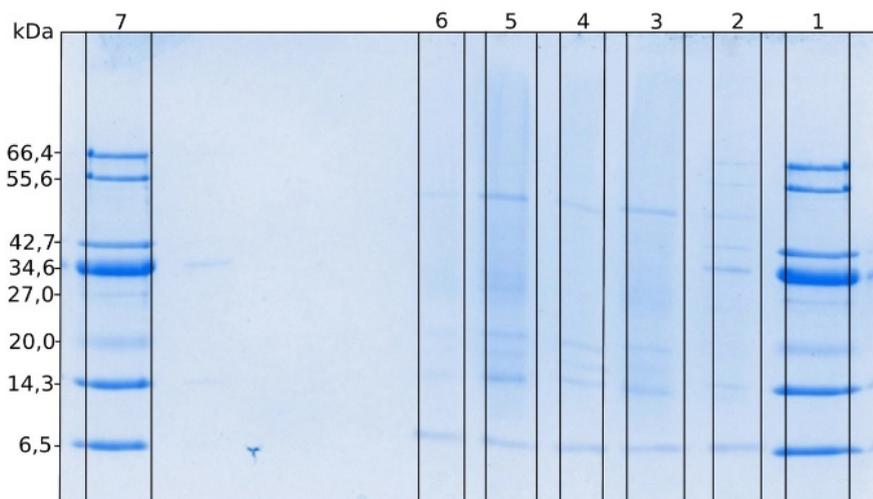


Рис. 1. Белковый гель-электрофорез

1. Набор белковых маркеров (2-212 кДа) М31 (производитель: НПО «СибЭнзим»);
2. *Bifidobacterium animalis* AC-1560 + *Bifidobacterium longum* AC-1257 + *Bifidobacterium bifidum* AC-1579;
3. *Bifidobacterium bifidum* AC-1579 + *Lactobacillus plantarum* B-884;
4. *Bifidobacterium animalis* AC-1560 + *Bifidobacterium bifidum* AC-1579;
5. *Bifidobacterium longum* AC-1257 + *Lactobacillus plantarum* B-884;
6. *Lactobacillus paracasei* B-2430 + *Lactobacillus plantarum* B-884;
7. Набор белковых маркеров (2-212 кДа) М31 (производитель: НПО «СибЭнзим»).

В результате проведенного белкового гель-электрофореза установлено, что в данных образцах присутствуют фракции пептидов с молекулярными массами 6,5-20 кДа. Исходя из того, что молекулярные массы искомым бактериоцинов от 2 до 20 кДа, можно предположить, что в составе выделенных пептидов присутствуют целевые соединения.

Таким образом, в результате исследований была проведена биосовместимость штаммов и созданы консорциумы, в которых прослеживается симбиотический тип взаимодействия. Проведены исследования антагонистической активности отдельных штаммов и симбиотических препаратов по отношению к условно-патогенному микроорганизму *Escherichia coli*. Полученные микроорганизмы, находясь в симбиотическом взаимодействии, имеют высокую антагонистическую активность, следовательно, продуцируют бактериоцины, что было проверено с помощью белкового гель-электрофореза.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы анализа в области прикладной биотехнологии» на базе КемГУ.

Список литературы

1. Бондаренко, В.М. Препараты пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов / В.М. Бондаренко, Н.М. Грачева // Фарматека. – 2003. – №7. – С. 56–63.
2. Кайбышева, В.О. Пробиотики с позиции доказательной медицины / В.О. Кайбышева, Е.Л. Никонов // Доказательная гастроэнтерология. – 2019. – № 8(3). – С. 45–54.
3. Лосева, И.В. Структура отечественного фармацевтического рынка пробиотиков / И.В. Лосева, Е.А. Тулебаев // Научный альманах. – 2017. – № 2 (3). – С. 357–363.

RESEARCH AND DEVELOPMENT OF PROBIOTIC SUPPLEMENTS BASED ON METABOLITES OF BIFIDOBACTERIUM AND LACTOBACILLUS BACTERIA

I.S. Milenteva, A.M. Fedorova, Y.A. Erofeeva
Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Annotation

Purpose: research and development of technology for obtaining probiotic biologically active additives (BAA) based on metabolites of Bifidobacterium and Lactobacillus bacteria.

Keywords: probiotics, dietary supplements, bacteriocins, gastrointestinal tract, probiotic dietary supplements, prevention.

References

1. Bondarenko, V.M. Preparations of probiotics, prebiotics and synbiotics in the treatment and prevention of intestinal dysbacteriosis / V.M. Bondarenko, N.M. Grachev // Farmateka. - 2003. - No. 7. – P. 56–63.
2. Kaibysheva V.O. Probiotics from the standpoint of evidence-based medicine / V.O. Kaibysheva, E.L. Nikonov // Evidence-based gastroenterology. - 2019. - No. 8(3). – P. 45–54.
3. Loseva, I.V. Structure of the domestic pharmaceutical market for probiotics / I.V. Loseva, E.A. Tulebaev // Scientific almanac. - 2017. - No. 2 (3). – S. 357–363.