

Н. В. Гончарова, мл. науч. сотрудник; З. Е. Егорова, доцент;  
И. В. Подорожная, студентка; О. В. Гудинская, студентка

## ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООГАНИЗМОВ РОДА *BACILLUS* – ИЗОЛЯТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ

The last years probiotics have been widely used in farming and aquaculture as alternatives to antibiotics as well as cure and prophylactics in humans. Although many bacteria characterized as probiotics are strains of *Lactobacillus* or *Bifidobacterium*, sporeforming bacteria, primarily of the genus *Bacillus* and related genera, have also been studied and commercialized as probiotics. The results of investigation of proteolytic properties and saccharolytic activity of sporeforming, catalase-positive, aerobic microorganisms genus *Bacillus* isolates from plant products and roots are presented. It is shown, that the investigated microorganisms possess ability to hydrolyze various carbohydrates and protein substrata. The degree of appearance of fermentative activity of bacteria varied for different strains.

**Введение.** Ухудшение экологической ситуации, возрастающая стрессовая нагрузка, повсеместное применение антибиотиков и химиопрепаратов при лечении различных заболеваний приводят к нарушению микроэкологии организма, что, в свою очередь, ведет к снижению иммунитета, общему ухудшению состояния здоровья людей.

В связи со сказанным интерес представляет создание и применение средств, естественным способом способствующих укреплению и восстановлению здоровья человека. Такими средствами являются пробиотики – препараты и продукты питания, в состав которых входят вещества микробного происхождения, оказывающие при естественном способе введения благоприятные эффекты на физиологические функции и биохимические реакции организма хозяина [1].

Пробиотические препараты на основе бактерий используются для профилактики желудочно-кишечных заболеваний, для коррекции кишечного микробиоценоза, после терапии антибиотиками и химическими препаратами, для стимуляции роста и повышения естественной резистентности макроорганизма. Одним из свойств пробиотиков является их способность регулировать и стимулировать пищеварение, что осуществляется за счет способности микроорганизмов-пробионтов продуцировать различные биологически активные вещества, особое значение среди которых имеют ферменты.

Основоположителем концепции пробиотиков стал И. И. Мечников, который в начале XX в. обнаружил положительное воздействие на организм человека употребления простокваши с живыми лактобактериями. С тех пор изучено большое количество микроорганизмов, обладающих пробиотическими свойствами, и на их основе создано множество биопрепаратов и продуктов функционального питания. Наиболее часто в качестве микроорганизмов-пробионтов, вводимых в состав пробиотиков, используются бифидобактерии, лактобактерии, кишечные палочки, энтерококки, спорообразую-

щие бактерии – *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Clostridium*, *Sporolactobacillus* [2].

В то же время, несмотря на рост популярности препаратов-пробиотиков и пищевых продуктов, обладающих пробиотическими свойствами, микроорганизмы, входящие в их состав, зачастую не удовлетворяют предъявляемым к ним требованиям. Среди недостатков коммерческих препаратов-пробиотиков отмечаются неадаптированность использованных в них штаммов микроорганизмов для популяции людей конкретных регионов, присутствие в их составе штаммов бактерий с потенциальной способностью вызывать в ослабленном организме гнойно-воспалительные процессы (например, энтерококков), высокая стоимость подобных препаратов [3]. Кроме того, эффективность некоторых препаратов вызывает определенные сомнения в связи с невысокой способностью используемых при их производстве штаммов выживать в неблагоприятных условиях желудочно-кишечного тракта. Под влиянием соляной кислоты, желудочного сока, желчных кислот, пищеварительных ферментов выживаемость экзогенных пробиотиков изменяется: для разных штаммов лакто- и бифидобактерий степень выживания оценивается на уровне 20–40% [4]. Низкая устойчивость микроорганизмов-пробионтов к внешним воздействиям ограничивает возможности их применения в производстве пищевых продуктов функционального назначения.

Перспективным направлением в решении указанных проблем является создание биопрепаратов на основе спорообразующих микроорганизмов, особый интерес среди которых представляют бактерии рода *Bacillus*, обладающие широким спектром биологической активности [5]. Микроорганизмы данной группы являются постоянными обитателями почвы, воды, воздуха, растительного сырья и многих пищевых продуктов, они ежедневно поступают в желудочно-кишечный тракт человека и животных с пищей.

Важнейшими свойствами некоторых штаммов бацилл являются их выраженный антагонизм к ряду патогенных и условно патогенных

микроорганизмов, в том числе стафилококков, протеев, грибов рода *Candida*; высокая ферментативная активность, позволяющая регулировать и стимулировать пищеварение, способствуя лучшему усвоению и всасыванию нутриентов; противоаллергенное и антиоксическое действия и ряд других. Имеются сведения о том, что благодаря содержанию ферментов, обладающих протеолитическим и фибринолитическим действием, препараты на основе спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus* способствуют очищению воспалительных очагов от некротических тканей [6].

В то же время родство с патогенными для человека и животных видами *B. cereus* и *B. anthracis*, а также сообщения о наличии токсигенных штаммов среди не считающихся патогенами *B. subtilis*, *B. licheniformis* и других видов бацилл [7–9] свидетельствуют о необходимости особенно строгой оценки безопасности спорообразующих бактерий рода *Bacillus* перед их промышленным использованием в качестве основы для биопрепаратов.

Ввиду потенциальной опасности, связанной с применением живых микроорганизмов, интерес представляет изучение и выделение в очищенном виде биологически активных веществ, обуславливающих эффективность пробиотиков. Перспективным направлением является производство новых препаратов, созданных на основе компонентов микробных клеток или их метаболитов – пробиотиков метаболитного типа [10].

Учитывая вышесказанное, исследование свойств бациллярной микробиоты пищевых продуктов отечественного производства и растительного сырья белорусской зоны произрастания с целью отбора штаммов бацилл, обладающих пробиотическими свойствами, является актуальной задачей, имеющей практическую значимость.

**Материалы и методы.** На кафедре физико-химических методов сертификации продукции в рамках выполнения проекта «Исследование пробиотических свойств и способности к бактериоцинопродукции грамположительной микробиоты продуктов растительного происхождения», финансируемого Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований, были проведены исследования сахаролитической и протеолитической активности микроорганизмов с целью выявления наиболее активных штаммов, представляющих интерес с точки зрения их использования в создании пробиотических препаратов. Всего было исследовано 78 штаммов микроорганизмов рода *Bacillus*, выделенных из растительного сырья и продуктов на его основе.

При исследовании сахаролитической активности изучалась способность микроорганизмов сбраживать лактозу, мальтозу, сахарозу, глюкозу,

а также продуцировать амилазы, ответственные за расщепление полисахарида крахмала.

Исследование способности сбраживать моно- и дисахариды проводилось путем посева микроорганизмов на среды Гисса с добавлением соответствующих сахаров. Результат учитывался по изменению цвета среды вследствие изменения ее pH под действием ферментов, продуцируемых микроорганизмами.

При изучении способности гидролизовать крахмал производили посев культур на питательный агар с добавлением 1% крахмала. О степени амилазной активности судили по размеру зоны просветления среды вокруг исследуемой культуры микроорганизмов.

О протеолитической активности микроорганизмов судили по их способности разжижать желатин и образовывать зоны просветления при росте на молочном агаре.

**Результаты исследований.** Результаты исследований сахаролитической активности микроорганизмов показали, что практически все исследованные штаммы сбраживали сахарозу, около 90% штаммов обладали способностью сбраживать глюкозу с образованием кислоты. Около 80% штаммов проявили способность к утилизации мальтозы, и более 60% исследованных штаммов утилизировали лактозу. Подавляющее большинство исследованных штаммов проявило способность к гидролизу крахмала (рис. 1).

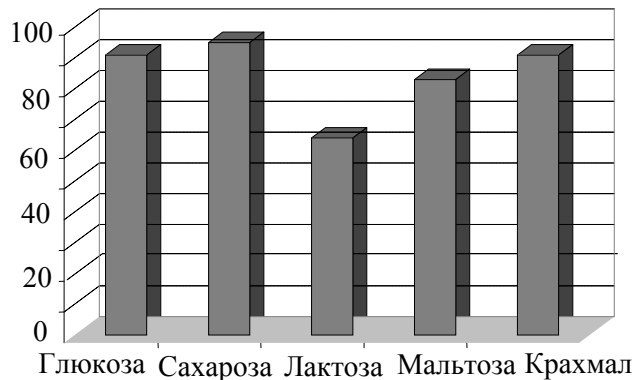


Рис. 1. Сахаролитическая активность микроорганизмов

Следует отметить, что среди микроорганизмов, выделенных из свежего растительного сырья, доля штаммов, проявивших ферментативную активность в отношении всех указанных углеводов, была выше, чем среди микроорганизмов, выделенных из готовых продуктов и полуфабрикатов. При этом способность к утилизации углеводов у разных штаммов была выражена в разной степени.

Большая часть исследованных штаммов обладала средневыраженной ферментативной активностью по отношению к углеводам. Более чем у половины исследованных штаммов на-

блюдалась сильно выраженная сахаролитическая активность по отношению к глюкозе и крахмалу. Однако способность к расщеплению дисахаридов была менее выражена.

Исследования протеолитической активности микроорганизмов показали, что более 60% исследованных штаммов обладали способностью разжижать желатин, большинство расщепляло казеин (рис. 2).

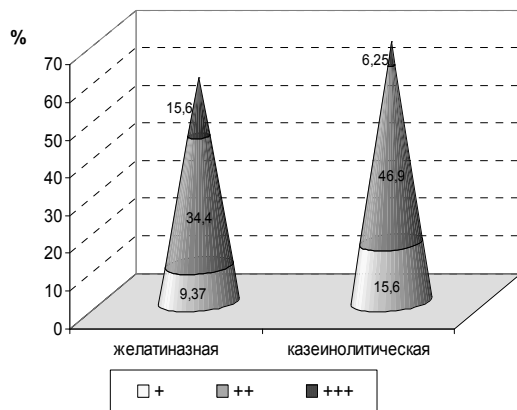


Рис. 2. Протеолитическая активность бактерий

**Заключение.** Таким образом, в результате исследований установлено, что микроорганизмы, выделенные из растительного сырья и продуктов его переработки, обладают способностью гидролизовать различные углеводы и белковые субстраты, что позволяет предположить наличие среди них штаммов, перспективных с точки зрения создания пробиотических препаратов. При этом микроорганизмы – контаминанты свежего растительного сырья обладали большей ферментативной активностью по сравнению с микроорганизмами, выделенными из продуктов его переработки.

В то же время степень выраженности сахаролитической, амилазной и протеолитической активности бактерий различалась для разных штаммов независимо от их видовой принадлежности. Полученные результаты подтверждают сведения [11] о том, что при создании препаратов на основе бактерий, обладающих пробиотическими свойствами, следует руководствоваться не только видовой принадлежностью микроорганизмов, но и особенностями конкретных штаммов.

### Литература

1. Синбиотики в технологии продуктов питания: монография / И. А. Рогов [и др.]. – М.: МГУПБ, 2006. – 218 с.

2. Похиленко, В. Д. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность / В. Д. Похиленко, В. В. Перельгин // Химическая и биологическая безопасность. – 2007. – № 2–3 (32–33). – С. 20–41.

3. Современное состояние и перспективы развития концепции «Пробиотики, пребиотики и синбиотики» [Электрон. ресурс] / Б. А. Шендеров. – Режим доступа: <http://www.disbak.ru/php/content.php?id=725>.

4. Урсова, Н. И. Проблема дисбактериоза в педиатрической практике / Н. И. Урсова, Г. В. Римарчук // Педиатрия [Электрон. ресурс]. – № 1. – 2007 г. – Режим доступа: <http://www.consilium-medicum.com/magazines/magazines/cm/pediatrics/article/1629>.

5. Смирнов, В. В. Антибиотики и/или пробиотики: размышления и факты / В. В. Смирнов // Лікування та Діагностика. [Электрон. ресурс]. – № 2. – 1998 г. – Режим доступа: <http://medi.ru/doc/6280813.htm>.

6. Грачева, Н. М. Пробиотические препараты в терапии и профилактике дисбактериоза кишечника / Н. М. Грачева, В. М. Бондаренко [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://www.disbak.ru/php/content.php?id=669>.

7. Research on factors allowing a risk assessment of spore-forming pathogenic bacteria in cooked chilled foods containing vegetables: a FAIR collaborative project / F. Carlin [et al.] // Int. J. of Food Microbiology. – 2000. – Vol. 60, Issues 2–3. – P. 117–135.

8. Pirttijärvi, T. S. M. Properties of *Bacillus cereus* and other bacilli contaminating biomaterial-based industrial processes / T. S. M. Pirttijärvi, M. A. Andersson, M. S. Salkinoja-Salonen // Int. J. of Food Microbiology. 2000. – Vol. 60, Issues 2–3. – P. 231–239.

9. Sanders, M. E. Sporeformers as Human Probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus* / M. E. Sanders, L. Morelli, T. A. Tompkins // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety – Vol. 2. – 2003. – P. 101–110.

10. Урсова, Н. И. Перспективы применения пробиотиков метаболитного типа в педиатрии / Н. И. Урсова // Consilium medicum, Приложение [Электрон. ресурс]. – Т. 05. – № 6. – 2003. – Режим доступа: <http://www.gastroportal.ru/php/content.php?id=1975>.

11. Walker, R. Probiotic microbes: the scientific basis / R. Walker, M. Buckley // A report from the American Academy of Microbiology [Электрон. ресурс]. – 2006. – Режим доступа: [www.antibiotic.ru/index.php?article=1386](http://www.antibiotic.ru/index.php?article=1386).