

УДК 613.6, 664

**АНТИМУТАГЕННЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ
БАКТЕРИЙ *P. LACTOBACILLUS*****С.В. Китаевская, О.А. Решетник***Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия*

В промышленной биотехнологии наметилась тенденция применять стартовые культуры молочнокислых бактерий с комплексом функционально-технологических свойств, обеспечивающих целенаправленное протекание процесса выработки ферментированных пищевых продуктов, в том числе со сложным сырьевым составом. В настоящее время имеется огромная доказательная база механизмов и причин проявления терапевтических свойств молочнокислыми бактериями, что и позволяет рассматривать их в качестве функциональных компонентов пищи [1–5].

Традиционной микрофлорой ферментированных пищевых продуктов являются представители рода *Lactobacillus*, в связи с чем данная группа молочнокислых бактерий находится в центре особого внимания ученых и практиков всего мира.

В ходе многолетней работы по поиску функционально-активных штаммов МКБ, проводимой на кафедре ТПП нашего университета, из различных пищевых источников растительного и животного происхождения было нами отобрано 15 перспективных штаммов, принадлежащих к различным видам *p. Lactobacillus*.

Температурный оптимум штаммов лежит в диапазоне 30–37 °С, некоторые штаммы хорошо размножаются при 45 °С, но способны расти и при 15 °С. Оптимальное значение pH составляет 5,5 – 6,2, штаммы устойчивы к щелочной реакции среды (pH 9,2), а многие из них способны расти в кислой (pH 2) среде (таблица).

Цель работы – изучение антимутагенных свойств новых штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus*.

Для изучения антимутагенных свойств и выяснения вкладов систем репараций в исправление повреждений ДНК клетки применяли суспензионный метод ДНК-повреждающего теста, при исполнении которого индикаторные клетки бактерий инкубируют в жидкой питательной среде. В качестве индикаторных бактерий в работе применяли тест – штаммы *Escherichia coli*, имеющие дефекты по следующим системам репарации: *wr* – дикий тип; *uvrA* – с нарушениями в эксцизионной репарации; *polA* – с нарушениями в репарации ДНК-полимеразы I; *recA* – с нарушениями в пострекомбинационной репарации [6].

Наибольший интерес с точки зрения исследования метаболитов бактерий представляет фаза замедленного роста (конец логарифмической фазы), поскольку именно в этот период наблюдается максимальный уровень выделения продуктов жизнедеятельности клетки во внешнюю среду.

Экспериментально установлено, что конец логарифмической фазы (фаза замедленного роста) у исследуемых культур молочнокислых бактерий наступает после 4–10 ч в зависимости от штамма, стационарная – после 24 ч культивирования в жидкой питательной среде.

Для оценки биоантимутагенных свойств метаболитов молочнокислых бактерий, клетки тест-штаммов *E. coli* и культуральные жидкости молочнокислых бактерий, отобранные в логарифмическую фазу роста, предварительно инкубировали в мясо-пептоном бульоне в течение 100 мин., а затем бактерии отмывали физиологическим раствором, после чего инкубировали совместно с мутагеном – фурацилином (100 мкг/мл).

Результаты исследования антимутагенной активности продуктов жизнедеятельности новых штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus* представлены на рисунке.

Изучение антимутагенных свойств культуральной жидкости штаммов молочнокислых бактерий показало, что продукты жизнедеятельности исследуемых бактерий проявляют значительный биоантимутагенный эффект, что указывает на внутриклеточный механизм протекторного действия культуральной жидкости молочнокислых бактерий. По видимому, метаболиты лактобактерий приводят к снижению восприимчивости клеток тест-штаммов *E. coli* к действию ДНК-повреждающего соединения – фурацилина, либо активизируют альтернативные системы репараций, исправляющие повреждения в структуре ДНК.

Таблица – Характеристика штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus*

Штамм	Микроскопическая картина	Рост при температуре, °C		Рост в присутствии NaCl, %			Рост в присутствии желчи, %		Рост при различных значениях pH		
		15	46	2	4	6,5	20	40	2	3	9,2
<i>Lmb. casei</i> 1 (Пр)	Палочки средней длины, расположенные преимущественно в цепочках	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>Lmb. casei</i> 7 (Пр)		+	-	+	+	+	+	+	-	±	+
<i>Lmb. casei</i> 16 (Д)	Палочки средней длины, одиночные и в коротких цепочках	-	+	+	±	-	+	+	+	+	+
<i>Lmb. casei</i> 23 (Д)	Толстые палочки средней длины в виде отдельных или двойных клеток	±	+	+	+	±	+	+	±	+	+
<i>Lmb. casei</i> 32 (Д)		±	+	+	+	±	+	±	±	±	+
<i>Lmb. casei</i> 36 (Д)	Прямые палочки, расположенные преимущественно попарно или в коротких цепочках	+	-	+	+	+	+	+	-	±	+
<i>Lmb. fermentum</i> 10 (Пр)	Палочки средней длины, расположенные преимущественно в цепочках	+	-	+	+	+	+	+	±	±	+
<i>Lmb. fermentum</i> 12 (Пр)		+	±	+	+	+	+	+	±	±	+
<i>Lmb. fermentum</i> 13 (Д)	Изогнутые палочки средней длины, одиночные и в коротких цепочках	+	-	+	+	+	+	+	±	+	+
<i>Lmb. fermentum</i> 24 (Д)	Палочки средней длины, расположенные преимущественно в цепочках	+	±	+	+	+	+	+	±	±	+
<i>Lmb. plantarum</i> 1 (Пр)		+	-	+	+	+	+	±	-	±	+
<i>Lmb. plantarum</i> 21 (Д)	Прямые палочки, расположенные попарно или в коротких цепочках	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>Lbm. acidophilum</i> 9 (Пр)	Толстые палочки средней длины одиночные и в коротких цепочках	±	+	+	+	±	+	+	±	+	+
<i>Lmb. bavaricus</i> 6(Д)		±	+	+	+	±	+	+	±	±	+
<i>Lmb. brevis</i> 3 (Д)	Толстые короткие палочки с закругленными концами	+	-	+	+	±	+	±	-	±	+

Примечание: «+» – 90 % и более случаев тест положительный; «-» – 90 % и более случаев тест отрицательный; «±» – 11–89 % случаев тест положительный.

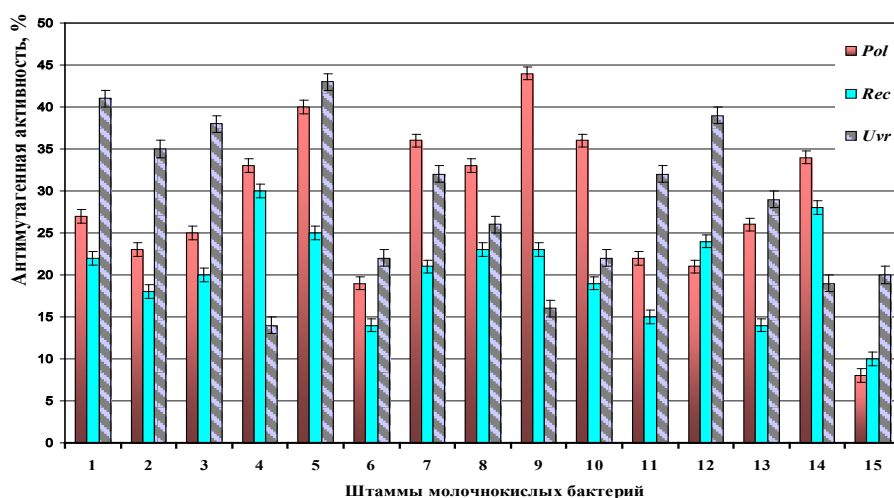


Рисунок 1 – Антимутагенная активность культуральной жидкости молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus*

Следует отметить, что во всех экспериментальных вариантах в присутствии культуральной жидкости молочнокислых бактерий не наблюдался прирост биомассы клеток *E.coli*, таким образом она не приводит к стимуляции роста тест-штаммов *E.coli*, следовательно, более активный рост бактерий в присутствии антимутагена обусловлен только генопротекторными свойствами культуральной жидкости молочнокислых бактерий.

Сравнительное изучение влияния культуральной жидкости на мутагенность фурацилина у штаммов *E. coli* показало, что ее антимутагенное действие зависит от вида и штамма молочнокислых бактерий.

У большинства штаммов *L. casei* и *L. fermentum* пик антимутагенной активности приходится на штамм *pol*, дефектный по ДНК-полимеразе 1, из чего можно предположить, что метаболиты данных штаммов способны активизировать системы до- и пострепликативной репарации, в процессе которой устраняются «бреши» во вновь синтезируемой цепи ДНК.

Для штаммов *Lmb. plantarum* картина не однозначная, пик активности наблюдается, как на штамме *uvr*, с нарушенной экзизионной репарацией (*Lmb. plantarum* 1 (*Пр*)), так и на штамме *pol*, у *Lmb. plantarum* 21 (*Д*).

Из мутагенных по репарации штаммов наибольший эффект проявили *pol* и *uvr*, более чувствительность к мутагену демонстрировал мутантный штамм *rec*, у которого практически полностью отсутствует процесс пострепликативной репарации, также на этом штамме наблюдается минимальный защитный эффект. Вероятно, подобные расхождения обуславливаются различными механизмами возникновения мутаций в клетках тест-штаммов под действием фурацилина.

Таким образом, результаты, полученные в ДНК-повреждающем тесте, показывают, что метаболиты, синтезируемые исследуемыми штаммами молочнокислых бактерий, проявляют значительный биоантимутагенный эффект, действуя на внутриклеточном уровне. По полученным экспериментальным данным выявлены штаммы молочнокислых бактерий, метаболиты которых проявили наибольший генопротекторный эффект от повреждающего действия фурацилина – *L. casei* 32(*Д*), *L. fermentum* 13 (*Д*), *L. bavaricus* 6 (*Д*) и *L. plantarum* 21 (*Д*). Следует отметить, что два из обозначенных штаммов *L. casei* 32 (*Д*) и *L. bavaricus* (*Д*) ранее нами отмечены как лучшие с точки зрения функционально-технологических свойств [7]. Таким образом, антимутагенная активность штаммов *L. casei* 32 (*Д*) и *L. bavaricus* 6(*Д*) наряду с другими полезными свойствами делают их перспективными для создания функциональных пищевых продуктов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 20–016–00025.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артюхова, С.И. Использование пробиотиков и пребиотиков в биотехнологии производства биопродуктов: монография / С.И. Артюхова, Ю.А. Гаврилова. – Омск: Изд-во ОмГТУ, 2010. – 112 с.
2. Socol, C.R. The potential of probiotics: a review / C.R. Socol [et al] // Food technol. biotechnol. – 2010. – № 48. – P. 413–434.
3. Lankaputhra W.E. Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids / W.E. Lankaputhra, N.P. Shan // Mutat Res. – 1998. – Vol. 397, № 2. – P. 169–182.
3. Polak, B.M. Bifidogenic and antioxidant activity of exopolysaccharides produced by lactobacillus rhamnosus E/N cultivated on different carbon / Polak B.M., Wasko A., Szwajgier D. and Choma A. // Sources Polish Journal of Microbiology. -2013. – V. 62. – № 2. – P.181–189.
4. Liu, C. – F. Immunomodulatory and antioxidant potential of Lactobacillus exopolysaccharides / C. – F. Liu [et al] // J. Sci. Food Agric. -2011. – № 91. – P. 2284–2291.
5. Liong, M.T. Roles of probiotics and prebiotics on cholesterol: the hypothesized mechanisms / Liong M.T., Shah N.P. // Nutrafood. – 2005. – № 4. – P. 45–57.
6. Китаевская, С.В. Продукты метаболизма молочнокислых бактерий, как вещества снижающие действие генотоксикантов / С.В. Китаевская, Т.А. Ямашев, О.Б. Иванченко О.А. Решетник // Вестник технологического университета. – 2015. – Т.18, № 4 – с. 283–286.
7. Agafonova, A.N. Study of the influence of lactic acid bacteria on hydrolytic and oxidation processes in stuffed meat / A.N. Agafonova, T.V. Bagaeva, S.V. Kitaevskaya, N.K. Romanova, O.A. Reshetnik // Helix Vol. 9 (5). – P. 5318–5322