

1. Малик Н. И., Панин А. И. Ветеринарные пробиотические препараты // Ветеринария. -2001. - №1.- С. 46-51.
2. Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition // Am. J. Clin. Nutr. 2001. V. 73. P. 365-373.
3. Drakes M., Blanchard T., Czinn S. Bacterial probiotic modulation of dendritic cells // Infect Immun. 2004.- V.72, N 6.- P. 3299-3309.
4. Астапович Н.И, Головнева Н.А., Щетко В.А., Кондратьева Л.В., Грель М.В. К механизму антимикробной активности бифидобактерий / Н.И. Астапович [и др.] // Доклады НАН Беларуси – 2004. – Т. 48, №4. – С. 57 – 61.
5. Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E. A medium for the cultivation of *Lactobacilli* // J. Appl. Bacteriol.- 1960.- Vol.23, N1.- P. 30-135.
6. Егоров Н.С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. – М.: Высшая школа, 1965, 211 с.

#### **Резюме**

Исследована антагонистическая активность бифидо- и молочнокислых бактерий по отношению к возбудителям бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных. Отобраны штаммы для создания комплексного бесклеточного препарата, для коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта при болезнях молодняка сельскохозяйственных животных.

Досліджена антагоністична активність біфідо- і молочнокислих бактерій по відношенню до збудників бактерійних інфекцій сільськогосподарських тварин. Відібрані штами для створення комплексного бесклеточного препарату, для корекції мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту при хворобах молодняка сільськогосподарських тварин.

Antagonistic activity of bifido- and lactic acid bacteria against causative agent of bacterial infection of farm livestock was investigated. Strains for complex cell-free drug for correction of gastrointestinal tract's microbiocenosis of farm animals were selected.

#### **ДЕНИСЕНКО В.В., НАЙДЕНКО И.А.**

*Институт микробиологии НАН Беларуси*

*Беларусь, 220141, Минск, ул. акад. Купревича, 2, e-mail: naidenko@mbio.bas-net.by*

#### **ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА В СРЕДЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ПРОДУКЦИЮ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ *LACTOBACILLUS SP.***

Молочнокислые бактерии широко используются в разных отраслях народного хозяйства, в частности в медицине и ветеринарии для создания препаратов пробиотического действия. Биологическая активность этих микроорганизмов в значительной степени связана с продуктами метаболизма, в том числе внеклеточными полисахаридами. Благодаря своим реологическим свойствам экзополисахариды молочнокислых бактерий традиционно используются в пищевой промышленности в качестве загустителей, стабилизаторов консистенции [1]. Установлена противоопухолевая, иммуномодулирующая активность [2,3], а также пребиотические свойства [4] этих соединений.

Физиологическая роль внеклеточных полисахаридов молочнокислых бактерий до конца не установлена. В литературе имеются данные о том, что экзополисахариды повышают выживаемость клеток в условиях температурного стресса [5], снижают чувствительность бактерий к бактериоцинам и бактериофагам [6], стимулируют

адгезию микроорганизмов к биологическим поверхностям и, таким образом, способствуют колонизации различных экологических ниш.

Экзополисахариды, продуцируемые молочнокислыми бактериями, могут прикрепляться к поверхности клетки (капсульные полисахариды) или секретироваться в окружающую среду. По составу их можно разделить на две группы: гомополисахариды (состоят из одного типа моносахарида) и гетерополисахариды (состоят из нескольких типов моносахаридов). Гетерополисахариды молочнокислых бактерий обычно состоят из повторяющихся единиц длиной до 8 остатков. Длина полисахаридной цепочки и степень ветвления могут сильно варьировать у разных штаммов. Реологические свойства и биологическая активность полисахаридов зависят от их мономерного состава, количества боковых цепей, длины цепи и заряда, а также аномерной конфигурации моносахаридов и последовательности, в которой они расположены.

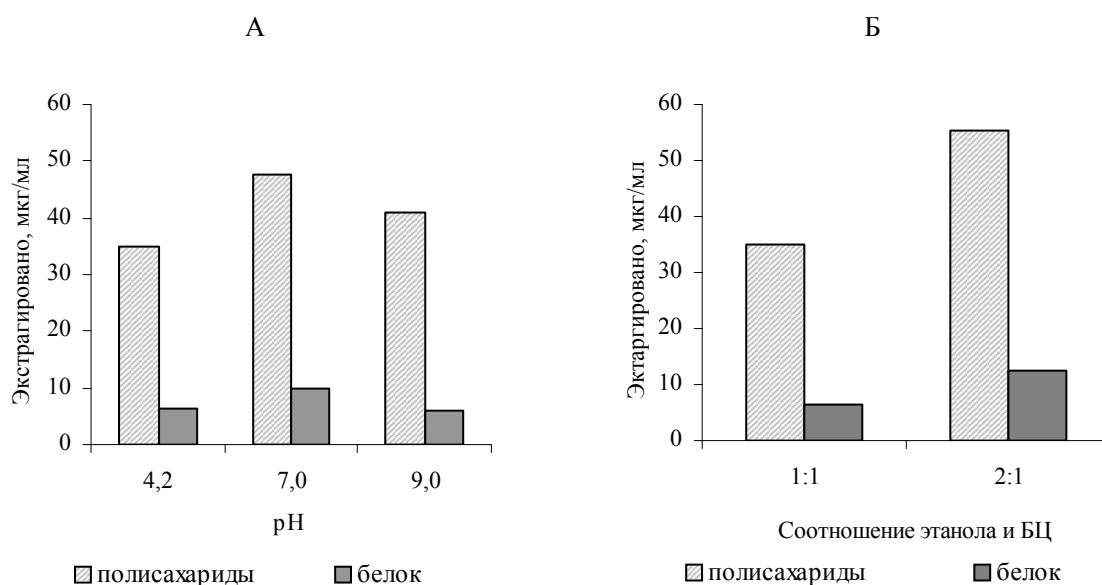
Цель настоящей работы – подобрать условия экстракции и изучить продукцию внеклеточных полисахаридов молочнокислыми бактериями, выращенными на средах с разными источниками сбраживаемого углевода.

Объектом исследования служил образующий слизь штамм *Lactobacillus sp.*, ранее отобранный нами как перспективный для включения в состав препарата пробиотического действия для сельскохозяйственных животных.

Глубинное культивирование молочнокислых бактерий проводили при 28<sup>0</sup>С на стандартной среде MRS [7], а также модифицированной среде, содержащей сахарозу или лактозу в концентрации 7,5%. Клетки осаждали центрифугированием в течение 20 мин при 11 тыс. об./мин. Для осаждения секретированных в среду культивирования полисахаридов супернатант обрабатывали этанолом в разных концентрациях. Экстракцию капсульных полисахаридов с поверхности клеток проводили согласно методике, описанной Cheirsilp с соавторами [8]. Содержание полисахаридов в экстрактах оценивали с использованием антронового метода [9], содержание белка – по Bradford [10].

Установлено, что повышение pH бесклеточного супернатанта перед экстракцией приводило к незначительному увеличению количества осаждаемого полисахарида (Рис.1, А). Содержание примесного белка также увеличивалось.

Повышение соотношения этанола и бесклеточного центрифугата с 1:1 до 2:1 при экстракции привело к увеличению количества осажденных полисахаридов в 1,8 раза, однако при этом в осадке несколько повышалось содержание примеси белка (Рис.1, Б).



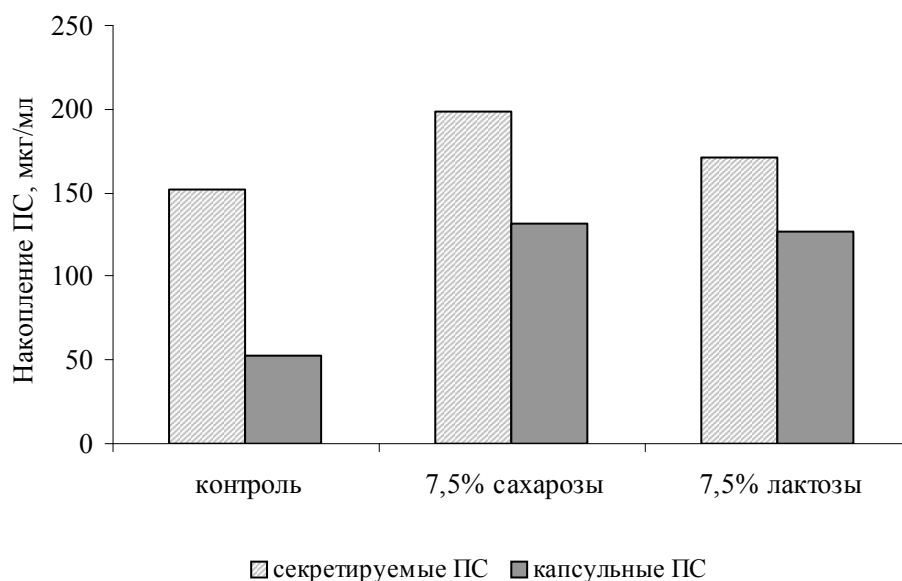
**Рисунок 1.** Влияние pH (А) и соотношения объемов этанола и бесклеточного центрифугата (БЦ) (Б) на количество выделяемых экзополисахаридов

Для дальнейших исследований использовали метод экстракции полисахаридов двойным объемом этанола при pH 4,2.

Выявлено, что при культивировании на стандартной среде MRS, молочнокислые бактерии *Lactobacillus sp.* продуцировали около 150 мкг секретируемых полисахаридов в 1 мл культуральной жидкости. Незначительное увеличение продукции полисахаридов (в 1,1- 1,3 раза) было отмечено на средах с повышенным содержанием сахарозы и лактозы (Рис. 2). Содержание примеси белка в экстрактах во всех вариантах не превышало 8 мкг/мл.

Показано, что в контрольном варианте количество связанных с поверхностью клетки капсульных полисахаридов было значительно ниже, чем содержание секретируемых, и не превышало 50-52 мкг/мл. На средах с 7,5 % сахарозы и лактозы происходило значительное увеличение содержания капсульных полисахаридов (в 2,5 и 2,4 раза соответственно) (Рис.2). Белок в экстрактах капсульных полисахаридов обнаружен в следовых количествах.

Проведенные исследования позволили подобрать условия экстракции внеклеточных полисахаридов у молочнокислых бактерий *Lactobacillus sp.* и сделать вывод о том, что повышенное содержание сахарозы и лактозы в питательной среде стимулировало накопление капсульных полисахаридов при незначительном влиянии на продукцию секретируемых экзополисахаридов в культуральной жидкости исследуемых лактобацилл.



**Рисунок 2.** Влияние источника углерода в среде культивирования на накопление секретируемых и капсульных полисахаридов (ПС) бактериями *Lactobacillus sp.*

Полученные данные будут использованы при разработке технологии производства препарата-пробиотика для ветеринарии.

#### Литература

1. Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J., Zoon P. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria // Int. Dairy J.- 2002.- vol.12, № 2-3.- P.163-171.

2. Vinderola G., et al. Effect of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* on the gut mucosal immunity // Cytokine.- 2006.- vol. 36, № 5-6.- P.254-260.
3. Chabot S., et al. Exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M stimulate TNF, IL-6 and IL-12 in human and mouse cultured immunocompetent cells, and INF- $\gamma$  in mouse splenocytes // Lait.- 2001.- vol. 81.- P.683-697.
4. Korakli M., Ganzle M.G., Vogel R.F. Metabolism by bifidobacteria and lacte acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Latobacillus sanfranciscensis* // J. Appl. Microb. -2002. – vol. 92 . – P. 958-965.
5. Hong S.H., Marshall R.T. Natural exopolysaccharides enhance survival of lactic acid bacteria in frozen dairy desserts // J. Dairy Sci.- 2001.- vol. 84.- P.1367-1374
6. Durlu-Özkaya F., Aslim B., Ozkaya M.T. Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria // Food Sci. Tech.- 2007.- vol. 40, № 3.- P.564-568.
7. Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E. A medium for the cultivation of Lactobacilli // J. Appl. Bacteriol. - 1960. - vol. 23, № 1. - P.130-135.
8. Cheirsilp B., et al. Interaction between *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Saccharomyces cerevisiae* in mixed culture for kefiran production // J. Biosci. Bioengin. - 2003.- vol. 96, № 3.- P.279-284.
9. Томпсон А., Вольфром М.Л. Методы химии углеводов. - М., Мир. - 1967. - 512с.
10. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical. Biochem.- 1976.- vol. 72, № 1.- P.248-254.

#### **Резюме**

Изучено влияние повышенного содержания сахарозы и лактозы в среде культивирования на продукцию экзополисахаридов бактериями *Lactobacillus sp.*, отобранными для включения в состав препарата пробиотического действия для сельскохозяйственных животных.

Вивчений вплив підвищеного вмісту сахарози і лактози в середовищі культивування на продукцію екзополісахарідів бактеріями *Lactobacillus sp.*, відібраними для включення до складу препарату пробіотичеського дії для сільськогосподарських тварин.

Effect of increased level of sucrose and lactose in the culture medium on production of exopolysaccharides by selected for probiotic preparations *Lactobacillus sp.* was studied.

**ДМИТРУК О.В., ДМИТРУК К.В., ВОРОНОВСЬКИЙ А.Я., СИБІРНИЙ А.А.**

*Інститут біології клітини НАН України, відділ молекулярної генетики і біотехнології, Україна, 79005, Львів, вул. Драгоманова 14/16, e-mail: verba@cellbiol.lviv.ua*

#### **ЗМІНА КОФАКТОРНОЇ СПОРІДНЕНОСТІ КСИЛОЗОРЕДУКТАЗИ ТА ПОСИЛЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ КСИЛИТОЛДЕГІДРОГЕНАЗИ ПОКРАЩУЄ АЛКОГОЛЬНУ ФЕРМЕНТАЦІЮ КСИЛОЗИ У ТЕРМОТОЛЕРАНТНИХ ДРІЖДЖІВ *HANSENULA POLYMORPHA***

Рослинна біомаса має величезний потенціал як сировина для виробництва біопалива, зокрема, паливного етанолу. Основними складовими рослинної біомаси є глюкоза та п'ятиуглецевий цукор ксилоза. Досягти економічно вигідної ферментації ксилози можна, забезпечивши ефективність початкових етапів метаболізму цієї