

А.Б. Омарова^{1*}, Г.Т. Касенова², А.Д. Серикбаева³, Т.Д. Икомбаев⁴, А.К. Туганбай⁵

¹Казахский агротехнический исследовательский университет имени С. Сейфуллина, 010011, Республика Казахстан, г.Астана, пр. Женис 62

²Национальный референтный центр по ветеринарии,

Республика Казахстан, г.Алматы, пр. Е. Серкебаева, дом 78

³Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Республика Казахстан, г. Алматы, Абая 8

⁴АО «Фонд науки»,

010000, Республика Казахстан, г.Астана, пр. Тәуелсіздік, 3Д. 41

⁵Университет Хельсинки,

00014, Финляндия, город Хельсинки, Fabianinkatu 33

*e-mail: akonia-1989@mail.ru

СКРИНИНГ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДПРОДУЦИРУЮЩИХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ПИЩЕВОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Аннотация: В статье представлены результаты изучения технологических свойств и способности к синтезу экзополисахаридов молочнокислых бактерий, выделенных из отечественных традиционных кисломолочных продуктов. Идентификация штаммов проводилась с использованием методов MALDI-TOF MS и API 50CHL. Все тестируемые штаммы проявили способность к росту в молоке. Через 24 часа инкубации они образовывали однородную плотную консистенцию, напоминающую йогурт, и обладали приятным ароматом, характерным для кисломолочных продуктов.

Следует отметить, что по технологическим показателям штаммы *Lactobacillus acidophilus* 3.7 и *Lactobacillus acidophilus* 3.10 продемонстрировали наилучшие результаты: общее количество клеток составило соответственно $3,6 \pm 2,3 \times 10^8$ и $1,8 \pm 4,0 \times 10^9$ КОЕ/мл, а значения pH – 3,6 и 3,7. Установлено, что из девяти исследуемых культур восемь штаммов проявили положительную экзополисахаридпродуцирующую активность. Эти штаммы были отобраны для последующей оценки пробиотических свойств для применения их в рамках дальнейших исследований.

По результатам проведенного скрининга показано, что штамм *Lb.paracasei* 4.2 проявил высокую экзополисахарид-продуцирующую активность.

Ключевые слова: экзополисахариды, молочнокислые бактерий, пробиотические свойства, пребиотические свойства, скрининг.

В настоящее время идет потенциальный рост применения бактериальных экзополисахаридов (ЭПС) в различных сферах жизнедеятельности человечества [1-6]. Экзополисахариды (ЭПС) представляют собой внеклеточные длинноцепочечные биополимеры, образующиеся в ходе метаболического процесса микроорганизмов, таких как бактерии, грибы и сине-зеленые водоросли [7].

Полисахариды, синтезируемые бактериями имеют ряд значительных преимуществ перед полисахаридами растительной природы. Во-первых полисахариды бактериального происхождения можно получать в нужном количестве независимо от сезона года; во-вторых, эти метаболиты можно получить экономически выгодным путем из-за относительной дешевизны субстратов, на которых микроорганизм способен продуцировать ЭПС в большом объеме; в-третьих, микробные ЭПС уникальны тем, что в них обнаруживаются моносахара, которых нет в полисахаридах другого происхождения [8].

В этом отношении экзополисахариды, синтезируемые молочнокислыми бактериями считаются наиболее перспективными благодаря уникальным биологическим, функционально-технологическим и физико-химическим свойствам. Известно, что молочнокислые бактерии являются богатым источником биологически активных веществ, который может быть использован для разработки новых классов лекарственных препаратов, БАД к пище, продуктов функционального питания, косметических средств, материалов для лечения ран и пр.

Важно отметить, что экзополисахариды (ЭПС) молочнокислых бактерий обладают высокими технологическими и функциональными аспектами, которые отвечают за структурные, реологические и органолептические свойства пищевых продуктов. Кроме того, ЭПС обладают стабилизирующими свойствами, которые способны улучшать заданные свойства конечного продукта, а также усиливать функциональные свойства, такие как антиоксидантный и пребиотический. Пребиотический потенциал дает возможность разработать симбиотические продукты путем объединения ЭПС и пробиотических культур. В связи с этим использование ЭПС при производстве пищевых продуктов является значимым, в частности в производстве йогурта высокого качества.

Следует отметить, что перспектива использования ЭПС с каждым годом растет не только в пищевой промышленности, но и в практике экспериментальной биологии, ветеринарии и сельском хозяйстве.

Молочнокислые бактерии могут продуцировать широкий спектр разнообразных по структуре экзополисахаридов, обладающие способностью противостоять суровым условиям окружающей среды, включая температуру, pH, антибиотики и иммунную систему хозяина [9].

В настоящее время во многих научно-исследовательских лабораториях ведущих стран мира проводится разработка эффективных способов получения полисахаридов таких как декстран, ксантан, геллан, склероглюкан, курдлан, пуллулан. В середине 60-х годов XX столетия на биотехнологических предприятиях США начался выпуск микробных полисахаридов. Ряд авторов утверждают, что для получения максимального количества ЭПС в лабораторных условиях необходимо оптимизировать условие выращивания [10]. В результате исследований им было установлено, что урожайность ЭПС была выше на питательных средах с добавками и с измененным составом среды. В этом направлении была проведена исследовательская работа по оценке различных сред для получения пенополистирола [11].

В работах некоторых исследователей также отмечено, что питательные среды на основе молока оказались подходящими субстратами для образования пенополистирола, особенно при добавлении достаточного количества углерода. ЭПС, полученные в лаборатории делятся на эластичные или не-эластичные ЭПС. При исследовании поверхности слизистых колоний бактериологической петлей обнаруживаются длинные нити, указывающие на волокнистость, характерную для ЭПС в колониях [12].

Среди широкого разнообразия микроорганизмов, продуцирующих ЭПС, молочнокислые бактерии (МКБ) обычно считаются безопасными в потреблении человеком [13].

В настоящее время растет спектр применения ЭПС молочнокислых бактерий, благодаря их уникальным физико-химическим свойствам и биологической активности в производстве пищевых продуктов, фармацевтических препаратов, биофлокулянтов, биоэмульгаторов и химических продуктов.

Важно отметить, что в ферментированной пищевой промышленности ЭПС молочнокислых бактерий обычно используются в качестве естественной альтернативы коммерческим стабилизаторам из-за их загущающих, стабилизирующих, эмульгирующих или гелеобразующих свойств для улучшения реологии, текстуры и вкусовых ощущений ферментированных продуктов, включая йогурт и сыр.

Результаты исследований некоторых авторов, показывают, что ЭПС, продуцирующие МКБ обладают иммуномодулирующими, противоопухолевыми, антиоксидантными свойствами и активностью по снижению уровня холестерина за счет чего укрепляют здоровье человека [14].

Однако, некоторые штаммы микроорганизмов рода *Lactobacillus* отличаются низким синтезом ЭПС и высокими затратами на их очистку.

Поэтому в мире продолжается поиск активных микроорганизмов-продуцентов ЭПС и исследование их свойств с дальнейшим применением. Известно, что среди молочнокислых бактерий, продуцирующих ЭПС, *Lactobacillus plantarum* известен своими потенциальными пробиотическими свойствами и в последние годы привлек к себе значительное внимание. Показано, что выход ЭПС, состав и структура моносахаридов во многом зависят от микроорганизмов-продуцентов, условий их культивирования и состава сред.

Кроме того, ряд авторов утверждают, что *L. plantarum* KF5, выделенный из тибетского кефира, состоит из маннозы, глюкозы и галактозы в примерном соотношении 1: 4.99: 6.90.

Как было описано ранее, преимуществом микробных полисахаридов является то, что их производство и качество не зависят от условий природы. Из этого следует отметить, что производство микробных полисахаридов является перспективным и экономически выгодным процессом по сравнению с производством растительных и синтетических полимеров.

Доказано, что бактерий родов *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* [15], *L. plantarum* [16], *L. Helveticus* [17], *L. rhamnosus* [18] и *L. fermentum* [19] продуцируют ЭПС и их называют специфическими штаммами лактобактерий.

Методы исследования

Выделение чистых культур

Выделение новых штаммов молочнокислых бактерий из традиционных кисломолочных продуктов, таких как кумыс, шубат, творог из различных регионов Республики Казахстан, осуществляли методом последовательных разведений с использованием глубокого посева в чашку Петри. Для выделения жизнеспособных микроорганизмов из жидких образцов, их разводили в 10 раз в физиологическом растворе, приготовленном из 8,5 г/л NaCl и 1 г/л пептона, при pH 7. Полученную смесь встряхнули для получения однородной консистенции, после чего из полученной разведений 1 мл внесли в стерильную чашку Петри и сверху налили растопленную агаровую среду MRS (Merck, США), приготовленную в соответствии с инструкциями поставщиков.

Инкубацию проводили при 5%-ном содержании CO₂ и температуре 37°C в течение 72 часов в анаэробных условиях, используя пакетики Anaerojar с анаэрогеном объемом 2,5 л, в течение 72 часов. После инкубирования выросшие колонии отбирали и переносили в пробирки с бульоном MRS (Merck, США). Изоляты культивировали в течение 24 часов при температуре 37°C. Чистоту проверяли с помощью светового микроскопа. Для дальнейших целевых исследований были отобраны чистые изоляты с типичной морфологией лактобактерий.

Идентификация лабораторных изолятов с использованием методов MALDI-TOF/MS и API 50CHL

Идентификация лабораторных изолятов проводилась с использованием методов MALDI-TOF/MS и API 50CHL. Для масс-спектрометрии MALDI-TOF использовался масс-спектрометр Microflex (Bruker Daltonics, Германия). Для анализа были получены клетки из свежих ночных культур на агаре MRS в соответствии с рекомендациями производителя, с использованием этанола и муравьиной кислоты для экстракции. Масс-спектры были получены с использованием 50 лазерных импульсов при подходящей мощности излучения.

Система API 50 CH, включающая 50 биохимических тестов, была использована для идентификации рода *Lactobacillus* и родственных родов путем ферментации углеводов. Бактериальные суспензии были посеяны на среду API 50 CHL, которая регидратирует вещества. О ферментации свидетельствовали изменения цвета, вызванные выделением кислоты в анаэробных условиях, которые определялись с помощью индикатора pH. Результаты идентификации были зарегистрированы на веб-сайте API для каждого штамма, выделенного из молочных продуктов.

Ферментационные способности МКБ – КОЕ и pH во время ферментации.

Для определения роста бактерий в молоке, штаммы были исследованы на предмет их роста в обезжиренном ультрапастеризованном молоке (Pragolaktos, Прага, Чехия) 0,3% жирности. Штаммы были проверены на предмет определения их pH и количества клеток. Стеклянные пробирки заполняли по 5 мл каждой среды вместе с инокулятом (5% по объему). pH измеряли через 0,6 и 24 часа, а количество клеток наблюдали через два разных интервала времени – через 0 и 24 часа. Для подсчета количества клеток использовали методику последовательных разведений для выделения жизнеспособных микроорганизмов из бульона MRS (Merck, США) и обезжиренного ультрапастеризованного молока 0,3% жирности. Среду, используемую для их выращивания, разбавляли в 6-8 раз физиологическим раствором пептона, приготовленным из 8,5 г/л NaCl и 1 г/л пептона при pH 7.

Тестирование на продуцирования экзополисахаридов

Выделенные штаммы выращивали в бульоне MRS, в 5 % по объему CO₂ в течение 24 часов при температуре 37°C. После инкубации 5 мкл смеси отбирали пипеткой на трех различных средах для тестирования получения ЭПС, и чашки инкубировали в течение 24-72 часов при температуре 37°C; 5 % об./об. CO₂.

Тестирование на продуцирование ЭПС оценивали путем культивирования штаммов на следующих средах: 1) Агар MRS – MRS-Красное Конго, 2) агар MRS S+L – КРАСНОЕ Конго с сахарозой и лактозой и 3) Молоко – молочный агар с красным конго.

Штаммы, которые образовали на среде с конго-красным колонии темного цвета со слизистой, глянцевой и слизевидной поверхностью, были оценены как продуцирующие ЭПС. Проволочную петлю использовали для того, чтобы осторожно приподнять веревку с поверхности колонии, выращенной на среде с конго-красным в чашке Петри. Показатель вязкости, представляющий собой длину полученного жгута, измерялся в миллиметрах. Образование жгута толщиной более 1-2 мм указывает на выработку пенополистирола.

Результаты исследований

В результате проведенных исследований нами было выделено всего 150 изолятов молочнокислых бактерий из различных традиционных кисломолочных продуктов Восточно-Казахстанской и Южно-Казахстанской областей.

Были изучены основные фенотипические особенности чистой культуры выделенных штаммов: культуральные свойства колоний, морфология клеток в микроскопических препаратах, а также активность каталазы с использованием общепринятых в микробиологии методов анализа.

Лактобактерии представляли собой чистые культуры, которые являются неподвижными, не образуют каталазу. Видовая идентификация лактобактерий проводилась на основе изучения их культуральных, морфологических свойств с учетом их ферментативных свойств. Определение морфологии клеток, как обычно, проводилось с использованием методов микроскопии с помощью камеры Olympus DP 74.

В результате для определения параметра ферментации и для скрининга продуцирования экзополисахаридов были отобраны 9 чистых штаммов молочнокислых бактерии (табл. 1).

Таблица 1 – Сведения об источниках образцов, использованных для выделения молочнокислых бактерий

№	Образцы	Номер образца	Местоположение
1	Кобылье молоко	3	Алматинская область
2	Верблюжье молоко	4	Алматинская область
3	Творог	5	Восточно-Казахстанская область, село Самарское

Идентификация лабораторных изолятов с использованием методов MALDI-TOF/MS и API 50CHL приведены в таблице 2. Полученные данные показывают что результаты двух тестов совпадают для изолятов 4.1 и 4.2.

Таблица 2 – Результаты идентификация лабораторных изолятов с использованием методов MALDI-TOF/MS и API 50CHL

№	Штаммы	Источник	API 50 CHL	MALDI TOF
1	3.7	Кобылье молоко	<i>Lb.delbrueckii</i> 80,4% <i>Lb.delbrueckii</i> 51,5%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus amylovorus</i>
2	3.10	Кобылье молоко	<i>Lb.delbrueckii</i> 98%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus crispatus</i>
3	4.1	Верблюжье молоко	<i>Lb.plantarum</i> 98,9% <i>Lb.plantarum</i> 46,1%	<i>Lactobacillus plantarum</i>
4	4.2	Верблюжье молоко	<i>Lb.paracasei</i> 79,9%	<i>Lactobacillus paracasei</i>
5	4.6	Верблюжье молоко	<i>Lb.paracasei</i> 51,5% <i>Lactococcus lactis</i> 37,1%	<i>Lactobacillus ultunensis</i> <i>Lactobacillus gallinarum</i>
6	5.2.1	Творог	<i>Lb.pentosus</i> 72,7% <i>Lb.pentosus</i> 86,1%	<i>Lactobacillus plantarum</i>
7	5.2.3	Творог	<i>Lb.plantarum</i> 88,3% <i>Lb.paracasei</i> 79,9%	<i>Lactobacillus gallinarum</i>
8	5.3.6	Творог	<i>Lb.plantarum</i> 94,2% <i>Lb.paracasei</i> 98%	<i>Lactobacillus gallinarum</i>
9	5.3.7	Творог	<i>Lb.plantarum</i> 99,7% <i>Lb.brevis</i> 55,3%	<i>Lactobacillus amylovorus</i> <i>Lactobacillus ultunensis</i>

Изучение технологических свойств молочнокислых бактерий при скрининге штаммов имеет важное значение. Суть изучения технологических свойств молочнокислых бактерий заключается в исследовании их характеристик, важных для производства кисломолочных продуктов. При использовании различных видов лактобацилл в ферментированных продуктах важно учитывать их стабильность при низком pH, совместимость со штаммами йогуртовых культур и рост на выбранных питательных средах, таких как обезжиренное молоко.

В этой связи нами 9 штаммов были протестированы на некоторые технологические свойства. Параметры ферментации штаммов приведены в таблице 3. Культивирование выделенных изолятов в обезжиренном ультрапастеризованном молоке (Pragolaktos, Прага, Чехия) проводили при температуре 37°C, в аэробных условиях. pH во время ферментации проверяли три раза: 0, 6 и после 24 часов инкубации.

Таблица 3 – Параметры ферментации штаммов и количество микроорганизмов до и после культивирования в обезжиренном ультрапастеризованном молоке

№	Штаммы	pH t-0	pH t-6	pH t-24	CFU t-0	CFU t-24
1	3.7	6.5	5.5	3.6	2.0*10 ⁶	3.6*10 ⁸
2	3.10	6.2	5.5	3.7	2.5*10 ⁶	1.8*10 ⁹
3	4.1	6.4	5.6	4.0	1.3*10 ⁸	1.1*10 ⁸
4	4.2	6.3	5.9	4.0	3.5*10 ⁷	2.7*10 ⁹
5	4.6	6.5	6	4.2	9.0*10 ⁶	8.7*10 ⁸
6	5.2.1	6.4	6.1	4.6	1.6*10 ⁷	1.5*10 ⁸
7	5.2.3	6.5	6.5	4.4	6.3*10 ⁶	1.7*10 ⁹
8	5.3.6	6.3	6.1	4	3.7*10 ⁷	1.4*10 ⁸
9	5.3.7	6.3	5.3	3.8	1.5*10 ⁷	1.0*10 ⁹

Все протестированные штаммы вызвали свертывание молока при температуре 37°C в течение 24 часов. Штаммы 3.7 и 5.3.7 начинали свертывать молоко после 4 часов инкубации. pH ферментированных продуктов после 24 часов инкубации составлял от 3,6 до 4,9. Все протестированные штаммы обладают способностью расти в молоке, через 24 часа они образуют однородную плотную консистенцию в виде йогурта и имеют приятный запах, характерный для кисломолочных продуктов. Штаммы 3.7 и 3.10 показали хорошие результаты, соответственно, общее количество вызовов составило 3,6=2,3*10⁸ и 1,8=4,0*10⁹, а pH составил 3,6 и 3,7.

В таблице 3 приведены результаты измерения pH и количества клеток штаммов в молоке, где показано, что количество клеток увеличивалось в период от 0 до 24 ч. Штаммы 5.2.1, 5.2.3 и 4.6 проявляли низкую подкисляющую активность в молоке, при этом через 24 ч культивирования pH снизился с исходного 6,4-6,5 до 4,4-4,6. В то же время штаммы 3.7, 3.10 и 5.3.7 показали более высокую подкисляющую активность в обезжиренном молоке, при этом его pH снизился с исходного уровня 6,2-6,5 до 3,6-3,8.

Скрининг на продуцирование ЭПС проводили с использованием сред MRS, MRS S+L и молоко с красным конго, приготовленное, согласно методике. Культивирование проводили в течение 24 ч, 48 ч и 72 ч при температуре 37°C и 5% об/об CO₂, после чего была проведена оценка на основе формирования каната и его стабильности, приведенных в таблице 4.

Таблица 4 – Анализ выработки экзополисахаридов, длины клубочка и его стабильности после культивирования при 37 °C, 5 % об/об CO₂ на красном агаре MRS-Конго, агаре MRS с сахарозой и лактозой и на красном агаре Milk-Конго

Штаммы	Длина каната [мм] и его устойчивость		
	MRS	MRS S+L	Milk
5.2.1	Нет проволоки (нить)	Нет проволоки (нить)	Нет проволоки (нить)
3.7	Нет проволоки (нить)	1-3 ^N	Нет проволоки (нить)
3.10	Нет проволоки (нить)	Нет проволоки (нить)	1-3 ^N
4.2	1-2 ^N	5-8 ^S	1 ^N
4.1	Нет проволоки (нить)	Нет проволоки (нить)	1 ^N
4.6	Нет проволоки (нить)	Нет проволоки (нить)	1-3 ^N
5.3.6	1 ^N	1-2 ^N	1 ^N
5.3.7	Нет проволоки (нить)	1-2 ^N	1 ^N
5.2.3	1 ^N	Нет проволоки (нить)	Нет проволоки (нить)

*N – нестабильность, устойчивость каната менее 1 с; S – устойчивость каната более 1 с.

Результаты метода скринингового культивирования представлен на рисунке 1. Стрелкой показано местоположение исследуемых 9 штаммов. Результаты тестирования на экзополисахариды основаны на трех независимых экспериментах. Надписи «молоко -лицевая сторона» и «молоко – обратная сторона» были нанесены с обеих сторон чашки для лучшей визуализации колоний.

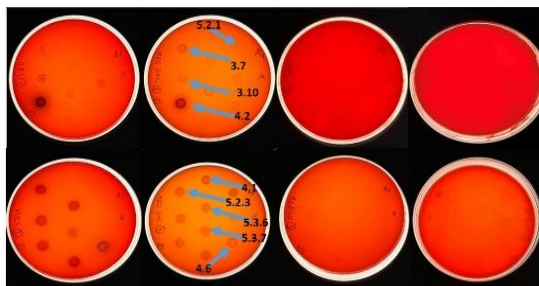


Рисунок 1 – Анализ выработки экзополисахаридов после культивирования на красном агаре MRS-Конго, MRS-агаре с сахарозой и лактозой (MRS S+L) и на молочном агаре Молоко-Конго для исследуемых штаммов молочнокислых бактерий.

Из 9-ти исследуемых штаммов 8 показали положительный результат на выработку ЭПС, они образовали на среде с конго-красным колонии темного цвета со слизистой, глянцевой и слизевидной поверхностью. Показатель вязкости, представляющий собой длину полученного жгута, измерялся в миллиметрах и результаты показаны в таблице 4. Образованные жгутики у 8 штаммов были толщиной более 1-2 мм, что свидетельствует о том, что данные молочнокислые бактерий проявляют экзополисахаридпродуцирующую активность. Лучшим штаммом по синтезу ЭПС был признан *Lb. paracasei* 4.2.

После скрининговых тестов с использованием MRS, MRS S+L и молочных сред, были отобраны штаммы, синтезируемые ЭПС для оценки дальнейших пробиотических свойств.

Обсуждение научных результатов

Целью данного исследования было выделение новых отечественных ЭПС синтезируемых штаммов и определение их пробиотических свойств.

Нами были выделены штаммы из различных источников и протестированы на получение ЭПС с использованием агаровой чашки с Конго-красным. Инкубацию проводили при 5%-ном содержании CO₂ и 37°C в течение 72 часов. После скрининговых тестов с использованием MRS, MRS S+L и молочных сред были отобраны 7 штаммы на основе производства EPS для оценки дальнейших пробиотических свойств.

Реологические свойства йогурта и других молочных продуктов могут быть обусловлены содержанием ЭПС, которые образуются в процессе ферментации (Lo et al., 2007). ЭПС могут оказывать пребиотическое действие, способствуя колонизации пробиотических бактерий, таких как лактобактерии и бифидобактерии, из-за их устойчивости к пищеварительным ферментам человека. ЭПС, производимые МКБ обладают широким спектром функциональных свойств и укрепляющих здоровье свойств, включая связывание холестерина, защиту от биопленок, противораковые и иммуномодулирующие эффекты (Jurášková et al., 2022).

Наличие прозрачной или кремообразной субстанции, содержащей колонии слизи, указывает на возможность образования ЭПС. Для наблюдения за поверхностными характеристиками бактерий, такими как образование биопленки и экзополисахаридов, в питательную среду добавляют красный конго. *Lactobacillus* spp. синтезирует ЭПС в присутствии концентраций сахара, как в нашем случае при 40 г/л с и 40 г/л лактозы (рис. 1), что позволило получить самые темные мукоидные колонии на агаровой среде.

Изоляты оценивались по их свойствам, которые важны для технологии ферментированных продуктов, таким как способность к сквашиванию молока. Девять штаммов лактобактерий были протестированы на их способность сбивать обезжиренное молоко с содержанием жира 0,3% в течение 24 часов. Штаммы 3.7 и 3.10, инкубированный при температуре (37°C, в течение 24 часов), рос очень хорошо и соответственно снизил pH с 6,5 и 6,2 до 3,6 и 3,7, как показано в таблице 3.

Заклучение

Для достижения цели нами было выделено всего 150 изолятов молочнокислых бактерий из различных традиционных кисломолочных продуктов Восточно-Казахстанской и Южно-Казахстанской областей, из которых по активности были отобраны 9 культур для идентификации и дальнейших заданных исследований. Идентификацию культур проводили с использованием современных методов MALDI-TOF/MS и API 50CHL.

При определении технологических свойств все протестированные лабораторные штаммы были способны свертывать молоко при температуре 37°C в течение 24 часов. Из них штаммы 3.7 и 5.3.7 проявили наиболее высокую активность, начинали свертывать молоко уже после 4 часов инкубации. При этом pH ферментированных продуктов после 24 часов инкубации составлял от 3.6 до 4.9.

Нужно отметить активность штаммов 3.7 и 3.10, которые показали хорошие результаты. Так, общее количество клеток составило $3,6 \pm 2,3 \cdot 10^8$ и $1,8 \pm 4,0 \cdot 10^9$, а pH – 3,6 и 3,7.

Положительный результат по выработке ЭПС показали 8 бактериальных изолятов из 9-ти исследуемых. Продукция ЭПС специфична для гликогена и других ферментированных углеводов.

Наиболее высокий уровень по продуцированию ЭПС показал штамм *Lb.paracasei* 4.2 по сравнению другими исследуемыми штаммами.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что самым активным экзополисахарид продуцирующим штаммом является *Lb.paracasei* 4.2, который имеет перспективу применения в промышленной биотехнологии.

Список литературы

1. Sandford P.A. Microbial polysaccharides: new products and their commercial applications / P.A. Sandford, I.W. Cotterell, D.J. Pettitt // Pure and Applied Chemistry. – 1984. – № 56. – P. 895-897.
2. Guezennec J. Bacterial exopolysaccharides from unusual environments and their applications / J. Guezennec // The Perfect Slime: Microbial Extracellular Polymeric Substances (EPS) / H.C. Flemming, T.R. Neu, J. Wingender // N. Y.: Springer, 2016. – P. 135.
3. Kumar A.S. Bacterial exopolysaccharides – a perception / A.S. Kumar, K. Mody, B. Jha // Journal Basic Microbiology. – 2007. – V. 47. – P. 103-117.
4. Leroy F. Advances in production and simplified methods for recovery and quantification of exopolysaccharides for applications in food and health / F. Leroy, L. De Vuyst // Journal of dairy science. – 2016. – V. 99, № 4. – P. 3229-3238.
5. Schmid J. Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies / J. Schmid, V. Sieber, B. Rehm // Frontiers in microbiology. – 2015.
6. Microbial Exopolysaccharides for Biomedical Applications / S. Vasiliu et al // Frontiers in Biomaterials: Unfolding the Biopolymer Landscape. – Sharjah: Bentham Science Publishes UAE. – 2016. – V. 2. – 180 p.
7. The potential biotechnological applications of the exopolysaccharide produced by the halophilic bacterium Halomonas almeriensis / I. Llamas et al // Molecules. – 2012. – № 17. – P. 7103-20.
8. Sutherland IW. Novel and established applications of microbial polysaccharides / IW. Sutherland // Trends Biotechnol. – 1998. – № 16. – P. 41-6.
9. Bernal P. Promising biotechnological applications of antibiofilm exopolysaccharides / P. Bernal, M.A. Llamas Promising // Microb. Biotechnol. – 2012. – № 5. – P. 670-673.
10. Zajšek K. Cultivating conditions effects on kefir production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains / K. Zajšek, A. Goršek, M. Kolar // Food Chem. – 2012. – № 139(1-4). – P. 970-977. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.142>.
11. 'Ropy' phenotype, exopolysaccharides and metabolism: Study on food isolated potential probiotics LAB / S. Cirrincione et al // Microbiological research. – 2018. – № 214. – P. 137-145.
12. Ruas-Madiedo P. Invited Review: Methods for the Screening, Isolation, and Characterization of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria / P. Ruas-Madiedo, C.G. de los Reyes-Gavilán, // Journal of Dairy Science. – 2005. – № 88(3). – P. 843-856. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72750-8](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72750-8).
13. Ahmad N.H. Microbial polysaccharides and their modification approaches: a review / N.H. Ahmad, S. Mustafa, Y.B. Che Man // Int. J. Food Prop. – 2015. – № 18. – P. 332-347.

14. Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet kefir / Y. Wang et al // Carbohydr. Polym. – 2010/ – № 82. – P. 895-903.
15. Patel A. Food and health applications of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria / A. Patel, J. Prajapat, // Advances in Dairy Research. – 2013. – P. 1-8.
16. Fontana C. Structural studies of the exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* C88 using NMR spectroscopy and the program CASPER / C. Fontana, S. Li, Z. Yang, G. Widmalm // Carbohydrate research. – 2015. – № 402. – P. 87-94.
17. Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus helveticus* MB2-1 and its functional characteristics in vitro / W. Li et al // LWT – Food Science and Technology. – 2014. – № 59(2, Part 1). – P. 732-739. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.063>.
18. Oleksy-Sobczak M. Exopolysaccharides production by *Lactobacillus rhamnosus* strains – Optimization of synthesis and extraction conditions / M. Oleksy-Sobczak et al // Lwt. – 2020. – № 122. – P. 109055. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109055>.
19. Exopolysaccharide from *Lactobacillus fermentum* Lf2 and its functional characterization as a yogurt additive / E.C. Ale et al // J Dairy Res. – 2016. – № 83(4). – P. 487-492. <https://doi.org/10.1017/s0022029916000571>.

Информация о финансировании

Авторы выражают благодарность «Министерству науки и высшего образования Республики Казахстан» за финансовую поддержку научного, научно-технического проекта АР 22685499 «Потенциал применения экзополисахаридов пробиотических молочнокислых бактерий в пищевой биотехнологии» грантового финансирования исследований молодых ученых по проекту «Жас ғалым» на 2024-2026 годы.

А.Б. Омарова^{1*}, Г.Т. Қасенова², А.Д. Серикбаева³, Т.Д. Икомбаев⁴, А.К. Туғанбай⁵

¹С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті,
010011, Қазақстан Республикасы, Астана қаласы, Жеңіс даңғылы 62

²Ветеринария жөніндегі ұлттық референттік орталық,
Қазақстан Республикасы, Алматы қ., Е. Серкебаев даңғылы, 78 үй.

³Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті,
050010, Қазақстан Республикасы, Алматы қаласы, Абай даңғылы 8

⁴«Ғылым Қоры» АҚ,
010000, Қазақстан Республикасы, Астана қаласы, Тәуелсіздік даңғылы, 41 ғимарат.

⁵Хельсинки университеті,
00014, Хельсинки қаласы, Финляндия Fabianinkatu 33

*e-mail: akonia-1989@mail.ru

ТАМАҚ БИОТЕХНОЛОГИЯСЫНДА ҚОЛДАНУ ҮШІН СҮТ ҚЫШҚЫЛЫ БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ ЭКЗОПОЛИСАХАРИД ӨНДІРЕТІН ШТАММДАРЫН СКРИНИНГІЛЕУ

Мақалада отандық дәстүрлі ашытылған сүт өнімдерінен оқшауланған сүт қышқылы бактерияларының технологиялық қасиеттері мен экзополисахаридтер синтездеу қабілетін зерттеу нәтижелері келтірілген. Штаммдарды идентификациялау MALDI-TOF MS және API 50CHL әдістерін қолдану арқылы жүргізілді. Барлық тексерілген штамдар сүтте жақсы өсу қабілетін көрсетті. 24 сағаттық инкубациядан кейін олар йогуртқа ұқсайтын біртекті, тығыз консистенцияны қалыптастырды және ашытылған сүт өнімдеріне тән жағымды хош иіске ие болды.

Технологиялық көрсеткіштер бойынша *Lactobacillus acidophilus* 3.7 және *Lactobacillus acidophilus* 3.10 штамдары ең жақсы нәтиже көрсеткенін атап өткен жөн: жасушалардың жалпы саны сәйкесінше $3,6 \pm 2,3 \times 10^8$ және $1,8 \pm 4,0 \times 10^9$ КТБ/мл, ал pH мәндері 3,6 және 3,7 болды. Зерттелген тоғыз штамның сегіз штаммы оң экзополисахарид өндіретін белсенділік көрсеткені анықталды. Бұл штамдар пробиотикалық қасиеттерді одан әрі зерттеу шеңберінде қолдану үшін кейіннен бағалау үшін таңдалып алынды.

Жүргізілген скрининг нәтижелері бойынша *Lb. paracasei* 4.2 штаммы жоғары экзополисахарид-өндіру белсенділігін көрсетті.

Түйін сөздер: экзополисахаридтер, сүт қышқылы бактериялары, пробиотикалық қасиеттері, пребиотикалық қасиеттері.

A.B. Omarova^{1*}, G.T. Kassenova², A.D. Serikbaeva³, T. D. Ikombayev⁴, A.K. Tuganbay⁵

¹Kazakh Agrotechnical Research university named after S. Seifullina,
010011, Republic of Kazakhstan, Astana, Jenis, 62

²National Reference Center for Veterinary Medicine,
E.Serkebayev Ave 78., Almaty, Republic of Kazakhstan

³Kazakh National Agrarian Research University,
050010, Republic of Kazakhstan, Almaty, Abaya 8

⁴JSC «Science Fund»,
010000, Republic of Kazakhstan, Astana, Tayelsizdik avenue, 41

⁵University of Helsinki,
00014, Finland, Helsinki city, Fabianinkatu 33

*e-mail: akonia-1989@mail.ru

SCREENING OF EXOPOLYSACCHARIDE-PRODUCING STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA FOR USE IN FOOD BIOTECHNOLOGY

The article presents the results of studying the technological properties and the ability to synthesize exopolysaccharides of lactic acid bacteria isolated from domestic traditional fermented milk products. The strains were identified using the MALDI-TOF MS and API 50CHL methods. All tested strains showed the ability to grow in milk. After 24 hours of incubation, they formed a homogeneous, dense consistency, reminiscent of yogurt, and had a pleasant aroma characteristic of fermented dairy products.

*It should be noted that, according to technological parameters, the strains *Lactobacillus acidophilus* 3.7 and *Lactobacillus acidophilus* 3.10 demonstrated the best results: the total number of cells was $3.6 \pm 2.3 \times 10^8$ and $1.8 \pm 4.0 \times 10^9$ CFU/ml, respectively, and the pH values were 3.6 and 3.7. It was found that of the nine cultures studied, eight strains showed positive exopolysaccharide – producing activity. These strains were selected for the subsequent assessment of probiotic properties for their use in further research.*

*According to the results of the screening, it was shown that the *Lb* strain, *paracasei* 4.2, showed high exopolysaccharide-producing activity.*

Key words: exopolysaccharides, lactic acid bacteria, probiotic properties, prebiotic properties.

Сведения об авторах

Аккенже Бердихановна Омарова* – PhD, старший преподаватель кафедры «Микробиология и биотехнология», Казахский агротехнический исследовательский университет имени С. Сейфуллина; e-mail: akonia-1989@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9255-1672>.

Гүлмира Тынышбаевна Касенова – кандидат ветеринарных наук, доцент, Научный сотрудник, Национальный референтный центр по ветеринарии; e-mail: gulmirakassenova1970@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9775-3970>.

Асия Демеухановна Серикбаева – доктор биологических наук, профессор, Казахский национальный аграрный университет, профессор кафедры «Технология и безопасность пищевых продуктов»; e-mail: assiya.serikbayeva@kaznau.kz. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4632-7343>.

Талгат Дюсүмбекович Икомбаев – магистр технических наук, АО «Фонд науки», менеджер департамента коммерциализации технологий. PhD докторант Инновационного Евразийского Университета; e-mail: talgat_ikombaev@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0035-1332>.

Айгерим Киргизабавна Туганбай – магистр технических наук, докторант Университета Хельсинки, Хельсинки, Финляндия; e-mail: aigerimtuganbay@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7852-7887>.

Авторлар туралы мәліметтер

Аккенже Бердихановна Омарова* – PhD, «Микробиология және биотехнология» кафедрасының аға оқытушысы, С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті; e-mail: akonia-1989@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9255-1672>.

Гүлмира Тынышбайқызы Касенова – ветеринария ғылымдарының кандидаты, доцент, ғылыми қызметкер, Ветеринария жөніндегі ұлттық референттік орталық; e-mail: gulmirakassenova1970@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9775-3970>.

Әсия Демеуханқызы Серікбаева – биология ғылымдарының докторы, профессор. Қазақ ұлттық аграрлық университеті, «Тамақ өнімдерінің технологиясы және қауіпсіздігі» кафедрасының профессоры; e-mail: assiya.serikbayeva@kaznau.kz. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4632-7343>.

Талғат Дүйсүмбекұлы Икомбаев – техника ғылымдарының магистрі, «Ғылым қоры» АҚ, Технологияларды коммерциализациялау департаментінің менеджері. Инновациялық Еуразия Университетінің докторанты, Павлодар, Қазақстан; e-mail: talgat_ikombaev@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0035-1332>.

Айгерім Қырғызбайқызы Туғанбай – техника ғылымдарының магистрі, Финляндия, Хельсинки, Хельсинки Университетінің PhD докторанты; e-mail: aigerimtuganbay@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7852-7887>.

Information about the authors

Akkenzhe Berdikhanovna Omarova* – Doctor of Philosophy PhD, Senior Lecturer of Departments of Microbiology and Biotechnology, S.Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University (KATRU), Republic of Kazakhstan; e-mail: akonia-1989@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9255-1672>.

Gulmira Tynyshbaevna Kassenova – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor. Scientific Researcher, National Reference Center for Veterinary Medicine, Almaty, Kazakhstan; e-mail: gulmirakassenova1970@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9775-3970>.

Asia Demeukhanovna Serikbaeva – Doctor of Biological Sciences, Professor. Non-profit Joint Stock Company Kazakh National Agrarian University, Professor of the Department of Technology and Food Safety; e-mail: assiya.serikbayeva@kaznau.kz. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4632-7343>.

Talgat Dyusyumbekovich Ikombaev – Master of Technical Sciences. Innovative University of Eurasia, Pavlodar, Kazakhstan PhD student. JSC «Science Fund», Technology Commercialization Department Manager; e-mail: talgat_ikombaev@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0035-1332>.

Aigerim Kyrgyzbaevna Tuganbay – Master of technical science. PhD student of University of Helsinki, Helsinki, Finland; e-mail: aigerimtuganbay@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7852-7887>.

Поступила в редакцию 02.06.2025

Принята к публикации 19.06.2025

[https://doi.org/10.53360/2788-7995-2025-3\(19\)-35](https://doi.org/10.53360/2788-7995-2025-3(19)-35)



IRSTI: 65.59.03

A.B. Beisembaeva, Sh.A. Abzhanova*, A. Zh. Bozhbanov, A.U. Baibekova, A.Zhengissova¹

Almaty Technological University,
050012, Republic of Kazakhstan, Almaty, Tole bi street, 100
*e-mail: sh.abzhanova@atu.kz

INFLUENCE OF PAPAIN FERMENT AND BIOPROTECTIVE B-SF-43 ON PH AND FATTY ACIDITY OF MEAT PRODUCTS

Abstract: This article deals with the influence of plant components on the acid-base balance and fatty acid composition of various meat products. Studies of pH of meat, sausages and meat semi-finished products with the addition of plant extracts have been carried out. In the study the changes of meat pH depending on storage time (1, 3, 24 and 120 hours) were determined for four experimental groups: control (K), with the addition of P (K+P), B (K+B) and B-SF-43 (K+B-SF-43). In the first 24 hours, no significant differences were observed between the groups and pH varied between 5.8 and 6.2. However, by the 120th hour, a significant increase in pH was recorded in all samples, indicating biochemical changes such as protein degradation and ammonia accumulation. The most pronounced increase in pH was observed in groups K+B and K+B-SF-43, which may be due to the application of specific additives or bacteria. The control group (K) showed the lowest pH value at all stages of the study, which may indicate a slow decomposition process. The results obtained confirm the influence of different treatments on the dynamics of meat pH and its quality during storage. Fatty acids were analysed by chromatography to reveal changes in lipid composition with the use of additives. The obtained results demonstrate the promising application of plant components to improve the nutritional value of meat products.

Key words: papain, enzymatic treatment, bioprotective cultures, pH of meat products, fatty acid composition, antioxidant properties.

Introduction

Modern meat processing requires innovative approaches to improve product quality and reduce process costs. One promising area is the use of enzyme preparations that help modify the structure of muscle tissue. Particular attention is paid to plant proteases, such as papain, which have high activity and safety. Ensuring high quality meat products is an important task for the food industry.