

ИССЛЕДОВАНИЕ БИФИДОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ФУКОЗЫ И ЕЕ ПОЛИМЕРОВ

Т. В. Санина, С. В. Кирьянова, И. В. Черемушкина, О. С. Корнеева

Воронежская государственная технологическая академия

Поступила в редакцию 28.01.2011 г.

Аннотация. Исследована пребиотическая активность фукозы и ее полимеров различной молекулярной массы — фукоидана и фукоолигосахаридов, в опытах *in vitro*. Показано, что фукоза и ее полимеры стимулируют накопление кислот и биомассы бифидобактерий, что свидетельствует об их пребиотической активности.

Ключевые слова: пребиотики, фукоза, фукоидан, инулин, минорные сахара, бифидобактерии.

Abstract. The prebiotic activity of fucose and its polymers of different molecular weight — fucoidan and fuco oligosaccharides, was investigated in experiments *in vitro*. It is shown that fucose and its polymers stimulate the accumulation of organic acids and the biomass of bifidobacteria, which testifies to their prebiotic activity.

Keywords: probiotics, fucose, fucoidan, inulin, minor sugar, bifidobacteria.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Института питания РАМН в России наблюдается ухудшение состояния здоровья всех категорий населения, что в первую очередь связано со снижением иммунитета и полезной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека, поэтому поиск новых веществ с иммуностимулирующими и пребиотическими свойствами является актуальной проблемой. Не вызывает сомнения тот факт, что коррекция микробиоценоза кишечника должна являться базисной составляющей терапии значительного количества заболеваний человека.

Один из путей поддержания нормальной микрофлоры — использование пребиотиков — веществ, являющихся субстратным и энергетическим материалом для пробиотической микрофлоры (бифидо- и лактобактерий). Изучению пребиотического действия олигосахаридов уделяется большое внимание. Создана Европейская комиссия по неперевариваемым олигосахаридам — ENDO (European commission on non-digestible oligosaccharides). В соответствии с положениями, выдвигаемыми ENDO, пребиотические эффекты олигосахаридов реализуются по следующим направлениям:

- увеличение числа и активности бифидо- и лактобактерий,
- оптимизация функции кишечника,
- увеличение абсорбции кальция, магния и других металлов,

- модуляция липидного обмена,
- снижение уровня триглицеридов и холестерина [1].

В настоящее время внимание ученых во всем мире привлекли так называемые минорные сахара: манноза и фукоза. Известно, что именно наличие фукозы — эпимера галактозы — в составе олигосахаридов грудного молока обеспечивает его пребиотические и иммуностимулирующие свойства [2, 3]. Накоплены многочисленные данные, подтверждающие участие фукозы в важнейших процессах молекулярного и клеточного узнавания, синтезе гормонов и иммуноглобулинов. Установлено, что нарушение синтеза фукозилированных гликанов ведет к хроническому иммунодефициту и недоразвитию ткани тимуса. Показано, что от процессов фукозилирования зависит дифференцировка Т-клеток. Абнормальное фукозилирование часто наблюдается при различных заболеваниях человека, включая рак [4].

Немаловажным является и тот факт, что гетероолигосахаридные цепи иммуноглобулинов содержат в основном остатки таких гексоз как галактоза, манноза, фукоза. Предполагается, что включение минорных сахаров на раннем этапе синтеза иммуноглобулинов способствует их конформационным изменениям [4].

Пребиотическая активность фукозы и ее полимеров практически не изучена. Исследование способности фукозы стимулировать рост бифидобактерий представляет большой практический интерес не только для создания новых пребиотиков, но и для получения комплексных препаратов им-

муностимулирующего и пребиотического действия, так как результаты ранее проведенных нами исследований подтверждают, что включение фукозы в диету млекопитающих ведет к повышению уровня антителообразования [6].

Нами ранее была разработана биотехнология фукозы из доступного растительного сырья — биомассы бурых водорослей — с применением ферментного препарата фукозидазы [5, 6]. На данном этапе исследований была поставлена задача изучить пребиотическую активность полученных фукоолигосахаридов (продуктов частичного гидролиза фукоидана), фукозы и негидролизованного фукоидана и сравнить ее с используемыми коммерческими препаратами.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Пребиотические свойства фукозы и ее олигомеров оценивали по накоплению органических кислот и биомассы бактерий *Bifidobacterium bifidum in vitro* на средах с различными источниками углерода.

Объектами исследований являлись бактериологические препараты *B. bifidum*. Препарат «Бифидобактерин сухой» предварительно растворяли в питательной среде Блаурокка [7] и активизировали при температуре 37—38 °С в течение 24 ч. Затем данный препарат вносили в подготовленные для культивирования питательные среды из расчета 5 доз на 1 л среды. Культивирование микроорганизмов проводили в анаэробных условиях.

Культивирование бактерий проводили на среде Блаурокка в модификации Г. И. Гончаровой [7] следующего состава (г/л): пептон — 10; NaCl — 5; агар-агар — 0,75; лактоза — 10; цистеин солянокислый — 0,1; печеночный отвар. В ряде опытов в качестве источника углерода вместо лактозы добавляли инулин, маннозу, фукозу, фукоидан, гидролизат фукоидана (уравновесив по массе углерода).

Накопление биомассы *B. bifidum* определяли нефелометрически, путем измерения оптической плотности клеточной суспензии бактерий при длине волны 590 нм [8]. Биохимическую активность бифидобактерий определяли по нарастанию активной кислотности через каждые 12 часов культивирования [8].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе были исследованы *in vitro* пребиотическая активность инулина из плодов цикория (Raftiline), фукозы, фукоидана из водорослей *Fucus vesiculosus* (молекулярная масса 170—200 кДа), ферментативного гидролизата фукоидана (молеку-

лярная масса 30—40 кДа). Полученные данные представлены на рис. 1 и 2.

Из представленных данных следует, что изменение величины рН, характеризующее интенсивность метаболических процессов у бифидобактерий, коррелировало с накоплением биомассы

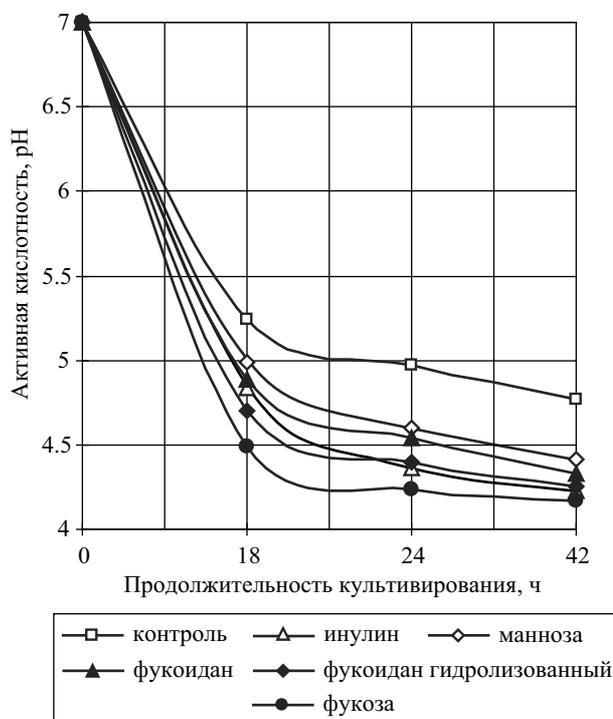


Рис. 1. Динамика накопления органических кислот бифидобактериями на средах с различными углеводами

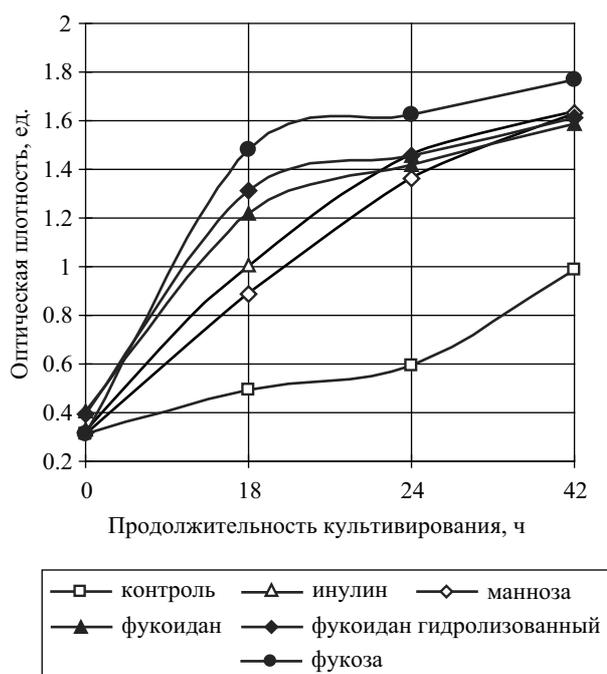


Рис. 2. Динамика накопления биомассы бифидобактерий на средах с различными углеводами

клеток. Максимальное снижение pH наблюдалось на всех испытываемых средах к 42 часам культивирования, наиболее интенсивное накопление кислот и биомассы бактерий происходило на средах с фукозой и гидролизатом фукоидана. В дальнейшем планируется проведение исследований пребиотической активности фукозы и ее полимеров *in vivo*. Согласно литературным данным, пищеварительный тракт человека не содержит ферментов, способных расщеплять α -1,3-фукозидные связи фукоиданов, а клетки млекопитающих не используют фукозу как источник энергии, что позволит этим новым видами пребиотиков достигать нижних отделов кишечника в неизменном виде [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что введение в состав питательной среды фукозы и фукоолигосахаридов оказывало выраженное стимулирующее влияние на биосинтез бифидобактерий, что свидетельствует о пребиотической активности фукозы и ее полимеров. Можно сделать вывод о возможности включения их в состав биологически активных добавок, лекарственных препаратов и функциональных продуктов питания пребиотического и иммуностимулирующего действия.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 годы, Госконтракт № П 260.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project

(DGXII AIRII-CT94-1095) / J. Van Loo [et al.] // *Br. J. Nutr.* — 1999. — № 81(2). — P. 121—132.

2. *Бойцов А. Г.* Описание пребиотиков. Лечение дисбактериоза / А. Г. Бойцов, В. Г. Лифляндский. — СПб.: Нева, 2003. — С. 179—181

3. *In vitro* measurement of the impact of human milk oligosaccharides on the faecal microbiota of weaned formula-fed infants compared to a mixture of prebiotic fructooligosaccharides and galactooligosaccharides. / Q. Shen [et al.] // *Lett. Appl. Microbiol.* — 2011. — №52. — P. 337—343.

4. Фукоза: биологическая роль, пути получения и перспективы применения / Д. А. Черенков [и др.] // *Биотехнология.* — 2010. — №6. — С. 63—71

5. *Корнеева О. С.* Биотехнологические способы получения фукозы / О. С. Корнеева, Т. В. Санина, Д. А. Черенков // *В мире научных открытий.* — 2010. — №4 (10). — С. 95—96

6. Разработка биокаталитической технологии фукозы и исследование ее влияния на иммунный статус живого организма / Т. В. Санина [и др.] // *Материалы VI Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и развитие», часть 2 (Москва 21—25 марта, 2011 г.).* — М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Менделеева, 2011. — С. 285—286

7. *Меркулова О. В.* Влияние состава питательной среды на биохимическую активность закваски с бифидобактериями / О. В. Меркулова, А. Д. Лодыгин // *Сборник научных трудов Северо-Кавказского госуд. технич. университета. Серия «Продовольствие».* — Ставрополь, 2006. — № 2. — С. 13—15.

8. *Биология и микробиология: учебное пособие / Г. П. Шуваева [и др.].* — Воронеж. гос. технолог. акад. Воронеж, 2003. — 300 с.

9. Becker D. J. Fucose: biosynthesis and biological function in mammals / D. J. Becker, J. B. Lowe // *Glycobiology.* — 2003. — V. 13(7). — P. 41—53.

Санина Татьяна Викторовна — аспирант Воронежской государственной технологической академии; тел.: (473) 255-55-57, e-mail: saninatv@gmail.com

Кирьянова Светлана Владимировна — аспирант Воронежской государственной технологической академии, e-mail: ssvetlichok6@rambler.ru

Черемушкина Ирина Валентиновна — доцент Воронежской государственной технологической академии; тел.: (473) 255-55-57, e-mail: ospp@vgta.vrn.ru

Корнеева Ольга Сергеевна — д.б.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии и биохимии Воронежской государственной технологической академии, тел.: (473) 255-55-57, e-mail: korneeva-olgas@yandex.ru

Sanina Tatyana V. — post-graduate student of Voronezh State Technological Academy; tel.: (473) 255-55-57, e-mail: saninatv@gmail.com

Kiryanova Svetlana V. — post-graduate student of Voronezh State Technological Academy; tel.: (473) 255-55-57, e-mail: ssvetlichok6@rambler.ru

Cheremushkina Irina V. — Ph.D., assistant professor of Voronezh State Technological Academy; tel.: (473) 255-55-57, e-mail: ospp@vgta.vrn.ru

Korneeva Olga S. — Doctor of biology, professor, head of the microbiology and biochemistry department, Voronezh State Technological Academy; tel.: (473)255-55-57, e-mail: korneeva-olgas@yandex.ru