

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БИФИДОБАКТЕРИЙ

<sup>1</sup>И.А.Функ, <sup>2</sup>А.Н.Ирkitова<sup>1</sup>Алтайский государственный университет. ФГБНУ СибНИИС (Барнаул, Россия)<sup>2</sup>Алтайский государственный университет. ФГБНУ СибНИИС (Барнаул, Россия)<sup>1</sup>[Funk.irishka@mail.ru](mailto:Funk.irishka@mail.ru), <sup>2</sup>[Elen171987@mail.ru](mailto:Elen171987@mail.ru)

Бифидобактерии широко известны как классические пробиотические микроорганизмы и сегодня набирают всё большую популярность среди сторонников функционального питания. Эти микроорганизмы заселяют кишечник новорождённого ребёнка через молоко матери и, вступив с ним в устойчивый симбиоз, сопровождают человека на протяжении всей его жизни, оказывая благотворное влияние на его здоровье. Эти удивительные микроорганизмы обладают огромным биотехнологическим потенциалом и сегодня широко используются в медицине, ветеринарии, пищевой и фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве и других областях народного хозяйства.

Благотворное влияние бифидобактерий на организм хозяина велико и разнообразно. Они участвуют в ферментативных процессах, выполняют витаминообразующую функцию (синтез витаминов группы В, витамина К, фолиевой и никотиновой кислот), улучшают показатели белкового, липидного и минерального обмена, так как усиливают гидролиз белков, сбраживают углеводы, омыляют жиры, растворяют клетчатку, стимулируют перистальтику кишечника, способствуют нормальному очищению кишечника, а также способствуют синтезу незаменимых аминокислот, лучшему усвоению солей кальция, витамина D, обладают антианемическим, антирахитическим и антиаллергическим действием, стимулируют лимфоидный аппарат.

В статье представлен обзор важнейших технологических и биологических свойств бифидобактерий, которые определяют их биотехнологический потенциал: морфолого-культуральные, физиолого-биохимические свойства, местообитание, систематика, питательные среды и условия культивирования, антагонистические, антиоксидантные свойства, кислотоустойчивость, желчеустойчивость, пробиотические свойства, практическое применение бифидобактерий.

Ключевые слова: *Bifidobacterium*, пробиотики, микрофлора желудочнокишечного тракта

## BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF BIFIDOBACTERIA

<sup>1</sup>I.A. Funk, <sup>2</sup>A.N. Irkitova<sup>1</sup>Altai State University, FSBSI SibSRI (Barnaul, Russia)<sup>2</sup>Altai State University, FSBSI SibSRI (Barnaul, Russia)

Bifidobacteria commonly known as classic probiotics and today they gain huge popularity among supporters of wealth nutrition. These microorganisms colonize the intestines of a newborn baby through the mother's milk and joining him in a stable symbiosis, accompany the person throughout his life, exerting a beneficial effect on his health. These amazing microorganisms have great biotechnological potential and are widely used in medicine, veterinary medicine, food and pharmaceutical industries, agriculture and other fields of national economy.

The beneficial effects of bifidobacteria on the host organism are vast and diverse. They are involved in enzymatic processes, perform vital minerals function (synthesis of vitamins B, K, folic and nicotinic acids), improve indices of protein, lipid, and mineral metabolism/ They also reinforce the hydrolysis of proteins, carbohydrates ferment, hydrolyzed fats, dissolve fiber, stimulate peristalsis, promote normal evacuation of the intestinal contents, promote the synthesis of essential aminoacids, better assimilation of calcium salts and vitamin D. Moreover, they have anti-anemic, anti-allergic action, and stimulate the lymphoid apparatus.

The article presents a review of important technological and biological properties of bifidobacteria, which determine their biotechnological potential: culture-morphological, physiological, biochemical properties; habitat, taxonomy, nutrient medium, and conditions of incubation, antagonistic, antioxidant properties, acid resistance, probiotic properties, the practical application of bifidobacteria.

Key words: *Bifidobacterium*, probiotics, microflora of the gastrointestinal tract.

## Следует цитировать / Citation:

Функ И.А., Ирkitова А.Н. (2016). Биотехнологический потенциал бифидобактерий. *Acta Biologica Sibirica*, 2 (4), 67–79.

Funk, I.A., Irkitova, A.A. (2016). Biotechnological potential of bifidobacteria. *Acta Biologica Sibirica*, 2 (4), 67–79.

Поступило в редакцию / Submitted: 17.10.2016

Принято к публикации / Accepted: 19.11.2016

**crossref** <http://dx.doi.org/10.14258/abs.v2i4.1634>

© Функ, Ирkitова, 2016

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 License

## ВВЕДЕНИЕ

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) человека заселен разнообразной микрофлорой, которая находится в стабильных взаимоотношениях с хозяином. Состав и численность кишечных микробов меняется в зависимости от возраста человека, его физиологического состояния, отдела ЖКТ, диеты и многих других факторов (Токарева Н., 2011). По оценкам специалистов, общая масса кишечной флоры у взрослого человека может достигать 1,5 кг. При этом две группы бактерий занимают доминирующее положение – это бифидобактерии и бактероиды, в сумме они составляют 90-95% (иногда даже более) от общей микробной популяции ЖКТ (Воробьев и др., 2004).

Значение нормальной кишечной микрофлоры для человека становится очевидным, когда происходит нарушение ее качественного или количественного состава, вследствие чего она перестает справляться со своими обязанностями, т.е. при дисбактериозах кишечника. Чтобы этого не происходило, необходимо постоянное поддержание нормальных симбиотических отношений между микрофлорой кишечника и организмом-хозяином. Важная роль в поддержании симбиотических отношений между организмом человека и микроорганизмами кишечника принадлежит бифидо- и лактобактериям, которые относят к классическим пробиотическим микроорганизмам (Яркина, 2005). Бифидобактериям принадлежит ведущая роль в нормализации и поддержании микробиоценоза кишечника, улучшении процессов обмена веществ и повышении неспецифической резистентности. Они участвуют в ферментативных процессах, выполняют витаминобразующую и антагонистическую функции, улучшают показатели белкового, липидного и минерального обмена (Габричевский, 1986). Кроме того, к полезным свойствам бифидобактерий можно отнести способность к эффективной усваиваемости лактозы, стимулирование иммунной системы, снижение уровня холестерина в крови, антиканцерогенный эффект. Также бифидобактерии играют многофункциональную роль в поддержании гомеостаза макроорганизма (Ирkitова и др., 2011; Токаев и др., 2006).

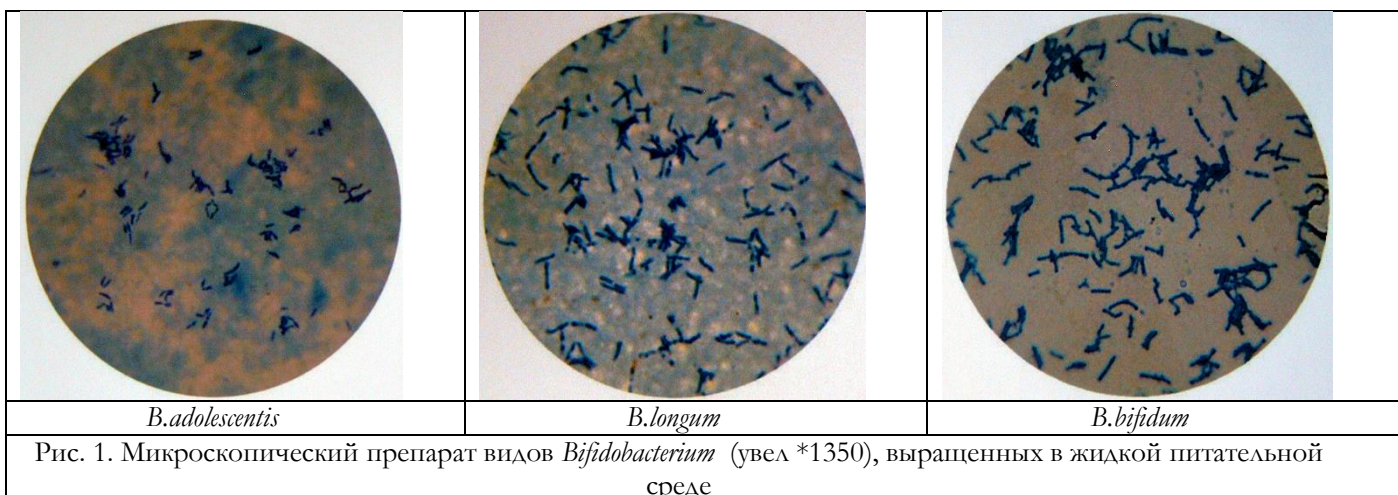
Бифидобактерии заселяют кишечник новорожденного ребёнка через молоко матери и, вступив с ним в устойчивый симбиоз, сопровождают человека на протяжении всей его жизни, оказывая благотворное влияние на его здоровье. Эти удивительные микроорганизмы обладают огромным биотехнологическим потенциалом и сегодня широко используются в медицине, ветеринарии, пищевой и фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве и других областях народного хозяйства. Эта большая популярность бифидобактерий объясняет постоянный интерес к ним со стороны ученых и практиков.

### Описание, местообитание, систематика и культивирование

Уже много десятилетий назад учеными было обращено внимание, что к 3–4 суткам жизни младенца, при условии естественного вскармливания грудным молоком, микрофлора его испражнений представляет собой практически чистую культуру грамположительной бесспоровой анаэробной палочки. Впервые бифидусные бактерии из стула грудных детей изолировал Тиссье, ученик и коллега Мечникова по бактериологической лаборатории Пастеровского института в Париже (1899–1905), и из-за способности их ветвиться назвал *Bacillus bifidus*. Позже их назвали *Lactobacillus bifidus*, а еще позднее *Bacterium bifidum* (Меркулова и др., 2012).

**Морфология.** Неспорообразующие, неподвижные, грамположительные, иногда грамтрицательные палочки размером обычно 0,5–0,7x2–8 мкм. Клетки их при первичном выделении из фекалий прямые или в виде запятой с булавовидными утолщениями на конце, иногда ветвящиеся (V,-T- формы), зернистые (рис 1). Фотографии взяты из атласа микроорганизмов к МР 2.3.2.2327-08. – 2008.

В чистых культурах бифидобактерии более полиморфны, наблюдается тенденция к образованию цепочек.



Типичные колонии на жидких и полутвердых питательных средах в виде «гвоздиков», «крошек». Колонии бифидобактерий на твердых питательных средах напоминают неровные комочки ваты (рис 2).



Рис. 2. Колонии бифидобактерий, выращенные на твердой питательной среде

Бифидобактерии обладают способностью образовывать разбухшие, инволюционные, шаровидные формы при развитии в неблагоприятных условиях – неподходящая кислотность среды, температура культивирования, недостаток питательных компонентов среды, присутствие кислорода. Появление плеоморфных ветвящихся клеток индуцируется и катионами одновалентных щелочных металлов –  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Li^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Cs^+$ , а также исключением из среды для культивирования бифидусных бактерий какой-либо из четырех аминокислот (DL-аланин, DL-аспарагиновая кислота, L (+) – глутаминовая кислота, DL-серин), смесь которых предотвращает появление разветвленных клеток.

При первичном выделении бифидобактерии являются строгими анаэробами, в процессе лабораторного культивирования они приобретают способность развиваться при доступе кислорода, а в высокопитательных средах могут расти и в полностью аэробных условиях. Чувствительность к кислороду у многих штаммов бифидобактерий варьирует, что обусловлено различиями в механизме брожения (Квасников и др., 1975; Меркулова и др., 2012).

#### **Физиолого-биохимические свойства**

Тип брожения – гетероферментативный. Активно сбраживают сахарозу, галактозу, фруктозу, мальтозу, мелибиозу, раффинозу, лактозу и др. углеводы с образованием в основном молочной и уксусной кислот. Образуются примеси муравьиной и янтарной кислот, а также этанола.

Бифидобактерии, выделенные от человека, из рубца животных и кишечника пчёл, в отличие от молочнокислых бактерий, анаэробных актиномицетов, коринибактерий и других ветвящихся форм бактерий, осуществляют брожение глюкозы по фруктозо-6-фосфатному пути. Особенностью этого пути является, с одной стороны, участие фермента фруктозо-6-фосфат-фосфокетолазы, с другой – то, что только здесь одновременно важную роль играет транскетолаза и ксилулозо-5-фосфат фосфокетолаза. В бесклеточных экстрактах не обнаружено ни альдолазы, характерной для гликолиза, ни дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата, присущей гексозомонофосфатному пути сбраживания гексоз (Габричевский, 1986).

Не образуют каталазу,  $H_2S$ , не восстанавливают нитраты в нитриты, не обладают уреазной активностью, не разжижает желатин. Предельная кислотность сквашенного бифидобактериями молока через 2–4 суток составляет 100–130 °Т. Оптимальной является температура 37–41°С. Оптимальное значение pH 6–7, при pH ниже 4,5 и выше 8,5 рост микроорганизмов прекращается.

Подобно молочнокислым бактериям, потребности бифидобактерий в биологически активных веществах велики и разнообразны. Многие виды нуждаются в биотине, пантотеновой кислоте, цистеине, рибофлавине, пуриновых и пиримидиновых основаниях, пептидах, аминокислотах, коферменте А, олигосахаридах, некоторых ненасыщенных жирных кислотах и др. Отдельные штаммы нуждаются в углекислом газе, аммиаке, гистидине. Из аминокислот требуется лизин, пролин, серин, аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты.

Некоторые штаммы бифидобактерий растут при наличии азотфиксирующих олигосахаридов – N-ацетил-глюкозамина, N-ацетил-галактозамина, N-ацетил-маннозамина и др., которые отсутствуют в коровьем молоке (содержатся в женском молоке). В синтетических средах бифидобактериям для роста необходимы железо, магний, фосфаты, хлориды калия и натрия, в некоторых случаях –



марганец. В молоке бифидобактерии развиваются медленно, так как коровье молоко не является естественной средой их обитания. Одной из причин плохого роста бифидобактерий в молоке служит растворенный в нем кислород. У них не обнаружено казеолитической активности, т.е. они могут усваивать казеин только после частичного гидролиза. В результате расщепления казеина образуются полипептиды, гликопептиды, аминокислоты, стимулирующие рост бифидобактерий. Другой причиной заторможенного роста бифидобактерий может быть и их низкая фосфатазная активность.

Продуцируя кислоты и бактериоцины, бифидобактерии являются антагонистами по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам: шигеллам Зоне и Флекснера, энтеропатогенным кишечным палочкам, сальмонеллам, стафилококку и др. Наряду с антагонистической активностью против патогенных микробов важное значение в обеспечении защитной функции нормальной микрофлоры имеет её регулирующее влияние на факторы местного иммунитета и общий иммунологический статус организма-хозяина. Помимо антагонистической активности бифидобактерии также обладают и антиоксидантной активностью (Квасников и др., 1975; Амерханова, 2012).

#### **Местообитание**

Бифидобактерии являются облигатной микрофлорой кишечника и животных, большая их часть сконцентрирована в толстой кишке, являясь ее основной пристеночной и просветной микрофлорой (Квасников и др., 1975).

**Человек как источник.** Бифидофлора человека представлена пятью видами бифидобактерий: *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. infantis* и *B. breve*.

Виды *B. bifidum* и *B. longum* выявляются у здоровых людей всех возрастных групп; вид *B. adolescentis* свойственен только взрослым людям и детям старшего возраста; у пожилых людей он становится преобладающим. Виды *B. infantis* и *B. breve* обнаруживаются только у детей грудного возраста, при этом вид *B. infantis* относили к преобладающему, а значит, наиболее значимому для организма в этот возрастной период. Виды бифидобактерий встречаются как в монокультуре, так и в ассоциациях друг с другом. Виды, выделенные из человека, как биорезервуара, являются технически важными для производства большого ассортимента кисломолочной продукции.

**Животные как источник.** Было установлено, что у поросят преобладают бифидобактерии вида *B. globosum* (25,5%), второй по частоте обнаружения является вид *B. pseudolongum* (15,7%), третий – *B. adolescentis* (13,7%). У телят преобладают бифидобактерии видов *B. pseudolongum* и *B. pseudocatenulatum* (по 23,8%), далее следует вид *B. globosum* (19,0%), и следующую по численности группу штаммов составляют бифидобактерии вида *B. adolescentis* (9,6%) (Бифидобактерии..., 2015).

**Молоко и молочные продукты.** В сыром молоке бифидобактерии не встречаются, но содержатся в ферментированных молочнокислых продуктах, изготовленных с применением заквасок на основе подобранных штаммов бифидобактерий (Габричевский, 1986; Алешкин и др., 2003).

#### **Систематика**

Систематическое положение бифидобактерий всегда было дискуссионным вопросом. Названия отдельных видов неоднократно претерпевали изменения. По ряду свойств эти микроорганизмы близки к молочнокислым бактериям и поэтому отдельные исследователи включают их в род *Lactobacillus*; другие авторы вычлениют бифидобактерии в самостоятельную таксономическую единицу, далекую от лактобацилл. Наличие у бифидобактерий фруктозо-6-фосфатного пути сбраживания глюкозы всё же позволяет выделить их в самостоятельную таксономическую группу, отдельную от молочнокислых бактерий (Квасников и др., 1975).

В НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского видовую принадлежность бифидобактерий определяли по их ферментативной активности в отношении углеводов и многоатомных спиртов, руководствуясь классификационной схемой Ройтера и Берги (1974).

Согласно определителю Берге (1974), бифидофлора человека представлена пятью видами бифидобактерий: *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. infantis* (включающий подвиды *infantis*, *lactentis* и *liberorum*) и *B. breve* (объединяющий два подвида – *breve* и *parvulorum*).

#### **Питательные среды и условия культивирования**

Для выделения и культивирования бифидобактерий применяются различные среды. В.Ф. Семенихина показала, что выделение бифидобактерий удобно производить на печёночно-цистиновой среде по Блауроку и на среде по Хенелю.

**Состав печёночно-цистиновой среды по Блауроку:** 500 г мелко нарезанной печени кипятят в литре дистиллированной воды в течение двух часов, содержимое отфильтровывают через складчатый бумажный фильтр. Фильтрат доливают до 1 л водой и добавляют пептон 10 г, цистин 1 г, агар 20 г, лактоза 10 г, NaCl 5 г, устанавливают pH среды 7,0 – 7,2.

Бифидобактерии относятся к семейству *Actinomycetaceae*, роду *Bifidobacterium*, который включает более 30 видов (табл. 1). Типовым видом является *Bifidobacterium bifidum*.

**Состав среды по Хенелю:** томатный сок 400 мл, мясной гидролизат по Хоттингеру 10 мл, агар 20 г, панкреатический перевар казеина 100 мл, дрожжевой автолизат 100 мл, дистиллированная вода 370 мл, рН среды 7,0.

Для выделения бифидобактерий рекомендуется использовать девятое и десятое разведение фекалий. При этом наиболее крупные колонии (1,5–4 мм) вырастают на среде по Хенелю, а мелкие – на печёночно-цистиновом агаре (0,5–2 мм). На нем обнаруживается наибольшее число ветвящихся клеток, а среда по Хенелю способствует образованию булавовидных и веретенообразных форм. Пересевы культур следует проводить через каждые 7–10 суток.

В современной промышленности для выращивания бифидобактерий используют ГМС, ГМК-1, ГМК-2 и ГМК-3.

**ГМС** – гидролизатно-молочная среда для количественного учета бифидобактерий и пропионовокислых бактерий (ТУ 10-02-02-789-192-95).

**ГМК-1** – кукурузно-лактозная среда для количественного учета бифидобактерий и пропионовокислых бактерий (ТУ 9229-357-00419785-04).

**ГМК-2** – кукурузно-лактозная среда для культивирования бифидобактерий (ТУ 9229-357-004419785-04).

**ГМК-3** – стимулятор роста бифидобактерий. Среда используется как добавка в молоко, стимулирующая рост бифидобактерий при приготовлении производственной закваски и для производства продуктов с бифидобактериями.

Таблица 1. Виды рода *Bifidobacterium*

№	Вид	Авторы
1	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Tissier, 1900
2	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	Reuter, 1963
3	<i>Bifidobacterium breve</i>	Reuter, 1963
4	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Reuter, 1963
5	<i>Bifidobacterium longum</i>	Reuter, 1963
6	<i>Bifidobacterium animalis</i>	Mitsuoka, 1969
7	<i>Bifidobacterium asteroides</i>	Scardovi et Trovattelli, 1969
8	<i>Bifidobacterium coryneforme</i>	Scardovi et Trovattelli, 1969
9	<i>Bifidobacterium globosum</i>	Scardovi et al., 1969
10	<i>Bifidobacterium indicum</i>	Scardovi et Trovattelli, 1969
11	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>	Mitsuoka, 1969
12	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	Mitsuoka, 1969
13	<i>Bifidobacterium suis</i>	Mattenzigi et al., 1971
14	<i>Bifidobacterium angulatum</i>	Scardovi et Crociani, 1974
15	<i>Bifidobacterium catenulatum</i>	Scardovi et Crociani, 1974
16	<i>Bifidobacterium dentium</i>	Scardovi et Crociani, 1974
17	<i>Bifidobacterium magnum</i>	Scardovi et Zani, 1974
18	<i>Bifidobacterium pullorum</i>	Trovattelli et al., 1974
19	<i>Bifidobacterium choerinum</i>	Scardovi et al., 1979
20	<i>Bifidobacterium boum</i>	Scardovi et al., 1979
21	<i>Bifidobacterium cuniculi</i>	Scardovi et al., 1979
22	<i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i>	Scardovi et al., 1979
23	<i>Bifidobacterium minimum</i>	Biavati et al., 1982
24	<i>Bifidobacterium subtile</i>	Biavati et al., 1982
25	<i>Bifidobacterium gallinarum</i>	Watabe et al., 1983
26	<i>Bifidobacterium gallicum</i>	Lauer, 1990
27	<i>Bifidobacterium merycicum</i>	Biavati et Mattarelli, 1991
28	<i>Bifidobacterium ruminantium</i>	Biavati et Mattarelli, 1991
29	<i>Bifidobacterium saeculari</i>	Biavati et al., 1992
30	<i>Bifidobacterium inopinatum</i>	Crociani et al., 1996
31	<i>Bifidobacterium denticolens</i>	Crociani et al., 1996
32	<i>Bifidobacterium lactis</i>	Meile et al., 1997
33	<i>Bifidobacterium thermacidophilum</i>	Dong et al., 2000
34	<i>Bifidobacterium scardovii</i>	Hoyles et al., 2002
35	<i>Bifidobacterium psychraerophilum</i>	Simpson et al., 2004
36	<i>Bifidobacterium tsurumiense</i>	Okamoto et al., 2008

Сотрудниками лаборатории микробиологии ФГБНУ СибНИИС (Каган, Сергеева) разработана питательная среда **для выращивания коллекционных штаммов бифидобактерий** следующего

состава (на 1л): сухая триглицолиевая среда (производство «Угличская биофабрика») – 31г., лактоза 5 г, пептон 10г, сода 1г, аскорбиновая кислота 1г.

Приготовление:

1. 31 г сухой питательной среды растопить в 0,5 л дистиллированной воды, тщательно размешать и довести до кипения.

2. Профильтровать через марлю.

3. Растворить в небольшом количестве дистиллированной воды по отдельности: лактозу, пептон, соду. Аскорбиновую кислоту всыпать в соду.

4. Соединить все компоненты и довести дистиллированной водой до 1 л.

5. Установить pH 7,7-8,0

6. Стерилизация при 1 атм- 10 мин, охладить.

Перед посевом прогреть в кипящей бане в течение 15 минут; охладить и можно засеивать.

Оптимальная температура культивирования бифидобактерий 37С°.

Из молочнокислых продуктов бифидобактерии выделяют и культивируют по МУК 4.2.999-00.

### **Технологически-ценные свойства бифидобактерий**

#### **Антагонистические свойства.**

Все изученные на данный момент виды бифидобактерий (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. infantis* и *B. breve*) обладают выраженным антагонистическим действием по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, таким как *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Shigella sonnei*, *Sh. flexneri*, *Klebsiella pneumonia*, *Citrobacter freundii*, *Bacillus subtilis*. При этом наибольшее подавляющее действие они оказывают на *S. aureus* и *Sh. sonnei*, которые чаще всего являются причиной пищевых отравлений, возникающих при употреблении кисломолочных продуктов (Защитные свойства..., 2014).

Результат антагонистического воздействия может проявляться в виде замедления, остановки роста тест-микроба или его гибели.

Антагонистический эффект бифидобактерий обусловлен продукцией ими, в ходе своей жизнедеятельности, молочной и уксусной кислот, которые в свою очередь снижают pH ЖКТ, препятствуя развитию патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Помимо кислот, бифидобактерии в процессе своего роста и развития накапливают и продуцируют антимикробные вещества – бактериоцины (бифидин, бифилонг), которые также оказывают бактериоцидное и бактериостатическое действие на патогенную микрофлору. Бактериоцины – вещества белковой природы (полипептиды), обычно с узким спектром бактерицидного действия. При обработке протеазами они утрачивают активность, что позволяет легко отличить их от других бактерицидных веществ (Квасников и др., 1975).

Антагонистическую активность бифидобактерий изучают как по отдельным штаммам, так и в комплексе. Было установлено, что увеличение спектра используемых видов пробиотических культур приводит к усилению антагонистического действия на возбудителей кишечных инфекций (Токаев и др., 2006).

#### **Антиоксидантные свойства.**

Кроме того, бифидобактерии обладают и антиоксидантными свойствами. В Томском политехническом университете проведён эксперимент по установлению антиоксидантной активности у пробиотиков методом катодной вольтамперометрии, основанном на процессах электровосстановления кислорода. Эксперимент состоял в получении вольтамперограмм катодного восстановления кислорода с помощью вольтамперометрического анализатора. Антиоксиданты, имеющие восстановительную природу, реагируют с кислородом и его активными радикалами на поверхности индикаторного электрода. Это приводит к уменьшению величины катодного тока электровосстановления кислорода на ртутнопаёчном электроде в области потенциалов от 0 до 1 В. В работе была исследована зависимость изменения антиоксидантной активности от pH среды биокомпозиции, так как pH среды изменяется во времени с момента её приготовления. Максимальные антиоксидантные свойства бифидобактерии проявляли при pH 5,78. При хранении кислотность биокомпозиции возрастает, а антиоксидантная активность снижается (Драчева и др., 2006).

#### **Кислотоустойчивость.**

Важной характеристикой используемых в производстве штаммов бифидобактерий является их устойчивость к кислотному стрессу. Селекция кислотоустойчивых штаммов бактерий – представителей симбиотической микрофлоры человека и животных важна для создания современных эффективных пробиотиков, обладающих высокой колонизационной устойчивостью микробных компонентов в ЖКТ организма хозяина. Обязательным требованием к бактериальным штаммам является их технологичность и стабильность во время производства и хранения продукции, так как технологические приемы, широко используемые в производстве пробиотиков и продуктов функционального питания, могут вызвать повреждения бактериальных клеток, что приводит к потере их жизнеспособности и биологической активности.

Известно, что высокая кислотность среды индуцирует у симбиотических бактерий серию адаптивных ответов, что позволяет им выжить в неблагоприятных условиях ЖКТ и восстановить численность популяции кислотоустойчивых клеток, способных к пролиферации. В ответ на воздействие повреждающих факторов микроорганизмы включают ряд защитных механизмов, которые могут приводить к изменениям физиолого-биохимических характеристик клеток, в том числе активности ферментов белкового и углеводного метаболизма.

При создании и совершенствовании современных технологий получения и использования пробиотиков особое внимание уделяется селекции штаммов бифидобактерий, растущих в условиях с низким показателем активной кислотности среды культивирования, и исследованию их физиолого-биохимических особенностей (Янковский, 2005).

В институте микробиологии НАН Беларуси были проведены исследования по изучению адаптивных возможностей бифидобактерий в условиях кислотного стресса. Кислотоустойчивые штаммы бифидобактерий получали путем адаптивной селекции. Установлено, что в нейтральной среде (рН=7,0) жизнеспособность клеток родительского и кислотоустойчивого варианта бифидобактерий после 4 часов инкубации изменяется от lg КОЕ 9,8 до 9,94 и 9,85 соответственно (Рябая и др., 2015).

#### **Желчеустойчивость.**

Важным критерием отбора штаммов бифидобактерий для использования в составе пробиотиков является устойчивость к желчным кислотам. Установлено, что адаптивная реакция на кислотный стресс коррелирует с ростом устойчивости бифидобактерий к содержанию желчи в среде культивирования. В кислых средах (рН=5,0) кислотоустойчивые штаммы *B.adolescentis* проявляли большую толерантность к желчи, чем исходный штамм (Рябая и др., 2015).

#### **Пробиотические свойства**

Бифидобактерии входят в группу классических пробиотиков – микроорганизмов кишечного происхождения, регулярный приём которых оказывает благоприятное действие на жизнедеятельность отдельных тканей, органов и общее здоровье организма потребителя.

Для выполнения своих полезных функций бифидобактерии, демонстрируя антагонистическую активность по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, при введении в организм хозяина должны выдерживать давление со стороны индигенной микрофлоры и специфических условий среды кишечника (присутствие пищеварительных ферментов, желчных солей, защитных факторов иммунной системы хозяина и т.п.) (Ирkitова и др., 2011).

#### **Антагонистические взаимоотношения с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами.**

Кишечный тракт новорождённых в первые часы жизни стерил. В течение первых суток он заселяется случайной микрофлорой. Формирование нормальной кишечной микрофлоры зависит от многих факторов, таких как состав микрофлоры родовых путей и ЖКТ матери, диета (искусственное или естественное вскармливание), врождённая патология, инфекционные заболевания и связанный с ним приём медикаментов (особенно антибиотиков) и другие. Влияние этих факторов может привести к появлению в кишечной микробиоте условно-патогенных или даже патогенных микроорганизмов, к которым организм хозяина привыкает и не борется с ними с помощью своей иммунной системы. В отношении патогенных микроорганизмов это явление носит название «бациллоносительство». Вред этих микробов для здоровья организма хозяина очевиден, а борьба с ними проблематична.

Для нормализации состава микробиоты ЖКТ с помощью пробиотикотерапии большое значение имеет степень выраженности антагонистической активности у используемого штамма-пробиотика и специфичность его ингибиторного спектра, а также величина дозы и продолжительность курса его приёма (Токаев, 2006; Алешкин и др., 2003).

#### **Колонизационная способность.**

Колонизирующая способность микроорганизмов во многом определяется процессом адгезии к эпителиальным клеткам кишечника. Адгезия помогает микроорганизмам иммобилизоваться на слизистых оболочках и не подвергаться вымыванию в низлежащие отделы кишечника. Бифидобактерии обладают высокими адгезивными свойствами. Экзогенно попавшие в ЖКТ бифидобактерии взаимодействуют со слизистой оболочкой кишечника. Показательны в этом отношении опыты, проведённые в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Гарбичевского, на безмикробных животных. Как правило, при искусственном заселении бифидобактериями ЖКТ безмикробных животных, пробиотические микроорганизмы успешно колонизировали пищеварительный тракт и выявлялись там в чистой культуре. Локализация бифидобактерий в муцинах, постоянно продуцируемых клетками кишечной слизистой, свидетельствует о том, что именно это может способствовать их особенно обильному размножению, колонизацию ими кишечника и обуславливает препятствие адгезии к слизистой патогенных бактерий (Квасников и др., 1975; Банникова, 1975).

#### **Антибиотикоустойчивость и антибиотикорезистентность бифидобактерий**

Современными принципами лечебной коррекции дисбиотических сдвигов и восстановления нормофлоры являются селективная деконтаминация патогенной и условно-патогенной микрофлоры с помощью антибактериальных препаратов и коррекция нормофлоры с применением препаратов и продуктов, содержащих живые культуры пробиотиков и пребиотиков (синбиотики).

Штаммы бифидобактерий, применяемые для производства пробиотиков и продуктов питания, должны обладать комплексом технологических и функциональных характеристик. Особое внимание в последние годы уделяется оценке безопасности данных микроорганизмов в плане распространения признака устойчивости к антибиотикам, широко используемым в медицине (клинически важные антибиотики).

Для бифидобактерий характерна природная устойчивость к ряду антибиотических препаратов. В частности, природная резистентность бифидобактерий к аминогликозидам обусловлена отсутствием у данных микроорганизмов опосредованного цитохромами транспорта лекарственных препаратов, а устойчивость к цефалоспорином – низкой проницаемостью их клеточной стенки для препаратов этой группы.

Низкая чувствительность штаммов *B. breve* к макролидам связана с присутствием в их клеточной мембране специфического транспортного белка BbmR (Bifidobacterium breve macrolide Resistance protein), схожего с белками множественной лекарственной устойчивости. Резистентность бифидобактерий к мупицину обусловлена функционированием у данных микроорганизмов атипичной формы изолейцил-тРНК-синтазы. Бифидобактерии, обладающие природной устойчивостью к антибиотикам, считаются пригодными для использования в составе пробиотиков и продуктов питания.

В течение длительного времени считалось, что антибиотикоустойчивость является полезным свойством пробиотических штаммов бифидобактерий, обеспечивающим высокую эффективность пробиотиков и продуктов питания на их основе для комплексной терапии инфекционных заболеваний. Однако, в последние годы ситуация кардинально изменилась. Это связано, в первую очередь, с глобальным распространением среди микроорганизмов явления антибиотикорезистентности, влекущего за собой ряд неблагоприятных для человека последствий, в частности, снижение эффективности лечения бактериальных инфекций. Было показано, что пробиотические микроорганизмы – представители нормальной микрофлоры кишечника человека, в том числе бифидобактерии, могут выступать в качестве резервуаров генов антибиотикоустойчивости и участвовать в их передаче другим микроорганизмам, в том числе патогенным и условно-патогенным.

Поэтому Европейское ведомство по безопасности пищевых продуктов (EFSA) ограничило возможность применения в составе пробиотиков и продуктов питания штаммов бифидобактерий, устойчивость которых к ряду клинически важных антибиотиков превышает рекомендуемые значения. Нормы минимальной ингибирующей концентрации (МИК) антибиотиков, входящих в перечень EFSA, рассчитаны исходя из экспериментальных данных, полученных при изучении антибиотикорезистентности типовых культур и природных изолятов бифидобактерий. Они являются усредненными показателями природной устойчивости к конкретным антибиотикам, характерной для бифидобактерий в целом.

Согласно нормам EFSA, МИК ампициллина для пробиотических штаммов бифидобактерий не должен превышать 2 мкг/мл, гентамицина – 64 мкг/мл, стрептомицина – 128 мкг/мл, хлорамфеникола – 4 мкг/мл, тетрациклина – 8 мкг/мл, эритромицина – 1 мкг/мл. Бифидобактерии, устойчивость которых к перечисленным антибиотикам превышает допустимое значение МИК, должны в обязательном порядке тестироваться на наличие генетических детерминант антибиотикорезистентности (Сидоренко и др., 2013; Жиленкова. 2011; Лянная, 1994).

#### **Благотворное влияние на здоровье организма хозяина.**

Благотворное влияние бифидобактерий на организм хозяина велико и разнообразно. Они участвуют в ферментативных процессах, выполняют витаминообразующую функцию (синтез витаминов группы В, витамина К, фолиевой и никотиновой кислот), улучшают показатели белкового, липидного и минерального обмена, так как усиливают гидролиз белков, сбраживают углеводы, омыляют жиры, растворяют клетчатку, стимулируют перистальтику кишечника, способствуют нормальной эвакуации кишечного содержимого, а также способствуют синтезу незаменимых аминокислот, лучшему усвоению солей кальция, витамина D, обладают антианемическим, антирахитическим и антиаллергическим действием.

Бифидобактерии стимулируют лимфоидный аппарат. Они активируют выработку IgA в кишечнике, стимулируют фагоцитоз и образование интерлейкинов IL-6 и IL-1b. Синтез иммуноглобулинов повышает активность лизоцима и способствует уменьшению проницаемости сосудистых тканевых барьеров для токсических продуктов патогенных и условно-патогенных организмов (Алешкин и др., 2003; Кожухметов, 2007; Кожухметов, 2007).

Осуществляя полезную для организма физиологическую роль, бифидофлора повышает его резистентность к различным стрессовым и неблагоприятным условиям. С этих позиций изучение и



подбор производственных штаммов бифидобактерий для разработки пробиотиков должен проводиться комплексно и систематически.

### Практическое применение

Следует отметить, что пищевые продукты с бифидобактериями появились на рынке сравнительно недавно. От момента выделения этих микроорганизмов из кишечника грудного ребенка в 1989г. до начала промышленного использования этих микроорганизмов при производстве, в первую очередь, кисломолочных продуктов прошло более 70 лет. Это можно объяснить сложностью культивирования бифидобактерий, так как они являются строгими анаэробами, плохо развиваются в молоке. Многие штаммы бифидобактерий молоко не сквашивают и могут усваивать казеин только после частичного гидролиза.

К сожалению, несмотря на превосходные пробиотические характеристики, первое поколение бифидных пробиотиков не получило должного распространения, главным образом из-за несоответствия материально-технической базы и культуры производства на молочных предприятиях тому уровню, который необходим для работы с бифидобактериями. Разработчики нашли выход в добавлении бифидобактерий к обычной заквасочной микрофлоре, используемой в технологиях производства традиционных кисломолочных продуктов – кефира, простокваши. Ряженки, йогурта, сметаны и даже мягких сыров. При этом обычная заквасочная микрофлора «отвечала» за органолептические и санитарно-гигиенические показатели продукта, а бифидобактерии придавали ему статус пробиотического продукта. Таким образом молочная промышленность избавилась от необходимости культивировать бифидобактерии. Этим стали заниматься специализированные предприятия, выпускающие бифидобактерии в виде сухих или жидких концентратов. Так появилась целая гамма продуктов с приставкой «бифи-» или «био-»: бифидокефир, биопростакваша, биоряженка. Биосметана и др.

### Продукты, содержащие бифидобактерии

Ассортимент продуктов, содержащих бифидобактерии, достаточно широк. Это кисломолочные напитки («Бифидин», «Бифилакт», йогурт, кефир, простокваша), творог, быстросозревающий сыр, масло, сливочные кремы, национальные продукты, сухие детские молочные продукты и др. Продукты, обогащенные бифидобактериями, характеризуются высокими диетическими свойствами, так как содержат ряд биологически активных соединений: свободные аминокислоты, летучие жирные кислоты, ферменты, антибиотические вещества, микро- и макроэлементы (Янковский, 2005).

В настоящее время все бифидосодержащие продукты условно можно разделить на три группы:

1. Продукты, в которые вносят жизнеспособные клетки бифидобактерий, выращенные на специальных средах. Размножение этих микроорганизмов в продукте не предусматривается.
2. Продукты, сквашенные чистыми или смешанными культурами бифидобактерий, активизация роста которых достигается обогащением молока бифидогенными факторами различной природы (моновидовые).
3. Продукты смешанного брожения, чаще всего сквашенные совместными культурами бифидобактерий и молочнокислых микроорганизмов (поливидовые) (Белкова, 2015).

Перечень некоторых бифидосодержащих продуктов представлен в таблице 2.

Таблица 2. Бифидосодержащие молочные продукты

Группа	Примеры
Кисломолочные напитки:	
- моновидовые (один или несколько штаммов бифидобактерий)	«Бифилайф», «Бифилин М»
- поливидовые (бифидобактерии в сочетании с молочнокислыми микроорганизмами, дрожжами и др)	«Активиа», «Биокефир», «Биоматрикс», «Биоряженка», «Бифатоник», «Бифацил «Б»», «Бифидобакт», «Бифидок», «Бифидокефир», «Бифилокс», «Бифитон», «Вита», «Нежность» и др.
Сухие концентраты	«Бифацид», «Бифилакт-Б», «Бифилакт-ПРО», «Бифилакт- Плагос» и др.
Сыры	«Айболит», «Байкальский», «Бифидный», «Звездный», «Курортный», «Лонгум» и др.

На одном из Томских предприятий несколько лет выпускают мороженое с бифидобактериями, которое рекомендуют не просто как лакомство для детей и взрослых, а как обязательный продукт при санаторно-курортном лечении (Гордова, 2014). В настоящее время можно говорить о том, что бифидобактерии получили использование в технологии практически всех видов молочных продуктов.

**Детское питание**

На случай отсутствия или дефицита у матери грудного молока разработаны его заменители – детские молочные смеси, отвечающие физиологическим потребностям детей определённой возрастной группы. Различают адаптированные (приближенные по составу к материнскому молоку), частично адаптированные и не адаптированные молочные смеси (табл. 3) (Ирkitова и др., 2011).

Таблица 3. Бифидосодержащие молочные продукты детского питания

Группа	Примеры
Адаптированные молочные смеси (с рождения):	
- жидкие	Агу-1, БиФилин, Малютка, Similac Premium-1, Беллакт-1, Тонус-1, БиФидолакт,
- сухие	Агуша-1, Kabrita GOLD
Частично адаптированные молочные смеси (с 3-х или 6-мес. возраста)	Similac Premium-2, Беллакт-2, БиФимил, Агуша-2
Неадаптированные молочные смеси (с 12 мес)	НАН с бифидобактериями, БиФилакт кисломолочный, Детолакт бифидус, Солнышко

Адаптированные смеси предназначены для вскармливания младенцев с рождения, частично адаптированные – с 3- или 6-месячного возраста, неадаптированные – для детей, достигших 1- или 3-летнего возраста. Искусственное вскармливание значительно увеличивает риск развития у ребёнка дисбактериоза кишечника. Поэтому в состав многих смесей включены пробиотические микроорганизмы: лакто- и бифидобактерии. В соответствии с действующими в России нормативами, содержание бифидобактерий в детских молочных смесях должно быть не менее  $10^7$  КОЕ/см<sup>3</sup>.

В норме главным источником заселения ЖКТ новорождённого полезными микроорганизмами являются кишечник и родовой тракт матери. Поэтому особенно важно, чтобы беременные женщины и кормящие матери имели «правильные» микробиоценозы кишечника и влагалища. Поэтому при необходимости беременным женщинам назначают курсы приёма пробиотических продуктов и/или вагинальных пробиотических препаратов (Белкова, 2015).

**Фармацевтические препараты и БАДы.**

Для использования в комплексной терапии и профилактике различных патологических состояний детей и взрослых, связанных с дефицитом индигенной микрофлоры разработаны фармацевтические препараты и биологически активные добавки, содержащие сухую жизнеспособную биомассу пробиотических видов микроорганизмов (табл. 4).

Таблица 4. Бифидосодержащие фармацевтические препараты и БАДы

Группа	Примеры
Фармацевтические препараты	Бифидумбактерин, Биовестин-лакто, Бифидо-бак, Бифидумбактерин форте, Бификол, БиФилиз, БиФиформ, Линекс, Пробифор, Нормофлорин, Нормобакт. БиФолак
БАДы	БАД-1 Б, БАД-2, Биовестин, Бифидумбактерин-Мульти-1, Бифидумбактерин-Мульти-2, Бифидумбактерин-Мульти-3, Литовит С, Мальтодофилос, Нуэль, Примадофилус

Первый лечебный коммерческий препарат, содержащий живые бифидобактерии и получивший название «Дугалан», был разработан в 1956 году в Германии. В Германии в 1964 году был создан и первый бифидосодержащий препарат для детей – «Лактана-Б-милк».

В России приоритетная роль в области многопланового изучения биологии и таксономии бифидобактерий, их роли в жизнеобеспечении человека, разработке средств бактериотерапии на основе бифидобактерий принадлежит Московскому научно-исследовательскому институту эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского. В 1966 году в институте была разработана технология изготовления «Бифидумбактерина сухого», проведено изучение его эффективности в лабораторных условиях. В 1972 году начат его промышленный выпуск на базе предприятия МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского (Габричевский, 1986; Алешкин и др., 2003).

В настоящее время изобилие пробиотических фарм. препаратов и БАДов увеличивается с каждым годом, в связи с нарастающей популярностью лечения кишечных дисбиозов с помощью пробиотикотерапии. Явные преимущества вышеуказанных фармацевтических препаратов и БАДов перед кисломолочными продуктами, содержащими аналогичные пробиотические микроорганизмы, состоят в повышенной концентрации полезных бактерий, длительном сроке годности и меньшей требовательности к температурному режиму хранения. Единственный и весьма существенный их недостаток – повышение стоимости пробиотикотерапии и профилактики, проводимых с их использованием (Ирkitова и др., 2011).

### **Бактериальные закваски из бифидобактерий**

Промышленный выпуск заквасок бифидобактерий и их применение в производственных процессах стали возможными в результате большой работы по селекции бифидобактерий и изучению их биохимических и культуральных свойств. Следствием этого явилось выделение активных штаммов микроорганизмов, а также определение составов питательных сред, ростовых и защитных веществ, обеспечивающих развитие физиологически активных бактерий.

Используемые препараты бифидобактерий могут быть в виде жидких заквасок или концентратов. Недостаток жидких форм является периодический способ их получения, ограниченный срок хранения, что сдерживает широкомасштабное производство бифидосодержащих продуктов. Более эффективная форма заквасок – это концентраты, которые могут быть представлены потребителям в различном агрегатном состоянии (замороженные, лиофильно высушенные).

Мировыми лидерами по производству бифидных заквасок являются: Chr. Hansen (Дания), Lactina (Болгария), Сакко (Италия) и др., в России всего два производителя заквасок, в том числе с бифидобактериями — ООО «Барнаульская биофабрика» (г. Барнаул, Алтайский край) и ОНП «Экспериментальная биофабрика» (г. Углич, Ярославская область).

**Проблема качества.** Функциональная активность пробиотических продуктов и препаратов зависит от количественного содержания в них соответствующих полезных бактерий. По требованиям национального стандарта, кисломолочные напитки пробиотического статуса должны содержать общее количество бифидобактерий (там, где они предусмотрены) не менее  $10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>. Однако в процессе хранения микроорганизмы отмирают с той или иной скоростью, и встаёт вопрос о соответствии этих пробиотиков установленным нормам на момент их продажи и использование потребителем. Большинство бифидосодержащих продуктов, представленных на рынке, не соответствуют требованиям. Поэтому на сегодняшний день разработка бифидосодержащих продуктов с высоким титром пробиотических микроорганизмов в течение всего срока годности очень популярна.

Особо остро обстоит дело с сухими препаратами длительных сроков годности (БАДы, реализуемые с помощью сетевого маркетинга) из-за несоблюдения установленных температурных режимов их транспортировки и хранения, отсутствия видимых показателей порчи и системы экспресс-контроля на пути к потребителю.

Функциональная ценность же кисломолочных напитков, обогащённых пробиотическими микроорганизмами, будет определяться фактическим содержанием этих микроорганизмов в общем балансе заквасочной микрофлоры (Алешкин и др., 2003; Ирkitова и др., 2011).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Макроорганизм и кишечная микрофлора являются относительно стабильной экологической системой, равновесие которой с одной стороны определяется физиологическими потребностями макроорганизма, а с другой – видовым и количественным составом микробных ассоциаций и разнообразием их биохимической активности. Бифидобактерии – облигатная и доминирующая часть кишечной микрофлоры здорового человека. В настоящее время доказано, что бифидобактерии появляются на второй-пятый день с момента рождения ребенка и являются наиболее постоянной и преобладающей группой бактерий на протяжении всей жизни человека. Физиологическая роль бифидобактерий обусловлена защитной и синтезирующей функциями, участием в конечном звене пищеварения. Бифидобактерии способствуют процессу всасывания и гидролиза жиров. Улучшают белковый и минеральный обмен. Ферментируют углеводы, растворяют клетчатку, подавляют развитие условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, стимулируют перистальтику кишечника. Снижение уровня бифидобактерий в кишечнике человека приводит к дисбактериозу. Что влечет за собой возникновение и обострение ряда заболеваний. Для профилактики кишечных дисбактериозов. Быстрого, эффективного и стабильного восстановления нормальной микрофлоры кишечника целесообразно вводить в организм человека бифидобактерии. Это можно сделать путем применения препаратов или кисломолочных продуктов, содержащих достаточный уровень бифидобактерий.

Такой широкий спектр полезного воздействия на организм человека объясняет широкое практическое применение бифидобактерий, а также неугасающий научный интерес.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Амерханова А.М. Морфологическая изменчивость микроорганизмов рода *Bifidobacterium* // Здоровье населения и среда обитания, 2012. – №12. – С. 35–35.
- Алешкин В.А., Амерханова А.М., Поспелова В.В., Пожалостина Л.В. Пробиотические микроорганизмы – современное состояние вопроса и перспективы использования // Молочная промышленность, 2003. – №1. – С. 59–61.
- Белкова М.Д. Продукты с пробиотиками // Кондитерское и хлебопекарное производство, 2015. – №5/6. – С. 25–27.
- Бифидобактерии и их использование в клинике, медицинской промышленности и сельском хозяйстве: сб. науч. тр. / М-во здравоохранения РСФСР, Моск. Науч. – исслед. ин-т эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Гарбичевского. – Москва, 1986. – 207 с.
- Бифидобактерии человеческого и животного происхождения // Молочная промышленность, 2015. – №5. – С. 45.
- Воробьев А.А., Бондаренко В.М., Лыкова Е.А., Григорьева А.В., Мацулевич Т.М. Микробиологические нарушения при клинической патологии и их коррекция бифидосодержащими пробиотиками // Вестник РАМН. – 2004. - №2. – С.13–17.
- Гордова Р.Ю. Биомороженое — ломая стереотипы // Санаторно-курортная отрасль, 2014. – №2. – С. 20.
- ГОСТ Р 52687-2006 Продукты кисломолочные, обогащенные бифидобактериями бифидум. – М.: Стандартинформ. – 2007. – 18 с.
- Драчева Л.В., Короткова Е.И., Лукина А.Н. Антиоксидантные свойства пробиотиков // Молочная промышленность, 2006. – №12. – С. 62–63.
- Жиленкова О.Г. Селекция производственно перспективных штаммов бифидобактерий, выделенных от детей. Автореф. дис. на соискание уч. степ. канд. биол. наук. – Барнаул, 2011. – 30с.
- Защитные свойства бифидобактерий в продуктах питания // Молочная промышленность, 2014. – №10. – С. 57.
- Ирkitова А.Н., Каган Я.Р., Сергеева И.Я. Свойства, экологические аспекты и практическое значение ацидофильной палочки // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока, 2011. – №8. – С. 207–239.
- Кожаметов С.С. Бифидобактерии и их про- и пребиотические свойства // Биотехнология. Теория и практика, 2007. – №2. – С. 30–38.
- Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. – М.: Наука, 1975. – 384 с.
- Меркулова Л.В., Ерошкина О.Е., Казакова И.В. Полиморфизм бактерий рода *Bifidobacterium* // Молочная промышленность, 2012. – №9. – С. 39.
- Методология селекции бифидобактерий, перспективных для создания на их основе эубиотиков и продуктов функционального питания / А.М. Лянная [и др.] // Медицинские аспекты микробной экологии. – М.:1994. – С. 181–184.
- Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов). – МР 2.3.2.2327-08. – 2008.
- МУК 4.2. 999-00. Определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах, 2000. - М.: Минздрав Росии. – 16 с.
- Рябая Н.Е., Головнева Н.А., Самарцев А.А. Селекция бифидобактерий по устойчивости к кислотному стрессу. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты, Том 7. – Минск, 2015. – С. 57–68.
- Банникова Л.А. Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности. – М.: Пищевая промышленность, 1975. – 255 с.
- Определитель бактерий Берджи, 1997. –М.: Мир. –1997. – 432 с.
- Сидоренко А.В., Новик Г.И. Характеристика антибиотикоустойчивости коллекционных, пробиотических и выделенных из кишечника штаммов бифидобактерий // Труды БГУ, 2013. – том 8, часть 1. С. 144–151.
- Токаев Э.С., Ганина В.И., Багдасарян А.С., Григорова Ю.Г., Перминов С.И., Вустина Т.В, Мозговая И.Н., Макаров В.В. Свойства единой синбиотической системы бифидобактерий с пребиотиком Fibregum // Биотехнология, 2006. – №6. – С. 51–62.
- Токаев Э.С., Ганина В.И., Багдасарян А.С. Поведение антагонистически активных штаммов бифидобактерий в процессе хранения синбиотического комплекса // Молочная промышленность, 2006. – №9. – С. 33–34.
- Токарева Н. Коррекция и профилактика дисбактериоза // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. – 2011. - №3. – С.77–84.
- Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Д.С. Янковский. – Киев: Эксперт ЛТД, 2005. – 326 с.



Яркина Я.А. Бакконцентрат бифидобактерий и бактерий *Lactobacillus casei* // Молочная промышленность, 2005. – №2. – С. 34–35.

## REFERENCES

- Amerkhanova, A.M. (2012). Morfologicheskaya izmenchivost' mikroorganizmov roda Bifidobacterium. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya, 12, 35–35. (in Russian).
- Aleshkin, V.A., Amerkhanova, A.M., Pospelova, V.V., Pozhalostina, L.V. (2003). Probioticheskie mikroorganizmy – sovremennoe sostoyanie voprosa i perspektivy ispol'zovaniya. Molochnaya promyshlennost', 1, 59–61. (in Russian).
- Belkova, M.D. (2015). Produkty s probiotikami. Konditerskoe i khlebopekarnoe proizvodstvo, 5–6, 25–27. (in Russian).
- Bifidobakterii i ikh ispol'zovanie v klinike, meditsinskoj promyshlennosti i sel'skom khozyaystve: (1986). Sbornik nauchnykh trudov. Moscow (in Russian).
- Bifidobakterii chelovecheskogo i zhivotnogo proiskhozhdeniya. (2015). Molochnaya promyshlennost', 5, 45 (in Russian).
- Vorob'ev, A.A., Bondarenko, V.M., Lykova, E.A., Grigor'eva, A.V., Matsulevich, T.M. (2004). Mikroekologicheskie narusheniya pri klinicheskoy patologii i ikh korrektsiya bifidosoderzhashchimi probiotikami. Vestnik RAMN, 2, 13–17 (in Russian).
- Gordova, R.Yu. (2014). Biomorozhenoe — lomaya stereotypy. Sanatorno-kurortnaya otrasl', 2, 20 (in Russian).
- GOST R 52687-2006. (2007). Produkty kislomolochnye, obogashchennye bifidobakteriyami bifidum. Moscow: Standartinform (in Russian).
- Dracheva, L.V., Korotkova, E.I., Lukina, A.N. (2006). Antioksidantnye svoystva probiotikov. Molochnaya promyshlennost', 12, 62–63 (in Russian).
- Zhilenkova, O.G. (2011). Seleksiya proizvodstvenno perspektivnykh shtammov bifidobakteriy, vydelennykh ot detey. Thesis of Doctoral Dissertation. Barnaul (in Russian).
- Zashchitnye svoystva bifidobakteriy v produktakh pitaniya. (2014). Molochnaya promyshlennost', 10, 57 (in Russian).
- Irkitova, A.N., Kagan, Ya.R., Sergeeva, I.Ya. (2011). Svoystva, ekologicheskie aspekty i prakticheskoe znachenie atsidofil'noy palochki. Aktual'nye problemy tekhniki i tekhnologii pererabotki moloka, 8, 207–239 (in Russian).
- Kozhakhmetov, S.S. (2007). Bifidobakterii i ikh pro- i prebioticheskie svoystva. Biotekhnologiya. Teoriya i praktika, 2, 30–38 (in Russian).
- Kvasnikov, E.I., Nesterenko, O.A. (1975). Molochnokislye bakterii i puti ikh ispol'zovaniya. Moscow: Nauka (in Russian).
- Merkulova, L.V., Eroshkina, O.E., Kazakova I.V. (2012). Polimorfizm bakteriy roda Bifidobacterium. Molochnaya promyshlennost', 9, 39 (in Russian).
- Metodologiya seleksii bifidobakteriy, perspektivnykh dlya sozdaniya na ikh osnove eubiotikov i produktov funktsional'nogo pitaniya. (1995). In Meditsinskie aspekty mikrobnoy ekologii. A.M. Lyannaya (Ed.). Moscow (in Russian).
- Metodicheskie rekomendatsii po organizatsii proizvodstvennogo mikrobiologicheskogo kontrolya na predpriyatiyakh molochnoy promyshlennosti (s atlasom znachimykh mikroorganizmov. (2008). MR 2.3.2.2327-08. (in Russian).
- MUK 4.2. 999-00. (2000). Opredelenie kolichestva bifidobakteriy v kislomolochnykh produktakh. Moscow: Minzdrav Rosii (in Russian).
- Ryabaya, N.E., Golovneva, N.A., Samartsev, A.A. (2015). Seleksiya bifidobakteriy po ustoychivosti k kislotnomu stressu. Mikrobnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty. Minsk (in Russian).
- Bannikova, L.A. (1975). Seleksiya molochnokislykh bakteriy i ikh primenenie v molochnoy promyshlennosti. – Moscow: Pishchevaya promyshlennost' (in Russian).
- Opredelitel' bakteriy Berdzhii. (1997). Moscow: Mir (in Russian).
- Sidorenko, A.V., Novik, G.I. (2013). Kharakteristika antibiotikoustoychivosti kolleksiionnykh, probioticheskikh i vydelennykh iz kishhechnika shtammov bifidobakteriy. Trudy BGU, 8(1), 144–151.
- Tokaev, E.S., Ganina, V.I., Bagdasaryan A.S., Grigorova Yu.G., Perminov S.I., Vustina T.V., Mozgovaya I.N., Makarov, V.V. (2006). Svoystva edinoy sinbioticheskoy sistemy bifidobakteriy s prebiotikom Fibregum. Biotekhnologiya, 6, 51–62 (in Russian).
- Tokaev, E.S., Ganina, V.I., Bagdasaryan, A.S. (2006). Povedenie antagonisticheskikh aktivnykh shtammov bifidobakteriy v protsesse khraneniya sinbioticheskogo kompleksa. Molochnaya promyshlennost', 9, 33–34 (in Russian).
- Tokareva, N. (2011). Korrektsiya i profilaktika disbakterioza. Effektivnaya farmakoterapiya. Gastroenterologiya, 3, 77–84 (in Russian).
- Yankovskiy, D.S. (2005). Mikrobnaya ekologiya cheloveka: sovremennye vozmozhnosti ee podderzhaniya i vosstanovleniya. Kiev: Ekspert LTD (in Russian).
- Yarkina, Ya.A. (2005). Bakkontsentratsiya bifidobakteriy i bakteriy *Lactobacillus casei*. Molochnaya promyshlennost', 2, 34–35 (in Russian).