

УДК 637.344

А.Н. Иркитова

**Практическое значение и желчеустойчивость
коллекционных штаммов *Lactobacillus acidophilus***

A.N. Irkitova

**Bile Tolerance and Practical Importance
of the Collection Strains *Lactobacillus acidophilus***

Микроэкология кишечника характеризуется присутствием желчи, продуцируемой клетками печени. Помимо своих основных функций, связанных с пищеварением, желчь (точнее, содержащиеся в ней желчные кислоты) предупреждает адгезию экзогенных микробов к кишечному эпителию. Штаммы *L. acidophilus*, приспособившиеся к данной экологической нише, проявляют довольно высокую устойчивость к желчи; например, в отличие от штаммов болгарской палочки, неспособной колонизировать кишечник, они выдерживают присутствие в питательной среде солей желчи в концентрации 20%.

В статье представлены сравнительные данные по желчеустойчивости коллекционных штаммов *L. acidophilus* (из коллекции лаборатории микробиологии Сибирского НИИ сыроделия, Барнаул), перспективных для включения в состав пробиотических молочных продуктов. Выявлены самые устойчивые к высоким концентрациям желчи и самые слабые штаммы *L. acidophilus*. Также рассмотрены основные перспективные и широко распространенные направления практического применения *L. acidophilus*; приведены возможные преимущества и недостатки использования ацидофильных бактерий в различных отраслях, отражены проблемы качества ацидофильных продуктов и препаратов.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, ацидофильная палочка, желчь, практическое значение.

DOI 10.14258/izvasu(2014)3.1-04

Многие штаммы *L. acidophilus* входят в группу классических пробиотиков — микроорганизмов кишечного происхождения, регулярный прием которых в «терапевтических» дозах оказывает достоверное благотворное действие на жизнедеятельность отдельных тканей, органов и общее здоровье организма потребителя. Это свойство обуславливает широкое применение *L. acidophilus* в различных отраслях народного хозяйства и медицины.

Кисломолочные напитки диетического и лечебно-профилактического назначения. Промышленное производство ацидофильных молочных продуктов, ориентированное на диетическое и лечебно-профи-

The intestine microecology is characterized by the presence of bile produced in the liver cells. Besides its main functions associated with digestion, bile (more exactly, bile acids contains in it) prevents adhesion of the exogenous microbes to the intestinal epithelium. Strains *Lactobacillus acidophilus* are quite resistant to gall and have adapted to this ecological niche. For example, in contrast to the strains of the Bulgarian sticks, unable to colonize the intestine, they sustain the presence of bile salts in concentration 20% in the nutrient medium. The article presents comparative data on bile tolerance of the collection strains *Lactobacillus acidophilus* (from the collection of Microbiology laboratory of Siberian cheesemaking research Institute, Barnaul) which are promising for inclusion to the probiotic dairy products. The most resistant to high concentrations of bile and the weakest strains *Lactobacillus acidophilus* have been identified. Also the basic promising and widely used practical importance of *Lactobacillus acidophilus* are discussed in the article. Possible advantages and disadvantages of using acidophilic bacteria in various sectors, the quality of acidophilic products and drugs are shown.

Key words: lactic acid bacteria, *Lactobacillus acidophilus*, bile, practical importance.

лактическое питание населения, началось с 30-х гг. XX в., пик их популярности пришелся на 70–80-е гг. [1, с. 121–147]. В то время ассортимент молочных магазинов включал в себя «Ацидофильное молоко», «Ацидофилин», «Ацидофильную простоквашу» и другие ацидофильные продукты. Известно более 20 наименований отечественных и зарубежных продуктов этой группы, которые, судя по видовому составу микрофлоры, в большинстве своем являются аналогами. Примером современного многовидового пробиотика может служить «BioMatrix» российской компании «Биопродукт», в микробный комплекс которого, помимо бифидобактерий, входят четыре вида

лактобацилл (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum* и *L. plantarum*).

Общий недостаток ацидофильных напитков — склонность к переокислению при хранении. К сожалению, несмотря на хорошо доказанный благотворный эффект, сегодня у нас они почти исчезли из продажи, вытесненные менее полезными, но более привлекательными (длительный срок годности, улучшенные органолептические показатели) йогуртом и кисломолочной продукцией, обогащенной бифидобактериями. За рубежом ацидофильная палочка сохраняет свои позиции на рынке пробиотических кисломолочных напитков.

В связи с этим представляется перспективной разработка в СибНИИ сыроделия пробиотического напитка «Алтайское лето» [2, с. 1–24; 3, с. 186–190], в котором высокие органолептические показатели сочетаются с терапевтически значимыми уровнями пробиотических бактерий (*L. acidophilus* и *P. freudenreichii*) и с использованием побочного продукта сыродельного производства (подсырной сыворотки).

Сыры с *L. acidophilus*. В России создано около 10 видов сыров, при выработке которых используются закваски, содержащие ацидофильную палочку. Эти сыры относятся к типу мягких термостойких («МЧС»), мягких сычужно-кислотных («Геленджикский», «Масис», «Айболит» и др.) и полутвердых сычужных («Покровский», «Алтайский чудесник», «Вальмен» и др.). Включение в сыры штаммов *L. acidophilus* преследует цель усилить давление на незквасочную микрофлору и придать сырам диетические и пробиотические свойства [4, с. 24–27].

Мясные продукты. Выпускаемый на Украине бактериальный концентрат «Ацидобакт» содержит штаммы *L. acidophilus*, отобранные по антагонистической активности к патогенной микрофлоре (стафилококку, протее, сальмонелле, патогенному серотипу кишечной палочки). Концентрат предназначен для приготовления копчено-вареных продуктов из говядины — рулет «Славутич», «Шейка говяжья деснянская» и др. [5, с. 272–273].

Детское питание. Адаптированные смеси предназначены для вскармливания (или докорма) младенцев с рождения, частично адаптированные — с 3- или 6-месячного возраста, неадаптированные — для детей, достигших 1- или 3-летнего возраста [6, с. 1–30]. Искусственное вскармливание значительно увеличивает риск развития у ребенка дисбактериоза кишечника [7, с. 2–40]. Поэтому в рецептуры многих смесей включены пробиотические микроорганизмы, обычно бифидобактерии и/или *L. acidophilus* [8, с. 50–57; 9, с. 20–174]. Примером адаптированных смесей с *L. acidophilus* служат «Агуша 1», «Ацидофильная малютка», «Кисломолочный грудничок» и другие, частично адаптированные — «Ацидомил» и «Агуша 2»,

неадаптированных — «Ацидолакт», «Биолакт», «Наринэ» и др.

Фармацевтические препараты и БАДы. Из фармацевтических и БАДов, содержащих *L. acidophilus*, известен препарат «Аципол», содержащий смесь четырех штаммов *L. acidophilus* и полисахарид кефирных грибов, который показал высокую эффективность при лечении острой инфекционной диареи, лактозной мальабсорбции и atopических заболеваний у детей и может применяться как профилактическое средство от антибиотикоассоциированной диареи, послеоперационных инфекций, септических состояний, диареи путешественников, а также при остром панкреатите и для снижения уровня холестерина в крови [10, с. 451–463].

Аналогичными свойствами обладают лечебно-профилактический биопрепарат и БАД по патенту РФ № 2257408 (смесь штаммов *L. acidophilus* AT-41 и *B. adolescentis* B-1, каждый в количестве 10^8 – 10^{10} КОЕ/капсулу), БАДы «Витафлор» и «Наринэ» (оба содержат монокультуру селективированных штаммов *L. acidophilus*), которые можно применять непосредственно или в качестве закваски для приготовления одноименных кисломолочных продуктов, и присутствующие сегодня на российском аптечном рынке препараты иностранного производства «Ацидофлора» (*L. acidophilus*, не менее 10^9 КОЕ/капсулу), «Вита Баланс 3000» (8 видов лактобацилл, включая *L. acidophilus*, а также *B. bifidum*, общее количество — 10^{10} КОЕ/капсулу), «Линекс» (*L. acidophilus*, *B. infantis*, *V. liberorum* и *S. faecium*, общее количество — не менее $1,2 \cdot 10^7$ КОЕ/капсулу) и «Пробио форте» (*L. acidophilus* BL 2027, *L. plantarum* 2203, *L. casei* BL 2401, *L. lactis* 2618 и *B. lactis* BL 2211, общее количество — $8 \cdot 10^9$ КОЕ/капсулу). В свою очередь, препарат «Солко Триховак», представляющий собой таблетированную инактивированную лиофилизированную биомассу *L. acidophilus*, специализирован для профилактики и лечения рецидивирующего неспецифического бактериального вагиноза и рецидивирующего трихомониаза у женщин [11, с. 52–54; 12, с. 6–8].

Явные преимущества вышеуказанных фармацевтических препаратов и БАДов перед кисломолочными продуктами, содержащими аналогичные пробиотические бактерии, заключаются в повышенной концентрации полезных бактерий, длительном сроке годности и меньшей требовательности к температурному режиму хранения. Их единственный, но весьма существенный недостаток — значительное повышение стоимости пробиотикотерапии и профилактики, проводимых с их использованием.

Кормовые добавки и ветеринарные препараты. Объективную сравнительную оценку благотворных свойств пробиотических продуктов и препаратов проще всего получить в опытах на животных. В этом

случае имеется возможность формировать представительные группы животных-аналогов, обеспечивать одинаковые условия их содержания и строго контролируемую диету, применять нелимитируемые дозировки испытуемых препаратов, исключить эффект плацебо, проводить всесторонний учет показателей здоровья животных, включая гистологический анализ внутренних органов. Поэтому исследования эффективности и безопасности пробиотиков обязательно включают в себя предварительный этап клинических испытаний на животных.

Уже первое поколение разработанных в нашей стране кормовых добавок пробиотического назначения (ацидофильная бульонная культура (АБК) и пропионово-ацидофильная бульонная культура (ПАБК)) дало положительные результаты при использовании в сельском хозяйстве (свиноводстве, овцеводстве, мясном и молочном животноводстве, пушном звероводстве, птицеводстве), а также при лечении домашних животных. Эффект выражался в снижении частоты и продолжительности желудочно-кишечных инфекций, повышении сохранности поголовья, увеличении продуктивности животных, снижении расходов на медикаменты [13, с. 250–255]. Особенно эффективным оказалось включение пробиотиков в кормовые рационы при выращивании молодняка сельскохозяйственных животных [14, с. 1–17; 15, с. 55–57].

Несмотря на общепринятую высокую оценку применения пробиотиков для профилактики и терапии домашних животных, имеется немало сообщений о слабом положительном эффекте или полном отсутствии такового [16, с. 37–38]. Причинами могут быть использование некачественных препаратов или биологическая несовместимость содержащихся в них пробиотических бактерий с индигенной микрофлорой или иммунной системой хозяина.

Особенно важно предусмотреть рациональное использование пробиотиков: выбор оптимального препарата с точки зрения цена/эффект, применение его ограниченными курсами в критические периоды жизни животных (новорожденным животным для «правильного» формирования кишечной микрофлоры, при угрозе желудочно-кишечных заболеваний, при переводе на новые кормовые рационы, для снятия последствий стресса при отъеме от матки, группировании стада, транспортировке, вакцинациях и т.п.).

Современный рынок пробиотических кормовых добавок и средств ветеринарного назначения в основном представлен сложными препаратами, нередко специализированными на определенный вид домашних животных.

Проблемы качества. Функциональная активность пробиотических продуктов и препаратов зависит от количественного содержания в них соответствующих полезных бактерий, что регламентируется действующими нормативами (ФЗ от 12.06.2008 № 88-ФЗ).

Однако в процессе хранения бактерии отмирают с той или иной скоростью. По сообщениям отечественных и зарубежных исследователей, от 15 до 50% продуктов и препаратов, присутствующих сегодня на мировых рынках сбыта в качестве пробиотических, не содержат заявленных пробиотических бактерий или содержат их в недостаточном количестве [17, с. 21–23].

Особенно остро обстоит дело с сухими препаратами длительных сроков годности (в частности с БАДами, реализуемыми с помощью сетевого маркетинга) из-за несоблюдения предписанных температурных режимов их транспортировки и хранения, отсутствия видимых показателей порчи и системы экспресс-контроля на пути к потребителю. Выходом могла бы стать практика нанесения производителем на потребительскую тару специальной метки, меняющей окраску синхронно с отмиранием бактерий.

Что касается кисломолочных напитков, обогащенных пробиотическими микроорганизмами, то их функциональная ценность определяется фактическим содержанием микроорганизмов заквасочной микрофлоры. Органы Роспотребнадзора проверяют качество данных продуктов, как и другой молочной продукции, лишь периодически. Поэтому здесь все зависит от добросовестности производителя, обязанного контролировать по этому показателю каждую партию выпускаемого продукта.

Наименьшую тревогу вызывают кисломолочные продукты, содержащие только пробиотическую микрофлору («Ацидофильное молоко», «Биолакт», «Бифилакт», «Наринэ»), так как все они имеют небольшой срок годности, а потребитель может достаточно объективно судить об их качестве по органолептическим показателям (вкусу, запаху, консистенции, отделению сыворотки).

Таким образом, практическое значение ацидофильной палочки, несмотря на некоторые трудности, вызывает постоянный интерес. Для возможности включения штаммов ацидофильной палочки в состав каких-либо продуктов или препаратов, помимо высокой биологической активности (пробиотические свойства, антагонизм и т.п.), она должна обладать высокой степенью *желчеустойчивости*.

Штаммы *L. acidophilus* существенно различаются по устойчивости к этому фактору. Так, в опытах [17, с. 21–23], моделирующих условия ЖКТ человека, было выявлено, что добавление в среды желчных солей снижает рост и антагонистическую активность по отношению к тест-культуре (*B. subtilis* ATCC 6633) у 5 из 10 исследованных коллекционных штаммов *L. acidophilus*, причем гликохолат натрия оказывал более сильный эффект, чем таурохолат натрия. В свою очередь, другие исследователи [18, с. 3045–3051] показали, что 5-суточный курс скормливания новорожденным телятам штамма *L. acidophilus* с высокой желчеустойчивостью привел к более высокой попу-

ляции этой бактерии в ЖКТ подопытных животных, по сравнению с аналогичным курсом приема штамма *L. acidophilus* с низкой желчеустойчивостью. Хотя и не обнаружено прямой связи между желчеустойчивостью и способностью штаммов *L. acidophilus* ассимилировать холестерин, некоторые исследователи [19, с. 905–911] полагают, что штаммы, обладающие (помимо способности ассимилировать холестерин и продуцировать бактериоцины) высокой устойчивостью к желчи, будут иметь преимущество при диетотерапии с целью снижения содержания холестерина в организме человека.

Для выявления наиболее перспективных для использования штаммов мы проверили коллекционные штаммы *L. acidophilus* на чувствительность к воздействию различных концентраций медицинской желчи. В качестве основных параметров, по которым оценивали влияние желчи, были взяты рост и кислотообразование штаммов ацидофильной палочки на среде БГМ.

Материалы и методы. Желчеустойчивость исследуемых штаммов ацидофильной палочки исследовали путем их выращивания на среде БГМ, содержащей 10, 20, 30 или 40% желчи. Для посева использовали 18-часовые культуры *L. acidophilus*, доза посевного материала составляла 1%, время инкубации — 48 часов при 37 °С. О росте культур судили по помутнению БГМ, изменению его pH и микроскопическому препарату. Контролем служил вариант БГМ без желчи. В опыте использовали желчь медицинскую консервированную производства ООО «Самсон-Мед». Исходное значение pH желчи 7,8. Перед использованием желчь стерилизовали в автоклаве 10 мин при 121 °С.

Результаты. Анализ результатов исследования показал, что высокую чувствительность к желчи проявил только один штамм — СКМ-505, у которого рост отсутствовал даже при наименьшей из испытанных концентраций желчи (табл. 1).

Все остальные штаммы *L. acidophilus* хорошо росли в присутствии от 10 до 30% концентрации желчи, причем у четырех штаммов (СКМ-497, СКМ-498, СКМ-500 и СКМ-504) рост в виде помутнения среды

обнаружился уже после 24 часов инкубирования, тогда как у остальных штаммов — лишь через 48 часов.

Наиболее устойчивыми к высокой концентрации желчи (40%) в субстрате оказались штаммы СКМ-492, СКМ-497, СКМ-499, СКМ-500, СКМ-501, СКМ-503 и СКМ-504; рост у штаммов СКМ-495, СКМ-498, СКМ-502 и СКМ-505 при высокой концентрации желчи отсутствовал (табл. 1).

Таблица 1

Рост штаммов *L. acidophilus*
при разной концентрации желчи

№	Штаммы <i>L. acidophilus</i>	Концентрация желчи, %				
		0	10	20	30	40
1	СКМ-492	+	+	+	+	+
2	СКМ-495	+	+	+	+	–
3	СКМ-497	+	+	+	+	+
4	СКМ-498	+	+	+	+	–
5	СКМ-499	+	+	+	+	+
6	СКМ-500	+	+	+	+	+
7	СКМ-501	+	+	+	+	+
8	СКМ-502	+	+	+	+	–
9	СКМ-503	+	+	+	+	+
10	СКМ-504	+	+	+	+	+
11	СКМ-505	+	–	–	–	–

Условные обозначения: «+» — рост есть; «–» — признаки роста отсутствуют.

Активная кислотность среды при культивировании исследуемых штаммов *L. acidophilus* варьировала на контроле (в исходных культурах) в среднем от 4,21 (штамм СКМ-504) до 4,91 (штамм СКМ-505). При культивировании всех штаммов без желчи (0%) значение активной кислотности среды снизилось и колебалось в среднем от 3,35 (штамм СКМ-502) до 4,49 (штамм СКМ-505). При выращивании штаммов ацидофильной палочки на БГМ с разными концентрациями желчи активная кислотность среды повысилась почти в 2 раза (табл. 2).

Таблица 2

Активная кислотность ацидофильной палочки при разных концентрациях желчи

№	Штаммы <i>L. acidophilus</i>	Концентрация желчи, %				
		0	10	20	30	40
1	СКМ-492	3,43±0,02	6,04±0,02	6,30±0,01	6,45±0,02	6,57±0,03
2	СКМ-495	3,80±0,01	6,05±0,65	6,60±0,01	6,50±0,01	6,59±0,02
3	СКМ-497	3,49±0,02	6,08±0,02	6,03±0,01	6,05±0,02	6,09±0,01
4	СКМ-498	3,56±0,01	5,78±0,02	5,85±0,01	5,74±0,01	6,54±0,01
5	СКМ-499	3,67±0,03	6,19±0,02	6,44±0,01	6,49±0,02	6,59±0,02
6	СКМ-500	4,08±0,02	6,29±0,02	6,30±0,02	6,48±0,02	6,68±0,03
7	СКМ-501	3,43±0,02	6,47±0,03	6,50±0,02	6,53±0,02	6,57±0,03

№	Штаммы <i>L. acidophilus</i>	Концентрация желчи, %				
		0	10	20	30	40
9	СКМ-503	3,74±0,01	6,19±0,02	6,49±0,01	6,64±0,02	6,64±0,02
10	СКМ-504	3,48±0,02	5,65±0,01	6,03±0,02	6,18±0,02	6,63±0,03
11	СКМ-505	4,49±0,03	6,66±0,01	6,72±0,02	6,70±0,02	6,69±0,01

Таким образом, 7 из 11 исследованных штаммов *L. acidophilus* проявили очень высокую степень желчеустойчивости (до 40%) и оказались перспективны-

ми для включения их в состав пробиотических продуктов и заквасок.

Библиографический список

1. Королева Н.С. Техническая микробиология кисломолочных продуктов. — М., 1975.
2. ТУ 9222-056-00419710-10. Напиток кисломолочный из сыворотки «Алтайское лето». — Барнаул, 2010.
3. Сергеева И.Я., Каган Я.Р., Отт Е.Ф., Иркитова А.Н. Пробиотический кисломолочный напиток на основе подсырной молочной сыворотки // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока. — Вып. 6. — Барнаул, 2009.
4. Каган Я.Р. Сыры с пробиотической микрофлорой // Сыроделие и маслоделие. — 2009. — № 2.
5. Янковский Д.С. Ассортимент заквасок и бакконцентратов УкрНИИмясомолпрома // Современная технология и безотходная переработка молока. — Ереван, 1989.
6. Коровина Н.А., Захарова И.Н., Костадинова В.Н. и др. Пребиотики и пробиотики при нарушениях кишечного микробиоценоза у детей. — М., 2004.
7. ОСТ 10-078-95 (РФ). Ацидолакт соевый для детского и диетического питания. Указатель государственных, республиканских, отраслевых стандартов, технических условий на продукцию молочной промышленности и методы испытаний, действующих в Российской Федерации (по состоянию на 01.01.2008). — М., 2008.
8. Мамонова Л.Х., Лизько Н.Н., Кривова С.Г., Копылова В.И. Формирование микрофлоры кишечника новорожденных при различных видах вскармливания // Теоретические и клинические аспекты науки о питании. — М., 1985. — Т. 6.
9. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. — Т. 3 : Пробиотики и функциональное питание. — М., 2001.
10. Vanderhoof J.A., Young R.J. Pediatric applications of probiotics // Gastroenterol Clin. North Am. — 2005. — Vol. 34.
11. Нетребенко О.К. Практика вскармливания детей первого года жизни в России // Детская больница. — 2001. — № 3.
12. Тихомирова Н.А. Становление и развитие отечественной индустрии детского питания на молочной основе // Молочная промышленность. — 2010. — № 5.
13. Шустер А.М., Мартыанов В.А., Ивашкина Н.Ю. и др. Возможности оптимизации пробиотиков на примере отечественного препарата Аципол® // Русский медицинский журнал. — 2009. — Т. 17, № 4.
14. Патент РФ № 2257408. Лечебно-профилактический биопрепарат на основе сухой биомассы бифидо- и лактобактерий, биологически активная добавка к пище на основе сухой биомассы бифидо- и лактобактерий, сухая биомасса бифидо- и лактобактерий и способ ее получения / В.Ф. Семенихина, В.И. Ганина, Р.П. Чупринина, В.Ф. Иноземцев, М.Б. Сундукова.
15. Антипов В.А., Субботин В.М. Эффективность и перспективы применения пробиотиков // Ветеринария. — 1980. — № 12.
16. Яшков Е.В., Черный Н.А. Применение сухого ацидофилина в ветеринарии // Свиноводство. — 1982. — № 9.
17. Gedek B. Probiotics in animal feeding: effects of performance and animal health // Feed Magazine. — 1987. — № 3.
18. Gilliland S.E., Bush L.J., Staley T.E. Importance of Bile Tolerance of *Lactobacillus acidophilus* Used as a Dietary Adjunct // Journal of Dairy Science. — 1984. — Vol. 67, № 3.
19. Gilliland S.E., Walker D.K. Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans // Journal of Dairy Science. — 1990. — Vol. 73, № 4.