

УДК 637 [146+ 136.5]

**АНАЛІЗ ВИКОРИСТАННЯ ЗАКВАШУВАЛЬНИХ КУЛЬТУР,
ЗДАТНИХ ДО СИНТЕЗУ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ, ПРИ ФЕРМЕНТАЦІЇ МОЛОКА****Боднарчук О. В.**, к.т.н., с.н.с. зав.відділу*Відділ аналітичних досліджень та якості харчової продукції*
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна
ORCID 0000-0002-9521-0662**Якубенко О. Б.**, аспірант, н.с.*Відділ аналітичних досліджень та якості харчової продукції*
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна
ORCID 0000-0003-0881-5119**Петров П. І.**, в.о. заст. зав.відділу*Відділ аналітичних досліджень та якості харчової продукції*
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна
ORCID 0000-0002-0736-3547**Насирова Г. Ф.**, к.б.н., с.н.с.*Відділ аналітичних досліджень та якості харчової продукції*
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна
ORCID 0000-0003-4357-797X<https://doi.org/10.31073/foodresources2019-13-02>

Серед продуктів метаболізму молочнокислих бактерій в останні роки об'єктом підвищеної уваги стали екзополісахариди (ЕПС) – зважаючи на їхню потенційну користь та роль у структуроутворенні кислomолочних продуктів, подібну до гелеутворюючих агентів. Екзополісахариди бактерій володіють унікальними фізико-хімічними, біологічними та функціонально-технологічними властивостями. Завдяки суспендуючим та емульгуючим властивостям та високій вологозв'язуючій здатності, ЕПС можуть модифікувати реологічні характеристики продуктів та сприяють зменшенню кількості виділеної сироватки під час виробництва і в готових продуктах, тим самим, збільшуючи терміни їх придатності. Також, екзополісахаридна капсула є фактором, який бере участь в механізмі резистентності клітини до адгезії бактеріофагами і подальшого лізису клітини. Використання штамів молочнокислих бактерій, здатних до продукування ЕПС, може підвищити стійкість заквашувальних культур до бактеріофагів. ЕПС, синтезовані бактеріями, виконують в організмі людини ряд важливих біологічних функцій – приймають участь у активізації захисних сил організму, впливаючи на концентрацію цитокінів у крові і підвищуючи стійкість організму до вірусних і бактеріальних інфекцій, мають здатність до зв'язування вільних радикалів, що визначає їх антиоксидантну дію, а також мають протизапальну та протипухлинну дію. Аналіз публікацій показав, що властивості до синтезу ЕПС у молочнокислих бактерій спостерігається при відхиленні умов культивування – зміні температури або складу поживного середовища. Використання штамів бактерій, здатних до синтезу ЕПС, при виробництві молочної продукції, дозволяє поліпшувати їх реологічні властивості, підвищувати масову частку вологи та вихід готової продукції, особливо, у випадку низько жирних сирів. Екзополісахариди можуть бути не тільки природнім альтернативним джерелом харчових добавок, але також сприяти адгезії корисних мікроорганізм на стінках кишечника.

Ключові слова: біосинтез екзополісахаридів, заквашувальні культури, ферментація молока.

ANALYSIS OF THE USE OF EXOPOLYSACCHARIDES PRODUCING STARTER CULTURES IN THE FERMENTATION OF MILK

Bodnarchuk Oksana, PhD, The Head of Department,
Department of Analytical Research and Food Quality,
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID 0000-0002-9521-0662

Yakubenko Olga, PhD-student, Researcher,
Department of Analytical Research and Food Quality,
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID 0000-0003-0881-5119

Petrov Pylyp, Deputy Head, Researcher
Department of Analytical Research and Food Quality,
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID 0000-0002-0736-3547

Nasyrova Hiuzel, PhD, Researcher,
Department of Analytical Research and Food Quality,
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID 0000-0003-4357-797X

<https://doi.org/10.31073/foodresources2019-13-02>

Among the products of metabolism of lactic acid bacteria, exopolysaccharides (EPSs) have received increasing attention in recent years, due to their potential benefit and role in the structure of fermented milk products similar to gel-forming agents. Exopolysaccharides of bacteria have unique physic-chemical, biological and functional-technological properties. Owing to their suspending and emulsifying properties and high water-binding power EPSs can modify the rheological characteristics of products and contribute to reducing the amount of segregated serum during production and in finished products, thereby increasing their shelf life. Also, the EPS capsule of lactobacilli is a factor involved in the mechanism of cell resistance to bacteriophage adhesion and subsequent cell lysis. The use of strains of lactic acid bacteria capable for producing EPSs can increase the resistance to bacteriophages. EPSs synthesized by lactobacteria perform a number of important biological functions in the human body - they take part in activating the body's defenses, affecting the concentration of cytokines in the blood and increasing the body's resistance to viral and bacterial infections, and have the ability to bind free radicals, which determines their antioxidant activity and also has anti-inflammatory and antitumor action. Analysis of the publications showed that the manifestation of the property for the synthesis of EPS in lactobacteria is observed when the conditions of cultivation are changed – changes in temperature or composition of the nutrient medium. The use of EPS-producing bacteria strains in the production of dairy products, can improve their rheological properties, increase the mass fraction of moisture and yield of finished products, especially in the case of low fat cheeses. Exopolysaccharides can be not only a natural alternative source of nutritional supplements, but also promote the adhesion of beneficial microorganisms on the intestinal walls.

Keywords: biosynthesis of exopolysaccharides, starter cultures, fermentation of milk.

Вступ. В останні роки збільшується обсяг виробництва кисломолочних продуктів з тривалим терміном зберігання. При цьому набуває значення стабільність показників якості кисломолочних продуктів протягом усього терміну зберігання та їх реологічні властивості. Важливого значення набуває відбір культур лактобактерій зі зниженою кислоутворюючою активністю в процесі зберігання. Для поліпшення реологічних

показників кисломолочних продуктів та збільшення терміну їх придатності застосовують різні полісахариди як синтетичного, так і природного походження.

Серед продуктів метаболізму молочнокислих бактерій в останні роки підвищену увагу отримали екзополісахариди (ЕПС), через їхню потенційну користь та роль у структуроутворенні кисломолочних продуктів, подібну до гелеутворюючих агентів (ксантан, гелан, пулулан та ін.) та стабілізаторів рослинного походження [1-5]. Через високу вологозв'язуючу здатність, ЕПС сприяють зменшенню кількості виділеної сироватки під час виробництва і в готових продуктах, тим самим, збільшуючи терміни їх придатності [1-3,6-8]. У зв'язку з цим, сьогодні приділяється велика увага заквашувальним культурам молочнокислих бактерій, що синтезують ЕПС, які можуть поліпшувати реологічні властивості кисломолочних продуктів [9-10].

Екзополісахариди бактерій володіють унікальними фізико-хімічними, біологічними та функціонально-технологічними властивостями [11]. Завдяки суспендуючим та емульгуючим властивостям, ЕПС можуть модифікувати реологічні характеристики продуктів. ЕПС бактеріального походження найбільш перспективні з точки зору біотехнології в порівнянні з полісахаридами рослинного і тваринного походження. Це можливо пояснити тим, що бактеріальні ЕПС отримують в потрібній кількості незалежно від сезону року і кліматичних умов (на відміну від полісахаридів рослинного походження), а також можливо регулювати їх властивості в залежності від умов культивування бактерій [12]. Також, завдяки відносній дешевизні їх виробництва, використання бактеріальних ЕПС економічно більш вигідно, в тому числі тому що мікроорганізми здатні продукувати ЕПС в великому обсязі на відходах деяких виробництв. Окрім цього, бактеріальні ЕПС унікальні тим, що до їх складу входять моноцукри, які відсутні в полісахаридах іншого походження [11, 13-14].

Такі показники готової продукції, як якість і безпечність, формуються на всіх етапах технологічного циклу отримання продукту. Для забезпечення стандартних характеристик різноманітних ферментованих молочних продуктів важливим етапом є отримання та застосування заквашувальної культури молочнокислих бактерій із заданими властивостями. На сьогодні, актуальною залишаються проблема запобігання інфікування заквашувальної культури бактеріофагами, які зустрічаються на підприємствах молочної галузі. Результати досліджень свідчать, що екзополісахаридна капсула лактобактерій є фактором, який бере участь в механізмі резистентності клітини до адгезії бактеріофагами і подальшого лізису клітини. Таким чином, використовуючи штами молочнокислих бактерій з підвищеною здатністю до продукування ЕПС, можна підвищити стійкість заквашувальних культур до бактеріофагів [4-5,15].

ЕПС, синтезовані молочнокислими бактеріями, виконують в організмі людини ряд важливих біологічних функцій – беруть участь у активізації захисних сил організму, впливаючи на концентрацію цитокінів у крові і підвищуючи стійкість організму до вірусних і бактеріальних інфекцій, мають здатність до зв'язування вільних радикалів, що визначає їх антиоксидантну дію, а також мають протизапальну та протипухлинну дію [9-10]. Також, дослідниками висунуто гіпотезу, що штамам молочнокислих бактерій, здатних до синтезу ЕПС, властива адгезія на стінках кишечника [14,16].

Метою роботи є аналіз літературних джерел щодо використання молочнокислої мікрофлори, здатної до синтезу екзополісахаридів, при ферментації молочної сировини.

Матеріали та методи. У даній роботі використано відомі методи пошуку та аналізування наукових робіт.

Результати дослідження. До синтезу ЕПС здатні різноманітні мікроорганізми, у тому числі молочнокислі. ЕПС мікроорганізмів відрізняються за будовою, фізико-хімічними, біологічними властивостями, а також локалізацією їх в клітинах. Штами молочнокислих бактерій різних таксонів, що здатні до синтезу ЕПС, мають різний склад і

розмір відповідних плазмід у своєму геномі. Втім, вихід цих біополімерів у різних продуцентів варіює в широких межах залежно від умов їх культивування.

Полісахаридам (ПС) властива первинна, вторинна, третинна і четвертинна структура. Первинна структура полісахаридів – це ланцюгова структура із мономерів. Вона буває лінійної або, в різній мірі, розгалуженої форми. Полісахариди з однаковими мономерами носять назву гліканів. Лінійні ланцюги характерні для таких гліканів як хітин, целюлоза, а також для структурних гліканів тваринних тканин, що виконують допоміжну функцію (глюкозаміноглікани) [6].

Вторинна структура – орієнтація ланцюгів полімерів в просторі з урахуванням ковалентних зв'язків між мономерними одиницями. зустрічаються У целюлози і хітину жорсткі просторові ланцюгові структури пояснюються численними водневими зв'язками вздовж ланцюга з мономерів β -D-глюкози. Рухливість всього ланцюга даних полісахаридів залежить від співвідношення гнучких і жорстких ділянок в ньому. Спиральні структури утворюють наступні глікани: α -амілоза, гіалуронова кислота, агароза, карагінан [7,9].

Третинна структура – це просторова структура спіралей полісахаридів або розташування полімерних ланцюгів в просторі. Можна виділити кілька поширених третинних структур гліканів. Жорсткі волокна формуються у целюлози і хітину із згорнутих дволанцюжкових стрічок. Гнучкі волокна в клітинних стінках деяких водоростей утворені з правообертальних потрійних спіралей D-ксилана, що стабілізовані міжланцюговими водневими зв'язками [7,9].

Четвертинна структура – наступний етап просторової організації полісахаридів, який характеризується утворенням агрегатів полісахаридів при взаємодії їх третинних структур. Запасні полісахариди, такі як амілопектин, глікоген, декстрини утворюють складні структури глобулярної форми. Рихлі, неупорядковані структури характерні для допоміжних структурних гліканів рослин, таких, як геміцелюлози і протопектини. Просторово-сітчасті рихлі структури, нитки яких складаються з безлічі спіралей, притаманні гелеутворюючим кислим полісахаридам – агар-агару, карагінану, альгіну, розчинним пектинам. Просторово-неупорядковані рухливі структури характерні для гіалуронової кислоти [7,9].

Першочергова функція ПС – захисна, але, крім неї, ці полімери виконують ряд інших важливих функцій: енергетичну, механічну, транспортну, модифікувальну та ін. Відповідно до цього була створена класифікація мікробних ПС.

Перша група – це клітинні ПС, які по функціонально топологічним ознаками діляться на структурні, структурно-метаболичні (присутні в клітинній стінці) і резервні. Структурні полісахариди формують у середині пластинку, первинну і вторинні стінки, що розрізняються функціональним призначенням, будовою та складом. Вони генетично детерміновані. Структурні полісахариди визначають антигенні особливості виду бактерій [6,9].

До другої групи відносять позаклітинні ПС. В результаті виробництва великої кількості структурно-метаболичних полісахаридів утворюється капсула і глікани, які можуть виходити в культуральну рідину. Такі полісахариди називають позаклітинними або екзогенними [9].

Полісахариди зовнішньої мембрани, а також капсульні полісахариди зумовлюють серологічну специфічність бактерій. Завдяки знаходженню на поверхні бактерій гліканів, вони здатні вступати в реакції з імунними клітинами організму людини і тварин. Полісахариди, які перебувають на зовнішній мембрані, володіють достатньою резистентністю, тому вони стійкі до фагоцитозу і розщепленню ферментами. За допомогою молекулярно-біологічних досліджень встановлено, що глікани, що локалізуються на зовнішній мембрані клітин бактерій, беруть участь в таких процесах як

клітинне впізнавання. Цим полісахаридам притаманні унікальні імуннохімічні та фармакологічні властивості [9].

Відповідно до якісного складу, ЕПС класифікують на дві групи: **гомо-ЕПС**, що складаються з моносахаридів одного типу (α -D-глюкани, β -D-глюкани, фруктани та полігалактан) і **гетеро-ЕПС**, що складаються, головним чином, з різних типів моносахаридів – D-глюкози, D-галактози, L-рамнози та їх похідних [17-18].

Відмінності між окремими гомо-ЕПС виникають через особливості їх первинної структури, така як структура зв'язків головного ланцюга, молекулярна маса та структура розгалужень. Молочнокислі бактерії синтезують дві важливі групи гомо-ЕПС:

- **α -глюкани**, які в основному складаються з α -1,6- та α -1,3, пов'язаних із залишками глюкози, а саме з декстринами (продукуються, наприклад, *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* та *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*) та **мутани**, що продукуються *Streptococcus mutans* та *Streptococcus sobrinus*;

- **фруктани**, які в основному складаються з β -2,6-зв'язаних молекул фруктози, таких як леван (продукується *Streptococcus salivarius*) [17,19].

В свою чергу, хімічний склад гетеро-ЕПС демонструє більшу мінливість. Гетеро-ЕПС-виробляються штамми *Streptococcus thermophilus* (здатні синтезувати 50-350 мг/л в умовах промислової ферментації), *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (80-600 мг/л), *Lactobacillus delbrueckii* (60-150 мг/л) та *Lactobacillus casei* (50-60 мг/л) та іншими молочнокислими бактеріями. Склад моносахаридних субодиниць і структурних елементів гетеро-ЕПС не вважається видоспецифічною ознакою, за винятком випадку *Lactobacillus kefiranofaciens subsp. kefiranofaciens*.

Гомо-ЕПС синтезуються за допомогою позаклітинної специфічної глікозилтрансферази (ГТФ) або фермента фруктозилтрансферази (ФТФ) (зазвичай їх називають глюканцукразами або фруктан-цукразами). Молочнокислі бактерії, здатні до синтезу гомо-ЕПС, також використовують позаклітинні ферменти ГТФ для синтезу високомолекулярних α -глюканів із сахарози. В цьому процесі сахароза використовується як специфічний субстрат і енергія, необхідна для процесу, надходить в результаті її гідролізу [17].

В свою чергу, гетеро-ЕПС не синтезуються за допомогою позаклітинних ферментів, а натомість синтезуються складною послідовністю взаємодій із залученням внутрішньоклітинних ферментів. Гетеро-ЕПС утворюються шляхом полімеризації структурних одиниць, які, в свою чергу, утворюються в результаті серії додавання цукрів на цитоплазматичну мембрану. Сахароза є вихідним матеріалом для синтезу цього ланцюга. Штами бактерій можуть використовувати різні моносахариди та дисахариди як джерела енергії завдяки деяким добре вивченим систем поглинання цукру, які включають системи первинного транспорту, пряме сполучення транслокації цукру з гідролізом АТФ через транспорт-специфічну АТФазу; вторинні системи транспорту цукру, які сполучають транспорт цукру з транспортом іонів або інших розчинників, у вигляді як симпортних, так і антипортних транспортних систем; системи групової транслокації, які сполучають транспорт цукру та фосфорилування через фосфоенолпіруват-залежну систему фосфотрансферази (PEP-PTS) [15, 17].

Штами *Lactococcus lactis* мають лактоза-специфічну систему транспортування цукру PEP-PTS, яка імпортує позаклітинну лактозу, внаслідок чого збільшується вміст внутрішньоклітинного лактоза-6-фосфату. Лактоза-6-фосфат потім гідролізується, і галактозо-6-фосфатний фрагмент метаболізується шляхом тагатози-6P [17].

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus та *Streptococcus thermophilus*, як правило, галактозонегативні і поглинають лактозу за допомогою антипорту лактоза/галактоза. Частина глюкози з імпортованої лактози ферментується цими штамми, тоді як галактозна частина виділяється через антипортну систему лактоза/галактоза. Після додавання структурних одиниць гетеро-ЕПС, блок експортується через мембрану клітини і

полімеризується в кінцевий гетеро-ЕПС. Таким чином, у біосинтезі гетеро-ЕПС беруть участь декілька ферментів і білків [17].

У непатогенних бактерій, як видоспецифічна ознака, поширена капсулоутворююча здатність. Це свідчить про наявність у капсульних полісахаридів численних функцій, в тому числі забезпечення споживання різноманітних речовин з оточуючого середовища і видалення за межі бактеріальної клітини непотрібних продуктів метаболізму [5, 12].

Поживна функція – одна з найважливіших у екзополісахаридів [2]. ЕПС бактерій належать до другорядних метаболітів, вони є продуктами метаболізму, які утворюються внаслідок дії первинних метаболітів-ферментів. Окремі автори вважають, що відбір умов (температура і склад поживного середовища), за яких культивують штами молочнокислих бактерій, прямо впливає на здатність до синтезу ЕПС [2]. Так, при культивуванні на знежиреному молоці кількість штамів *Streptococcus thermophilus*, здатного до синтезу ЕПС, збільшувалася як при зниженні температури культивування з $t=37\pm 1^{\circ}\text{C}$ до $t=32\pm 1^{\circ}\text{C}$ (на 26%), так і при збільшенні температури до $t=42\pm 1^{\circ}\text{C}$ (на 32%) [2, 20]. Порівняно з культивуванням в знежиреному молоці, кількість штамів, які синтезують ЕПС у гідролізованому молоці при $t=32\pm 1^{\circ}\text{C}$ зменшилася на 9%; $t=37\pm 1^{\circ}\text{C}$ – на 15% і $t=42\pm 1^{\circ}\text{C}$ – на 15%, що вказує на зниження кількості штамів, здатні до синтезу ЕПС термофільного стрептокока при більш сприятливих умовах їх ферментації [2, 5, 21].

Також, штами *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* не виявляли здатності до синтезу ЕПС при оптимальній температурі розвитку ($t=42\pm 1^{\circ}\text{C}$), але проявляли її при зниженні температури на 5°C , як на знежиреному молоці, так і на гідролізованому молоці. Відзначено, що зниження температури на 10°C призводило до втрати даної властивості. У штамів *Lactobacillus acidophilus* при різних умовах культивування здатність до синтезу ЕПС не визначена [2, 10].

Результати дослідження штамів *Lactococcus lactis* показали, що вони зберігали здатність до синтезу ЕПС у рівній мірі при збільшенні або зменшенні температури за умов їх культивування на знежиреному молоці. У гідролізованому молоці ці бактерії втрачали властивість синтезувати ЕПС, окрім штаму *Lactococcus lactis subsp. lactis LLN-E2*, який зберігав здатність до синтезу ЕПС в різних умовах [22-23].

Таким чином, дані, отримані різними групами дослідників, підтверджують гіпотезу, що наявність екзополісахаридної капсули виконує захисну функцію для деяких штамів молочнокислих бактерій. Прояв властивості до синтезу ЕПС спостерігається при відхиленні умов культивування – зміні температури або складу поживного середовища [2, 11, 13].

Однією з найбільш досліджених бактерій в аспекті ферментації молока за допомогою штамів, здатних до синтезу ЕПС є *Streptococcus thermophilus* [2, 11, 13]. Дослідження 36 штамів показало, що у 13,88% кількість синтезованих екзополісахаридів складала менше 50 мг/дм^3 ; у 55,55% перебувала в межах від 50 до 100 мг/дм^3 у 30,55% штамів – від 100 до 150 мг/дм^3 .

Аналіз експериментальних показів у 66,66% з 36 досліджених штамів молочнокислих бактерій *Streptococcus thermophilus* тривалість сквашування становила від 4 до 6 год, у 22,22% штамів – від 6 до 7 год, у 11,11% – більше 7 год. Далі визначали активну кислотність згустків, утворених штамами *Streptococcus thermophilus*. У 19,44% досліджуваних штамів рН за 8 годин сквашування склав менше 4,4 од. рН, у 77,77% - в межах від 4,4-4,8 од. рН, у 2,77% – більше 4,8 од. рН. [2, 11, 13].

В ході експерименту було встановлено, що у 44,44% досліджуваних штамів умовна в'язкість була менше 60 с, у 38,88% – від 60 до 100 с, у 16,66% – більша 100 с. Проте, між значеннями умовної в'язкості та кількістю синтезованого екзополісахариду не встановлено високої кореляції (0,49) [11, 13].

Показники постокисної активності при зберіганні культур протягом 28 діб, у 36 штамів *Streptococcus thermophilus* виглядали наступним чином: в 41,66% випадках

зниження значень активної кислотності склало від 0,10-0,30 од. рН, в 22,22% випадках зниження значень склало від 0,30-0,40 од. рН, в 36,11% понад 0,40 од. рН. Через 28 діб зберігання активна кислотність складала у 44,44% штамів – 4,50-4,22 од. рН, у 36,11% штамів – 4,22-3,97 од. рН, у 19,44% штамів – менш 3,97 од. рН. [2, 11, 13].

Проведення аналізу експериментальних даних ферментації молока 10 штамми *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, здатних до синтезу ЕПС, показало, що найбільший рівень синтезу екзополісахаридів – від 62,6 до 68,4 мг/дм³ – був властивий 30% штамів, середній рівень – 43,3 до 58,6 мг/дм³ – 30% штамів, а найменший рівень – від 33,2 до 40,1 мг/дм³ – у останніх 40%. [2, 11, 13].

Дослідження умовної в'язкості показали, що найнижча була у 50% штамів (від 15,1с до 22,1 с), а висока умовна в'язкість (від 40,0 с до 56,3 с) була властива другій половині. Коефіцієнт кореляції кількості синтезованих екзополісахаридів і умовної в'язкості у *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* склав 0,98, що говорить про високу кореляційну залежність між цими показниками. [15, 24].

Активність сквашування у 60,0% досліджуваних штамів *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* склала від 5 до 6 год, у 40,0% – понад 6 год. Найбільш сильною кислотноутворюючою здатністю володіли всього 3 штами з 10 – через 8 годин ферментації значення сягали 3,85–3,95 од. рН. Помірною кислотноутворюючою здатністю володіли 40% досліджених штамів – значення коливалися в діапазоні 4,50–4,85 од. рН. [1, 2, 9]. Після 28 діб зберігання визначено, що в 30% випадках зниження значень активної кислотності склало від 0,10 од. рН до 0,30 од. рН, в 20% випадках зниження значень склало від 0,30 од. рН до 0,50 од. рН, в 50% випадках зміна склала більше 0,50 од. рН. Після 28-ми діб зберігання у 30% штамів активна кислотність дорівнювала 4,50-4,00 од. рН, у 40% штамів – 4,00-3,50 од. рН, у 30% штамів – менше 3,50 од. рН. [2, 11, 13, 15, 24].

Результати проведених досліджень можна використовувати для селекції необхідних штамів молочнокислих бактерій, здатних для синтезу ЕПС, з метою отримання кисломолочного продукту з заданими властивостями. Так, авторами було відібрано 10 штамів *Streptococcus thermophilus* з низькою постокисною активністю, зниження якої складало не більше 0,25 од. рН, з кількість синтезованих екзополісахаридів не менше 100 мг/дм³, зквашували молоко за 4-5 годин до значень рН 4,4-4,5 та володіли умовною в'язкістю понад 90 с. Також, за подібним підходом було обрано 3 штами *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* (табл. 1)

Таблиця 1

Порівняльний аналіз штамів *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*, здатних до синтезу ЕПС, при ферментації молока [11, 13]

Номер штаму	Активність, год.	Активна кислотність	Умовна в'язкість, с	Постокисна активність, рН ±Δ	Кількість екзополісахаридів, мг/дм ³
<i>Streptococcus thermophilus</i>					
48	5,1±0,1	4,44±0,03	95,0±11,3	0,22	150,1±9,2
132	5,1±0,1	4,46±0,06	103,6±6,3	0,15	126,0±11,3
165	4,1±0,1	4,46±0,09	118,6±3,6	0,13	143,3±6,4
1тч	4,3±0,2	4,44±0,02	99,7±2,9	0,21	100,0±9,4
2кс	4,2±0,2	4,48±0,03	128,6±4,6	0,20	147,1±6,1
14т	5,0±0,1	4,54±0,02	105,0±5,7	0,23	143,1±2,2
St.H	5,0±0,1	4,50±0,01	103,0±4,2	0,14	141,1±5,4
BC	4,0±0,1	4,48±0,01	101,0±3,0	0,25	84,6±6,6
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>					
52	5,1±0,1	4,60±0,04	15,1±3,2	0,26	33,2±4,1
6B1	5,2±0,1	4,85±0,06	51,3±2,2	0,46	58,6±4,2
И10	5,0±0,2	4,63±0,11	16,6±3,1	0,49	36,4±5,1

Переробники молока в багатьох країнах використовують заквашувальні культури зі здатністю до синтезу ЕПС для контролю синерезису в йогурті. Особливо, ця практика поширена в країнах, де додавання стабілізаторів рослинного або тваринного походження заборонене, або в умовах переробки органічного молока. На сьогоднішній день, застосування таких культур стає необхідним при врахуванні сучасних уподобань споживачів на прикладі продуктів із нижчим рівнем цукру та жиру та з відсутністю харчових добавок [5]. Проте, окрім широкого застосування молочнокислих бактерій, здатних до синтезу ЕПС, у виробництві йогурту та інших кисломолочних продуктів, окремі виробники використовують такі штами для поліпшення текстури та функціональності сирів. В даному випадку, можливості застосування таких бактерій у сироварінні обмежувалися тим, що ЕПС часто накопичуються в сирній сироватці, тим самим збільшуючи її в'язкість. Це є небажаним ефектом, оскільки він затримує ефективність обробки через мембрани та уповільнює процеси концентрування та сушіння сироваткового білка [5, 25].

Попит споживачів на продукти зі зменшеним вмістом жиру стимулював розроблення нежирних сирів. Проте, зменшення масової частки жиру несе кілька небажаних ефектів на фізичні властивості сиру. На прикладі нежирної моцарели, це, в першу чергу, зменшення масової частки вологи в результаті зменшення доступного місця для утримування вологи. Оскільки ЕПС мають відмінні водозв'язуючі властивості, використання бактерій, здатних до їх синтезу, дозволяє статистично достовірно підвищити рівно масової частки вологи в сирі моцарелла [5, 26-27].

Висновки. Аналіз публікацій показав, що наявність екзополісахаридної капсули виконує захисну функцію для деяких штамів молочнокислих бактерій. Прояв властивості до синтезу ЕПС спостерігається при відхиленні умов культивування – зміні температури або складу поживного середовища. Штами *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* не виявляли здатності до синтезу ЕПС при оптимальній температурі розвитку ($t=42\pm 1^\circ\text{C}$), але проявляли її при зниженні температури на 5°C , як на знежиреному молоці, так і на гідролізованому молоці. Штами *Lactococcus lactis* зберігали здатність до синтезу ЕПС при зміні температури у рівній мірі при їх розвитку в знежиреному молоці, але втрачали її у гідролізованому молоці.

Використання штамів бактерій, здатних до синтезу ЕПС, при виробництві молочної продукції, дозволяє поліпшувати їх реологічні властивості, підвищувати масову частку вологи та вихід готової продукції, особливо, у випадку низько жирних сирів. Екзополісахариди можуть бути не тільки природним альтернативним джерелом харчових добавок, але також сприяти адгезії корисних мікроорганізм на стінках кишечника. Подальші дослідження генів та генних кластерів покращать розуміння про еволюцію, фізіологічну роль та біологію синтезу ЕПС молочнокислими бактеріями, що дозволить створювати нові ЕПС для харчової промисловості з заданими та унікальними властивостями.

Бібліографія

1. Правдивцева М. И., Горельникова Е. А., Абросимова О. В. Оценка влияния экзополисахаридов молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus* на фагоцитарную активность макрофагов белых мышей. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. № 13. С.1-5.
2. Рожкова Т. В. Биотехнология стартовых культур на основе молочнокислых бактерий, синтезирующих полисахариды: дис. канд. тех. наук: 05.18.07. Москва, 2006. 23 с.
3. Abid, Y., Casillo, A., Gharsallah, H., Joulak, I., Lanzetta, R., Corsaro, M., ... & Azabou, S. Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria. International journal of biological macromolecules. 2018. 108, P.719-728.

4. Collic-Jouault, S., Roger, O., Ratiskol, J., Helley, D., Sinquin, C., Bros, A., ... & Guezennec, J. Bioactive bacterial exopolysaccharides: modification, characterization and preliminary results on biological activity. Actes de colloques-IFREMER. 2003. P.141-147.
5. Broadbent, J., McMahon, D., Welker, D., Oberg, C., & Moineau, S. Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review. Journal of dairy science. 2003. 86(2), P.407-423.
6. Ермольева З. В., Вайсберг Г. Е. Стимуляция неспецифической резистентности организма и бактериальные полисахариды. М.: Медицина, 1976. 184 с.
7. Кичемазова Н. В. Экзополисахариды бактерий родов *Xanthobacter* и *Ancylobacter*: характеристика и их биологические свойства: дис. канд. биол. наук: 03.02.03. Саратов, 2019. 94 с.
8. Захарова И. Я., Косенко Л. В. Методы изучения микробных полисахаридов. Киев: Наукова думка, 1982. 192 с.
9. Kitazawa, H., Ishii, Y., Uemura, J., Kawai, Y., Saito, T., Kaneko, T., ... & Itoh, T. Augmentation of macrophage functions by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Food Microbiology. 2000. 17(1), P.109-118.
10. Makino, S., Ikegami, S., Kano, H., Sashihara, T., Sugano, H., Horiuchi, H., ... & Oda, M. Immunomodulatory effects of polysaccharides produced by *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* OLL1073R-1. Journal of Dairy Science. 2006. 89(8), P.2873-2881.
11. Абрамова А. Н. Исследование штаммов термофильного стрептококков по количеству синтеза ЭПС и получению повышенной вязкости. Научное обеспечение молочной промышленности. 2009. С. 4-7.
12. Chen, W., Zhao, Z., Chen, S. F., & Li, Y. Q. Optimization for the production of exopolysaccharide from *Fomes fomentarius* in submerged culture and its antitumor effect in vitro. Bioresource technology. 2008. 99(8), P.3187-3194.
13. Абрамова А. Н., Семешкина В. Ф. Подбор штаммов термофильного стрептокока продуцированного ЭПС для улучшения качества йогурта. Живые системы и биологическая безопасность населения. 2008. С. 171-173.
14. Правдивцева М. И. Карпунина Л. В., Нурмухамедов А.В. Влияние лаксарана Z на микрофлору толстого отдела кишечника самок крыс в условиях иммобилизационного стресса. Успехи современного естествознания. 2009. № 8. 101-101с.
15. De Vuyst, L., De Vin, F., Vainangelgem, F., & Degeest, B. Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. International Dairy Journal. 2001. 11(9), P.687-707.
16. Nagaoka, M., Hashimoto, S., Watanabe, T., Yokokura, T., & Mori, Y. Anti-ulcer effects of lactic acid bacteria and their cell wall polysaccharides. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 1994. 17(8), P.1012-1017.
17. Harutoshi, T. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria for food and colon health applications. Lactic acid bacteria-R & D for food, health and livestock purposes. 2013. Intech Open, P515-538.
18. Mayo, B., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Fernández, M., Kowalczyk, M., Álvarez-Martín, P., & Bardowski, J. Updates in the metabolism of lactic acid bacteria. Dalam: Mozzi, F., Raya, R, R, dan Vignolo, GM (ed). Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel Application, 2010. P.3-33.
19. Cerning, J. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Reviews. 1990. 7(1-2), P.113-130.
20. Sutherland, I. Novel and established applications of microbial polysaccharides. Trends in biotechnology. 1998. 16(1), P.41-46.
21. Vinderola, G., Perdigón, G., Duarte, J., Farnworth, E., & Matar, C. Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* on the gut mucosal immunity. Cytokine. 2006. 36(5-6), P. 254-260.

22. Ricciardi, A., & Clementi, F. (). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: structure, production and technological applications. *Italian Journal of Food Science*. 2000. 12(1), P.23-45.

23. Stingle F., Neeser J., Mollet B. Nestle'. Identification and Characterization of the EPS (Exopolysaccharide). Gene Cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6. *Journal of Bacteriology*. Mar. 1996. P. 1680–1690.

24. Jung, H., Hong, J., Park, S., Park, B., Nam, D., & Kim, S. Production and physicochemical characterization of β -glucan produced by *Paenibacillus polymyxa* JB115. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2007. 12(6), P.713-719.

25. Petersen, B., Dave, R., McMahon, D., Oberg, C., & Broadbent, J. Influence of capsular and rropy exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* on Mozzarella cheese and cheese whey. *Journal of Dairy Science*. 2000. 83(9), P. 1952-1956.

26. McMahon, D., & Oberg, C. Influence of fat, moisture and salt on functional properties of Mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*. 1998. 53(2), P. 98.

27. Perry, D., McMahon, D., & Oberg, C. Effect of exopolysaccharide-producing cultures on moisture retention in low fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*. 1997. 80(5), P. 799-805.

References

1. Pravdivtseva M. I., Gorel'nikova E. A., Abrosimova O. V. (2011). Otsenka vliyaniya ekzopolisakharidov molochnokislykh bakteriy roda *Lactobacillus* na fagotsitarnuyu aktivnost' makrofagov belykh myshey [Assessment of the effect of exopolysaccharides of lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* on the phagocytic activity of macrophages of white mice]. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk* [Bulletin of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences]. № 13., 1-5 [in Russian].

2. Rozhkova T. V. Biotekhnologiya startovikh kul'tur na osnove molochnokislykh bakteriy, sinteziruyushchikh polisakharidy [Biotechnology of starter cultures based on lactic acid bacteria synthesizing polysaccharides] : dis. kand. tekhn. nauk: 05.18.07 Moskva, 2006. 23 [in Russian].

3. Abid, Y., Casillo, A., Gharsallah, H., Joulak, I., Lanzetta, R., Corsaro, M. M., ... & Azabou, S. (2018). Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria. *International journal of biological macromolecules*, 108, 719-728.

4. Collic-Jouault, S., Roger, O., Ratiskol, J., Helley, D., Siquin, C., Bros, A., ... & Guezennec, J. (2003). Bioactive bacterial exopolysaccharides: modification, characterization and preliminary results on biological activity. *Actes de colloques-IFREMER*, 141-147.

5. Broadbent, J., McMahon, D., Welker, D., Oberg, C., & Moineau, S. (2003). Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review. *Journal of dairy science*, 86(2), 407-423.

6. Ermol'eva Z., Vaysberg G. (1976) Stimulyatsiya nespetsificheskoy rezistentnosti organizma i bakterial'nye polisakharidy [Stimulation of nonspecific body resistance and bacterial polysaccharides]. Moscow: Meditsina [Medicine], 184 [in Russian].

7. Kichemazova N. (2019). Ekzopolisakharidy bakteriy rodov *Xanthobacter* i *Ancylobacter*: kharakteristika i ikh biologicheskoe svoystva [Exopolysaccharides of bacteria of the genera *Xanthobacter* and *Ancylobacter*: characteristics and their biological properties] Doctor thesis, Saratov, 94 .

8. Zakharova I., Kosenko L. (1982). Metody izucheniya mikrobykh polisakharidov [Methods for the study of microbial polysaccharides]. Kiev: Naukova dumka [Scientific Thought], 192 [in Russian].

9. Kitazawa, H., Ishii, Y., Uemura, J., Kawai, Y., Saito, T., Kaneko, T., ... & Itoh, T. (2000). Augmentation of macrophage functions by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *Food Microbiology*, 17(1), 109-118.

10. Makino, S., Ikegami, S., Kano, H., Sashihara, T., Sugano, H., Horiuchi, H., & Oda, M. (2006). Immunomodulatory effects of polysaccharides produced by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *Journal of Dairy Science*, 89(8), 2873-2881.
11. Abramova A. (2009). Issledovanie shtammov termofil'nogo streptokokkov pokolichestvu sintezirovaniya EPS i polucheniya pov'shennoy vyazkosti [Investigation of strains of thermophilic streptococci to the generation of EPS synthesis and obtaining increased viscosity]. *Nauchnoe obespechenie molochnoy promyshlyusty* [Scientific support for the dairy industry], 4-7 [in Russian].
12. Chen, W., Zhao, Z., Chen, S., & Li, Y. (2008). Optimization for the production of exopolysaccharide from *Fomes fomentarius* in submerged culture and its antitumor effect in vitro. *Bioresource technology*, 99(8), 3187-3194.
13. Abramova A. Semeshkhina V.F. (2008). Podbor shtammov termofil'nogo streptokoka produtsirovanogo EPS dlya uluchsheniya kachestva yogurt [Selection of thermophilic streptococcus strains produced by EPS to improve the quality of yogurt]. *Zhivye sistemy i biologicheskaya bezopasnost' naseleniya* [Living Systems and Biosafety of The Population], 171-173 [in Russian].
14. Pravdivtseva M., Karpunina L., Nurmukhamedov A. Vliyanie laksarana Z na mikrofloru tolstogo otdela kishchnika samok kryv v usloviyakh immobilizatsionnogo stressa [The effect of laxaran Z on the microflora of the large intestine of female rats under conditions of immobilization stress]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* [The Successes of Modern Science]. 2009. № 8. S. 101-101 [in Russian].
15. De Vuyst, L., De Vin, F., Vaningelgem, F., & Degeest, B. (2001). Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 687-707.
16. Nagaoka, M., Hashimoto, S., Watanabe, T., Yokokura, T., & Mori, Y. (1994). Anti-ulcer effects of lactic acid bacteria and their cell wall polysaccharides. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 17(8), 1012-1017.
17. Harutoshi, T. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria for food and colon health applications (2013). *Lactic acid bacteria-R & D for food, health and livestock purposes*. IntechOpen, P515-538.
18. Mayo, B., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Fernández, M., Kowalczyk, M., Álvarez-Martín, P., & Bardowski, J. (2010) Updates in the metabolism of lactic acid bacteria. Dalam: Mozzi, F., Raya, R, R, dan Vignolo, GM (ed). *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel Application*, P.3-33.
19. Cerning, J. (1990) Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 7(1-2), P.113-130.
20. Sutherland, I. (1998). Novel and established applications of microbial polysaccharides. *Trends in biotechnology*, 16(1), 41-46.
21. Vinderola, G., Perdígón, G., Duarte, J., Farnworth, E., & Matar, C. (2006). Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* on the gut mucosal immunity. *Cytokine*, 36(5-6), 254-260.
22. Ricciardi, A., & Clementi, F. (2000). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: structure, production and technological applications. *Italian Journal of Food Science*, 12(1), 23-45.
23. Stingle F., Neeser J., Mollet B. Nestlé (1996). Identification and Characterization of the EPS (Exopolysaccharide). Gene Cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6. *Journal of Bacteriology*. Mar. 1996. P. 1680-1690.
24. Jung, H., Hong, J., Park, S., Park, B., Nam, D., & Kim, S. (2007). Production and physicochemical characterization of β -glucan produced by *Paenibacillus polymyxa* JB115. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 12(6), 713-719.
25. Petersen, B., Dave, R., McMahon, D., Oberg, C., & Broadbent, J. Influence of capsular

andropy exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* on Mozzarella cheese and cheese whey. *Journal of Dairy Science*. 2000. 83(9), P. 1952-1956.

26. McMahon, D., & Oberg, C. Influence of fat, moisture and salt on functional properties of Mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*. 1998. 53(2), P. 98.

27. Perry, D., McMahon, D., & Oberg, C. Effect of exopolysaccharide-producing cultures on moisture retention in low fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*. 1997. 80(5), P. 799-805.