

ПОИСК НОВЫХ ПОЗИТИВНЫХ СВОЙСТВ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Светлана Старовойтова

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

Аннотация. В статье проанализированы виды, свойства и биодegradация таннинов. Обобщены данные литературы относительно бактерий с танназной активностью, а также перспективы их применения как основы пробиотиков.

Ключевые слова: танназная активность, пробиотические микроорганизмы, пробиотики.

Введение. В последнее время в научной литературе все чаще стали появляться данные о танназной активности микроорганизмов, в том числе и представителей микробиома человека. Танназная активность – способность расщеплять таннины. Растительная пища является главным источником таннинов - биологически активные фитонутриенты. Таннины присутствуют в различных растениях, используемых в качестве пищевых продуктов и кормов. Таннины, с одной стороны полезны для здоровья в связи с их химиопрофилактической активностью против канцерогенеза и мутагенеза, а с другой стороны – они могут быть вовлечены в формирование рака, гепатотоксическую или антипитательную активность. Таннины известны как антинутриенты - снижают эффективность преобразования организмом усвоенных питательных веществ в новые. Свойства таннинов напрямую зависят от их молекулярной массы. Чем выше молекулярная масса, тем сильнее их антипитательные эффекты и ниже биологическая активность [1].

Несмотря на то, что таннины оказывают токсическое воздействие на различные организмы, некоторые микроорганизмы устойчивы к действию таннинов и обладают способностью деградировать их в олигомерные таннины и другие полезные производные, такие как галловая кислота или пирогаллол. Танназа - таннинацилгидролаза (ЕС 3.1.1.20), катализирует гидролиз галлоил эфирной связи таннинов. На сегодняшний момент мало научных данных об ее

молекулярном строении. Это один из важнейших факторов, ограничивающий широкомасштабное применение танназы. Только бактериальная танназа проанализирована на генетическом уровне. Охарактеризована биохимия и структура танназы *Lactobacillus plantarum* [2], чаще всего встречается при ферментации растительных материалов с высоким содержанием таннинов.

Микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека имеет глубокое влияние на трансформацию пищи в метаболиты, которые могут повлиять на здоровье человека [3]. Таким образом, таннин-метаболизирующая активность может рассматриваться как один из критериев отбора пробиотических штаммов.

Характеристика и биодegradация таннинов. Таннины – водорастворимые фенольные продукты способные преципитировать белки из водных растворов. Таннины считаются вторичными метаболитами растений. Они защищают растения от вредителей и болезней, вызванных бактериями и вирусами [4, 5]. По современной классификации выделяют четыре класса таннинов: галлотаннины, эллаготаннины, конденсированные таннины и комплексные (гидролизуемые таннины) [4, 6].

Повышенное количество таннинов в почве подавляет интенсивность роста растений, отрицательно влияет на урожайность. Также присутствие таннинов усложняет некоторые технологические процессы в пищевой промышленности и ингибирует ферментативные реакции в пивоварении. Повышенное содержание таннинов в кормах для животных снижает эффективность пищеварения и, как следствие, продуктивность сельскохозяйственных животных. Установлено, что таннины, содержащиеся в продуктах питания, принимают участие в развитии некоторых видов рака [7].

Таннины, как фенольные соединения, эффективные хелаторы для ионов металлов и могут использоваться в лечении отравлений тяжелыми металлами [8]. Появляются сообщения о ингибирующем действии таннинов ВИЧ-1 [9].

Как уже упоминалось выше, таннины известны как антинутриенты. Однако, в то же время, встречается много сообщений о позитивных эффектах

таннинов на здоровье человека: противоопухолевые эффекты, способность понижать артериальное давление и модулировать различные виды иммунного ответа. Вероятно, данные эффекты связаны с антиоксидантными свойствами таннинов. Эллаговая кислота является эффективным антиоксидантным таннином с противоопухолевыми свойствами. Проантоцианиды - еще один тип таннинов с высокими антиоксидантными свойствами. Принимать высокие количества таннинов не следует, поскольку они могут включаться в процесс формирования злокачественных опухолей и препятствовать нормальному пищеварению. Однако, прием адекватных количеств таннинов правильного типа является полезным для здоровья человека вследствие их воздействия на метаболические ферменты, иммуномодуляцию и другие функции [1].

Продукты анаэробного разложения многих таннинов, образующихся в ЖКТ, также могут образовывать соединения с полезными для здоровья человека эффектами, например, производные пропионовой или фенилуксусной кислот [10]. Эти соединения оказывают противовоспалительное действие при всасывании в ЖКТ, а также обладают широким диапазоном противомикробного действия, подавляя развитие патогенных микроорганизмов.

Несмотря на антимикробные свойства таннинов, много грибов, бактерий и дрожжей достаточно устойчивы к таннинам [10]. Механизмы, благодаря которым микроорганизмы обладают устойчивостью, включают модификацию, деградацию, диссоциацию таннин-субстратных комплексов, инактивацию таннинов путем связывающей способности и т.д. [11].

Плесневые грибы, дрожжи и некоторые аэробные бактерии обычно лучше подходят для деградации таннинов, однако анаэробная деградация также имеет место быть, например, в ЖКТ. Каждая группа микроорганизмов обладает специфическими свойствами в процессе разложения таннинов. Дрожжи, проявляют активность по отношению к галлотаннинам. Бактерии деградируют галлотаннины и эллаготаннины. Грибы раскладывают все типы таннинов [10].

Известно, что в метаболизме таннинов принимает участие ряд ферментов, но основным ферментом является танназа. В природе этот фермент может быть

животного, растительного и микробного происхождения. Наибольшее значение имеет именно танназа микробного происхождения [6].

Танназа оказывает последовательное действие, в результате чего происходит деградация таннинов с последующим гидролизом сложных эфирных связей и высвобождением галловой кислоты. Далее галловая кислота декарбоксилируется в пирогаллол, который, в конечном счете, превращается в пировиноградную, цисаконитовую, 3-гидрокси-5-оксигексановую кислоты и, наконец, входит в цикл трикарбоновых кислот [10]. Строение и свойства танназы зависят от: продуцента, условий культивирования и т.д. [4, 6, 12, 13].

Поскольку танназа имеет прикладное значение, особенно в фармацевтической и пищевой промышленности, важным вопросом является ее безопасность по отношению к организму человека, а также статус продуцентов танназы, как микроорганизмов группы GRAS (Generally Recognized as Safe). Известно ограниченное количество сообщений относительно безопасности танназы, однако, результаты последних исследований свидетельствуют о безопасности танназы продуцируемой бактериями рода *Lactobacillus* [12, 14].

Значение и применение танназы. Основными направлениями промышленного применения танназы является пищевая, фармацевтическая и химическая промышленность.

Важным направлением применения танназы является производство галловой кислоты. Галловая кислота - основной продукт гидролиза таннинов, используется в пищевой, косметической промышленности как мощный антиоксидант. Она также служит в качестве прекурсора в производстве противомаларийных препаратов и как светочувствительная смола в производстве полупроводников. Сообщается об антиапоптотическом действии галловой кислоты, способности защищать клетки организма человека от окислительных повреждений и выраженном цитотоксическом действии по отношению к раковым клеткам. Также галловая кислота используется как субстрат в ферментативном и химическом синтезе пропилгаллата, применяется как антиоксидант жиров и масел и производстве напитков. Конечный продукт

метаболизма галловой кислоты - пирогаллол, также имеет большое промышленное значение, используется при окраске кожи и меха, проявлении фотоснимков, в производстве противоопухолевых лекарственных средств.

Практическое использование танназы все еще остается достаточно ограниченным в связи с недостаточно изученными ее свойствами, сложностью получения и очистки. Для промышленного производства используются микроорганизмы, продуцирующие фермент, более стабильный, чем растительный или животный [13].

Бактерии продуценты танназы. Впервые сообщение о способности некоторых штаммов бактерий использовать танниновую кислоту в качестве источника углеродного питания, появилось в начале 1980-х годов. С тех пор было выделено более 60 штаммов бактерий - продуцентов танназы: а именно бактерии родов *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pentococcus* и некоторые другие [13, 15-18], однако, лишь некоторые из них могут использоваться для коммерческого производства. Существует несколько методов скрининга бактерий продуцентов танназы – визуальный метод (качественная реакция) и выращивание бактерий на селективной среде с последующей покраской раствором 0,01 М FeCl₃ для анализа на галлотаннины [9, 18]. Для количественной оценки танназной активности продуцентов также известны различные методы, чаще всего применяются: титриметрический, колориметрический, УФ-спектрофотометрический, фотометрический [19].

Однако упомянутые методы являются трудоемкими и требуют обязательного проведения стадии культивирования и не позволяют установить полный потенциал танназной активности исследуемых штаммов. Поэтому сейчас особенно актуальны генетические исследования штаммов-продуцентов, которые дают точный результат и позволяют выявить гены, ответственные за танназную активность.

Выводы. Таким образом, перспективным является исследование наличия танназной активности у хорошо изученных пробиотических штаммов, которые могут применяться для разработки пробиотиков с танназной активностью, а

значит как следствие с перспективными - антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами.

Список литературы:

1. Jiménez N., Esteban-Torres M., Mancheño J.M. et al. Tannin degradation by a novel tannase enzyme present in some *Lactobacillus plantarum* strains // Appl Environ Microbiol. – 2014. – Vol. 80, № 10. – P. 2991-2997.
2. Ren B., Wu M., Wang Q. et al. Crystal structure of tannase from *Lactobacillus plantarum*.// J. Mol. Biol. – 2013. – Vol. 425. – P. 2737–2751.
3. Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J. et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. // Science. – 2012. – Vol. 336. – P. 1262–1267.
4. Chung K.-T., Wei C.-I., Johnson M.G. Are tannins a double-edged sword in biology and health? // Trends Food Sci. Technol. – 1998. - Vol. 9. – P. 168–175.
5. Aguilar C.N. Gutierrez-Sanchez G. Review: Sources, Properties, Applications and Potential uses of Tannin Acyl Hydrolase // Food Science and Technology International. - 2001. – Vol. 7, № 5. – P. 373-382.
6. Chávez-González M., Rodríguez-Durán L.V., Balagurusamy N. et al. Biotechnological Advances and Challenges of Tannase: An Overview // Food Bioprocess. Technol. - 2012. – Vol. 5. – P. 445–459.
7. Joseph J.K., Abolaji J. Effect of replacing maize with graded levels of cooked Nigerian mango-seed kernels (*Mangifera indica*) on the performance, carcass yield and meat quality of broiler chickens // Bioresour: Technol. – 1997. – Vol. 61. - P. 99–102.
8. Aguilar C.N., Rodríguez R., Gutiérrez-Sánchez G. et al. Microbial tannases: advances and perspectives //Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2007. – Vol. 76. – P. 47–59.
9. Das Mohapatra P.K., Mondal K.C., Pati B.R. Tannin-an effective agent against HIV-I // In: Advances in Biotechnology. Studium, USA. - 2013. – P. 419–428.
10. Bhat T.K., Singh B., Sharma O.P. Microbial degradation of tannins – a current perspective // Biodegradation. - 1998. – Vol. 9, № 5. – P.343 – 357.

11. Smith A.H., Zoetendal E., Mackie R.I. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins// *Microb. Ecol.* - 2005. – Vol.50, №2. – P.197–205.
12. Wu M., Peng X., Wen H. et al. Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of tannase from *Lactobacillus plantarum* // *Acta Crystallogr. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.*- 2013. – Vol. 69. – P. 456–459.
13. Wu M., Peng X., Wen H. et al. A novel low molecular weight acidothermophilic tannase from *Enterobacter cloacae* MTCC 9125 // *Biocatal. Agric. Biotechnol.* - 2013. – Vol. 2. – P. 132–137.
14. Matoba Y., Tanaka N., Noda M. et al. Crystallographic and mutational analyses of tannase from *Lactobacillus plantarum* // *Proteins Struct. Funct. Bioinform.* – 2013. – Vol. 81. – P. 2052–2058.
15. Tahmourespour A., Tabatabaee N., Khalkhali H., Amini I. Tannic acid degradation by *Klebsiella* strains isolated from goat feces // *Iran J Microbiol.* – 2016. – Vol. 8, № 1. – P.14-20.
16. Esteban-Torres M., Landete J.M., Reverón I. et al. A *Lactobacillus plantarum* esterase active on a broad range of phenolic esters // *Appl Environ Microbiol.* – 2015. – Vol. 81, № 9. – P. 3235-3242.
17. López de Felipe F., de Las Rivas B., Muñoz R. Bioactive compounds produced by gut microbial tannase: implications for colorectal cancer development.// *Front Microbiol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 684.
18. Ahrén I.L., Xu J., Önning G. et al. Antihypertensive activity of blueberries fermented by *Lactobacillus plantarum* DSM 15313 and effects on the gut microbiota in healthy rats // *Clin Nutr.* – 2015. – Vol. 34, № 4. – P. 719-726.
19. Jana A., Halder S.K., Banerjee A. et al. Biosynthesis, structural architecture and biotechnological potential of bacterial tannase: a molecular advancement // *Bioresour Technol.* -2014. – Vol. 157. – P. 327-40.