

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ РОДА *PROPIONIBACTERIUM*

И.С. Милентьева, О.В. Козлова, Н.И. Еремеева

Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия

Актуальной областью исследования является изучение положительного воздействия на организм человека молочнокислых штаммов, способных нормализовать функционирование микрофлоры желудочно-кишечного тракта и регулировать здоровье организма человека. Данные штаммы получили название пробиотики, чаще всего к ним относят молочнокислые бактерии рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*. Но в настоящее время ученые все чаще рассматривают молочные пропионовокислые бактерии в качестве пробиотиков. Данная исследовательская статья направлена на изучение свойств молочнокислых бактерий рода *Propionibacterium* (*P. jensenii* B-6085, *P. freudenreichii* B-11921, *P. thoenii* B-6082 и *P. acidipropionici* B-5723) с дальнейшим использованием их в качестве пробиотиков для нормализации функционирования микробиоты ЖКТ. Для данных штаммов изучен ряд пробиотических свойств, а именно устойчивость к антибиотикам и антимикробная активность. По результатам исследований следует, что 90 % исследованных штаммов пропионовокислых бактерий характеризовались высокой активностью по отношению ко всем тест-культурам патогенных и условно-патогенных штаммов (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*). По отношению к большей части антибиотиков исследуемые культуры проявляли высокую устойчивость (35,4 %) и малую чувствительность (16,7 %). Все комбинации исследуемых штаммов проявляли биосовместимость. Полученные данные позволяют использовать исследуемые штаммы и в перспективе консорциумы на их основе в качестве поликомпонентных пробиотических добавок.

Ключевые слова: пропионовокислые бактерии, антимикробная активность, антибиотикорезистентность, пробиотический консорциум, биосовместимость.

Введение

Пробиотики – полезные для организма микроорганизмы, подавляющие развитие дисбактериоза, в результате чего обладающие профилактическими свойствами к хроническим заболеваниям, связанным с метаболическими нарушениями (ожирение, диабет 2-го типа, атеросклероз и т. п.) [1]. Среди пробиотиков наиболее изученными являются молочнокислые бактерии рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [2]. Кроме данных представителей в качестве пробиотиков могут использоваться и бактерии рода *Propionibacterium* [3].

Propionibacterium – это неспорообразующие, анаэробные и толерантные к низким концентрациям кислорода бактерии, которые имеют в своей клеточной стенке много мууреина, то есть являющиеся грамположительными. Данные бактерии используют при производстве швейцарских сыров [4], они способны преобразовывать углеводы в уксусную и пропионовую кислоты, метаболизировать

витамины, бактериоцины (пропионат, ацетат, диацетил), бифидогенные соединения, вещества, проявляющие иммуномодулирующие, антиканцерогенные свойства [5]. *Propionibacterium* подразделяются на два вида, первый обитает на кожных покровах, второй является «молочным» видом, обитающим в сыром молоке и кисломолочных продуктах [6]. В рамках данной работы интерес представляют «молочные» виды:

- *Propionibacterium freudenreichii* – молочнокислая бактерия, которая используется в качестве закваски для приготовления сыров, является продуцентом короткоцепочных жирных кислот, витаминов B9, B12 и бифидогенных соединений (1,4-дигидрокси-2-нафтоиновую кислоту) – соединений, стимулирующих рост бактерий группы *Bifidobacterium* [7].

- *Propionibacterium acidipropionici* – молочная бактерия, продуцирующая фермент β-галактозидазу, расщепляющую лактозу, и бактериоцины. В результате чего активно используется в приготовлении функциональных

продуктов питания для населения, имеющего проблемы с непереносимостью лактозы [7], и для профилактики нарушений, вызванных патогенными и/или условно патогенными штаммами (например, *Bacteroides fragilis* и *Clostridium histolyticum*) [8].

• *Propionibacterium jensenii* – молочная пропионовокислая бактерия, являющаяся продуцентом витамина В12, участвующего в регулировании уровня холестерина, гомоцистеина, триглицеридов [9] и фермента β-галактозидазы [10].

• *Propionibacterium thoenii* – пропионовокислая бактерия «молочного» вида, обладающая способностью к продуцированию фермента β-галактозидазы и бактериоцинов (пропионицина [10] и тениицина [11]).

Благодаря способности к продуцированию данных биологически активных веществ бактерии рода *Propionibacterium* актуально использовать как в качестве самостоятельных пробиотиков, так и в составе поликомпонентных добавок. Сегодня существует большое количество изобретений, в которых используются бактерии рода *Propionibacterium*, однако в рамках пищевой биотехнологии данные бактерии в основном применяются в качестве продуцента белка [12, 13], закваски для изготовления кисломолочных продуктов питания [14–16], композиции, используемой для увеличения срока хранения продукции [17]. В качестве пробиотиков отечественные исследователи в основном используют *Propionibacterium freudenreichii* [18], *Propionibacterium acidipropionici*, а также их смесь с другими молочнокислыми бактериями [19, 20]. В зарубежных исследованиях используют *Propionibacterium jensenii* [21, 22] и *Propionibacterium freudenreichii* [23], и их смесь с другими штаммами [24]. Недостатками данных изобретений является отсутствие информации о наличии одних из наиболее важных свойств, присущих пробиотикам: антимикробной активности по отношению к патогенным и условно-патогенным штаммам, устойчивости к действию антибиотиков.

Цель данной работы – изучить пробиотические свойства бактерий рода *Propionibacterium* (*P. jensenii* В-6085, *P. freudenreichii* В-11921, *P. thoenii* В-6082 и *P. acidipropionici* В-5723), а именно устойчивость штаммов к действию антибиотиков и наличие антимикробной активности.

Объекты и методы исследований

Исследование проводилось на базе Лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет». В качестве объектов исследования использовались штаммы пропионовокислых бактерий, полученные из ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт» *Propionibacterium jensenii* В-6085, *Propionibacterium freudenreichii* В-11921; *Propionibacterium thoenii* В-6082; *Propionibacterium acidipropionici* В-5723 (табл. 1).

Определение устойчивости к антибиотикам. Антибиотикорезистентность пропионовокислых бактерий определяли дискодиффузионным методом [29], который основан на диффузии антимикробных препаратов из пропитанных бумажных дисков в питательную среду. Для этого суспензию исследуемых штаммов высевали сплошным газонном чашки Петри со средой ГРМ (HiMedia, Индия) и одновременно раскладывали на поверхность агара диски с антибиотиками (HiMedia, Индия). Через 24 ч культивирования в термостате при 28 °С фиксировали результаты эксперимента. Интерпретацию результатов устойчивости пропионовокислых бактерий к антибиотикам осуществляли по диаметру зон подавления роста штаммов: диаметр зоны подавления роста менее 10 мм – устойчивый, 10–15 мм – малая чувствительность; 15–25 – чувствительный, более 25 – высокая чувствительность.

Определение антагонистической активности штаммов пропионовокислых бактерий осуществляли согласно методике, описанной в [30]. Для этого исследуемые штаммы инкубировали в стерильном обезжиренном молоке при температуре 28 °С в течение 76 ч, после центрифугировали полученную суспензию. В дальнейшей работе использовали отфильтрованный через мембранные фильтры (диаметр пор 22 μm) супернатант. Антагонистическую активность определяли в отношении патогенных и условно-патогенных тест-штаммов: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*. В работе использовали ночную культуру перечисленных штаммов. Плотность суспензии пропионовокислых бактерий определяли при помощи денсиметра DEN-1 (BioSan, Латвия). Антагонистическую активность пропионовокислых бактерий

Таблица 1
Культурально-морфологические и физиолого-биохимические признаки отдельных штаммов

Наименование штамма	Культурально-морфологические признаки	Физиолого-биохимические признаки	Источник
<i>P. jensenii</i>	Грамположительные, неспорообразующие, слегка овальные палочки, факультативные анаэробы	Каталазоположительные, сбраживают глюкозу, лактозу, трегалозу, фруктозу, галактозу, мальтозу, маннозу, рамнозу, маннитол, инозитол, не разжижают желатин, оптимальная температура 28–30 °С	[25–28]
<i>P. freudenreichii</i>	Грамположительные, неспорообразующие, кокковидной формы, факультативные анаэробы	Каталазоположительные, сбраживают лактозу, глюкозу, рибозу, маннозу, мальтозу, галактозу, рамнозу, фруктозу, оптимальная температура 30 °С	
<i>P. thoenii</i>	Грамположительные, неспорообразующие, булавовидные палочки, факультативные анаэробы	Каталазоотрицательные, сбраживают мальтозу, рибозу, ксилозу, галактозу, фруктозу, сорбитол, лактозу, трегалозу, сахарозу, оптимальная температура 28–30 °С	[25–27]
<i>P. acidipropionici</i>	Грамположительные, неспорообразующие, слегка овальные палочки, факультативные анаэробы	Каталазоотрицательные, сбраживают арабинозу, рибозу, галактозу, фруктозу, инозитол, маннитол, сорбитол, мальтозу, лактозу, оптимальная температура 30 °С	

определяли диско-диффузионным методом: тест-штамм высевали сплошным газоном на питательную среду; по поверхности засеянной среды раскладывали бумажные диски, пропитанные очищенным супернатантом. Интерпретацию результатов осуществляли по диаметру зон подавления роста тест-штаммов: диаметр зоны подавления роста менее 8 мм – активность отсутствует, 8–13 мм – слабая активность; 13–18 – средняя активность, более 18 – высокая активность.

Для создания пробиотического консорциума важно использовать биосовместимые штаммы, проявляющие устойчивость к антибиотикам и антимикробную активность по отношению к патогенной и условно-патогенной микрофлоре. Для определения биосовместимости исследуемых культур пропионовокислых бактерий использовали капельный метод [31]. Для этого на поверхность агаризованной среды наносили каплю одной суточной культуры, после высыхания наносили каплю второй суточной культуры, и культивировали при температуре 28 °С в течение 24–36 ч. Опыт повторяли со всеми 4-я иссле-

дуемыми штаммами. Результаты интерпретировали следующим образом: в случае слияния капель – «+» культуры биосовместимы, в случае перекрытия одного штамма другим – «-» культуры проявляют антагонизм.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследовательской работы изучены пробиотические свойства штаммов пропионовокислых бактерий. Результаты определения устойчивости исследуемых штаммов (*Propionibacterium jensenii* В-6085, *Propionibacterium freudenreichii* В-11921; *Propionibacterium thoenii* В-6082; *Propionibacterium acidipropionici* В-5723) к действию ряда антибиотиков (ампициллин, бензилпенициллин, карбенициллин, полимиксин, стрептомицин, гентамицин, клотримазол, левомицитин, тетрациклин, неомицин, канамицин) представлены в табл. 2.

Результаты по изучению устойчивости к антибиотикам показали, что большинство исследуемых пропионовокислых бактерий обладают малой чувствительностью (16,7 %) и высокой устойчивостью (35,4 %) к антибиотикам. Лишь 2 культуры показали высокую

Таблица 2
Результаты изучения антибиотикорезистентности штаммов пропионовокислых бактерий

Наименование антибиотика	Диаметр зоны подавления роста, мм			
	<i>P. jensenii</i> В-6085	<i>P. freudenreichii</i> В-11921	<i>P. thoenii</i> В-6082	<i>P. acidipropionici</i> В-5723
Ампициллин	7,0 ± 0,1	8,0 ± 0,2	6,0 ± 0,2	9,5 ± 0,3
Бензилпенициллин	20,0 ± 0,8	20,5 ± 0,8	6,0 ± 0,2	22,0 ± 0,9
Карбенициллин	6,0 ± 0,1	6,0 ± 0,2	17,0 ± 0,6	18,0 ± 0,7
Полимиксин	22,0 ± 0,9	26,5 ± 1,1	12,5 ± 0,4	6,0 ± 0,1
Стрептомицин	9,5 ± 0,4	15,0 ± 0,5	22,0 ± 0,9	16,0 ± 0,6
Гентамицин	14,0 ± 0,5	21,0 ± 0,8	9,5 ± 0,2	25,0 ± 1,0
Клотримазол	6,0 ± 0,1	12,0 ± 0,4	21,5 ± 0,8	6,0 ± 0,2
Левомецитин	6,0 ± 0,1	6,0 ± 0,2	23,0 ± 0,9	10,0 ± 0,3
Тетрациклин	25,0 ± 1,0	18,0 ± 0,7	10,0 ± 0,5	27,0 ± 1,1
Неомицин	14,5 ± 0,7	24,0 ± 1,0	14,5 ± 0,5	12,5 ± 0,4
Канамицин	10,0 ± 0,3	13,0 ± 0,4	7,0 ± 0,2	6,0 ± 0,1

чувствительность: *P. freudenreichii* В-11921 по отношению к полимиксину (26,5 мм), *P. acidipropionici* В-5723 по отношению тетрациклину (27,0 мм). Таким образом, в основном культуры пропионовокислых бактерий обладают антибиотикорезистентностью.

Антагонистическую способность пропионовокислых культур определяли в отношении тест-культур: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*. Результаты исследования представлены в табл. 3.

Исходя из результатов исследования антагонистической активности, можно сделать вывод о том, что все исследуемые штаммы обладают ингибирующим действием в отношении патогенных и условно-патогенных штаммов. Высокой активностью обладают 90 % исследуемых пропионовокислых культур. При этом лишь 1 штамм (*P. jensenii* В-6085) характеризуется средней активностью в отношении тест-культур.

Для создания пробиотического консорциума на дальнейших этапах работы проанализирована биосовместимость культур пропионовокислых штаммов по отношению друг к другу (табл. 4).

Из табл. 4 следует, что все комбинации исследуемых штаммов являются биосовместимыми, вследствие чего можно рекомендовать к использованию в создании консорциумов пробиотического действия.

Растущий интерес потребителя к укреплению здоровья и профилактике хронических заболеваний стимулирует развитие рынка ФПП, в частности развитие добавок, продуктов с пробиотическими штаммами. Данная работа направлена на изучение полезных свойств «молочных» пропионовокислых бактерий для их дальнейшего применения в качестве пробиотика. Исследование позволило оценить способность бактерий *P. jensenii* В-6085, *P. freudenreichii* В-11921, *P. thoenii* В-6082 и *P. acidipropionici* В-5723 проявлять антимикробную активность по отношению к ряду патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, данное действие обусловлено способностью штаммов к синтезу бактериоцинов, подавляющих жизнедеятельность грамотрицательных бактерий, дрожжей и плесневелых грибов [32]; оценить высокую устойчивость штаммов к действию антибиотиков.

Проведенное исследование подробно рассмотрело возможность использования бактерий *P. jensenii* В-6085, *P. freudenreichii* В-11921, *P. thoenii* В-6082 и *P. acidipropionici* В-5723 в качестве пробиотиков. В дальнейших исследованиях авторы планируют изучение пробиотических свойств консорциумов, составленных на основании данных о биосовместимости выше представленных штаммов.

Таблица 3
Результаты изучения антагонистической активности штаммов пропионовокислых бактерий

Тест-культура	Диаметр зоны подавления роста, мм			
	<i>P. jensenii</i> B-6085	<i>P. freudenreichii</i> B-11921	<i>P. thoenii</i> B-6082	<i>P. acidipropionici</i> B-5723
<i>Escherichia coli</i>	21,5 ± 1,4	21,0 ± 1,1	21,0 ± 1,2	20,0 ± 1,0
<i>Salmonella enterica</i>	18,0 ± 0,9	19,5 ± 1,0	20,5 ± 1,0	18,5 ± 0,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	19,0 ± 1,1	22,5 ± 1,4	18,0 ± 1,0	19,5 ± 1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17,0 ± 0,8	18,5 ± 0,9	18,5 ± 0,9	22,0 ± 1,1
<i>Proteus vulgaris</i>	15,0 ± 0,6	21,0 ± 1,2	18,0 ± 0,8	20,0 ± 1,0

Таблица 4
Результаты изучения биосовместимости пропионовокислых штаммов бактерий

Наименование штамма	Наименование штамма			
	B-6085	B-11921	B-6082	B-5723
B-6085		+	+	+
B-11921	+		+	+
B-6082	+	+		+
B-5723	+	+	+	

Работа выполнена в рамках гранта Президента РФ при государственной поддержке ведущих научных школ (НШ-2694.2020.4).

Литература

1. Markowiak, P. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. / P. Markowiak, K. Śliżewska // *Nutrients*. – 2017. – V. 9(9). – P. 1021. DOI: 10.3390/nu9091021
2. Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics / L. Fontana, M. Bermudez-Brito, J. Plaza-Diaz, S. Muñoz-Quezada, A. Gil // *The British journal of nutrition*. – 2013. – 109(2). – P. 35–50. DOI: 10.1017/s0007114512004011
3. New insights into physiology and metabolism of *Propionibacterium freudenreichii* / A. Thierry, S.M. Deutsch, H. Falentin, M. Dalmasso, F.J. Cousin, G. Jan // *International journal of food microbiology*. – 2011. – V. 149(1). – P. 19–27. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.026
4. Meile, L. Safety assessment of dairy microorganisms: *Propionibacterium* and *Bifidobacterium* / L. Meile, G. Le Blay, A. Thierry // *International journal of food microbiology*. – 2008. – V. 126(3). – P. 316–320. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.019
5. Zárate, G. Influence of lactose and lactate on growth and β -galactosidase activity of potential probiotic *Propionibacterium acidipropionici* / G. Zárate, A.P. Chaia // *Anaerobe*. – 2012. – V. 18(1). – P. 25–30. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.12.005
6. Physiological and functional characteristics of *Propionibacterium* strains of the poultry microbiota and relevance for the development of probiotic products / E. Argañaraz-Martínez, J.D. Babot, M.C. Apella, A.P. Chaia // *Anaerobe*. – 2013. – V. 23. – P. 27–37. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.08.001
7. Intracellular osmoprotectant concentrations determine *Propionibacterium freudenreichii* survival during drying / F. Gaucher, H. Rabah, K. Kponouglo, S. Bonnassie, S. Pottier et al. // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2020. – V. 104(7). – P. 3145–3156. DOI: 10.1007/s00253-020-10425-1
8. *Propionibacterium acidipropionici* CRL1198 influences the production of acids and the growth of bacterial genera stimulated by inulin in a murine model of cecal slurries / M.J. Lorenzo-Pisarello, M.L. Gultemirian, C. Nieto-

Peñalver, A. Perez Chaia // *Anaerobe*. – 2010. – V. 16, № 4. – P. 345–354. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2010.04.006

9. Huang, Y. The in vivo assessment of safety and gastrointestinal survival of an orally administered novel probiotic, *Propionibacterium jensenii* 702, in a male Wistar rat model / Y. Huang, L. Kotula, M.C. Adams // *Food and chemical toxicology*. – 2003. – V. 41(12). – P. 1781–1787. DOI: 10.1016/S0278-6915(03)00215-1

10. Altieri, C. Dairy propionibacteria as probiotics: recent evidences / C. Altieri // *World journal of microbiology & biotechnology*. – 2016. – V. 32(10). – P. 172. DOI: 10.1007/s11274-016-2118-0

11. Regulating vitamin B12 biosynthesis via the *cbiM*/*cbiJ* riboswitch in *Propionibacterium* strain UF1 / J. Li, Y. Ge, M. Zadeh, R. Curtiss, M. Mohamadzadeh // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2020. – V. 117(1). – P. 602–609. DOI: 10.1073/pnas.1916576116

12. Пат. 2247149 РФ, МПК C12N 1/20, C12P 21/00, C12N 1/20, C12R 1/01. Штамм *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* – продуцент кормового белка / Г.В. Галкина, В.И. Илларионова, Е.В. Куксова [и др.]; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Биотех-Инжиниринг». – № 2003115718/13; заявл. 28.05.2003; опубл. 27.02.2005.

13. Пат. 2392312 РФ, МПК C12N 1/20, C12P 21/00, C12R 1/01. Штамм *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* – продуцент кормового белка / С.Н. Честнов; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «БИОПРО-ТЕИН». – № 2007147181/13; заявл. 21.12.2007; опубл. 20.06.2010.

14. Пат. 96110987 РФ, МПК C12N 1/20, A23C 9/12. Консорциум бактерий *Propionibacterium shermanii*, *Streptococcus thermophilus*, *Acetobacter aceti*, используемый для приготовления кисломолочных продуктов, и способ производства кисломолочного продукта / В.Ф. Семенихина, И.В. Рожков, В.Д. Харитонов [и др.]; заявитель и патентообладатель Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности – № 96110987/13; заявл. 29.05.1996; опубл. 27.12.1998.

15. Пат. 2309982 РФ, МПК C12N 1/20, A23C 9/12, C12R 1/15. Способ получения бак-

териального концентрата пропионовокислых бактерий / И.С. Хамагаева, С.М. Тумурова; заявитель и патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Восточно-Сибирский государственный технологический университет. – № 2005117901/13; заявл. 09.06.2005; опубл. 10.11.2007.

16. Пат. 2637387 РФ, МПК A23C 9/12, A23C 9/13. Способ производства кисломолочного продукта / С.И. Артюхова, Н.В. Доржиева; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный технический университет». – № 2016132355; заявл. 04.08.2016; опубл. 04.12.2017.

17. Пат. 2640255 РФ, МПК A23C 19/032. Штамм *Propionibacterium*, обладающий ингибирующей активностью против дрожжей и плесневых грибов (варианты) и его применение / К. Бенфельт, Х.У. Моргенстерн; заявитель и патентообладатель ДЮПОН НЬЮТРИШН БАЙОСАЙЕНСИЗ АПС. – № 2014151721; заявл. 21.05.2013; опубл. 27.12.2017.

18. Пат. 2567813 РФ, МПК A23C 9/12, C12N 1/20, A61K 38/46, C12R 1/01. Способ получения бактериального концентрата / И.С. Хамагаева, Н.А. Замбалова, С.Б. Найданова; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления». – № 2014125648/10; заявл. 24.06.2014; опубл. 10.11.2015.

19. Пат. 97108832 РФ, МПК C12N 1/20, A23C 9/12. Способ получения пробиотика «Симбитер-2» и способ производства с его использованием кисломолочного продукта / Д.С. Янковский, Г.С. Дымент, Е.П. Потребчук [и др.]; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью Фирма «О.Д. Пролисок». – № 97108832/13; заявл. 23.05.1997; опубл. 27.04.1999.

20. Пат. 2291899 РФ, МПК C12N 1/20, A61K 35/74. Композиция микроорганизмов (варианты) / А. Мьяря-Мякинен, Т. Суомалайнен, О. Ваарала; заявитель и патентообладатель ВАЛИО ЛТД. – № 2003125858/13; заявл. 17.01.2002; опубл. 20.01.2007.

21. Пат. EP1527159, IPC A23K 1/00, A23L 1/30, A23L 29/00, A61K 35/74, A61K 35/741,

- A61K 39/00. Probiotic *Propionibacterium jensenii* 702 / A.M. Catherine, H. Yang; applicant UNIV NEWCASTLE RES ASS. – № 03729707; stated 20.06.2003; published 04.05.2005.
22. Pat. 20050180963, IPC A01N 63/00, A23K 1/00, A23L 1/03, A23L 1/30, A61K 35/74, A61K 39/00. Probiotic *propionibacterium* / A.M. Catherine, H. Yang; applicant University of Newcastle Research Associates. – № 11018911; stated 21.12.2004; published 18.08.2005.
23. Pat. WO/2016/183319, IPC A61K 35/744, A61K 9/20, A61K 9/48. *Propionibacterium fruedenreichii* as a probiotic for infants / M. Mohamadzadeh, B. Sahay; applicant UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, INCORPORATED. – № PCT/US2016/032096; stated 17.11.2016; published 12.05.2016.
24. Pat. CZ301673, IPC A23L 1/03, A23L 29/00, A61K 35/74, A61P 1/00, A61P 35/00, C12N 1/20. Combination of probiotics and use thereof / Annika Mäyrä-Mäkinen, Tarja Suomalainen, Outi Vaarala; applicant UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, VALIO LTD. – № 2003-1915; stated 17.01.2002; published 19.05.2010.
25. Britz, T.J. *Propionibacterium* species diversity in leerdammer cheese / T.J. Britz, K.-H.J. Riedel // International Journal of Food Microbiology. – 1994. – V. 22, I. 4. – P. 257–267. DOI: 10.1016/0168-1605(94)90177-5
26. Bergey's manual of systematic bacteriology. Second edition. Volume three. The Firmicutes – Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA. – 2009. – 1422 p
27. Воробьева, Л.И. Пропионовокислые бактерии / Л.И. Воробьева. – М.: Издательство МГУ, 1995. – 288 с.
28. Хаева, О.Э. Морфолого-культуральные и физиологические особенности новых штаммов *Propionibacterium* / О.Э. Хаева, Б.Г. Цугкиев, Л.П. Икоева // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2019. – Т. 56, № 3. – С. 80–86.
29. Оценка пробиотического потенциала и функциональных свойств *lactobacillus reuteri* Ir1 in vitro / А.В. Бегунова, О.С. Савинова, И.В. Рожкова, Ю.И. Крысанова, Т.В. Фёдорова // Прикладная биохимия и микробиология. – 2020. – Т. 56, № 5. – С. 472–482.
30. Шишин, М.В. Исследование морфологических и антимикробных свойств микроорганизмов кишечного тракта / М.В. Шишов, А.Ю. Просеков // Техника и технология пищевых производств. – 2015. – Т. 39, № 4. – С. 131–137.
31. Волкова, Г.С. Изучение биологических межштаммовых взаимодействий и ростовых свойств производственных штаммов молочнокислых бактерий / Г.С. Волкова, Е.В. Куксова, Е.М. Сербя // Актуальные вопросы молочной промышленности, межотраслевые технологии и системы управления качеством. 2020. – Т. 1, № 1 (1). – С. 104–109.
32. Bacteriocins of propionic acid bacteria / H. Holoa, T. Fayec, D.A. Bredea, T. Nilsena, I. Ødegård, et al. // Le Lait. – 2002. – V. 82, № 1. – P. 59–68.

Милентьева Ирина Сергеевна, кандидат технических наук, доцент кафедры бионанотехнологии, Кемеровский государственный университет (г. Кемерово), irazumnikova@mail.ru

Козлова Оксана Васильевна, доктор технических наук, доцент кафедры бионанотехнологии, Кемеровский государственный университет (г. Кемерово), ms.okvk@mail.ru

Еремеева Наталья Ивановна, доктор биологических наук, профессор кафедры экологии и природопользования, Кемеровский государственный университет (г. Кемерово), bioapano_kem@mail.ru

Поступила в редакцию 5 апреля 2021 г.

STUDY OF PROBIOTIC PROPERTIES OF BACTERIA OF THE GENUS *PROPIONIBACTERIUM*

I.S. Milentyeva, O.V. Kozlova, N.I. Ereemeeva

Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

The current field of research is the study of the positive effects on the human body of lactic acid strains that can normalize the functioning of the microflora of the gastrointestinal tract and regulate the health of the human body. These strains are called probiotics, most often they include lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. But now scientists are increasingly considering dairy propionibacteria as probiotics. This research article is aimed at studying the properties of lactic acid bacteria of the genus *Propionibacterium* (*P. jensenii* B-6085, *P. freudenreichii* B-11921, *P. thoenii* B-6082 and *P. acidipropionici* B-5723) with further use of them as probiotics to normalize the functioning of the gastrointestinal microbiota. Probiotic properties (antibiotic resistance and antimicrobial activity) were studied for these strains. According to the results of the studies, 90 % of the studied strains of propionic acid bacteria are characterized by high activity against all test cultures of pathogenic and conditionally pathogenic strains (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*). In relation to the majority of antibiotics, the studied cultures are characterized by high resistance (35.4 %) and low sensitivity (16.7%). All combinations of the studied strains exhibit biocompatibility. The obtained data allow us to use the studied strains and, in the future, a consortium based on them as multicomponent probiotic additives.

Keywords: Propionibacterium, antimicrobial activity, antibiotic resistance, probiotic consortium, biocompatibility.

References

1. Markowiak P., Ślizewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 2017, vol. 9(9), pp. 1021. DOI: 10.3390/nu9091021
2. Fontana L., Bermudez-Brito M., Plaza-Diaz J., Muñoz-Quezada S., Gil A. Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *The British journal of nutrition*, 2013, vol. 109(2), pp. 35–50. DOI: 10.1017/s0007114512004011
3. Thierry A., Deutsch S.M., Falentin H., Dalmasso M., Cousin F.J., Jan G. New insights into physiology and metabolism of *Propionibacterium freudenreichii*. *International journal of food microbiology*, 2011, vol. 149(1), pp. 19–27. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.026
4. Meile L., Blay G. Le, Thierry A. Safety assessment of dairy microorganisms: *Propionibacterium* and *Bifidobacterium*. *International journal of food microbiology*, – 2008, vol. 126(3), pp. 316–320. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.019
5. Zárate G., Chaia A.P. Influence of lactose and lactate on growth and β -galactosidase activity of potential probiotic *Propionibacterium acidipropionici*. *Anaerobe*, 2012, vol. 18(1), pp. 25–30. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.12.005
6. Argañaraz-Martínez E., Babot J.D., Apella M.C., Chaia A.P. Physiological and functional characteristics of *Propionibacterium* strains of the poultry microbiota and relevance for the development of probiotic products. *Anaerobe*, 2013, vol. 23, pp. 27–37. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.08.001
7. Gaucher F., Rabah H., Kponouglo K., Bonnassie S., Pottier S. et al. Intracellular osmoprotectant concentrations determine *Propionibacterium freudenreichii* survival during drying. *Applied microbiology and biotechnology*, 2020, vol. 104(7), pp. 3145–3156. DOI: 10.1007/s00253-020-10425-1
8. Lorenzo-Pisarello M.J., Gultemirian M.L., Nieto-Peñalver C., Chaia A. Perez. *Propionibacterium acidipropionici* CRL1198 influences the production of acids and the growth of bacterial genera stimulated by inulin in a murine model of cecal slurries. *Anaerobe*, 2010, vol. 16, no. 4, pp. 345–354. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2010.04.006

9. Huang Y., Kotula L., Adams M.C. The in vivo assessment of safety and gastrointestinal survival of an orally administered novel probiotic, *Propionibacterium jensenii* 702, in a male Wistar rat model. *Food and chemical toxicology*, 2003, vol. 41(12), pp. 1781–1787. DOI: 10.1016/S0278-6915(03)00215-1

10. Altieri C. Dairy propionibacteria as probiotics: recent evidences. *World journal of microbiology & biotechnology*, 2016, vol. 32(10), p. 172. DOI: 10.1007/s11274-016-2118-0

11. Li J., Ge Y., Zadeh M., Curtiss R., Mohamadzadeh M. Regulating vitamin B12 biosynthesis via the *cbiMCbl* riboswitch in *Propionibacterium* strain UF1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, vol. 117(1), pp. 602–609. DOI: 10.1073/pnas.1916576116

12. Pat. 2247149 RF, IPC C12N 1/20, C12P 21/00, C12N 1/20, C12R 1/01. *The Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii – producer of fodder protein* / G.V. Galkina, V.I. Illarionova, E.V. Kuksova [and others]; applicant and patent holder Limited Liability Company "Bio-tech-Engineering". No. 2003115718/13; for-yavl. May 28, 2003; publ. February 27, 2005.

13. Pat. 2392312 RF, IPC C12N 1/20, C12P 21/00, C12R 1/01. *The Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii – fodder protein producer* / S.N. Chestnov; applicant and patentee – BIOPROTEIN Limited Liability Company. No. 2007147181/13; declared 12/21/2007; publ. 20.06.2010.

14. Pat. 96110987 RF, IPC C12N 1/20, A23C 9/12. *Consortium of bacteria Propionibacterium shermanii, Streptococcus thermophilus, Acetobacter aceti, used for the preparation of fermented milk products, and a method for the production of fermented milk product* / V.F. Seme-nikhina, I.V. Rozhkov, V.D. Kharitonov [and others]; applicant and patentee – All-Russian Scientific Research Institute of the Dairy Industry. No. 96110987/13; declared 05/29/1996; publ. 12/27/1998.

15. Pat. 2309982 RF, IPC C12N 1/20, A23C 9/12, C12R 1/15. *Method of obtaining a bacterial concentrate of propionic acid bacteria* / I.S. Khamagaeva, S.M. Tumurova; applicant and patentee State educational institution of higher professional education East Siberian State Technological University. No. 2005117901/13; declared 09.06.2005; publ. 10.11.2007.

16. Pat. 2637387 RF, IPC A23C 9/12, A23C 9/13. *Method for the production of fermented milk product* / S.I. Artyukhova, N.V. Dorzhieva; applicant and patentee Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Omsk State Technical University". No. 2016132355; declared 08/04/2016; publ. 04.12.2017.

17. Pat. 2640255 RF, IPC A23C 19/032. *Propionibacterium strain with inhibitory activity against yeast and molds (variants) and its use* / K. Benfelt, H. W. Morgenstern; applicant and patentee DUPONT NEWRICHNE BYOSCIENCES APS. No. 2014151721; declared 05/21/2013; publ. 12/27/2017.

18. Pat. 2567813 RF, IPC A23C 9/12, C12N 1/20, A61K 38/46, C12R 1/01. *Method of obtaining bacterial concentrate* / I.S. Hamagaeva, N.A. Zambalova, S.B., Naydanova; applicant and patentee Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "East Siberian State University of Technology and Management". No. 2014125648/10; declared 06.24.2014; publ. 11/10/2015.

19. Pat. 97108832 RF, IPC C12N 1/20, A23C 9/12. *Method of obtaining probiotic "Simbiter-2" and method of production with its use of fermented milk product* / D.S. Yankovsky, G.S. Dyment, E.P. Potrebchuk [and others]; applicant and patentee Limited Liability Company O.D.Prolisok Firm. No. 97108832/13; for-yavl. 05/23/1997; publ. 04/27/1999.

20. Pat. 2291899 RF, IPC C12N 1/20, A61K 35/74. *Composition of microorganisms (options)* / A. Mäirä-Mäkinen, T. Suomalainen, O. Vaarala; applicant and patentee VALIO LTD. No. 2003125858/13; declared 01/17/2002; publ. 20.01.2007.

21. Pat. EP1527159, IPC A23K 1/00, A23L 1/30, A23L 29/00, A61K 35/74, A61K 35/741, A61K 39/00. *Probiotic Propionibacterium jensenii 702* / A.M. Catherine, H.Yang; applicant UNIV NEWCASTLE RES ASS. – № 03729707; stated 20.06.2003; published 04.05.2005.

22. Pat. 20050180963, IPC A01N 63/00, A23K 1/00, A23L 1/03, A23L 1/30, A61K 35/74, A61K 39/00. *Probiotic propionibacterium* / A.M. Catherine, H.Yang; applicant University of Newcastle Research Associates. – № 11018911; stated 21.12.2004; published 18.08.2005.

23. Pat. WO/2016/183319, IPC A61K 35/744, A61K 9/20, A61K 9/48. *Propionibacterium fruedenreichii* as a probiotic for infants / M. Mohamadzadeh, B. Sahay; applicant UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, INCORPORATED. – № PCT/US2016/032096; stated 17.11.2016; published 12.05.2016.
24. Pat. CZ301673, IPC A23L 1/03, A23L 29/00, A61K 35/74, A61P 1/00, A61P 35/00, C12N 1/20. *Combination of probiotics and use thereof* / Annika Mäyrä-Mäkinen, Tarja Suomalainen, Outi Vaarala; applicant UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, VALIO LTD. No. 2003-1915; stated 17.01.2002; published 19.05.2010.
25. Britz T.J., Riedel K.-H.J. Propionibacterium species diversity in leerdammer cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 1994, vol. 22, I. 4, pp. 257–267. DOI: 10.1016/0168-1605(94)90177-5
26. *Bergey's manual of systematic bacteriology. Second edition. Volume three. The Firmicutes* – Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA. – 2009. – 1422 p.
27. Vorobieva L.I. *Propionovokislые bakterii* [Propionic acid bacteria]. Moscow, 1995. 288 p.
28. Khaeva O.E., Tsugkiev B.G., Ikoeva L.P. Morphological, cultural and physiological characteristics of new strains of Propionibacterium. *Izvestiya Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [News of the Mountain State Agrarian University], 2019, vol. 56, no. 3, pp. 80–86. (in Russ.)
29. Begunova A.V., Savinova O.S., Rozhkova I.V., Krysanova Yu.I., Fedorova T.V. Evaluation of the probiotic potential and functional properties of lactobacillus reuteri Ir1 in vitro. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology], 2020, vol. 56, no. 5, pp. 472–482. (in Russ.)
30. Shishin M.V., Prosekov A.Yu. Study of morphological and antimicrobial properties of microorganisms of the intestinal tract. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv* [Technics and technology of food production], 2015, vol. 39, no. 4, pp. 131–137. (in Russ.)
31. Volkova G.S., Kuksova E.V., Serba E.M. Study of biological inter-strain interactions and growth properties of production strains of lactic acid bacteria. *Aktual'nye voprosy molochnoy promyshlennosti, mezhotraslevye tekhnologii i sistemy upravleniya kachestvom* [Topical issues of the dairy industry, intersectoral technologies and quality management systems], 2020, vol. 1, no. 1 (1), pp. 104–109. (in Russ.)
32. Holoa H., Fayec T., Bredea D.A., Nilsena T., Ødegård I., et al. Bacteriocins of propionic acid bacteria. *Le Lait*, 2002, vol. 82, no. 1, pp. 59–68.

Irina S. Milentyeva, candidate tech. sci., associate professor of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo State University, Kemerovo, irazumnikova@mail.ru

Oksana V. Kozlova, doctor tech. sci., associate professor of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo State University, Kemerovo, ms.okvk@mail.ru

Natalya I. Ereemeeva, doctor biol. sci., professor of the Department of Ecology and Nature Management, Kemerovo State University, Kemerovo, bionano_kem@mail.ru

Received April 5, 2021

ОБРАЗЕЦ ЦИТИРОВАНИЯ

Милентьева, И.С. Исследование пробиотических свойств бактерий рода *Propionibacterium* / И.С. Милентьева, О.В. Козлова, Н.И. Еремеева // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2021. – Т. 9, № 2. – С. 83–92. DOI: 10.14529/food210209

FOR CITATION

Milentyeva I.S., Kozlova O.V., Ereemeeva N.I. Study of Probiotic Properties of Bacteria of the Genus *Propionibacterium*. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2021, vol. 9, no. 2, pp. 83–92. (in Russ.) DOI: 10.14529/food210209