



УДК 602.4:637.1

<https://doi.org/10.21603/1019-8946-2025-6-66>

# ЭКЗОПОЛИСАХАРИДЫ, ПРОДУЦИРУЕМЫЕ МОЛОЧНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ: ФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ И МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ\*

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

**Ирина Валерьевна Бояринева**, д-р техн наук, профессор базовой кафедры пищевой и клеточной инженерии

E-mail: boyarineva.iv@dvgfu.ru

**Анна Евгеньевна Журавлева**, магистрант

E-mail: zhuravleva.ae@dvgfu.ru

**Елизавета Дмитриевна Ковалева**, аспирант

E-mail: kovaleva.ed@dvgfu.ru

Дальневосточный федеральный университет, п. Аякс, о. Русский, г. Владивосток

Большинство молочнокислых бактерий обладает способностью к синтезу экзополисахаридов в процессе ферментации. Экзополисахариды могут повышать стабильность продукта, улучшать его текстуру и органолептические свойства, выступать как загустители и пребиотики. Кроме того, экзополисахариды обладают биологической активностью: антиоксидантным и противопухолевым действием, иммуномодулирующей активностью, способностью улучшать рост микробиоты кишечника и снижать уровень холестерина. Это определяет перспективу широкого использования полисахаридов молочнокислых бактерий в пищевой промышленности для удовлетворения растущего спроса на лечебные, натуральные продукты питания. В последние годы повышается интерес к закваскам с улучшенными свойствами, позволяющими оказывать влияние на органолептические и реологические характеристики продукта. Одним из направлений улучшения качественных характеристик заквасок является использование культур, продуцирующих экзополисахариды. Согласно исследовательским данным, большое влияние на биосинтез экзополисахаридов и их количество оказывают состав питательной среды (источник углерода, азота, витаминов, минералов) и условия культивирования (температура, pH), поскольку для каждого рода и вида молочнокислых бактерий они являются индивидуальными. Экзополисахариды, продуцируемые молочнокислыми бактериями, интенсифицируют процесс ферментации молока, сокращая время образования сгустка, а также стимулируют рост сопутствующей в консорциуме пробиотической микрофлоры и синтез ими полезных метаболитов. Для более детального изучения полезных свойств полисахаридов и их применения в медицине, создания функциональных заквасок и применения полисахаридов в продуктах питания для улучшения их свойств необходимо проводить исследования бактерий-продуцентов экзополисахаридов, а также состав и структуру данных молекул. Целью работы являлось проведение обзора наиболее применяемых методов качественного и количественного определения экзополисахаридов, а также исследование их структуры и моносахаридного состава. Также представлена общая информация о свойствах данных молекул.

**Ключевые слова:** экзополисахариды, молочнокислые бактерии, химическая структура, биосинтез, биологическая активность, молекулярная масса

**Для цитирования:** Бояринева, И. В. Экзополисахариды, продуцируемые молочнокислыми бактериями: функциональность и методы изучения / И. В. Бояринева, А. Е. Журавлева, Е. Д. Ковалева // Молочная промышленность. 2025. № 6. С. 34–43. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2025-6-66>

\*Работа выполнена в рамках соглашения с Минобрнауки России № 075-15-2022-1143 от 07 июля 2022 г.

## ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия особенное внимание уделяется изучению свойств молочнокислых бактерий. Благодаря углубленному изучению свойств молочнокислых бактерий появляется возможность регулировать характеристики получаемых продуктов, оптимизировать состав пребиотиков и синбиотиков для усиления их эффекта, а также находить новые сферы применения бактерий и их метаболитов.

Важным свойством молочнокислых бактерий является способность синтезировать экзополисахариды (ЭПС). Наиболее исследуемыми микроорганизмами являются *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* [1]. Многие обзоры и исследования посвящены классификации, химическому составу и структуре экзополисахаридов, биосинтезу и генетике, физиологии микроорганизмов, а также некоторым областям их применения [2–7].

Проводился поиск штаммов, производящих большее число ЭПС, селекция известных штаммов [8–10]. Предлагаются новые методики для обнаружения способности к синтезу ЭПС, например методы импедансной микробиологии [11]. Также развивающимся направлением является подбор подходящих условий среды для максимального синтеза ЭПС [12].

С появлением большего количества информации о штаммах началось расширение базы методов, позволяющих обнаруживать ЭПС качественно и количественно, идентифицировать их состав и исследовать физико-химические свойства. По-прежнему актуальным остается метод выделения ЭПС из среды, заключающийся в отделении биомассы и белков (часто с применением трихлоруксусной кислоты) и осаждении ацетоном или этиловым спиртом, также применяются различные его модификации. Наибольшим спросом в ранних работах пользуется метод с применением сканирующего лазерного микроскопирования, фенотипический анализ [1], молекулярную массу оценивали с помощью гель-хроматографии, анализ мономеров проводили с помощью высокоэффективной анионообменной хроматографии [9]. В работах последних лет часто описывается применение фенол-серного метода [13–15] и эксклюзационной хроматографии для количественного определения ЭПС. Для анализа структуры применяют метод спектроскопии ядерного магнитного резонанса, ВЭЖХ и газовой хроматографии.

На сегодняшний день изучение ЭПС проводится в ряде направлений. Это генетические исследования штаммов, метаболизм ЭПС и процессы, отвечающие за их производство, подбор условий культивирования для получения большего выхода ЭПС, определение реологических характеристик продуктов, полученных с использованием культур, активно синтезирующих ЭПС [1]. **Целью работы** являлось проведение обзора наиболее применяемых методов качественного и количественного определения экзополисахаридов, а также исследование их структуры и моносахаридного состава.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ОБЗОРА

### Свойства экзополисахаридов

Экзополисахариды – это углеводные внеклеточные полимерные молекулы, состоящие из большого количества мономеров, связанных между собой гликозидными связями.

Молочнокислые бактерии, вырабатывающие экзополисахариды, включают большое количество видов, например *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus plantarum* [16].



Экзополисахариды (ЭПС), продуцируемые молочнокислыми бактериями, характеризуются как небольшое количество синтезируемых полимеров, которое варьируется от 25 до 500 мг/л. Наиболее высокие уровни продукции были получены для мезофильных штаммов *Lactobacillus rhamnus* 9595M (1200 мг/л) и *Lactobacillus sakei* 0-1 (1375 мг/л). Виды *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* и *Weissella* часто продуцируют ЭПС. Кроме того, некоторые *Bifidobacteria* также способны продуцировать ЭПС [17].

Классифицируются микробные экзополисахариды в первую очередь по химической структуре. Они разделяются на гетерополисахариды и гомополисахариды. Гомополисахариды молочнокислых бактерий в свою очередь могут быть представлены линейными молекулами (леван, пуллулан, курдлан и целлюлоза) и разветвленными (декстран). Мономерами их являются глюкоза и фруктоза, соединенные гликозидными связями [18]. Гомополисахариды также подразделяются на  $\alpha$ -D-глюканы (декстран ( $\alpha$ -1,6), мутан ( $\alpha$ -1,3 и  $\alpha$ -1,6), альтернан ( $\alpha$ -1,3 и  $\alpha$ -1,6) и реутеран ( $\alpha$ -1,4 и  $\alpha$ -1,6)),  $\beta$ -D-глюканы, фруктаны (леван и инулин) и полигалактаны [19].

*Lactobacillus* продуцируют некоторые типы гомополисахаридов – декстран, мутан, реутеран, альтернан, бета-D-глюканы, леван и глюкан инсулинового типа [18].

Гетерополисахариды – это наиболее сложные молекулы, состоящие из разных моносахаридов. Большая часть ЭПС, вырабатываемых молочнокислыми бактериями, относится к этой группе. Состоят они из обычных сахаров (D-глюкоза, D-галактоза), редких сахаров (L-рамноза, манноза, арабиноза, ксилоза, фукоза, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин или глюкуроновая кислота) и неуглеводных компонентов (ацетат, фосфат, сульфат, пируват, пропионат, глицерат, аминокислота, L-глутамат и сукцинат). Другие компоненты, например уроновые кислоты, N-ацетил-D-галактозамин и N-ацетил-D-глюкозамин, при включении в состав полисахаридов играют решающую роль в их технологических и физиологических функциях. Примерами гетерополисахаридов лактобактерий являются гелланы, ксантаны [19].

Большинство ЭПС *Str. thermophilus* являются гетерополисахаридами. ЭПС *Str. thermophilus* состоят из повторяющихся субъединиц 3–8 различных моносахаридов и преимущественно состоят из D-галактозы,



Источник изображения: freepik.com

D-глюкозы, L-рамнозы и N-ацетилгалактозамина в различных соотношениях. В основном среди ЭПС этого вида встречаются пять различных комбинаций моносахаридов внутри субъединиц: галактоза и глюкоза, это наиболее распространенный тип комбинации; D-галактоза и L-рамноза; D-галактоза, D-глюкоза и N-ацетилгалактозамин; D-галактоза, D-глюкоза и L-рамноза; D-галактоза, D-глюкоза, N-ацетилглюкозамин и L-рамноза [20].

Экзополисахариды *Lb. rhamnosus* чаще всего содержат глюкозу, галактозу и рамнозу, но также были обнаружены N-ацетилглюкозамин и N-ацетилгалактозамин [21].

В последние годы уделяется все большее внимание ЭПС, продуцируемым молочнокислыми бактериями. В первую очередь, это связано с их вкладом в реологию и текстуру пищевых продуктов. В пищевой промышленности ЭПС могут использоваться в качестве загустителей, желирующих агентов и эмульгаторов. Степень и характер влияния ЭПС на физико-химические свойства пищевых продуктов зависят от молекулярной массы, заряда и

структурой полимера. ЭПС молочнокислых бактерий могут усиливать функциональный эффект в пищевых продуктах и оказывать благотворное воздействие на здоровье человека [2, 3, 19, 22–25].

#### **Условия, влияющие на биосинтез экзополисахаридов молочнокислыми бактериями**

Моносахаридный состав, структура экзополисахаридов (ЭПС) и их уровень синтеза зависят от вида и штамма микроорганизма. Также на синтез ЭПС для некоторых микроорганизмов может оказывать влияние состав среды. Влияние может оказывать источник углерода. Например, ЭПС, синтезируемые *Lactobacillus rhamnosus*, выращенными на среде с галактозой, лактозой или сахарозой, содержат гетерогенные фракции с высокой и низкой молекулярной массой, в то время как те, что синтезируются на среде с мальтозой и глюкозой, содержат только высокомолекулярную фракцию. Также отличался моносахаридный состав ЭПС [21]. Использование сахарозы в качестве источника углерода для *Str. thermophilus* привело к наибольшему выходу ЭПС (108 мг/л) по сравнению с глюкозой, фруктозой и лактозой. Также имеет значение концентрация источников углерода [26]. Максимальный выход ЭПС у штамма *L. paracasei*, равный 1,131 г/л, был получен при использовании в качестве источ-

ника углерода фруктозы, маннозы, трегалозы, глюкозы, галактозы и лактозы [4]. Наибольший выход для штаммов *L. rhamnosus* наблюдался при использовании фруктозы. Кроме того, выход увеличивался при использовании комбинации с сахарозой, фруктозой, глюкозой, лактозой или галактозой, а также в среде с сахарозой, фруктозой и глюкозой [27].

Уровень pH, продолжительность культивирования и температура также влияют на уровень синтеза ЭПС. Так, в результате оценки нескольких факторов выявлены оптимальные условия для синтеза ЭПС для *Str. thermophilus* [26]. У *L. lactis*, *L. rhamnosus* и *L. plantarum* оптимальный температурный диапазон для производства ЭПС составляет от 18 до 25 °C [25].

Источники азота также могут оказывать влияние на синтез ЭПС. Несколько источников азота способствуют выработке ЭПС. Так, самое высокое значение ЭПС среди пяти различных источников азота для *Str. thermophilus* было у соевого пептона, при этом выработка ЭПС достигала 150 мг/л [26]. Дрожжевой экстракт является наиболее часто упоминаемым источником азота в литературе и обеспечивает самый высокий выход, при этом являясь дешевым ресурсом [25].

Источник изображения: freepik.com



На активность бактерий, образующих ЭПС, также может влиять одновременное присутствие в питательной среде различных штаммов молочнокислых бактерий. Это имеет большое значение, поскольку в промышленной практике обычно используются смешанные культуры, состоящие из нескольких штаммов одного и того же вида молочнокислых бактерий и / или разных видов [24]. Так, например, совместное культивирование трех штаммов *L. rhamnosus* в сочетании с *Saccharomyces cerevisiae* приводит к увеличению биосинтеза ЭПС в сравнении с монокультурами [22]. Работ, посвященных исследованию подобной взаимосвязи не так много, однако это перспективная для изучения тема.

### Методы определения экзополисахаридов

Методы определения полисахаридов можно подразделить на качественные и количественные (см. табл.). Качественные методы позволяют определить наличие или отсутствие способности к синтезу полисахаридов у микроорганизмов. Наиболее известный и часто применимый в российских рабо-

тах метод качественного анализа – высып исследуемых культур методом штриха на плотную питательную среду с красителем рутениевым красным. При синтезе экзополисахаридов (ЭПС) молочнокислыми бактериями колонии имеют белую или розовую окраску, а при отсутствии синтеза – красную [28].

Количественные методы позволяют узнать точный выход ЭПС. Одним из первых таких методов является выделение ЭПС с последующим количественным определением по ряду методик. Первоначальный метод был известен с начала исследования полисахаридов [48]. Данный метод в вариациях используется и в современных работах [13, 14, 35]. Выделение экзополисахаридов основано на отделении среды от клеток и осаждении экзополисахаридов этанолом (также применяется ацетон, изопропанол) с последующей сушкой [32–35]. Для получения более чистых образцов метод модифицируют: при работе с молокосодержащими средами добавляется этап нагревания при 100 °C в течение 15–30 мин для инактивации эндогенных

**Таблица. Методы определения экзополисахаридов**

Параметр	Метод определения	Источник
Качественный анализ	Методы импедансной микробиологии	[11]
	Метод сканирующего лазерного микроскопирования	[1, 29, 30]
	Метод сканирующей электронной микроскопии	[31, 32]
	Микробиологический метод (высып культур методом штриха на плотную питательную среду с красителем рутениевым красным)	[28]
Выделение ЭПС	Химический метод или метод осаждения с применением трихлоруксусной кислоты	[1, 32]
	Химический метод или метод осаждения с применением ацетона или этилового спирта, изопропанола	[32–35]
Количественный анализ	Гравиметрический	[34]
	Колориметрический	[13, 14, 15, 19, 36–39]
	Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)	[25]
	Анионообменная хроматография	[25]
	Метод спектроскопии	[25, 40]
Разделение	Ионообменная хроматография (для разделения экзополисахаридов) при количественной характеристике	[35]
	Эксклюзионная хроматография	[41]
Определение молекуллярной массы	Высокоэффективная анионообменная хроматография	[13–15]
	Эксклюзионная хроматография	[41]
	Метод ВЭЖХ с использованием детектора рефракционного индекса (RID), ультрафиолетового детектора (UV) или диодно-матричного детектора (DAD)	[42–44]
Структурный анализ	Гель-проникающая хроматография, в т. ч. с детекторами RID и многоуглового лазерного рассеяния света (MALLS)	[5, 33, 45]
	Газовая хроматография	[45, 46]
	Газохромато-масс-спектрометрический анализ (ГХ-МС метод)	[6, 7, 46]
	ЯМР-спектроскопия	[46, 47]
	Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (FTIR)	[7, 47]



ферментов, для удаления белков часто используют трихлоруксусную кислоту (ТХУ) в конечных концентрациях от 4 до 20 % (мас./об.), однако такая обработка может приводить к соосаждению экзополисахаридов. В качестве альтернативы для очистки от примесей белков среду с экзополисахаридами обрабатывают протеолитическими ферментами [32]. После осаждения экзополисахаридов полученный материал чаще всего повторно суспензируют в деионизированной воде и подвергают диализу против воды в течение 2–4 суток при 4 °C для очистки от простых сахаров. Затем образец высушивают методом лиофильной сушки [32].

Количественный анализ после выделения экзополисахаридов может осуществляться несколькими способами. Самый простой из них – гравиметрический, который заключается во взвешивании выделенных экзополисахаридов [34].

Одним из наиболее часто применимых является колориметрический метод по технологии, предложенной M. A. Dubois [36]. Принцип метода заключается в том, что концентрированная серная кислота обезвоживает полисахариды с образованием уроновой кислоты и гидроксимочевиноформальдегида, а затем конденсируется с фенолом с образованием оранжево-красных соединений. Интенсивность цвет-

ных соединений позволяет количественно оценивать содержание полисахаридов в образце. Этот метод широко применяется для оценки продукции полисахаридов молочнокислых бактерий [13–15, 19, 38, 39]. Колориметрический анализ – это довольно недорогой и простой в исполнении метод, но им определяется общее количество углеводов, присутствующих в образце, поэтому не исключены завышенные показатели из-за небольшого загрязнения образцов. Для более точного количественного определения ЭПС было предложено использовать ионообменную хроматографию для разделения ЭПС, а затем определить содержание углеводов в богатой ЭПС фракции с помощью фенол-сернокислотного метода [35].

Концентрацию ЭПС также можно проанализировать с помощью эксклюзионной хроматографии. Хроматография также применяется для более детального исследования – определения молекулярной массы, состава [41]. Обнаружение молекул ЭПС с помощью показателя преломления ( $RI$ ) может использоваться для количественной оценки их содержания в соответствующем пике элюирования ЭПС. Дополнительно использование ультрафиолетового детектора поможет оценить наличие белка в образце [8]. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) в сочетании с RID-детектором, а также анионообменная хроматография могут использоваться для количественного определения ЭПС [25].

Для быстрого количественного определения ЭПС непосредственно в культуральной среде без предварительного этапа выделения предложен метод спектроскопии в ближней инфракрасной области (БИК или NIR). Результаты, полученные данным методом, показали высокий коэффициент корреляции ( $R^2 > 0,90$ ) с контрольными методами, что указывает на его эффективность [25, 40].

ЭПС также можно наблюдать на микроструктурном уровне непосредственно в пищевой матрице с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии после окрашивания флуоресцентным веществом. Применяется он чаще для качественного определения ЭПС и отслеживания их продукции в матрице [29, 30].

В качестве альтернативы можно использовать сканирующую электронную микроскопию. Это качественный метод [32], он считается мощным инструментом для изучения

морфологических особенностей полисахаридов, а также может быть использован для понимания их физических свойств [31].

### **Методы установления структуры и молекулярной массы экзополисахаридов**

Состав моносахаридов экзополисахаридов (ЭПС) является важным фактором, влияющим на активность полисахаридов, и отличается в зависимости от штамма, условий культивирования, состава среды. Для изучения состава ЭПС применяют несколько методик. Одна из наиболее часто используемых заключается в гидролизе ЭПС и последующем анализе моносахаридов. Гидролиз может осуществляться разными способами. Используют относительно мягкие кислотные условия (разбавленная серная кислота, трифтормукусная кислота, соляная кислота или серная кислота) при оптимизированных температурах и времени [33, 43, 45, 46]. Как правило, условия гидролиза зависят от выбранной кислоты: соляная кислота (1 или 2 М, 100 °C, 1–6 ч), серная кислота (0,1–2 М, 100 °C, 2–12 ч), трифтормукусная кислота (4 М, 4 ч, 100 °C или 2 М, 2 ч, 120 °C). Преимущество трифтормукусной кислоты в том, что ее можно легко удалить путем выпаривания [46]. Другие кислоты после завершения гидролиза нейтрализуют 1 М раствором гидроксида натрия (NaOH). Образцы стери-

лизуются путем фильтрации и несколько раз промываются метанолом с последующим выпариванием. Для ВЭЖХ проводится дериватизация моносахаридов, чаще всего 1-фенил-3-метил-5-пиразолоном.

Дальнейшее определение моносахаридного состава осуществляют с использованием различных физико-химических методов анализа. Наиболее популярным стал метод ВЭЖХ с использованием детектора рефракционного индекса (RID), ультрафиолетового детектора (UV) или диодно-матричного детектора (DAD) [42–44]. ВЭЖХ характеризуется высокой чувствительностью, селективностью и универсальностью; пригодностью одновременно для определения нейтральных, кислых и основных сахаров путем комбинации режимов детектирования.

Газовая хроматография также применяется для структурного анализа полисахаридов. Метод обладает высокой чувствительностью. Для получения летучих продуктов моносахариды дериватизируются (химически модифицируются) путем ацетилирования моносахаридов. Сама процедура включает гидролиз, восстановление альдегидных групп и ацетилирование. Ацетилирующим агентом чаще является уксусный ангирид или пиридин [46, 45].

Анализ метилирования ЭПС включает полное метилирование всех свободных гидроксильных групп нативного полисахарида, в то время как группы, участвующие в гликозидных связях, не метилируются. После данной процедуры следует кислотный гидролиз. Полученные мономеры затем восстанавливаются до альditолов и ацетилируются с образованием частично метилированных альдитол-ацетатов. Для их количественного определения и идентификации пиков по характерным ионам фрагментации и времени удерживания используется газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС) [46]. Это более продвинутый метод, используемый для определения типов и пропорций моносахаридных связей, их положения внутри ЭПС посредством предварительного метилирования, гидролиза, восстановления, ацетилирования и ГХ-МС анализа. Идентификация гликозидных связей выполняется на основе степени соответствия масс-спектров частично метилированных альдитол-ацетатов из базы данных спектров. ГХ-МС можно использовать и для определения химического состава ЭПС [6, 7]. Также можно проверить, успешно ли проведено метилирование, с помощью инфракрасного спектрометра с преоб-



Источник изображения: freepik.com

разованием Фурье (ИК-Фурье). Недостатком метода метилирования является то, что невозможно определить порядок конфигураций гликозидных углеродных связей и порядок остатков моносахаридов в углеводных цепях [47]. Однако путем объединения с спектроскопией ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопией) недостатки анализа метилирования можно устранить для получения более прямой информации о первичной структуре ЭПС.

ЯМР-спектроскопия играет важную роль в определении конфигураций гликозидных связей, размера кислородного кольца, подтверждение альфа- или бета-аномерии, состава моносахаридов и относительных соотношений, а также положения и последовательности углеводных цепей в ЭПС [47].

ЯМР-спектроскопию можно разделить на два типа: одномерная (1D) (протон ( $^1\text{H}$ ), углерод-13 ( $^{13}\text{C}$ ), азот-15 ( $^{15}\text{N}$ ), фосфор-31 ( $^{31}\text{P}$ ) и т. д.) и двумерная (2D) (корреляционная спектроскопия (COSY), гетероядерная одноквантовая когерентность (HSQC), гетероядерная корреляция множественных связей (HMBC), ядерная спектроскопия эффекта оверхаузера (NOESY) и общая корреляционная спектроскопия (TOCSY)), каждый из которых предлагает различные возможности и приложения. Химическая структура ЭПС изучается с помощью одномерной ЯМР-спектроскопии. Двумерная ЯМР-спектроскопия используется для определения подробной химической структуры ЭПС (последовательности моносахаридов) [7]. Спектры ЯМР обычно записываются в  $\text{D}_2\text{O}$ . Чтобы преодолеть нерастворимость некоторых ЭПС в  $\text{D}_2\text{O}$ , проводят предварительный мягкий гидролиз (0,5 М TFA в течение 5 мин при 100 °C) [46].

Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (FTIR) – это метод анализа, который широко применяется для изучения структуры отдельных молекул и состава молекулярных смесей. Для этого анализа определенное количество образца ЭПС объединяется с бромидом калия, а затем сканируется в диапазоне 4000–400  $\text{cm}^{-1}$ . Метод анализа FTIR позволяет идентифицировать пирановые и фурановые сахара, а также определить тип гликозидных связей, конфигурации сахара и замену гидроксильных групп в цепи ЭПС [47]. Это дает возможность подтвердить последующий структурный анализ ЭПС. Например, пики поглощения 3200–2800  $\text{cm}^{-1}$

и 1700–1550  $\text{cm}^{-1}$  представляют собой характерный пик углеводов. Четкий пик в диапазоне 3200–2800  $\text{cm}^{-1}$  указывает на колебательное поглощение С-Н. Пик поглощения при 1700–1550  $\text{cm}^{-1}$  является результатом асимметричного растяжения карбоксильной группы С=О и обычно указывает, что ЭПС содержит уроновую кислоту, пик при 1000–1200  $\text{cm}^{-1}$  характерен для гликозидных связей, 800–900  $\text{cm}^{-1}$  – для пиранозной формы глюкозы и т. д. [7, 47].

На функции экзополисахаридов существенно влияет их молекулярная масса; более низкая молекулярная масса связана с антиоксидантной активностью соединений, в то время как ЭПС с более высокой молекулярной массой повышают вязкость водных растворов и обладают мощной противораковой активностью [7]. Молекулярную массу ЭПС в большинстве работ определяют с помощью гель-проникающей хроматографии с детекторами RID и многоуглового лазерного рассеяния света (MALLS) [5, 33, 45].

## ВЫВОДЫ

Таким образом, экзополисахариды (ЭПС) молочнокислых бактерий являются привлекательными объектами исследований, их состав, структура, свойства систематически изучаются. Благодаря уникальным свойствам, ЭПС способны улучшать качество продукции и положительно воздействовать на здоровье людей. ЭПС обладают широким потенциалом применения в медицине и фармакологии, в пищевой промышленности для замены стабилизаторов, жира, консервантов, могут быть включены в состав функциональных продуктов, в т. ч. на молочной и растительной основе, использованы для повышения сочности мясных изделий и качества хлеба. Выбор метода для анализа зависит от цели исследования, имеющегося оборудования, выбранного штамма и условий культивирования, а также от требуемого качества результата. Развитие современных методов для анализа ЭПС, таких как ВЭЖХ, газовая и эксклюзионная хроматография, ЯМР и FTIR, позволяет получить обширную информацию об этих соединениях и использовать ее для дальнейших разработок. Также становится возможным открытие новых структур полисахаридов. Современные методы характеристики ЭПС упрощают возможность углубиться в биосинтез, модифицировать штаммы и подбирать субстраты для увеличения продукции ЭПС или изменения их структуры. ■

## EXOPOLYSACCHARIDES OF LACTIC ACID BACTERIA: FUNCTIONS AND RESEARCH METHODS

Irina V. Boyarineva, Anna E. Zhuravleva, Elizaveta D. Kovaleva

Far Eastern Federal University, Vladivostok

## REVIEW ARTICLE

Most lactic acid bacteria synthesize exopolysaccharides during fermentation. Exopolysaccharides improve the stability and sensory profile of finished products by acting as thickeners or prebiotics. Exopolysaccharides are biologically active: they have antioxidant, immunomodulatory, and antitumor properties, as well as improve intestinal microbiota and reduce cholesterol. Polysaccharides of lactic acid bacteria meet the growing global demand for natural functional foods. Modern starter cultures can improve the sensory and rheological characteristics of the product. Exopolysaccharide-producing bacteria improve the quality of starter cultures. The nutrient medium composition (carbon, nitrogen, vitamins, minerals) and cultivation conditions (temperature, pH) affect the biosynthesis and yield of exopolysaccharides. They depend on the genus and species of lactic acid bacteria. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria intensify dairy fermentation and reduce curd formation time, as well as stimulate the growth of associated probiotic microflora and the synthesis of beneficial metabolites. Studies of molecular composition and structure of exopolysaccharide-producing bacteria make it possible to explore the beneficial properties of polysaccharides, apply them in medicine, develop new functional starters, improve food quality, etc. This article reviews the most popular methods of exopolysaccharide studies, including their structure and monosaccharide composition.

**Keywords:** exopolysaccharides, lactic acid bacteria, chemical structure, biosynthesis, biological activity, molecular weight

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ганина, В. И. Анализ зарубежных исследований в области молочнокислых бактерий, синтезирующих экзополисахариды / В. И. Ганина, Т. В. Рожкова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2005. № 5–6. С. 65–66. <https://elibrary.ru/mnmiyip>
- Khalil, M. A. Exploring the therapeutic potentials of exopolysaccharides derived from lactic acid bacteria and bifidobacteria: Antioxidant, antitumor, and periodontal regeneration / M. A. Khalil [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2022. Vol. 13. 803688. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.803688>
- Kavitake, D. Antipathogenic potentials of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and their food and health applications / D. Kavitake [et al.] // Food Control. 2023. Vol. 152. 109850. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109850>
- Zhang, Y. The effect of optimized carbon source on the synthesis and composition of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus paracasei* / Y. Zhang [et al.] // Journal of Dairy Science. 2021. Vol. 104(4). P. 4023–4032. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-1944>
- Andrew, M. Molecular characterization and biocompatibility of exopolysaccharide produced by moderately halophilic bacterium *Virgibacillus dokdonensis* from the saltern of Kumta Coast / M. Andrew, G. Jayaraman // Polymers. 2022. Vol. 14(19). 3986. <https://doi.org/10.3390/polym14193986>
- Fuso, A. Feeding lactic acid bacteria with different sugars: Effect on exopolysaccharides (eps) production and their molecular characteristics / A. Fuso [et al.] // Foods. 2023. Vol. 12(1). 215. <https://doi.org/10.3390/foods12010215>
- Yadav, M. K. Methods for detection, extraction, purification, and characterization of exopolysaccharides of lactic acid bacteria—A systematic review / M. K. Yadav [et al.] // Foods. 2024. Vol. 13(22). 3687. <https://doi.org/10.3390/foods13223687>
- Ruas-Madiedo, P. Invited review: Methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria / P. Ruas-Madiedo, C. G. de los Reyes-Gavilán // Journal of Dairy Science. 2005. Vol. 88(3). P. 843–856. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72750-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72750-8)
- Mozzi, F. Diversity of heteropolysaccharide-producing lactic acid bacterium strains and their biopolymers / F. Mozzi [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. 2006. Vol. 72(6). P. 4431–4435. <https://doi.org/10.1128/AEM.02780-05>
- Van der Meulen, R. Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved / R. Van der Meulen [et al.] // International Journal of Food Microbiology. 2007. Vol. 118(3). P. 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.014>
- Bancalari, E. Impedance microbiology to speed up the screening of lactic acid bacteria exopolysaccharide production / E. Bancalario [et al.] // International Journal of Food Microbiology. 2019. Vol. 306. 108268. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108268>
- Nguyen, P. T. Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: The manipulation of environmental stresses for industrial applications / P. T. Nguyen [et al.] // AIMS Microbiology. 2020. Vol. 6(4). P. 451–469. <https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2020027>
- Malaka, R. Assessment of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ropy strain in different substrate media / R. Malaka [et al.] // Food Science & Nutrition. 2020. Vol. 8(3). P. 1657–1664. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1452>
- Пожидаева, Е. А. Исследование экзополисахаридного потенциала штаммов пробиотических микроорганизмов / Е. А. Пожидаева [и др.] // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. 2024. № 3. С. 112–117. <https://doi.org/10.24412/2311-6447-2024-3-112-117>; <https://elibrary.ru/cprjby>
- Yilmaz, M. T. Effect of in situ exopolysaccharide production on physicochemical, rheological, sensory, and microstructural properties of the yogurt drink ayran: An optimization study based on fermentation kinetics / M. T. Yilmaz // Journal of Dairy Science. 2015. Vol. 3 (98). P. 1604–1624. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8936>
- Nehal, F. Characterization, high production and antimicrobial activity of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* F-mou / F. Nehal [et al.] // Microbial Pathogenesis. 2019. Vol. 132. P. 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.04.018>; <https://elibrary.ru/xauowi>
- Sanalibaba, P. Exopolysaccharides production by lactic acid bacteria / P. Sanalibaba, G. A. Cakmak // Applied Microbiology: Open Access. 2016. Vol. 2(2). 1000115. <https://doi.org/10.4172/2471-9315.1000115>
- Bibi, A. Recent advances in the production of exopolysaccharide (EPS) from *Lactobacillus* spp. and its application in the food industry: A review / A. Bibi [et al.] // Sustainability. 2021. Vol. 13(22). <https://doi.org/10.3390/su132212429>
- Kusmiati, K. Effect of sodium acetate and trace element ( $\text{Se}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) on exopolysaccharide production by *Lactobacillus plantarum* and promote antioxidant capacity / K. Kusmiati [et al.] // Lactobacillus - A Multifunctional Genus. Ed. by M. Laranjo. – IntechOpen, 2023. – 184 p. <https://doi.org/10.5772/intechopen.104547>
- Cui, Y. New advances in exopolysaccharides production of *Streptococcus thermophilus* / Y. Cui [et al.] // Archives of Microbiology. 2017. Vol. 199(6). P. 799–809. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1366-1>
- Polak-Berecka, M. Physicochemical characterization of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus rhamnosus* on various carbon sources / M. Polak-Berecka [et al.] // Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 117. P. 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.006>
- Bertsch, A. Enhanced exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Saccharomyces cerevisiae* / A. Bertsch, D. Roy, G. Lapointe // Applied Sciences (Switzerland). 2019. Vol. 9(19). 4026. <https://doi.org/10.3390/app9194026>

23. **Korcz, E.** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry / E. Korcz, L. Varga // Trends in Food Science & Technology. 2021. Vol. 110. P. 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.014>
24. **Prete, R.** Lactic acid bacteria exopolysaccharides producers: A sustainable tool for functional foods / R. Prete [et al.] // Foods. 2021. Vol. 10(7). 1653. <https://doi.org/10.3390/foods10071653>
25. **Sorensen, H. M.** Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Production, purification and health benefits towards functional food / H. M. Sorensen [et al.] // Nutrients. 2022. Vol. 14(14). 2938. <https://doi.org/10.3390/nu14142938>
26. **Li, D.** The influence of fermentation condition on production and molecular mass of EPS produced by *Streptococcus thermophilus* 05-34 in milk-based medium / D. Li [et al.] // Food Chemistry. 2016. Vol. 197. P. 367–372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.129>
27. **Oleksy-Sobczak, M.** Optimization of media composition to maximize the yield of exopolysaccharides production by *Lactobacillus rhamnosus* strains / M. Oleksy-Sobczak, E. Klewicka // Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2019. Vol. 12. P. 774–783. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09581-2>
28. **Головач, О. С.** Оценка способности продуцирования экзополисахаридов молочнокислыми микроорганизмами качественным методом / О. С. Головач [и др.] // Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2019. № 13. С. 39–46. <https://elibrary.ru/nzaafvNZAFAV>.
29. **London, L. E. E.** Use of *Lactobacillus mucosae* DPC 6426, an exopolysaccharide-producing strain, positively influences the techno-functional properties of yoghurt / L. E. E. London [et al.] // International Dairy Journal. 2015. Vol. 40. P. 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.08.011>
30. **Li, C.** Microbiological, physicochemical and rheological properties of fermented soymilk produced with exopolysaccharide (EPS) producing lactic acid bacteria strains / C. Li [et al.] // LWT - Food Science and Technology. 2014. Vol. 57(2). P. 477–485. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.025>
31. **Wang, J.** Isolation and characterization of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus plantarum* SKT 109 from Tibet Kefir / J. Wang [et al.] // Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2015. Vol. 65(4). P. 269–279. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0023>
32. **Leroy, F.** Advances in production and simplified methods for recovery and quantification of exopolysaccharides for applications in food and health / F. Leroy, L. De Vuyst // Journal of Dairy Science. 2016. Vol. 99(4). P. 3229–3238. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9936>
33. **Buksa, K.** Extraction, purification and characterisation of exopolysaccharides produced by newly isolated lactic acid bacteria strains and the examination of their influence on resistant starch formation / K. Buksa, M. Kowalczyk, Ja. Boreczek // Food Chemistry. 2021. Vol. 362. 130221. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130221>
34. **Lynch, K. M.** Isolation and characterisation of exopolysaccharide-producing *Weissella* and *Lactobacillus* and their application as adjunct cultures in Cheddar cheese / K. M. Lynch [et al.] // International Dairy Journal. 2014. Vol. 34(1). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.07.013>
35. **Tang, W.** Structural characterization and antioxidant property of released exopolysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* SRFM-1 / W. Tang [et al.] // Carbohydrate Polymers. 2017. Vol. 173. P. 654–664. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.039>
36. **Dubois, M.** A colorimetric method for the determination of sugars / M. Dubois [et al.] // Nature. 1951. Vol. 4265(168). 167. <https://doi.org/10.1038/168167a0>
37. **Cerning, J.** Isolation and characterization of exopolysaccharides from slime-forming mesophilic lactic acid bacteria / J. Cerning [et al.] // Journal of Dairy Science. 1992. Vol. 75. P. 692–699. <https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302%2892%2977805-9>
38. **Nwosu, I. G.** Production of microbial exopolysaccharide by cost-effective medium optimization method / I. G. Nwosu, G. O. Abu, K. O. Agwa // Journal of Advances in Microbiology. 2019. Vol. 19(2). P. 1–13. <https://doi.org/10.9734/jamb/2019/v19i230189>
39. **Maunatin, A.** The isolation of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from lontar (*Borassus flabellifer* L.) sap / A. Maunatin [et al.] // Iranian Journal of Microbiology. 2020. Vol. 12(5). P. 437–444. <https://doi.org/10.18502/ijm.v12i5.4605>
40. **Macedo, M. G.** Quantification of exopolysaccharide, lactic acid, and lactose concentrations in culture broth by near-infrared spectroscopy / M. G. Macedo, M. F. Laporte, C. Lacroix // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. Vol. 50(7). P. 1774–1779. <https://doi.org/10.1021/jf0110093>
41. **Wolter, A.** Evaluation of exopolysaccharide producing *Weissella cibaria* MG1 strain for the production of sourdough from various flours // Food Microbiology. 2014. Vol. 37. P. 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.009>
42. **Zhu, Y.** Exopolysaccharides produced by yogurt-texture improving *Lactobacillus plantarum* RS20D and the immunoregulatory activity / Y. Zhu [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2019. Vol. 121. P. 342–349. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.201>
43. **Tukenmez, U.** The relationship between the structural characteristics of lactobacilli-EPS and its ability to induce apoptosis in colon cancer cells *in vitro* / U. Tukenmez [et al.] // Scientific Reports. 2019. Vol. 9(1). 8268. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44753-8>
44. **Chen, Y.-C.** Monosaccharide composition influence and immunomodulatory effects of probiotic exopolysaccharides / Y.-C. Chen, Y.-J. Wu, C.-Y. Hu // International Journal of Biological Macromolecules. 2019. Vol. 133. P. 575–582. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.109>
45. **Abid, Y.** Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria / Y. Abida [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. Vol. 108. P. 719–728. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.155>
46. **Kanauchi, M.** Lactic acid bacteria / M. Kanauchi. – New York: Springer New York, 2019. – 194 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8907-2>
47. **Wei, D.** Research methods for structural analysis of lactic acid bacteria induced exopolysaccharides / D. Wei [et al.] // Chinese Journal of Analytical Chemistry. 2018. Vol. 6(46). P. 875–888. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(18\)61091-6](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(18)61091-6)
48. **De Vuyst, L.** Production by and isolation of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in a milk medium and evidence for their growth-associated biosynthesis / L. De Vuyst [et al.] // Journal of Applied Microbiology. 1998. Vol. 84(6). P. 1059–1068. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00445.x>

**МОЛОЧНАЯ  
ПРОМЫШЛЕННОСТЬ**

**СЫРОДЕЛИЕ  
МАСЛОДЕЛИЕ**

**ВНИМАНИЕ!  
ПОДПИСКА**

В редакции  
podpiska.kemsu@mail.ru

