

TANNASE ACTIVITY AS A CRITERION FOR THE SELECTION OF PROBIOTIC MICROORGANISMS

Starovoitova S.A.

*National University of Food Technologies
68, Vladimirskaya str., Kiev, 01601, Ukraine
svetik_2004@mail.ru*

ABSTRACT

Types of tannins and their sources for selection, and characteristics such as the structure and properties of the tannins, especially those of bacterial origin, were considered. The positive and negative properties of various tannins, mainly those of vegetable origin, were reviewed. The methods of biodegradation of the main types of tannins and enzymes involved in the processes of their decomposition were analysed. The possibility of using tannins and their properties in various industries, especially in food and pharmaceutical industries, was discussed. The data of many known researchers with respect to bacterial tannase activity and methods of determination and isolation of bacteria with tannase activity were summarized. The main tannase-producing bacteria, especially those with potential probiotic properties and use in creating bacterial drugs and functional foods (namely, bacteria that belong to the genera such as *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, and *Pentococcus*), were shown. Application perspectives of the tannase activity of probiotic microorganisms as a basis for pharmaceutical products—probiotics and functional foods enriched with probiotic microorganisms that have relevant antioxidant and anti-tumour properties—were discussed. The practical uses of tannase are still quite limited because of insufficient information on its properties and the complexity of its production and purification.

Keywords: tannase activity, gut microbiota, probiotics, antioxidant properties

УДК 579.61/ 571.27

ТАННАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КАК КРИТЕРИЙ ОТБОРА ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Старовойтова С.А.

*Национальный университет пищевых технологий
ул. Владимирская, 68, Киев, 01601, Украина
svetik_2004@mail.ru*

АБСТРАКТ

В статье рассмотрены виды таннинов и их источники. Дана характеристика строению и свойствам таннинов, в особенности бактериального происхождения. Рассмотрены позитивные и негативные свойства таннинов различного, в основном растительного происхождения. Проанализированы пути биодegradации основных видов таннинов и ферменты, участвующие в процессах их разложения. Показано возможное использование и значение таннинов в различных отраслях промышленности, особенно в пищевой и фармацевтической. Обобщены данные литературы относительно танназной активности бактерий и методов ее определения, а также методы выделения бактерий с танназной активностью. Приведены основные бактерии-продуценты танназы, в частности с потенциальными пробиотическими свойствами и возможностью использования при создании бактериотерапевтических препаратов и продуктов функционального питания, а именно бактерии родов *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pentococcus* и некоторые другие. Освещены перспективы применения танназной активности пробиотических микроорганизмов в качестве основы фармацевтических препаратов – пробиотиков и продуктов функционального питания, обогащенных соответствующими пробиотическими микроорганизмами с антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами. Отмечено, что практическое использование танназы все еще остается достаточно ограниченным в связи с недостаточно изученными свойствами, сложностью получения и очистки.

Ключевые слова: танназная активность, микробиота кишечника, пробиотики, антиоксидантные свойства.

ВВЕДЕНИЕ

Таннины присутствуют в различных растениях, которые используются в качестве пищевых продуктов и кормов [1]. 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 [2]. Таннины известны как антинутриенты, то есть они снижают эффективность преобразования организмом усвоенных питательных веществ в новые вещества. Свойства таннинов напрямую зависят от их молекулярной массы. Экспериментально доказано, что чем выше молекулярная масса молекул таннинов, тем сильнее антипитательные эффекты и ниже биологическая активность [1, 2].

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. Галлотаннины деградируют некоторые бактерии, грибы и дрожжи, которые могут гидролизировать только остатки галлоил эфиров таннинов. Таннинацилгидролаза (ЕС 3.1.1.20) широко известна как танназа, катализирует гидролиз галлоил эфирной связи таннинов. Танназа принадлежит к суперсемейству эстераз. С момента своего открытия танназа нашла широкое применение в пищевой, кормовой, фармацевтической и химической промышленности [3]. Несмотря на значительный интерес и длинную историю изучения танназы, мало научных данных про ее молекулярное строение. Это один из важнейших факторов, который ограничивает широкомасштабное применение танназы. Насколько известно, только бактериальная танназа проанализирована на генетическом уровне [4-8]. Кроме того, охарактеризована биохимия и структура танназы *Lactobacillus plantarum* [5, 6, 8]. *Lactobacillus plantarum* наиболее часто встречается при ферментации растительных материалов с высоким содержанием таннинов.

Растительная пища является главным источником таннинов – биологически активных фитонутриентов, которые проявляют проапоптотические и антиметастатические свойства [9]. Несмотря на многообещающий химиопрофилактический потенциал таннинов, результаты исследований на людях по оценке связи между потреблением продуктов, богатых таннинами и риском развития колоректального рака, являются дискуссионными. Предполагается наличие взаимодействия между микробиотой и таннинами продуктов питания. Микрофлора желудочно-кишечного тракта человека имеет глубокое влияние на трансформацию пищи в метаболиты, которые могут повлиять на здоровье человека [10]. Таким образом, высокоспецифическая активность бактерий, в частности таннин-метаболизирующая активность, может рассматриваться как один из критериев отбора пробиотических штаммов для дальнейшего их использования в фармацевтической и пищевой промышленности.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТАННИНОВ

Таннины (от франц. *tanner* – дубить кожу) – водорастворимые фенольные продукты, способные преципитировать белки из водных растворов. Таннины являются второй по распространённости в природе группой фенолов (после лигнинов) и считаются вторичными метаболитами растений. Таннины содержатся в коре, древесине, листьях и (или) плодах (иногда семенах, корнях, клубнях) многих растений и придают листьям и плодам терпкий вкус. Они обладают определенным спектром биологических свойств, обеспечивающих механизмы защиты растений от вредителей и болезней, вызванных бактериями и вирусами. Таннины подавляют рост ряда микроорганизмов и устойчивы к микробному действию [1].

Таннины представляют собой группу сложных веществ, построенных из олигомерных цепей, характеризующихся наличием полифенольных соединений. Они имеют молекулярную массу от 500 до 20000 кДа. Одной из определяющих свойств таннинов является способность образовывать прочные комплексы с белками и другими макромолекулами, такими как крахмал, целлюлоза и минералы [11].

Различают гидролизуемые и конденсированные (негидролизуемые) таннины. По современной классификации выделяют четыре класса таннинов: галлотаннины, эллаготаннины, конденсированные таннины и комплексные (гидролизуемые таннины) [1, 12, 13].

Галлотаннины являются простой группой таннинов, которые по химическому строению представляют эфиры галловой кислоты и глюкозы (реже других сахаров). Однако эта связь легко гидролизуется в кислой или щелочной среде, при повышении температуры и под действием фермента.

Эллаготаннины – это сложные эфиры гексагидродифенильной кислоты (ННДР) с глюкозидами. В результате гидролиза эллаготаннинов ННДР-группа дегидратируется и образуется эллаговая кислота.

Конденсированные таннины – это олигомерные и полимерные антоцианидины – производные флаван-3-олов (катехинов) и флаван-3,4-диолов (лейкоантоцианидин), которые могут состоять из более чем 50-ти флавоноидных мономеров [13-15].

Таннины обладают механизмами защиты от заболеваний, вызванных патогенными грибами, бактериями и вирусами. Горький вкус таннинов помогает защитить растения от насекомых и плотоядных животных.

Из литературных данных известно, что повышенное количество танинов в почве подавляет интенсивность роста растений, отрицательно влияет на урожайность. Также присутствие танинов усложняет некоторые технологические процессы в пищевой промышленности и ингибирует ферментативные реакции в пивоварении. Повышенное содержание танинов в кормах для животных снижает эффективность пищеварения и, как следствие, продуктивность сельскохозяйственных животных. Есть сообщения, что снижение содержания танинов ведет к интенсификации ассимиляции азота у жвачных животных и, соответственно, росту производства молока. Установлено, что танины, содержащиеся в продуктах питания, принимают участие в развитии некоторых видов рака [16].

Лекарственные свойства растений часто обусловлены именно наличием полифенольных соединений. Поэтому с древних времен в медицине применяются растительные экстракты, богатые танинами. Например, экстракт чая традиционно применяется в Китае и Японии как противовоспалительное, мочегонное, антисептическое, кровоостанавливающее средство, а также в лечении раковых образований [17].

Танины, как фенольные соединения, являются эффективными хелаторами для ионов металлов, поэтому они могут использоваться в лечении отравлений тяжелыми металлами [18]. Появляются сообщения о потенциальном ингибирующем действии танинов ВИ Ч-1 [19].

Как уже упоминалось выше, танины известны как антинуutriенты. Однако в то же время встречается много сообщений о позитивных эффектах танинов на здоровье человека: противоопухолевые эффекты, способность понижать артериальное давление и модулировать различные виды иммунного ответа. Вероятно, данные эффекты связаны с антиоксидантными свойствами танинов [1]. Сообщалось, что эллаговая кислота является эффективным антиоксидантным танином с противоопухолевыми свойствами. Проантоцианиды, имеющиеся в винограде и оливках, представляют еще один тип танинов с чрезвычайно высокими антиоксидантными свойствами. Таким образом, танины, присутствующие в пищевых продуктах растительного происхождения в различных концентрациях, оказывают видимое влияние на здоровье человека. Важно также отметить, что принимать высокие количества танинов не следует, поскольку они могут включаться в процесс формирования злокачественных опухолей и препятствовать нормальному пищеварению. Однако, прием адекватных количеств танинов правильного типа является полезным для здоровья человека вследствие их воздействия на метаболические ферменты, иммуномодуляцию и другие функции [1].

Продукты анаэробного разложения многих танинов, образующихся в кишечном тракте, также могут образовывать соединения с полезными для здоровья человека эффектами. Такие продукты разложения представляют собой, например, производные пропионовой или фенилуксусной кислот [20]. Эти соединения оказывают противовоспалительное действие при всасывании в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Данные вещества, наряду с другими продуктами разложения танинов, также обладают широким диапазоном противомикробного действия в ЖКТ, подавляя развитие патогенных микроорганизмов.

Биодеградация танинов

Как было отмечено выше, танины обладают токсичными и бактериостатическими свойствами и необратимо образуют соединения с белками, а наличие танинов является одним из защитных механизмов растений от микроорганизмов. Но, несмотря на антимикробные свойства танинов, много грибов, бактерий и дрожжей достаточно устойчивы к танинам и способны расти и развиваться при их присутствии [20]. Механизмы, благодаря которым микроорганизмы обладают устойчивостью, включают модификацию, деградацию, диссоциацию таннин-субстратных комплексов, инактивацию танинов путем связывающей способности и т.д. [21].

Плесневые грибы, дрожжи и некоторые аэробные бактерии обычно лучше подходят для деградации танинов, однако анаэробная деградация также имеет место быть, например, в желудочно-кишечном тракте. Каждая группа микроорганизмов обладает специфическими свойствами в процессе разложения танинов. Так, дрожжи, проявляя активность по отношению к галлотанинам, не способны разлагать высокомолекулярные дубильные соединения. Бактерии обладают способностью деградировать галлотанины и эллаготанины. Грибы же, в свою очередь, могут раскладывать все типы танинов [20].

Как было отмечено, танины играют значительную роль в природе и имеют мощный потенциал промышленного применения, однако метаболические пути и механизм их разложения изучены не полностью.

Известно, что в метаболизме танинов принимает участие ряд ферментов: таннинацилгидролаза или танназа (ЕС 3.1.1.20), галлатдекарбоксилаза (ЕС 4.1.1.59), пирогаллол-1,2-диоксигеназа (ЕС1.13.11.35), флороглоцинредуктаза (ЕС1.3.1.57), дигидрофлороглоцинолгидролаза (ЕС3.7. 1) пирогаллолфлороглоцинолизомераза (ЕС5.4.99), фенолоксидаза и т.д.

Основным ферментом, участвующим в процессах разложения дубильных веществ, в частности галлотанинов, является танназа. В природе этот фермент может быть животного, растительного и микробного происхождения. Наибольшее значение имеет именно танназа микробного происхождения [13].

Танназа гидролизует танины, уменьшая их концентрацию, и в результате образуются продукты, часть которых используются в качестве источника энергии. Установлено, что танназа действует на галлотанины, эллаготанины и комплексные танины, разрывая только эфирные связи, при этом не нарушает С-С-связи, а потому не влияет на конденсированные танины.

Гипотезы о способности бактерий преобразовывать танины включают: процессы модификации, деградации, инактивации танинов, а также модификации мембран и поглощения ионов металлов [21].

Танназа оказывает последовательное действие, в результате чего происходит деградация таннинов с последующим гидролизом сложных эфирных связей с высвобождением галловой кислоты.

Далее галловая кислота декарбоксилируется через декарбоксилазы галловой кислоты в пирогаллол, который, в конечном счете, превращается в пировиноградную, цисаконитовую, 3-гидрокси-5-оксигексановую кислоты и, наконец, входит в цикл трикарбоновых кислот [20, 22].

Галловая кислота – один из основных продуктов разложения танниновой кислоты. Галловая кислота легко утилизируется путем окисления до простых алифатических кислот, входящих в цикл трикарбоновых кислот [20].

Танназа катализирует гидролиз эфирных связей в таннинах. Продуктами гидролиза является глюкоза и галловая кислота. Галловая кислота обнаружена в растениях, как в свободном виде, так и в форме эфиров. Галловая кислота и ее производные используется в промышленности как антиоксидант [23].

Хотя галловая кислота широко распространена в природе, она легко окисляется при нейтральном и щелочном pH, образуя продукты, сложно доступные для использования микроорганизмами в качестве источников углеродного питания. Фактически, только для бактерий рода *Pseudomonas* была зарегистрирована способность использовать свободную галловую кислоту в качестве единственного источника углерода и энергии в аэробных условиях [23].

Также следует отметить, что среди микроорганизмов, которые используют галловую кислоту в качестве единственного источника углерода и энергии, есть такие, которые осуществляют неокислительное декарбоксилирование галловой кислоты, но не имеют механизмов для дальнейшего расщепления пирогаллола, образованного в результате этого пути. Так, различные штаммы видов *Pantoea agglomerans*, *Enterococcus faecalis* [24], *Klebsiella pneumonia* [24], *Streptococcus gallolyticus* [25], *Lactobacillus plantarum* [26-28] декарбоксилируют галловую кислоту в пирогаллол без дальнейшего метаболизма.

Танназа была впервые обнаружена в ходе исследования образования галловой кислоты в водном растворе таннинов, где выращивались два вида грибов, идентифицированные позднее как *Penicillium glaucum* и *Aspergillus niger*. В течение следующих ста лет у многих нитчатых грибов, в основном таких видов как *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* и *Trichoderma*, была обнаружена способность к биосинтезу танназы. Бактерии и дрожжи также продуцируют этот фермент. В связи с этим в последнее десятилетие были проведены исследования процессов продуцирования, экстракции и очистки танназы. Эти исследования включают в себя поиски высокоактивных продуцентов, оптимизацию условий их культивирования, применение рекомбинантных микроорганизмов и разработки технологий для восстановления и очистки танназы [29-31].

Свойства танназы

Строение и свойства танназы зависят от разных факторов: продуцента, условий культивирования и т.д. [13].

Свойства танназы бактериального происхождения отличаются в зависимости от микроорганизма-продуцента. Молекулярная масса фермента варьирует в пределах 31-320 кДа [13, 30-34].

Танназа является кислым белком с оптимумом действия pH 4,5-7,0. Сообщается о ферментах, сохраняющих свою активность и при щелочных pH 8,0-8,9. Температурный оптимум для танназы варьирует в зависимости от продуцента, для бактериальной – находится в диапазоне 30-40°C [35]. Установлено, что для каталитической активности танназы у более 28% известных бактерий-продуцентов необходимо присутствие ионов металлов, которые являются кофакторами, особенно Mg^{2+} [32, 34, 35]. В то же время ионы Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} и Hg^{2+} выступают ингибиторами танназы [35].

Поскольку танназа имеет прикладное значение, особенно в 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), которые не синтезируют антибиотики [11]. На данный момент известно ограниченное количество сообщений относительно безопасности танназы, однако результаты последних исследований свидетельствуют о безопасности танназы, продуцируемой бактериями рода *Lactobacillus* [32, 36].

Известно, что каталитические функции ферментов связаны с их белковой структурой. На данный момент информация о структуре танназы ограничена. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют, что фермент представляет собой небольшие пластинчатые кристаллы и состоит из двух и более субъединиц [33]. Энзим грибного происхождения обычно состоит из четырех субъединиц, в то время как бактериальная танназа состоит из двух субъединиц [8, 13, 37]. Установлена третичная структура танназы, продуцируемой бактериями рода *Lactobacillus*, а именно *Lactobacillus plantarum*. Энзим состоит из 18-ти α -спиралей и 13-ти β -ниток [36].

Сейчас уже охарактеризованы белковые последовательности танназы различных 45 родов (всего 77 бактерий), что позволило определить эволюционное родство продуцентов [8]. Было установлено, что у 73 штаммов из 77 изученных белковые последовательности танназы принадлежали к суперсемейству α/β -гидролаз.

Известно, что белковая молекула может иметь несколько доменов, но не все они принимают участие в каталитической активности. Каталитические домены отвечают за ферментативную активность белковой молекулы. Молекула танназы *Lactobacillus plantarum* содержит два домена, один из которых представлен α/β -гидролазой и доменом-«крышкой». Установлено, что активный центр танназы расположен в α/β -гидролазной

области и представлен тремя аминокислотными остатками Ser 163, Asp 419 и His 451, которые составляют «каталитическую триаду» [36].

Значение и применение танназы

Танназа является адаптивным как внутриклеточным, так и внеклеточным индуцибельным ферментом среди ферментов природного происхождения и относится к классу эстераз [18].

Основными направлениями промышленного применения танназы является пищевая, фармацевтическая и химическая промышленность [38].

Также танназа используется в производстве водорастворимых чайных напитков. Танназа значительно повышает антиоксидантные свойства зеленого и черного чаев. В некоторых публикациях также отмечается, что ферментированный зеленый чай имеет лучшие органолептические свойства и более устойчивый цвет [39].

Танназа широко применяется в производстве вина, фруктовых соков и пивоварении [14]. Применение танназы в пищевой промышленности способствует устранению нежелательных свойств танинов. Ферментативная обработка фруктовых соков используется для устранения горечи и уменьшения мутности.

Танназа также используется как реактив в аналитической химии для определения структуры сложных эфиров галловой кислоты природного происхождения, выявления раковых клеток, а также в очистке сточных вод от дубильных веществ [14].

Важным направлением применения танназы является производство галловой кислоты. В свою очередь галловая кислота – основной продукт гидролиза танинов, – 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 пропилогаллата, применяется как антиоксидант жиров и масел и в производстве напитков. Конечный продукт метаболизма галловой кислоты – пирогаллол, также имеет большое промышленное значение, в частности, используется при окраске кожи и меха, проявлении фотоснимков, в производстве противоопухолевых лекарственных средств [40].

Необходимо отметить, что практическое использование танназы все еще остается достаточно ограниченным в связи с недостаточно изученными ее свойствами, сложностью получения и очистки [11].

В связи с практическим значением и потенциалом использования танназы в различных промышленных секторах производство данного фермента является коммерчески привлекательным и активно развивается в разных странах. Биотехнология позволяет получить танназу из микробных, растительных и животных источников. Для промышленного производства используются микроорганизмы, продуцирующие фермент более стабильный, чем растительный или животный [34].

Бактерии продуценты танназы и методы их выделения

Продуценты танназы встречаются среди бактерий, дрожжеподобных и нитчатых грибов. Недостатки грибов, как продуцентов для промышленного производства танназы, заключаются в сравнительно медленном биосинтезе и генетической сложности, не позволяющей проводить генетические манипуляции [34].

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 [34, 41-50] (табл. 1), однако лишь некоторые из них могут использоваться для коммерческого производства. Существует несколько методов скрининга бактерий продуцентов танназы.

Таблица 1. Бактерии продуценты танназы

Table 1. Bacteria producers tannase

Бактерия продуцент	Ссылка
Bacteria producers	Reference
<i>Bacillus plumilus</i>	Deschamps et al. (1983)
<i>Bacillus polymyxa</i>	Deschamps et al. (1983)
<i>Corynebacterium sp.</i>	Deschamps et al. (1983)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Deschamps et al. (1983)
<i>Pseudomonas solanaceum</i>	Deschamps et al. (1983)
<i>Citrobacter freundii</i>	Kumar et al. (1999)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Osawa et al. (2000)
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	Osawa et al. (2000)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Osawa et al. (2000)

<i>Bacillus lichiniiformis</i>	Mondal et al. (2000)
<i>Bacillus cereus</i>	Mondal et al. (2001)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Ayed and Hamdi (2002)
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	Nishitani et al. (2004)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Nishitani et al. (2004)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Nishitani et al. (2004)
<i>Lactobacillus animalis</i>	Nishitani et al. (2004)
<i>Lactobacillus murinus</i>	Nishitani et al. (2004)
<i>Lactobacillus faecalis</i>	Nishitani et al. (2004)
<i>Lactobacillus acidilactici</i>	Nishitani et al. (2004)
<i>Lactobacillus pentosaceus</i>	Nishitani et al. (2004)
<i>Enterococcus faecalis</i>	Goel et al. (2005)
<i>Lactobacillus sp.</i> ASR-S1	Sabu et al. (2006)
<i>Pentococcus entosaceus</i>	Guzman-Lopez et al. (2009)
<i>Lactobacillus buchneri</i>	Guzman-Lopez et al. (2009)
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	Guzman-Lopez et al. (2009)
<i>Weissella confusa</i>	Guzman-Lopez et al. (2009)
<i>Bacillus thurangienses</i> BN2	Belur et al. (2009)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Selwal et al. (2010)
<i>Serratia ficaria</i>	Belur et al. (2010)
<i>Serratia marcescens</i>	Belur et al. (2010)
<i>Microbacterium terregens</i>	Belur et al. (2010)
<i>Providencia rettgeri</i>	Belur et al. (2010)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Matoba et al. (2013)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Ren et al. (2013)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Jimenez et al. (2014)
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Jimenez et al. (2014)
<i>Roseburia intestinalis</i> XB6B4	de Felipe et al. (2014)
<i>Streptococcus gallolyticus</i> ATCC 3143	de Felipe et al. (2014)
<i>Streptococcus gallolyticus</i> ATCC BAA-2069	de Felipe et al. (2014)
<i>Streptococcus gallolyticus</i> UCN34	de Felipe et al. (2014)
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. vincentii</i>	de Felipe et al. (2014)
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. nucleatum</i> ATCC 25586	de Felipe et al. (2014)
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. animalis</i>	de Felipe et al. (2014)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> D7S-1	de Felipe et al. (2014)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> D11S-1	de Felipe et al. (2014)
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	de Felipe et al. (2014)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ANH9381	de Felipe et al. (2014)
<i>Slackia heliotrinireducens</i>	de Felipe et al. (2014)
<i>Lactobacillus plantarum</i> CIR1	Aguilar-Zarate et al. (2014)
<i>Lactobacillus paraplantarum</i> NSO120	Ueda et al. (2014)
<i>Lactobacillus pentosus</i> 21A-3	Ueda et al. (2014)
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 14917	Ueda et al. (2014)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Esteban Torres et al. (2015)
<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 15313	Ahrén et al. (2015)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Tahmourespour et al. (2016)

Согласно визуальному методу (качественной реакции) [44], при обработке щелочью культуральной жидкости, отделенной от клеток, с последующей инкубацией при температуре 23°C в течение часа, происходит смена цвета от зеленого до коричневого и поглощение света (оптическая плотность больше 0,500) при $\lambda = 440$ нм – положительная реакция.

Для роста и селективного выделения бактерий с танназной активностью может применяться плотная питательная среда с добавлением танниновой кислоты (% w/v: мясной экстракт – 0,3; пептон – 0,5; танниновая кислота – 2; агар – 2). Через 3-4 суток инкубации проводится покраска раствором 0,01 М FeCl₃ для анализа на галлотаннины.

Оба метода успешно применяются для обнаружения бактерий с танназной активностью.

Анализ литературных данных показывает, что предлагаются различные способы выделения продуцентов. Согласно одному из самых ранних методов, с помощью которого было выделено 5 штаммов продуцентов, использовалась среда, содержащая в качестве единственного источника углеродного питания конденсированные таннины. Существуют данные, что для выделения *Citrobacter freundii* и *Citrobacter sp.* использовалась среда с танниновой кислотой. Также может быть применен метод серийных разведений на

плотной селективной среде (% w/v: танниновая кислота – 1; K_2HPO_4 – 0,05; KH_2PO_4 – 0,05; $MgSO_4$ – 0,05; NH_4NO_3 – 0,3 и агар – 3) [40].

Выделение *Bacillus cereus* KBR9 из почвы было проведено на селективной среде, содержащей (% w/v) 1% танниновой кислоты и 3% агара. Питательную среду аналогичного состава использовали и для выделения штаммов-продуцентов танназы из микробиоты рыб [19].

Выделение штаммов рода *Lactobacillus* осуществляется на плотной питательной среде MRS, содержащей 0,2% (w/v) танниновой кислоты. Также есть свидетельства успешного применения среды с танниновой кислотой в качестве основного источника углеродного питания, дрожжевого экстракта и компонента минерального питания, на которой были выделены пять штаммов-продуцентов [49].

Для извлечения из микрофлоры организма человека танназоактивного *Streptococcus lugdunensis* была использована селективная среда для стрептококков (на переваре мозга и сердца). Питательная среда аналогичного состава использована и для выделения *Enterobacter ludwigii* из кишечной микробиоты жвачных животных [40].

Для количественной оценки танназной активности продуцентов известны различные методы. Согласно литературным данным, чаще всего применяются титриметрический, колориметрический, УФ-спектрофотометрический, фотометрический. В основном, методы для определения танназной активности базируются на определении остаточного количества субстрата (танниновая кислота и др.) или на определении количества продукта реакции (галловой кислоты) [35].

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 в фармацевтической промышленности, а также в пищевой промышленности – для приготовления продуктов функционального питания, обогащенных пробиотическими микроорганизмами с танназной активностью, а значит, как следствие, с перспективными – антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами.

Финансирование

Исследования выполнены в рамках собственной теоретической работы автора.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Noguchi N., Ohashi T., Shiratori T., et al. Association of tannase-producing *Staphylococcus lugdunensis* with colon cancer and characterization of a novel tannase gene // J Gastroenterol. – 2007. – Vol. 42, №5. – P. 346-351.
5. Iwamoto K., Tsuruta H., Nishitani Y., Osawa R. Identification and cloning of a gene encoding tannase (tannin acylhydrolase) from *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917(T) // Syst. Appl. Microbiol. – 2008. – Vol. 31, №4. – P. 269-277.
6. Curiel J.A., Rodríguez H., Acebrón I., et al. Production and physicochemical properties of recombinant *Lactobacillus plantarum* tannase // J Agric Food Chem. – 2009. – Vol. 57, №14. – P. 6224-6230.
7. Sharma K.P., John P.J. Purification and characterization of tannase and tannase gene from *Enterobacter* sp. // Process Biochem. – 2011. – Vol. 46. – P. 240-244.
8. Ren B., Wu M., Wang Q., et al. Crystal structure of tannase from *Lactobacillus plantarum* // J. Mol. Biol. – 2013. – Vol. 425. – P. 2737-2751.
9. Serrano J., Puupponen-Pimia R., Dauer A., et al. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects // Mol. Nutr. Food Res. – 2009. – Vol. 53. – P. 310-329.
10. Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J., et al. Host-gut microbiota metabolic interactions // Science. – 2012. – Vol. 336. – P. 1262-1267.
11. 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.
12. Khanbabaee K., Van Ree T. Tannins: Classification and definition // Natural Product Reports. – 2001. – Vol. 18, №6. – P. 641-649.

13. 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.
14. Belmares R., Contreras-Esquivel J.C., Rodríguez-Herrera R. et al. Microbial production of tannase: An enzyme with potential use in food industry // *LWT Food Science and Technology.* – 2004. – Vol. 37, №8. – P. 857-864.
15. Aguilera-Carbó A., Augur C., Prado-Barragán L. et al. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins // *Applied Microbiology and Biotechnology.* – 2008. – Vol. 78, №2. – P. 189-199.
16. 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.
17. Chowdhury S.P., Khanna S., Verma S.C., Tripathi A.K. Molecular diversity of tannic acid degrading bacteria isolated from tannery soil // *J. Appl. Microbiol.* – 2004. – Vol. 97. – P. 1210-1219.
18. Aguilar C.N., Rodríguez R., Gutiérrez-Sánchez G. et al. Microbial tannases: advances and perspectives // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2007. – Vol. 76. – P. 47-59.
19. 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.
20. Bhat T.K., Singh B., Sharma O.P. Microbial degradation of tannins – a current perspective // *Biodegradation.* – 1998. – Vol. 9, №5. – P. 343-357.
21. 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.
22. Gauri S.S., Mandal S.M., Atta S., et al. Novel route of tannic acid biotransformation and their effect on major biopolymer synthesis in *Azotobacter* sp. SSB81 // *J. Appl. Microbiol.* – 2012. – Vol. 114, №1. – P. 84-95.
23. Chowdhury S.P., Khanna S., Verma S.C., Tripathi A.K. Molecular diversity of tannic acid degrading bacteria isolated from tannery soil // *Journal of Applied Microbiology.* – 2004. – Vol. 97, №6. – P. 1210-1219.
24. Nacajima H., Otani C., Niimura T. Decarboxylation of gallate by cell-free extracts of *Streptococcus faecalis* and *Klebsiella pneumonia* isolated from rat faces // *Food Hygiene and Safety (Shokuhin Eiseigaku Zasshi).* – 1992. – Vol. 33. – P. 371-377.
25. Chamkha M., Patel B.C.S., Traore A., Garcia Labat J.-L.M. Isolation from a shea cake digester of a tannin-degrading *Streptococcus gallolyticus* strain that decarboxylates protocatechuic acid hydroxycinnamic acid, and emendation of the species // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2002. – Vol. 52. – P. 939-944.
26. Osawa R., Kuroiso K., Goto S., Shimizu A. Isolation of tannin-degrading lactobacilli from humans and fermented foods // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2000. – Vol. 66. – P. 3093-3097.
27. Rodríguez H., de las Rivas B., Gómez-Cordovés M.C., Muñoz R. Degradation of tannic acid by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum* // *Food Chem.* – 2008. – Vol. 107. – P. 664-670.
28. Rodríguez H., Landete J.M., de las Rivas B., Muñoz R. Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748T // *Food Chem.* – 2008. – Vol. 107. – P. 1393-1398.
29. Yao J., Guob G.S., Renb G.H., Liu Y.H. Production, characterization and applications of tannase // *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.* – 2014. – Vol. 101. – P. 137-147.
30. Iwamoto K., Tsuruta H., Nishitani Y., Osawa R. Identification and cloning of a gene encoding tannase (tannin acyl hydrolase) from *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 T // *Syst Appl Microbiol.* – 2008. – Vol. 31, №4. – P. 269-277.
31. Sivashanmugam K., Jayaraman G. Production and partial purification of extra-cellular tannase by *Klebsiella pneumoniae* MTCC 7162 isolated from tannery effluent // *Afr. J. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 10. – P. 1364-1374.
32. Jana A., Maity C., Halder S.K. et al. Structural characterization of thermostable, solvent tolerant, cytosafe tannase from *Bacillus subtilis* PAB2 // *Biochem. Eng. J.* – 2013. – Vol. 77. – P. 161-170.
33. 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.
34. Wu M., Peng X., Wen H., et al. A novel low molecular weight acido-thermophilic tannase from *Enterobacter cloacae* MTCC 9125 // *Biocatal. Agric. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 2. – P. 132-137.
35. 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.
36. Ren B., Wu M., Wang Q., et al. Crystal structure of tannase from *Lactobacillus plantarum* // *J. Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 425. – P. 2737-2751.
37. 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.
38. Madeira Jr. J.V., Macedo J.A., Macedo G.A. Detoxification of castor bean residues and the simultaneous production of tannase and phytase by solid-state fermentation using *Paecilomyces variotii* // *Bioresour. Technol.* – 2011. – Vol. 102. – P. 7343-7348.
39. Lu M.J., Chu S.C., Yan L., Chen C. Effect of tannase treatment on protein-tannin aggregation and sensory attributes of green tea infusion // *Food Sci. Technol.* – 2009. – Vol. 42. – P. 338-342.
40. Aithal M., Belur P.D. Enhancement of propyl gallate yield in nonaqueous medium using novel cell-associated tannase of *Bacillus massiliensis* // *Prep. Biochem. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 43. – P. 445-455.

41. Mondal K.C., Pati B.R. Studies on the extracellular tannase from newly isolated *Bacillus licheniformis* KBR 6 // *J. Basic Microbiol.* – 2000. – Vol. 40. – P. 223-232.
42. Ayed L., Hamdi M. Culture conditions of tannase production by *Lactobacillus plantarum* // *Biotechnol. Lett.* – 2002. – Vol. 24. – P. 1763-1765.
43. Sabu A., Augur C., Swati C., Pandey A. Tannase production by *Lactobacillus* sp. ASR-S1 under solid-state fermentation // *Process Biochem.* – 2006. – Vol. 41. – P. 575-580.
44. Selwal M.K., Yadav A., Selwal K.K. et al. Optimization of cultural conditions for tannase production by *Pseudomonas aeruginosa* IIB 8914 under submerged fermentation // *World J. Microbiol. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 26. – P. 599-605.
45. 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.
46. 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.
47. 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.
48. Ahrén I.L., Xu J., Önnings 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.
49. Zhang S., Gao X., He L., et al. Novel trends for use of microbial tannases // *Prep Biochem Biotechnol.* – 2015. – Vol. 45, №3. – P. 221-232.
50. Jiménez N., Curiel J.A., Reverón I., et al. Uncovering the *Lactobacillus plantarum* WCFS1 gallate decarboxylase involved in tannin degradation // *Appl Environ Microbiol.* – 2013. – Vol. 79, №14. – P. 4253-4263.

REFERENCES

1. 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, pp. 168-175. doi: 10.1016/S0924-2244(98)00028-4.
2. 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, no. 10, pp. 2991-2997. doi: 10.1128/AEM.00324-14.
3. 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, pp. 445-459. doi: 10.1007/s11947-011-0608-5.
4. Noguchi N., Ohashi T., Shiratori T., et al. Association of tannase-producing *Staphylococcus lugdunensis* with colon cancer and characterization of a novel tannase gene. *J Gastroenterol.*, 2007, vol. 42, no. 5, pp. 346-351. doi: 10.1007/s00535-007-2012-5.
5. Iwamoto K., Tsuruta H., Nishitani Y., Osawa R. Identification and cloning of a gene encoding tannase (tannin acylhydrolase) from *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917(T). *Syst. Appl. Microbiol.*, 2008, vol. 31, no 4, pp. 269-277. doi: 10.1016/j.syapm.2008.05.004.
6. Curiel J.A., Rodríguez H., Acebrón I., et al. Production and physicochemical properties of recombinant *Lactobacillus plantarum* tannase. *J Agric Food Chem.*, 2009, vol. 57, no. 14, pp. 6224-6230. doi: 10.1021/jf901045s.
7. Sharma K.P., John P.J. Purification and characterization of tannase and tannase gene from *Enterobacter* sp. *Process Biochem.*, 2011, vol. 46, pp. 240-244. doi: 10.1016/j.procbio.2010.08.016.
8. Ren B., Wu M., Wang Q., et al. Crystal structure of tannase from *Lactobacillus plantarum*. *J. Mol. Biol.*, 2013, vol. 425, pp. 2737-2751. doi: 10.1016/j.jmb.2013.04.032.
9. Serrano J., Puupponen-Pimia R., Dauer A., et al. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2009, vol. 53, pp. 310-329. doi: 10.1002/mnfr.200900039.
10. Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J., et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 2012, vol. 336, pp. 1262-1267. doi: 10.1126/science.1223813.
11. 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, no. 5, pp. 373-382. doi: 10.1106/69M3-B30K-CF7Q-RJ5G.
12. Khanbabaee K., Van Ree T. Tannins: Classification and definition. *Natural Product Report*, 2001, vol. 18, no. 6, pp. 641-649. doi: 10.1039/B101061L.
13. 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, pp. 445-459. doi: 10.1007/s11947-011-0608-5.
14. Belmares R., Contreras-Esquivel J.C., Rodríguez-Herrera R. et al. Microbial production of tannase: An enzyme with potential use in food industry. *LWT Food Science and Technology*, 2004, vol. 37, no. 8, pp. 857-864. doi: 10.1016/j.lwt.2004.04.002.
15. Aguilera-Carbó A., Augur C., Prado-Barragán L. et al. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, vol. 78, no. 2, pp. 189-199. doi: 10.1007/s00253-007-1276-2.

16. 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, pp. 99-102. doi: 10.1016/S0960-8524(97)84705-0.
17. Chowdhury S.P., Khanna S., Verma S.C., Tripathi A.K. Molecular diversity of tannic acid degrading bacteria isolated from tannery soil. *J. Appl. Microbiol.*, 2004, vol. 97, pp. 1210-1219. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02426.x.
18. Aguilar C.N., Rodríguez R., Gutiérrez-Sánchez G. et al. Microbial tannases: advances and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, vol. 76, pp. 47-59. doi: 10.1007/s00253-007-1000-2.
19. Das Mohapatra P.K., Mondal K.C., Pati B.R. Tannin-an effective agent against HIV-I. In: *Advances in Biotechnology. Studium, USA.*, 2013, pp. 419-428.
20. Bhat T.K., Singh B., Sharma O.P. Microbial degradation of tannins – a current perspective. *Biodegradation*, 1998, vol. 9, no. 5, pp. 343-357. PMID: 10192896.
21. Smith A.H., Zoetendal E., Mackie R.I. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microb. Ecol.*, 2005, vol.50, no. 2, pp. 197-205. doi: 10.1007/s00248-004-0180-x.
22. Gauri S.S., Mandal S.M., Atta S., et al. Novel route of tannic acid biotransformation and their effect on major biopolymer synthesis in *Azotobacter* sp. SSB81. *J. Appl. Microbiol.*, 2012, vol. 114, no. 1, pp. 84–95. doi: 10.1111/jam.12030.
23. Chowdhury S.P., Khanna S., Verma S.C., Tripathi A.K. Molecular diversity of tannic acid degrading bacteria isolated from tannery soil. *Journal of Applied Microbiology*, 2004, vol. 97, no. 6, pp. 1210-1219. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02426.x.
24. Nacajima H., Otani C., Niimura T. Decarboxylation of gallate by cell-free extracts of *Streptococcus faecalis* and *Klebsiella pneumonia* isolated from rat faces. *Food Hygiene and Safety (ShokuhinEiseigakuZasshi)*, 1992, vol. 33, pp. 371-377.
25. Chamkha M., Patel B.C.S., Traore A., GarciaLabat J.-L.M. Isolation from a shea cake digester of a tannin-degrading *Streptococcus gallolyticus* strain that decarboxylates protocatechuic acid hydroxycinnamic acid, and emendation of the species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2002, vol. 52, pp. 939-944. doi: 10.1099/00207713-52-3-939.
26. Osawa R., Kuroiso K., Goto S., Shimizu A. Isolation of tannin-degrading lactobacilli from humans and fermented foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, vol. 66, pp. 3093-3097. PMID: 10877812.
27. Rodríguez H., de las Rivas B., Gómez-Cordovés M.C., Muñoz R. Degradation of tannic acid by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum*. *Food Chem.*, 2008, vol. 107, pp. 664-670. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.08.063.
28. Rodríguez H., Landete J.M., de las Rivas B., Muñoz R. Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748T. *Food Chem.*, 2008, vol. 107, pp. 1393-1398. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.09.067.
29. Yoa J., Guob G.S., Renb G.H., Liu Y.H. Production, characterization and applications of tannase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2014, vol. 101, pp. 137-147. doi: 10.1016/j.molcatb.2013.11.018.
30. Iwamoto K., Tsuruta H., Nishitani Y., Osawa R. Identification and cloning of a gene encoding tannase (tannin acyl hydrolase) from *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 T. *Syst Appl Microbiol.*, 2008, vol. 31, no. 4, pp. 269-277. doi: 10.1016/j.syapm.2008.05.004.
31. Sivashanmugam K., Jayaraman G. Production and partial purification of extra-cellular tannase by *Klebsiella pneumoniae* MTCC 7162 isolated from tannery effluent. *Afr. J. Biotechnol.*, 2011, vol. 10, pp. 1364-1374. doi: 10.5897/AJB10.1209.
32. Jana A., Maity C., Halder S.K. et al. Structural characterization of thermostable, solvent tolerant, cytosafe tannase from *Bacillus subtilis* PAB2. *Biochem. Eng. J.*, 2013, vol. 77, pp. 161-170. doi:10.1016/j.bej.2013.06.002.
33. 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, pp. 456-459. doi: 10.1107/S1744309113006143.
34. Wu M., Peng X., Wen H., et al. A novel low molecular weight acido-thermophilic tannase from *Enterobacter cloacae* MTCC 9125. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 2013, vol. 2, pp. 132-137. doi: 10.1107/S1744309113006143.
35. 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, pp. 327-40. doi: 10.1016/j.biortech.2014.02.017.
36. Ren B., Wu M., Wang Q., et al. Crystal structure of tannase from *Lactobacillus plantarum*. *J. Mol. Biol.*, 2013, vol. 425, pp. 2737-2751. doi: 10.1016/j.jmb.2013.04.032.
37. Matoba Y., Tanaka N., Noda M., et al. Crystallographic and mutational analyses of tannase from *Lactobacillus plantarum*. *Proteins Struct. Funct. Bioinform.*, 2013, vol. 81, pp. 2052-2058. doi: 10.1002/prot.24355.
38. Madeira Jr. J.V., Macedo J.A., Macedo G.A. Detoxification of castor bean residues and the simultaneous production of tannase and phytase by solid-state fermentation using *Paecilomyces variotii*. *Bioresour. Technol.*, 2011, vol. 102, pp. 7343-7348. doi: 10.1016/j.biortech.2011.04.099.
39. Lu M.J., Chu S.C., Yan L., Chen C. Effect of tannase treatment on protein-tannin aggregation and sensory attributes of green tea infusion. *Food Sci. Technol.*, 2009, vol. 42, pp. 338-342. doi: 10.1016/j.lwt.2008.05.015.
40. Aithal M., Belur P.D. Enhancement of propyl gallate yield in nonaqueous medium using novel cell-associated tannase of *Bacillus massiliensis*. *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 2013, vol. 43, pp. 445-455. doi: 10.1080/10826068.2012.745873.

41. Mondal K.C., Pati B.R. Studies on the extracellular tannase from newly isolated *Bacillus licheniformis* KBR 6. *J. Basic Microbiol.*, 2000, vol. 40, pp. 223-232. doi: 10.1002/1521-4028(200008)40:4<223::AID-JOBM223>3.0.CO;2-L.
42. Ayed L., Hamdi M. Culture conditions of tannase production by *Lactobacillus plantarum*. *Biotechnol. Lett.*, 2002, vol. 24, pp. 1763-1765. doi: 10.1023/A:1020696801584.
43. Sabu A., Augur C., Swati C., Pandey A. Tannase production by *Lactobacillus* sp. ASR-S1 under solid-state fermentation. *Process Biochem.*, 2006, vol. 41, pp. 575-580. doi: 10.1016/j.procbio.2005.05.011.
44. Selwal M.K., Yadav A., Selwal K.K. et al. Optimization of cultural conditions for tannase production by *Pseudomonas aeruginosa* ПІВ 8914 under submerged fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, vol. 26, pp. 599-605. doi: 10.1007/s11274-009-0209-x.
45. Tahmourespour A., Tabatabaee N., Khalkhali H., Amini I. Tannic acid degradation by *Klebsiella* strains isolated from goat feces. *Iran J Microbiol.*, 2016, vol. 8, no. 1, pp.14-20. PMID: 27092220.
46. 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, no. 9, pp. 3235-3242. doi: 10.1128/AEM.00323-15.
47. 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, pp. 684. doi: 10.3389/fmicb.2014.00684.
48. 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, no. 4, pp. 719-726. doi: 10.1016/j.clnu.2014.08.009.
49. Zhang S., Gao X., He L., et al. Novel trends for use of microbial tannases. *Prep Biochem Biotechnol.*, 2015, vol. 45, no. 3, pp. 221-232. doi: 10.1080/10826068.2014.907182.
50. Jiménez N., Curiel J.A., Reverón I., et al. Uncovering the *Lactobacillus plantarum* WCFS1 gallate decarboxylase involved in tannin degradation. *Appl Environ Microbiol.*, 2013, vol. 79, no. 14, pp. 4253-4263. doi: 10.1128/AEM.00840-13.

ТАННАЗАЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІК ПРОБИОТИКАЛЫҚ МИКРОАҒЗАЛАРДЫ ІРІКТЕУ КЕЗІНДЕ КРИТЕРИЙ РЕТІНДЕ

Старовойтова С.А.

Тағам технологияларының ұлттық университеті
Владимирский көш., 68, Киев, 01601, Украина
svetik_2004@mail.ru

ТҮЙІН

Мақалада танниндердің түрлері мен олардың пайда болу көздері қарастырылған. Осы танниндердің, дәлірек айтсақ, бактериялардың түрлері мен қасиеттеріне сипаттама берілген. Әртүрлі танниндердің, негізінен өсімдік тектес танниндердің жағымды және жағымсыз қасиеттері қарастырылған. Танниндердің негізгі түрлерінің және олардың шіру процесіне атсалысатын ферменттердің биодegradациялану жолдарына талдау жасалды. Әртүрлі өнеркәсіп салаларында, әсіресе тамақ және фармацевтикалық салаларда танниндерді пайдаланудың мүмкіндігі мен олардың маңызы көрсетілген. Бактериялардың танназа ферментінің белсенділігіне және оларды анықтаудың тәсілдеріне қатысты әдеби деректер қоры, сондай-ақ танназа белсенділігі бар бактерияларды бөліп алудың әдістері жинақталды. Негізгі танназа түзуші-бактериялар, яғни пробиотикалық қасиеттері болуы мүмкін бактериялар және бактериотерапевтикалық препараттар мен функционалды тамақ өнімдерін жасап шығару кезінде, атап айтқанда, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pentococcus* және басқа да бактерия түрлерін пайдалану мүмкіндіктері келтірілген. Пробиотикалық микроағзалардың танназалық белсенділігін құрамында оксидантқа қарсы және ісікке қарсы қасиеті бар тиісті пробиотикалық микроағзалармен байытылған фармацевтикалық пробиотик-препараттардың және функционалды тамақ өнімдерінің негізі ретінде қолданудың перспективалары түсіндірілген. Танназаны практикада пайдалану, оның қасиеттерінің жеткілікті деңгейде зерттелмеуіне, оған қол жеткізу мен оны тазартудың қиындығына байланысты шектеулі болып отырғаны атап айтылған.

Негізгі сөздер: танназалық белсенділік, ішек микробиотасы, пробиотиктер, оксидантқа қарсы қасиеті.