## *ТЕХНОЛОГИЯ ОБРАБОТКИ ГИДРОБИОНТОВ*

*УДК 665.939.358:579.873.13*

**Е.В. Якуш[1], Е.Л. Конева[2], Н.М. Аминина[1], О.В. Журавлева[1], Г.Д. Мамыркин[3]***

[1] Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, 690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4;

[2] Дальневосточный научно-исследовательский, проектно-изыскательский и конструкторско-технологический институт морского флота, 690091, г. Владивосток, ул. Фонтанная, 40;

[3] Национальный исследовательский институт мировой экономики и международных отношений им. Е.М. Примакова РАН, 117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, 23

# НОВЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АЛЬГИНАТСОДЕРЖАЩЕГО БИОГЕЛЯ ИЗ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ В ТЕХНОЛОГИИ ПРОБИОТИКОВ

Представлены результаты исследования влияния экзаметаболитов бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum 791* на структурно-механические свойства биогеля из бурых водорослей. Установлено, что метаболиты бифидобактерий способствуют ферментативной деградации альгиновых кислот. Чем ниже концентрация альгиновых кислот, тем выше скорость деградации. На примере чистого раствора альгината натрия показано, что метаболиты бифидобактерий, полученные в разной стадии развития микроорганизмов, снижают его вязкость и молекулярную массу. Способность метаболитов бифидобактерий расщеплять альгинат натрия зависит от стадии развития микроорганизмов. Полученные данные открывают перспективы изучения механизма утилизации альгината натрия бифидобактериями.

**Ключевые слова:** водоросли, биогель из бурых водорослей, альгинат натрия, метаболиты, бифидобактерии, вязкость, молекулярная масса.

DOI: 10.26428/1606-9919-2017-190-204-211.

**Yakush E.V., Koneva E.L., Aminina N.M., Zhuravleva O.V., Mamyrkin G.D.** New aspects of application of the alginate-containing biogel from brown algae in probiotic technology // Izv. TINRO. — 2017. — Vol. 190. — P. 204–211.

Ability of the bifidobacteria metabolites to break down the sodium alginate molecules is shown for the case of alginate-containing biogel from brown algae with 0.2 % of sodium

* *Якуш Евгений Валентинович, кандидат химических наук, доцент, заместитель директора, e-mail: evyakush@tinro.ru; Конева Елена Леонидовна, кандидат технических наук, заведующая лабораторией, e-mail: koneva-ele@yandex.ru; Аминина Наталья Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией, e-mail: aminina@tinro.ru; Журавлева Ольга Викторовна, ведущий инженер, e-mail: olga.zhuravlyova@tinro-center.ru; Мамыркин Глеб Дмитриевич, младший научный сотрудник, e-mail: glebmamyrkin@yandex.ru.*

*Yakush Eugeny V., Ph.D., deputy director, e-mail: evyakush@tinro.ru; Koneva Elena L. Ph.D., head of laboratory, e-mail: koneva-ele@yandex.ru; Aminina Natalia M., Ph.D., head of laboratory, e-mail: aminina@tinro.ru; Zhuravleva Olga V, leading engineer, e-mail: olga.zhuravlyova@tinro-center.ru; Mamyrkin Gleb D., junior researcher, e-mail: glebmamyrkin@yandex.ru.*

alginate and the metabolites of bifidobacteria cultured on the semisolid Blaurock media in presence of this biogel. The allocated metabolites caused enzymatic degradation of alginic acids: the lower the alginic acids concentration, the higher the rate of degradation. Effectiveness of the bifidobacteria metabolites to split the sodium alginate depended on stage of the microorganisms development. The samples incubated with metabolites in the stationary phase of growth had viscosity of the polysaccharide solution reduced in 23.0 %, and those incubated in the phase of cell death — in 43.8 %, with the molecular mass of polysaccharide decreased in 1.8–2.0 times. Mechanisms of the sodium alginate utilization by bifidobacteria are discussed.

**Key words:** alga, biogel from brown algae, sodium alginate, metabolite, bifidobacterium, polysaccharide solution viscosity, molecular weight.

## Введение

Бурые водоросли являются известным и доступным источником альгината, одного из популярных видов загустителей в пищевой промышленности. История исследований альгинатов, их вязкостных свойств, а также факторов, влияющих на них, насчитывает не одно десятилетие. Применение альгинатов в качестве загустителей связано с их способностью удерживать воду и образовывать прочные гелеобразные структуры. Основными факторами, влияющими на формирование и свойства геля, являются структура альгиновой кислоты, ее концентрация, молекулярная масса, а также состав и кислотность среды (Draget et al., 1994; Moe et al., 1995; Roopa, Bhattacharya, 2008). Согласно литературным данным около половины добываемого в США альгината натрия расходуется на изготовление мороженого и кремов (Промысловые и перспективные..., 1998). Новым направлением использования альгината натрия является его применение для производства кисломолочных продуктов, содержащих бифидобактерии. В настоящее время доказано, что альгинаты и их олигосахариды обладают пребиотическим потенциалом в отношении бифидобактерий: они стимулируют активный рост бифидобактерий как *in vitro*, так и *in vivo* (Wang et al., 2006; Janczyk et al., 2010; Ramnani et al., 2012). Таким же действием *in vivo* обладает и продукт переработки бурых водорослей — биогель, содержащий альгинат натрия (Кузнецова и др., 2015), доказано его влияние на адгезивные свойства бифидобактерий (Конева и др., 2015). В то же время в литературе не встречается данных по способу утилизации альгината бифидобактериями, как и сведений по их способности расщеплять высокомолекулярные альгинаты. Однако следует сказать, что потребление высокомолекулярных веществ (ВМС) бактериями и бифидобактериями в частности, как правило, связано с их предварительным расщеплением на низкомолекулярные фрагменты под действием ферментов. При этом ферменты выделяются бактериями в окружающую их среду в виде метаболитов, а продукты расщепления высокомолекулярных соединений транспортируются внутрь бактериальных клеток и используются ими для поддержания метаболизма (The Prokaryotes…, 2006).

Цель нашего исследования — установить влияние экзометаболитов бифидобактерий на свойства альгината натрия и альгинатсодержащего биогеля из бурых водорослей.

## Материалы и методы

В качестве объектов исследований использовали:

— референс-штамм *Bifidobacterium bifidum 791*, полученный из коллекции микроорганизмов Всероссийского государственного научно-исследовательского института контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов (ВГНКИ) г. Москвы;

— альгинат натрия, полученный из ламинарии японской (*Saccharina japonica Aresch.*) по ТИ № 467-92, соответствующий ТУ-15-544-83;

— биогель из бурых водорослей, соответствующий требованиям ТУ 9284-175-00472012-2015 Биогель «Ламиналь»;

— система биогель–вода в соотношении 1 : 2.

Физико-химические показатели биогеля в 4,6 ± 0,3 % сухих веществ: минеральных — 22,7 ± 0,2 %, альгиновой кислоты — 57,5 ± 0,2, маннита — 3,6 ± 0,3, клетчатки — 6,8 ± 0,2, фукоидана — 3,4 ± 0,2, белка (N×6,25) — 6,0 ± 0,2, йода — 0,010 ± 0,001 %.

Бифидобактерии культивировали на полужидкой среде Блаурокка, содержащей 10,0 % биогеля или 0,5 % альгината натрия при температуре 38 ± 1 °С в течение 72 ч в анаэробных условиях. Экзометаболиты бифидобактерий в стационарной фазе роста и начальной стадии отмирания клеток получали центрифугированием в течение 10 мин со скоростью 5000 об/мин. Супернатант, содержащий экзометаболиты, отделяли от осадка, стерилизовали, пропуская через бактериальные фильтры Millipor (диаметр пор 0,2 мкм). Под термином «экзометаболиты» мы подразумеваем соединения, выделяемые бифидобактериями в активной фазе роста в культуральную жидкость, и внеклеточные продукты, появляющиеся в среде в результате неизбежной гибели незначительной части клеток бифидобактерий.

Перед проведением экспериментов для уничтожения возможной посторонней микрофлоры образцы биогеля и 0,2 %-ного раствора альгината натрия подвергали трехкратной 10-минутной пастеризации при температуре 85 ± 5 °С с интервалами в 24 ч. Затем в асептических условиях экзометаболиты вносили в биогель или в раствор альгината при соотношении биогель (раствор альгината натрия) : метаболиты — 10 : 1 и инкубировали при 37 °С в течение 4, 15 и 24 ч. В контрольные образцы вносили экзометаболиты, нагретые предварительно до 100 °С для инактивации ферментов. После инкубации образцы подвергали химическому анализу, а также структурно-механическим исследованиям.

Содержание воды, минеральных и азотистых веществ, альгиновой кислоты, йода, маннита определяли стандартными методами согласно ГОСТу 26185-84; клетчатки — по модифицированной методике Лазаревского (Лазаревский, 1955). Вязкость альгинатных растворов и относительную молекулярную массу определяли методом вискозиметрии Освальда с помощью капиллярного вискозиметра типа ВПЖ с диаметром капилляра 0,86 мм (Бурштейн, 1963; ГОСТ 26185-84). Концентрация альгината натрия в соответствии с ГОСТом составила 0,2 %.

Вязкость биогеля «Ламиналь» измеряли на ротационном вискозиметре Реотест-2 на измерительном цилиндре *S1* с пределом измерения вязкости 0–380 Па · с. Для их расчета использовали формулы

$$\tau = z \cdot \alpha,$$

где $\tau$ — предельное напряжение сдвига, Па; $z$ — константа прибора, определяемая его конструкцией; $\alpha$ — показания шкалы;

$$\eta = \tau/D,$$

где $\eta$ — динамическая вязкость, Па · с; $D$ — градиент напряжения на срезе, определяемый конструкцией прибора.

Результаты исследований по данным 3-кратных повторностей обрабатывали с помощью методов статического анализа с определением среднеарифметического значения изучаемого признака и среднеквадратичной ошибки.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ: Statistica 8, «Microsoft Excell».

## Результаты и их обсуждение

Ранее нами были получены данные, которые позволили предположить, что бифидобактерии могут использовать альгинат натрия в качестве источника питания и энергии (Конева и др., 2010). На основании этого было выдвинуто предположение, что альгинаты биогеля могут расщепляться под действием ферментов (в виде экзометаболитов), выделяемых бифидобактериями в среду с образованием простых низкомолекулярных веществ, которые затем захватываются бактериальной клеткой и подвергаются дальнейшей утилизации с образованием энергии и конечных продуктов. Чтобы проверить ряд этих предположений, исследовали влияние экзометаболитов бифидобактерий на реологические показатели биогеля и молекулярную массу альгиновых кислот, которые являются основными высокомолекулярными полисахаридами биогеля. Для того чтобы исключить возможное влияние других компонентов, входящих в состав биогеля (возможное остаточное количество клетчатки, фукоидана, ламинарана и пр.), аналогичные

работы проводили на растворах чистого альгината натрия. Параллельно проводили определение микробиологических показателей биогеля, чтобы убедиться в отсутствии влияния экзометаболитов посторонней микрофлоры. Экзометаболиты добавляли к биогелю, содержащему альгинат бурых водорослей или раствору чистого альгината натрия. При этом предполагали, что, если бифидобактерии способны использовать альгиновые кислоты в качестве источника питания, это в первую очередь должно привести к снижению вязкости раствора, поскольку именно альгиновые кислоты и их молекулярная масса определяют вязкость альгиновых гелей.

На первом этапе работы рассмотрено влияние экзометаболитов бифидобактерий на реологические показатели биогеля методом ротационной вискозиметрии. Исследовали изменение вязкости биогеля при внесении экзометаболитов бифидобактерий. В данном случае использовали метод ротационной вискозиметрии, поскольку биогель содержит помимо альгиновых кислот остатки клетчатки, неразрушенные до гомогенного состояния. Для проверки предположения о том, влияет ли концентрация альгиновых кислот на падение вязкости (эффект концентрации), в ходе эксперимента определяли также реологические показатели разбавленного в два раза водой биогеля. Как видно из данных, представленных в табл. 1, через 24 ч культивирования биогеля с экзометаболитами бифидобактерий его вязкость снижается на 14,5 % по сравнению с контролем (экзометаболиты, подвергнутые нагреванию). За этот же период времени вязкость разбавленного водой биогеля уменьшилась на 41 %. Как видно из представленных результатов, скорость деградации альгиновых кислот зависит от их концентрации. Чем ниже концентрация альгиновых кислот, тем выше скорость деградации. Можно предположить, что наблюдаемый эффект связан с увеличением подвижности молекул ферментов, участвующих в процессах деградации альгиновых кислот и самих кислот, при разбавлении раствора. Экзометаболиты, подвергнутые нагреванию, не оказывают достоверного влияния на вязкость раствора биогеля. Это подтверждает наше мнение о том, что в процессе роста на средах, содержащих альгинат, бифидобактерии выделяют в культуральную жидкость ферменты, участвующие в деградации этих полисахаридов. Еще одним доказательством деградации альгиновых полисахаридов служит снижение концентрации альгиновой кислоты в 3,7–4,0 раза (табл. 1).

Таблица 1

Изменение вязкости и содержания альгиновой кислоты в биогеле, инкубированном с метаболитами *B. bifidum*

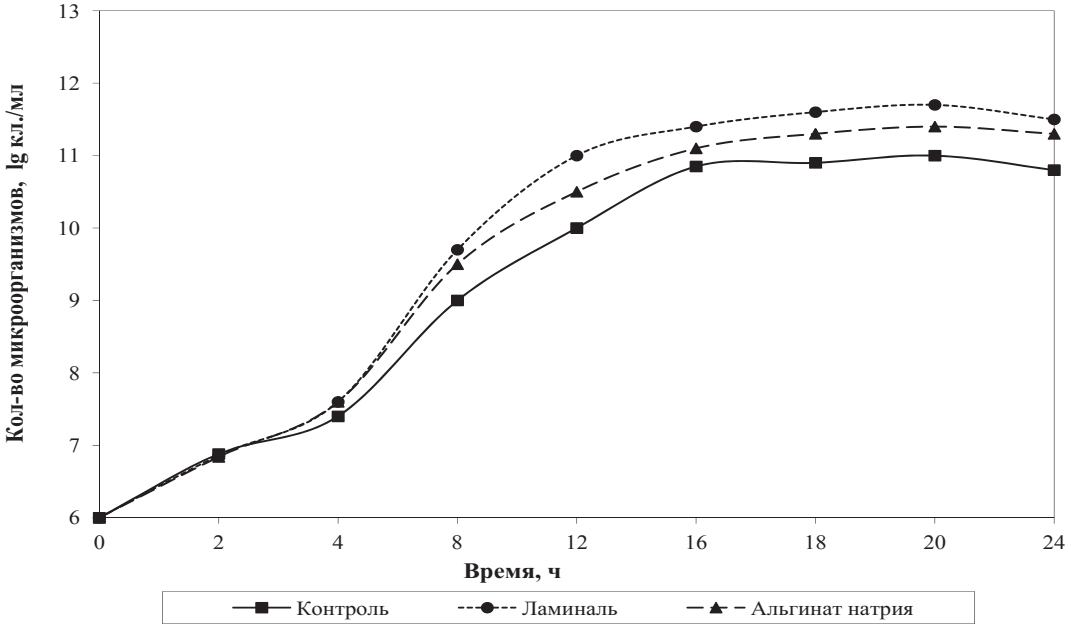
Table 1

Dynamics of viscosity and alginic acid content in biogel incubated with metabolites of *B. bifidum*

| Наименование образца | Вязкость, Па · с · $10^{-3}$ | | | | Альгиновая кислота, % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 ч | 4 ч | 15 ч | 24 ч | 0 ч | 4 ч | 24 ч |
| Биогель с экзометаболитами | 214,63 ± 4,90 | 207,59 ± 9,40 | 184,20 ± 9,20 | 183,57 ± 4,90 | 55,60 ± 7,20 | 17,30 ± 2,20 | 15,0 ± 1,17 |
| Контроль (биогель с нагретыми до 100 °С экзометаболитами) | 219,72 ± 5,80 | 219,70 ± 5,80 | 219,70 ± 5,80 | 219,70 ± 5,80 | 55,60 ± 7,20 | 55,60 ± 7,20 | 55,60 ± 7,20 |
| Система биогель «Ламиналь» — вода (1 : 1) | 93,20 ± 1,02 | 90,04 ± 4,90 | 84,74 ± 8,50 | 55,04 ± 8,70 | 30,89 ± 4,80 | 9,65 ± 1,09 | 7,73 ± 0,80 |

В процессе роста микроорганизмов в жидкой питательной среде выделяют несколько фаз. Поскольку синтез и накопление экзометаболитов определяются стадией развития микроорганизмов, в работе использованы экзометаболиты бифидобактерий, взятых в стационарной фазе роста и начальной стадии отмирания клеток. На рисунке представлены кривые с характерными фазами роста в процессе культивирования бифидобактерий на среде, содержащей альгинат натрия.

Было изучено влияние экзометаболитов, полученных в стационарной фазе роста и фазе отмирания клеток *B. bifidum*, на вязкость 0,2 %-ного раствора альгината натрия и его молекулярную массу.




Динамика роста *B. bifidum 791* на среде Блаурокка, содержащей альгинат натрия и биогель

Dynamics of growth of *B. bifidum 791* on medium Blaurock containing sodium alginate and biogel

При инкубировании образцов с экзометаболитами в стационарной фазе роста вязкость раствора полисахарида снижалась на 23,0 %; в фазе отмирания клеток — на 43,8 %; молекулярная масса полисахарида уменьшалась в 1,8–2,0 раза (табл. 2). Стационарная фаза роста микроорганизмов характеризуется максимальным выходом продуктов метаболизма (витамины, экзоферменты, гормоны) (Методы..., 1983). Переход от стационарной стадии роста к начальной стадии отмирания клеток сопровождается лизисом клетки и высвобождением цитоплазматического содержимого клеток, в том числе эндоферментов, локализируемых в основном в цитоплазме. Вероятно, появление в среде эндоферментов в фазе отмирания способствовало большему снижению вязкости и молекулярной массы альгината натрия.

Таблица 2

Изменение вязкости и молекулярной массы альгината натрия, инкубированного с метаболитами *B. bifidum* в стационарной фазе роста и начальной стадии отмирания клеток

Table 2

Dynamics of sodium alginate solution viscosity and its molecular weight under incubation with *B. bifidum* metabolites in the phase of stationary growth and in the initial stage of cell death

| Вязкость, сПуаз | | | | | | Молекулярная масса, кДа | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Стационарная фаза | | | Фаза отмирания клеток | | | Стационарная фаза | | | Фаза отмирания клеток | | |
| 0 ч | 15 ч | 24 ч | 0 ч | 15 ч | 24 ч | 0 ч | 15 ч | 24 ч | 0 ч | 15 ч | 24 ч |
| 5,14 ± ± 0,19 | 4,09 ± ± 0,17 | 3,96 ± ± 0,13 | 5,14 ± ± 0,19 | 3,14 ± ± 0,12 | 2,89 ± ± 0,09 | 103,3 ± ± 8,3 | 63,8 ± ± 6,4 | 55,85 ± ± 5,20 | 103,3 ± ± 8,3 | 62,1 ± ± 5,9 | 51,65 ± ± 4,30 |

Таким образом, методом вискозиметрии установлено, что метаболиты бифидобактерий способствуют ферментативной деградации (расщеплению) альгиновых кислот. Это подтверждается снижением не только вязкости биогеля (альгината), но и молекулярной массы альгината натрия. Показана зависимость изменения вязкости раствора биогеля от концентрации альгиновых кислот под действием метаболитов. Вискозиметрический метод наблюдения позволяет определять среднюю молекулярную массу, что является, по сути, методом контроля за ходом деполимеризации альгината натрия. Необходимо отметить, что данный способ ферментативной деполимеризации

(обработки) позволяет получать низкомолекулярные полисахариды, многие из которых, возможно, обладают физиологической и биологической активностью. К ним в первую очередь нужно отнести олигосахариды (Courtois, 2009; Rodrigues et al., 2016). Можно предположить, что эти соединенения образуются под действием метаболитов бифидобактерий на альгиновые кислоты бурых водорослей. Помимо низкомолекулярных соединений, в экзометаболитах содержится также значительное количество разнообразных ферментов, участвующих в метаболизме бактерий.

Расщепление полисахаридов бактериями, как правило, может осуществляться двумя группами ферментов — гидролазами и лиазами (Jedrzejas, 2000). Данные микроорганизмы способны продуцировать большое количество ферментов, участвующих в расщеплении различных типов углеводов, что позволяет микроорганизмам приспосабливаться и конкурировать в среде с изменяющимся пищевым составом (Palframan et al., 2003; Ventura et al., 2007a, b). Благодаря наличию специфических ферментов бифидобактерии способны ферментировать амилозу, амилопектин, полигалактуронаны, гуммиарабик и использовать их в питании (Salyers et al., 1978; Palframan et al., 2003). Ранее показано, что при культивировании бифидобактерий на различных углеводсодержащих субстратах изменяется их ферментативная активность (Wang, Gibson, 1993; Palframan et al., 2003; Ventura et al., 2007a, b; Goulas et al., 2009). При этом в зависимости от субстрата бифидобактерии индуцируют синтез ферментов (так называемые индуктивные или адаптивные ферменты), необходимых для его расщепления на олигосахариды. Иными словами, запускается механизм экспрессии генов, ответственных за продуцирование ферментов, участвующих в метаболизме углеводов.

Возможно, таким же путем запускается синтез этих ферментов у бифидобактерий при их культивировании на альгинатсодержащей среде. Можно ожидать, что при этом также должны образовываться биологически активные олигосахариды. Их состав и концентрации, а также физиологическая активность тоже заслуживают пристального внимания. Таким образом, целесообразным является более глубокое изучение механизма утилизации альгината натрия бифидобактериями, а также состава и свойств низкомолекулярных сахаров, образующихся при действии ферментов на альгинат натрия.

## Заключение

Дальнейшие исследования механизмов воздействия альгинатсодержащих продуктов на метаболизм бифидобактерий могут открыть новые возможности использования бурых водорослей в сфере здравоохранения и пищевой промышленности. Одним из наиболее перспективных способов применения бурых водорослей в фармацевтике является обеспечение локализации воздействия препаратов на пораженные органы (Şenel, 2015), в частности, с помощью альгинатсодержащих препаратов. В настоящее время уделяется большое внимание применению альгинатсодержащих препаратов и пищевых продуктов на их основе для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта. Известно, что альгинаты обладают широкой биологической активностью: противовоспалительной, иммуномоделирующей, липидкоррегирующей, антитоксической (Moe et al., 1995; Ouwehand et al., 2002; Brownlee et al., 2005; Brownlee, 2014; Cheng et al., 2005; Хотимченко, 2015). Бурые водоросли являются основным компонентом динамично развивающегося сегмента на рынке БАД (биологически активных добавок к пище) в качестве источника йода, флоротаннинов, полисахаридов (Mirshafiey, Rehm, 2009), используются в борьбе с онкологическими (Kim, Kalimuthu, 2015) и сердечно-сосудистыми заболеваниями (Paniagua-Michel et al., 2015). Особенно развит этот рынок в странах Тихоокеанского региона, в частности в Китае, Республике Корея, США и России, странах, имеющих непосредственный доступ к сырью. Так, экспорт РФ по товарной позиции «водоросли, пригодные для употребления в пищу» составил 1,4 млн дол. за 2015 г. Импорт данного сырья за тот же отчетный год составил 7,8 млн дол. (http://stat.customs.ru). Использование альгинатсодержащего сырья в производстве пробиотиков может значительно увеличить потребление продукции из водорослей и снизить импорт водорослевой составляющей в нашу страну до минимума.

## Список литературы


**Бурштейн А.И.** Методы исследования пищевых продуктов : моногр. — Киев : Госмедиздат УССР, 1963. — 643 с.

**Конева Е.Л., Аминина Н.М., Якуш Е.В.** Бифидогенные свойства продуктов переработки бурых водорослей // Изв. ТИНРО. — 2010. — Т. 161. — С. 303–308.

**Конева Е.Л., Терехова В.Е., Якуш Е.В., Аминина Н.М.** Влияние продуктов переработки бурых водорослей на адгезивные свойства *Bifidobacterium bifidum*, штамм 791 // Биотехнология. — 2015. — № 3. — С. 64–70.

**Кузнецова Т.А., Макаренкова И.Д., Конева Е.Л. и др.** Влияние пробиотического продукта, содержащего бифидобактерии и биогель из бурых водорослей, на кишечную микрофлору и показатели врожденного иммунитета у мышей с экспериментальным лекарственным дисбактериозом кишечника // Вопр. питания. — 2015. — Т. 84, № 1. — С. 73–79.

**Лазаревский А.А.** Технохимический контроль в рыбообрабатывающей промышленности : моногр. — М. : Пищепромиздат, 1955. — 520 с.

**Методы общей бактериологии** : моногр. : пер. с англ. / под ред. Ф. Герхардта и др. — М. : Мир, 1983. — Т. 1. — 536 с.

**Промысловые и перспективные для использования водоросли и беспозвоночные Баренцева и Белого морей** : сб. статей / отв. ред. Г.Г. Матишов. — Апатиты : КНЦ РАН, 1998. — 628 с.

**Хотимченко Р.Ю.** Разработка фармакологических средств на основе низкомолекулярных пектинов и альгинатов для антитоксической терапии : дис. … канд. техн. наук. — Владивосток, 2015. — 145 с.

**Brownlee I.A.** The impact of dietary fibre intake on the physiology and health of the stomach and upper gastrointestinal tract // Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. — 2014. — Vol. 4, Iss. 2. — P. 155–169. DOI: 10.1016/j.bcdf.2014.09.005.

**Brownlee I.A., Allen A., Pearson J.P. et al.** Alginate as a source of dietary fiber // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 2005. — Vol. 45, Iss. 6. — P. 497–510. DOI: 10.1080/10408390500285673.

**Cheng W., Liu C.-H., Kuo C.-M., Chen J.-S.** Dietary administration of sodium alginate enhances the immune ability of white shrimp *Litopenaeous vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus* // Fish Shellfish Immunol. — 2005. — Vol. 18, Iss. 1. — P. 1–12. DOI: 10.1016/j.fsi.2004.03.002.

**Courtois J.** Oligosaccharides from land plants and algae: production and applications in therapeutics and biotechnology // Curr. Opin. Microbiol. — 2009. — Vol. 12, Iss. 3. — P. 261–273. DOI: 10.1016/j.mib.2009.04.007.

**Draget K.I., Skjåk-Bræk G., Smidsrød O.** Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight // Carbohydrate Polymers. — 1994. — Vol. 25, Iss. 1. — P. 31–38. DOI: 10.1016/0144-8617(94)90159-7.

**Goulas T., Goulas A., Tzortzis G., Gibson G.R.** Expression of four beta-galactosidases from *Bifidobacterium bifidum* NCIMB41171 and their contribution on the hydrolysis and synthesis of galactooligosaccharides // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2009. — Vol. 84(5). — P. 899–907. DOI: 10.1007/s00253-009-2009-5.

**Janczyk P., Pieper R., Smidt H., Souffrant W.B.** Effect of alginate and inulin on intestinal microbial ecology of weanling pigs reared under different husbandry conditions // FEMS Microbiol. Ecol. — 2010. — Vol. 72(1). — P. 132–142. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2009.00826.x.

**Jedrzejas M.J.** Structural and functional comparison of polysaccharide-degrading enzymes // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. — 2000. — Vol. 35, № 3. — P. 221–251. DOI: 10.1080/10409230091169195.

**Kim S.-K., Kalimuthu S.** Introduction to anticancer drugs from marine origin // Handbook of Anticancer Drugs from Marine Origin / S.-K. Kim (ed.). — Switzerland : Springer International Publishing, 2015. — P. 1–13. DOI: 10.1007/978-3-319-07145-9_1.

**Mirshafiey A., Rehm B.H.A.** Alginate and its comonomer mannuronic acid: Medical relevance as drugs // Alginates: Biology and Applications / B.H.A. Rehm (ed.). Ser. Microbiology Monographs. Vol. 13. — Heidelberg : Springer-Verlag Berlin, 2009. — P. 229–260. DOI: 10.1007/978-3-540-92679-5_10.

**Moe S.T., Draget K.I., Skjåk-Bræk G., Smidsrød O.** Alginates // Food polysaccharides and their applications / A.M. Stephen (ed.). — N.Y. : Marcel Dekker, Inc., 1995. — P. 245–286.

**Ouwehand A., Isolauri E., Salminen S.** The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood // Eur. J. Nutr. — 2002. — Vol. 41, Suppl. 1. — P. 132–137. DOI: 10.1007/s00394-002-1105-4.

**Palframan R.J., Gibson G.R., Rastall R.A.** Carbohydrate preferences of Bifidobacterium species isolated from the human gut // Curr. Issues Intest. Microbiol. — 2003. — Vol. 4(2). — P. 71–75.

**Paniagua-Michel J. de J., Olmos-Soto J., Morales-Guerrero E.** Drugs and leads from the ocean through biotechnology // Springer Handbook of Marine Biotechnology / S.-K. Kim (ed.). — Heidelberg : Springer-Verlag Berlin, 2015. — P. 711–729. DOI: 10.1007/978-3-642-53971-8_29.

**Ramnani P., Chitarrari R., Tuohy K. et al.** In vitro fermentation and prebiotic potential of novel low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds // Anaerobe. — 2012. — Vol. 18(1). — P. 1–6. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.08.003.

**Rodrigues D., Walton G., Sousa S. et al.** In vitro fermentation and prebiotic potential of selected extracts from seaweeds and mushrooms // Food Science and Technology. — 2016. — Vol. 73. — P. 131–139. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.06.004.

**Roopa B.S., Bhattacharya S.** Alginate gels: I. Characterization of textural attributes // J. of Food Engineering. — 2008. — Vol. 85(1). — P. 123–131.

**Salyers A.A., Palmer J.K., Wilkins T.D.** Degradation of polysaccharides by intestinal bacterial enzymes // Am. J. Clin. Nutr. — 1978. — Vol. 31, Suppl. 10. — S128–S130.

**Şenel S.** Functionalization of marine materials for drug delivery systems // Functional Marine Biomaterials: Properties and Applications / S.-K. Kim (ed.). — N.Y. : Woodhead Publishing, 2015. — P. 109–121. DOI: 10.1016/B978-1-78242-086-6.00007-8.

**The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria.** Vol. 1 : Symbiotic Associations, Biotechnology, Applied Microbiology / eds. M. Dworkin et al. — N.Y. : Springer Science+Business Media, Inc, 2006. — 959 p.

**Ventura M., Canchaya C., Tauch A. et al.** Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2007a. — Vol. 71, № 3. — P. 495–548. DOI: 10.1128/MMBR.00005-07.

**Ventura M., Canchaya C., Fitzgerald G.F. et al.** Genomics as a means to understand bacterial phylogeny and ecological adaptation: the case of bifidobacteria // Antonie Van Leeuwenhoek. — 2007b. — Vol. 91(4). — P. 351–372. DOI: 10.1007/s10482-006-9122-6.

**Wang X., Gibson G.R.** Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine // J. Appl. Bacteriol. — 1993. — Vol. 75(4). — P. 373–380.

**Wang Y., Han F., Hu B. et al.** In vivo prebiotic properties of alginate oligosaccharides prepared through enzymatic hydrolysis of alginate // Nutr. Res. — 2006. — Vol. 26, Iss. 11. — P. 597–603.

*Поступила в редакцию 6.06.17 г.*

*Принята в печать 12.07.17 г.*