

Трегалоза как защитный стресс-фактор пробиотических дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*

Анастасия С. Андреева	¹	aandreeva@itmo.ru	 0000-0001-6179-2265
Татьяна В. Меледина	¹	meledinata@ya.ru	 0000-0001-7485-2802
Инна В. Новикова	²	noviv@list.ru	 0000-0002-2360-5892
Алексей А. Федоров	¹	aafedorov@itmo.ru	 0000-0003-3860-7708
Олеся С. Веселова	¹	ole-saveselova3308@gmail.com	 0009-0007-6397-8339
Виктор О. Фаустов	¹	faustoff94@ya.ru	 0009-0009-5998-5565

¹ Университет ИТМО, ул. Ломоносова, 9, Санкт-Петербург, 191002, Россия

² Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия

Аннотация. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (*S. boulardii*) – это пробиотический штамм дрожжей, который является единственным дрожжевым пробиотиком, одобренным FDA (U.S. Food and Drug Administration) для применения в клинической практике. Обычно используется для профилактики или лечения острой диареи и других желудочно-кишечных расстройств, включая антибиотик-ассоциированную диарею, вызванную инфекциями *Clostridium difficile*. Отсутствие зарегистрированной и доступной к реализации технологии культивирования пробиотических дрожжей, а также выпуск препарата в сухой активной форме, ставит несколько фундаментальных задач для исследования. Помимо подбора питательной среды и разработки технологии получения биомассы, необходимо создать условия для повышения ксерорезистентности культуры. В процессе жизненного цикла получения пробиотического лиофилизата дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* на культуру воздействует множество стрессов. Возникновение стрессов, способствует снижению активности штамма, а также при воздействии окислительного и термических стрессов, запрограммированной гибели клеток, что представляет риск для жизнеспособности пробиотических микробов. В результате снижается метаболическая активность дрожжей и увеличивается количество нежизнеспособных клеток. Одним из способов сохранения физиологической активности клеток после дегидратации является направленный синтез трегалозы. Исследования, проведенные с пекарскими дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* свидетельствуют от том, что трегалоза – синтезируется при отсутствии эффекта Кребтри в стационарной стадии роста при температуре от 37 до 42 °C. Сведений о биосинтезе трегалозы в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* отсутствуют. Исследование отражает зависимость углеродного состава и параметров культивирования, на процесс накопления трегалозы клеткой. Представлены сравнения потенциала образования трегалозы в культурах *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* от *Saccharomyces cerevisiae*. В результате проведения исследований установлено, что для получения ксерорезистентных дрожжей, содержащих более 15 % трегалозы, способствует культивирование *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* при температуре 39–40 °C с дефицитом питательных веществ в среде.

Ключевые слова: дрожжи, пробиотики, трегалоза, питание, выживаемость микроорганизмов, культивирование, штамм.

Trehalose as a protective stressor for the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*

Anastasia S. Andreeva	¹	aandreeva@itmo.ru	 0000-0001-6179-2265
Tatiana V. Meledina	¹	meledinata@ya.ru	 0000-0001-7485-2802
Inna V. Novikova	²	noviv@list.ru	 0000-0002-2360-5892
Alexey A. Fedorov	¹	aafedorov@itmo.ru	 0000-0003-3860-7708
Olesya S. Veselova	¹	ole-saveselova3308@gmail.com	 0009-0007-6397-8339
Victor O. Faustof	¹	faustoff94@ya.ru	 0009-0009-5998-5565

¹ , ITMO University, 9 Lomonosova str., Saint Petersburg, 191002, Russia

² Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia

Abstract. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (*S. boulardii*) is a probiotic yeast strain that is the only yeast probiotic approved by the FDA (U.S. Food and Drug Administration) for clinical use. It is commonly used to prevent or treat acute diarrhea and other gastrointestinal disorders, including antibiotic-associated diarrhea caused by *Clostridium difficile* infections. The lack of a registered and available technology for the cultivation of probiotic yeast, as well as the release of the drug in a dry active form, poses several fundamental tasks for the study. In addition to the selection of a nutrient medium and the development of a technology for obtaining biomass, it is necessary to create conditions for increasing the xeroreistance of the crop. During the life cycle of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* yeast probiotic lyophilisate, the culture is exposed to many stresses. The occurrence of stress contributes to a decrease in the activity of the strain, as well as when exposed to oxidative and thermal stresses, programmed cell death, which poses a risk to the viability of probiotic microbes. As a result, the metabolic activity of yeast decreases, and the number of non-viable cells increases. One of the ways to preserve the physiological activity of cells after dehydration is the directed synthesis of trehalose. Studies conducted with baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* indicate that trehalose is synthesized in the absence of the Crabtree effect in the stationary stage of growth at a temperature of 37 to 42 °C. There is no information about the biosynthesis of trehalose in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. The study reflects the dependence of the carbon composition and cultivation parameters on the process of trehalose accumulation by the cell. Comparisons of the potential for trehalose formation in *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* cultures from *Saccharomyces cerevisiae* are presented. As a result of the research, it has been established that to obtain xeroreistant yeasts containing more than 15 % trehalose, the cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* at a temperature of 39–40 °C with a deficiency of nutrients in the medium is facilitated.

Keywords: yeast, probiotics, trehalose, nutrition, survival of microorganisms, cultivation, strain.

Для цитирования

Андреева А. С., Меледина Т. В., Новикова И. В., Федоров А. А., Веселова О. С., Фаустов В. О. Трегалоза как защитный стресс-фактор пробиотических дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* // Вестник ВГУИТ. 2025. Т. 87. № 2. С. 106–115. doi:10.20914/2310-1202-2025-2-106-115

For citation

Andreeva A.S., Meledina T.V., Novikova I.V., Fedorov A.A., Veselova O.S., Faustof V.O. Trehalose as a protective stressor for the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. Vestnik VGUET [Proceedings of VSUET]. 2025. vol. 87. no. 2. pp. 106–115. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2025-2-106-115

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License

Введение

Пробиотики обычно определяются как живые микроорганизмы с низкой патогенностью или без нее, которые оказывают благотворное влияние на здоровье хозяина при употреблении в достаточных количествах [2]. Большинство микроорганизмов, признанных пробиотиками, являются бактериями. Тем не менее, непатогенные дрожжи, *Saccharomyces cerevisiae boulardii*, являются единственными пробиотическими дрожжами, которые были одобрены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов для употребления в пищу человеком [3]. Назначение *Saccharomyces cerevisiae boulardii* было клинически одобрено для лечения антибиотик-ассоциированной диареи (ААД), связанной с бактериальными инфекциями, такими как *Clostridium difficile*, на долю которой приходится треть клинических проявлений ААД [4–8]. Польза *Saccharomyces cerevisiae boulardii* в качестве пробиотика подтверждена несколькими клиническими исследованиями, которые продемонстрировали его эффективность в профилактике острых кишечных заболеваний.

Трегалоза выполняет значительно больше функций в жизнедеятельности дрожжей, чем гликоген. Так, помимо резервного депо клетки, она обладает свойствами осмо-, крио- и термопротектора. Протекторные свойства связаны с наличием трегалозы во внешней мембране ЦПМ, благодаря этому предотвращается денатурация белка и фазовые переходы в липидных слоях клетки, когда в мембране нарушается ориентация молекул. В этих условиях высокое содержание трегалозы в клетках позволяет сохранить их жизнеспособность как при замораживании, так и при высушивании (дегидратации). Подобными свойствами обладают также маннит, сорбит, аминокислоты пролин и глутаминовая кислота, а также сахароза [9].

Saccharomyces cerevisiae boulardii – непатогенные дрожжи, впервые выделенные французским ученым Анри Буларом из плодов личи и мангостина в 1923 году [10]. Более ранние сообщения указывали на то, что *S. boulardii* является штаммом *Saccharomyces cerevisiae*, имеющим высокий уровень геномного родства (~99 %) [11]. Дальнейший анализ таксономических, метаболических и генетических свойств показал, что эти два штамма имеют различный генетический состав и профили ферментов [10–13].

Примечательно, что *S. boulardii* является термотолерантным штаммом, который оптимально растет при 37 °С (физиологической температуре хозяина), в то время как штаммы *S. cerevisiae* растут и метаболизируются при 30 °С [14, 15]. *S. boulardii* это кислотоустойчивые дрожжи, которые выделяют некоторые

определенные физиологически активные факторы. Некоторые недавние исследования показали, что *S. boulardii*, более устойчив, чем штамм *S. cerevisiae*, при воздействии моделируемой желудочной среды [16, 17]. Важно отметить, что *Saccharomyces boulardii* продемонстрировал клиническую и экспериментальную эффективность при желудочно-кишечных заболеваниях с преобладающим воспалительным компонентом [13–18]. Благодаря этим уникальным характеристикам *Saccharomyces cerevisiae boulardii* широко используется в качестве пробиотика [19, 20].

Пробиотики – это особая группа живых микроорганизмов, которые поддерживают или улучшают микробный баланс кишечника, тем самым способствуя пользе для здоровья потребителей [21, 22]. Чтобы продемонстрировать пользу для здоровья человека, пробиотики должны соответствовать нескольким критериям [21–23]. Он должен обладать отличными технологическими свойствами, чтобы его можно было производить и добавлять в пищевые продукты без потери жизнеспособности и функциональности [24, 25]. Он должен выжить через верхние отделы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и прибыть живым к месту своего действия, а также быть способным функционировать в кишечной среде.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования выступало три штамма дрожжей:

1. *Saccharomyces cerevisiae boulardii* ВКПМ Y-3925

2. *Saccharomyces cerevisiae boulardii* препарат Энтерол

3. *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1037

Исследование морфологии. Для оценки морфологического состояния микроорганизмов образцы высевали дрожжей высевали на плотную питательную среду UEPD истончающим штрихом, после чашки Петри инкубировали 48 часов при температуре 30⁰ С в термостате. Выросшие колонии оценивали макроморфологически внешне Binocular microscope Binocular microscope, микроморфология оценивалась с помощью микроскопии препарата раздавленная капля, на микроскопе Upright microscope (ZEISS Axio Lab. A1).

Получение инокулята. Для реализации дальнейших исследований использовалась накопительная культура дрожжей лабораторной стадии культивирования. В качестве основной питательной среды использовали среду UEPD. Культивирование реализовывали простым периодическим способом. В стерильную емкость со средой помещали 1 петлю микроорганизмов, образец инкубировали 24 часа при температуре 30 °С,

после производили пересев в 300мл среды, процесс повторяли до увеличения объема среды 5000мл. На каждом этапе дрожжи переносили в емкость большего объема, кратного 10. Процесс пересева был реализован в чистой зоне микробиологической лаборатории в условиях Microbiological safety cabinet (БМБ-II «Ламинар-С»–1,2). Общий объем дрожжей в среде после окончательного этапа производства биомассы помещали в холодильное оборудование с температурным режимом 6–4 °С, для интенсификации флокуляции, культуральную жидкость удаляли, а дрожжевой осадок отмывали от остатков питательной среды физиологическим раствором и многократным центрифугированием на Unrefrigerated benchtop centrifuge (Sigma 3–16L) for 6 50 ml test tubes. Абсолютно сухую биомассу дрожжей определяли гравиметрическим способом.

Определение термоустойчивости культур.

Для исследования толерантности микроорганизмов к температурам производили посев культур в полусинтетическую питательную среду, состоящую из пептона, декстрозы и дрожжевого экстракта (UEPD) в количестве 1 % абсолютно сухой биомассы дрожжей с учетом концентрации сахаров и объема среды. Измерения проводили на планшетном ридере Microplate Reader SPECTROstar Nano 12 часов с постоянным перемешиванием. В качестве температурного диапазона воздействия выбрано 30–45 °С с шагом 5 °С.

Содержание трегалозы. Для определения содержания трегалозы в дрожжевых клетках используется метод ступенчатого фракционирования углеводов по Тревелену и Гаррисону [27] с последующим определением индивидуального углевода в каждой фракции колориметрически при 590 нм с Антроновым реактивом [28]. Перед определением содержания трегалозы в клетках дрожжей строится калибровочная кривая по стандартным растворам глюкозы (рисунок 1).

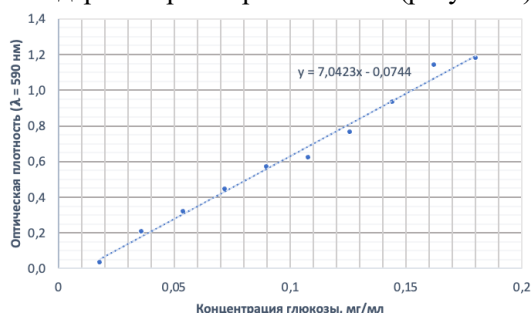


Рисунок 1. Калибровочная кривая по стандартным растворам глюкозы

Figure 1. Calibration curve for standard glucose solutions

Формула расчета содержания трегалозы %, от СВ:

$$A = (B \cdot 10 \cdot 100) : C \quad (1)$$

где А – содержание трегалозы, % от СВ; В – количество глюкозы в 1 см³ раствора, определенное

по величине оптической плотности с помощью калибровочного графика, мг; 10 – разведение пробы; С – содержание СВ в 10 см³ исследуемой суспензии дрожжей, мг; 100 – пересчет на проценты.

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях (ОФС.1.2.1.1.0003.15)

Измерение оптической плотности проводят при указанной длине волны (590 нм) с использованием кювет с толщиной слоя 1 см и при температуре (20 ± 1) °С по сравнению с тем же растворителем или той же смесью растворителей, в которой растворено вещество.

Гравиметрический метод определения абсолютно сухой биомассы дрожжей

Пипеткой отбирают 10 см³ культуральной жидкости, помещают в центрифугу. Обработывают 10 мин при скорости 5000 об/мин. Затем сливают над осадочную жидкость и дистиллированной водой из цилиндра (5 см³) стеклянной палочкой промывают осадок, оставшиеся 5 см³ воды используют для смыва находящихся на палочке дрожжей (количественный метод). После этого снова центрифугируют 10 мин при скорости 5000 об/мин. Далее дрожжи мерно, как указано выше, переносят в бюксы с известной массой. Бюкс помещают в сушильный шкаф и сушат до постоянной массы при 105 °С в течение не менее 10 часов.

Влияние температуры культивирования и питательной углеводного компонента среды на содержание трегалозы в дрожжах. Для оценки влияния температуры и питательной среды на накопление трегалозы, готовили полусинтетические питательные среды с содержанием сахарозы 2; 5; 8 %, глюкозы 2; 5; 8 % и мальтозы 2; 5; 8 %. Тип сахара был выбран с учетом того, что эти сахара являются основными в составе многих природных питательных сред для культивирования микроорганизмов. Приготовленные среды разливали в пробирки стерилизовали 15 минут при давлении 1.1МПа и температуре 121 °С. В условиях микробиологического бокса в пробирки со стерильными питательными средами вносили 1 % инокулята дрожжей. Образцы помещали в термостаты и культивировали 24 часа при температуре 25; 35; 45 °С. После в исследуемых образцах определяли содержание трегалозы.

Направленное увеличение содержания трегалозы в пробиотических дрожжах в простой периодической культуре с притоком питательных веществ. При производстве ксерорезистентной биомассы, необходимо поддерживать строгие параметры культивирования для того, чтобы повысить экономический коэффициент процесса. Из полученных данных и литературных источников известно, что повышение температуры до 37–45 °С способствует накоплению трегалозы дрожжами. Такая температура может

быть не только термическим стрессом для штаммов, но и причиной смерти клеток. Для того, чтобы снизить негативный эффект от воздействия параметров температуры, необходимо изменить режим производства биомассы на этапе выхода культуры на стационарную стадию роста, с учетом того, что именно на данной стадии достигается оптимум прироста дрожжей.

Моделирование системы производственного культивирования производилось на био-реакторе Biostat A MO UniVessel Glass benchtop bioreactor (2 liter volume). В качестве питательной среды использовалась свекловичная меласса. Технология параметров культивирования, состав среды и приток питательных веществ были смоделированы относительно потенциальных данных на пивоваренные дрожжи [28]. Культивирование длилось 24 часа, каждый час производили

отбор проб, определяли содержание абсолютно сухой биомассы дрожжей. При переходе культуры на стационарную стадию роста отключали приток питательных веществ и поднимали температуру культивирования до 37 °C. Определяли содержание трегалозы до и после изменения параметров.

Результаты и обсуждения

Стоит отметить, что морфология *Saccharomyces cerevisiae boulardii* ВКПМ Y-3925 и *Saccharomyces cerevisiae boulardii* препарат Энтерол, идентична. Форма дрожжей и размер клеток штаммов схожи в отличие от культуры *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1037 хлебопекарные дрожжи, которые имеют более округлую форму и больший размер клетки.

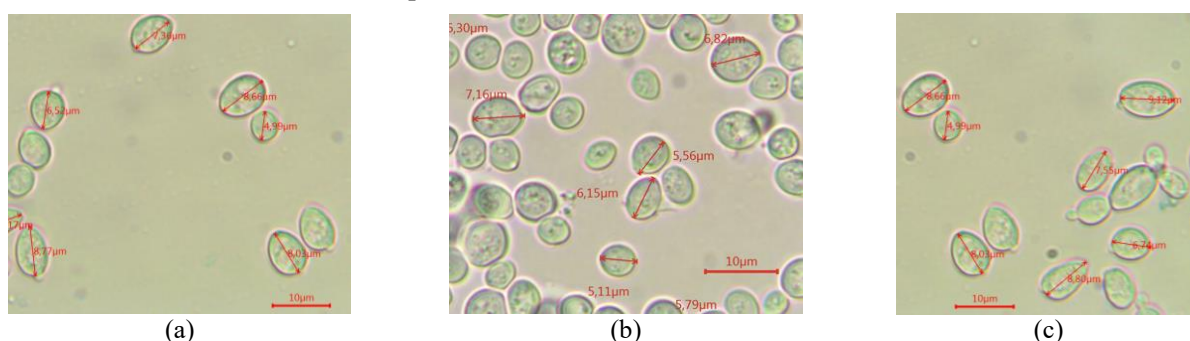


Рисунок 2. Морфология дрожжей: А – *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-103, В – *Saccharomyces boulardii* ВКПМ Y-3925, С – *Saccharomyces boulardii* Энтерол

Figure 2. Morphology of yeast: A - *Saccharomyces cerevisiae* VKPM Y 103, B - *Saccharomyces boulardii* VKPM Y 3925, C - *Saccharomyces boulardii* Enterol

Термоустойчивость микроорганизмов.

Исследуемые штаммы оценивали на термоустойчивость в жидкой питательной среде на планшетном ридере Microplate Reader SPECTROstar Nano 12 часов с постоянным перемешиванием. Каждые 10 минут инкубирования в лунках планшетного ридера замерялась

оптическая плотность образцов. Изменение оптической плотности может характеризовать увеличение биомассы, а не концентрации клеток дрожжей. В качестве температурного диапазона исследования, выбраны 30–45 °C с шагом 5 °C. Результаты исследований приведены на рисунке 3, ниже в виде кривых.

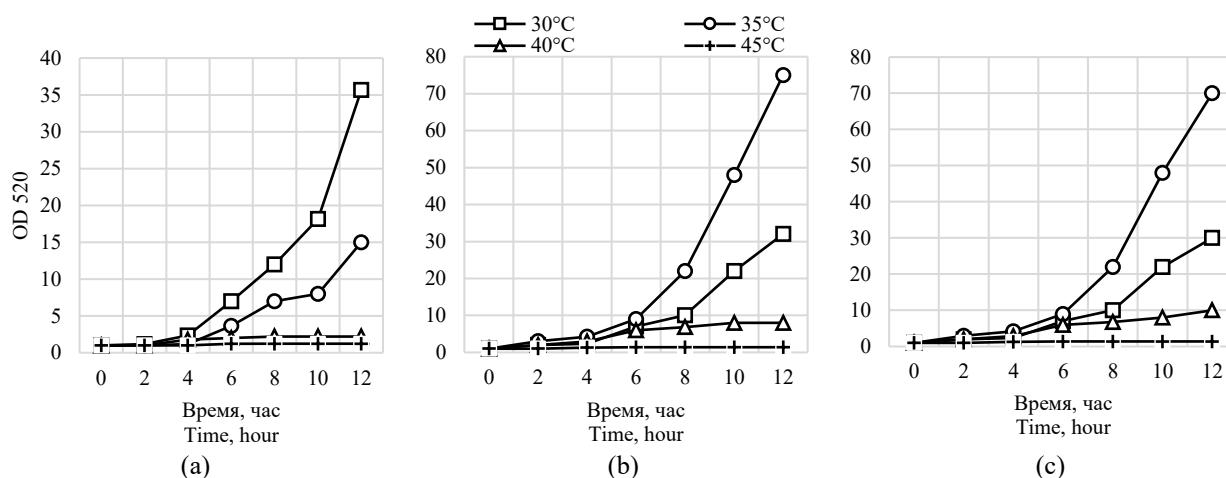


Рисунок 3. Кривые роста штаммов: А – *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-103, В – *Saccharomyces boulardii* ВКПМ Y-3925, С – *Saccharomyces boulardii* Энтерол в зависимости от температуры культивирования

Figure 3. Growth curves of the following strains: A - *Saccharomyces cerevisiae* VKPM Y 103, B - *Saccharomyces boulardii* VKPM Y 3925, C - *Saccharomyces boulardii* Enterol depending on the cultivation temperature

Наблюдается снижение жизнеспособности всех штаммов при повышении температуры выше 40 °С. У пробиотических дрожжей в сравнении с хлебопекарным штаммом, наблюдается устойчивость к повышенным температурам. Прирост биомассы, то есть

повышение оптической плотности у пробиотических штаммов выше при 35 °С в сравнении с хлебопекарным штаммом 30 °С.

Влияние температуры культивирования и питательной углеводного компонента среды на содержание трегалозы в дрожжах.

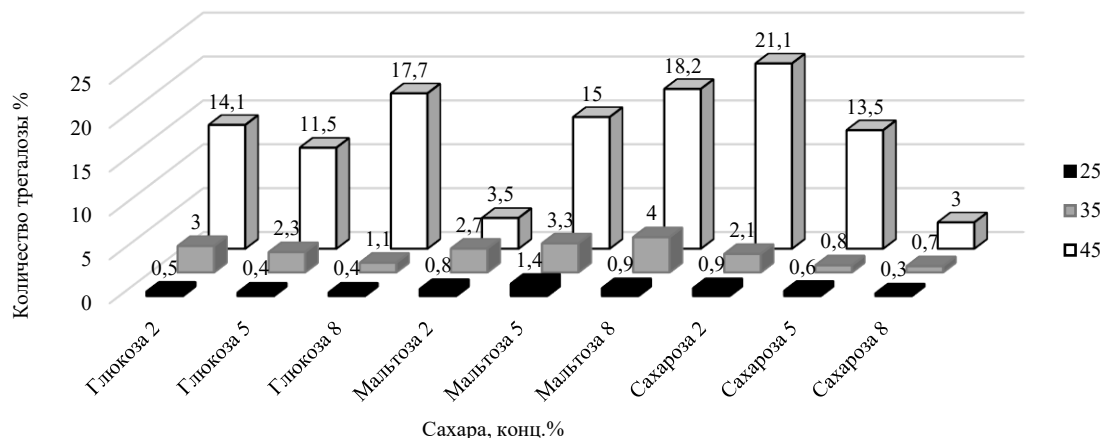


Рисунок 4. Концентрация трегалозы, штамм *Saccharomyces boulardii* ВКПМ Y-3925

Figure 4. Trehalose concentration, *Saccharomyces boulardii* strain VKPM Y 3925

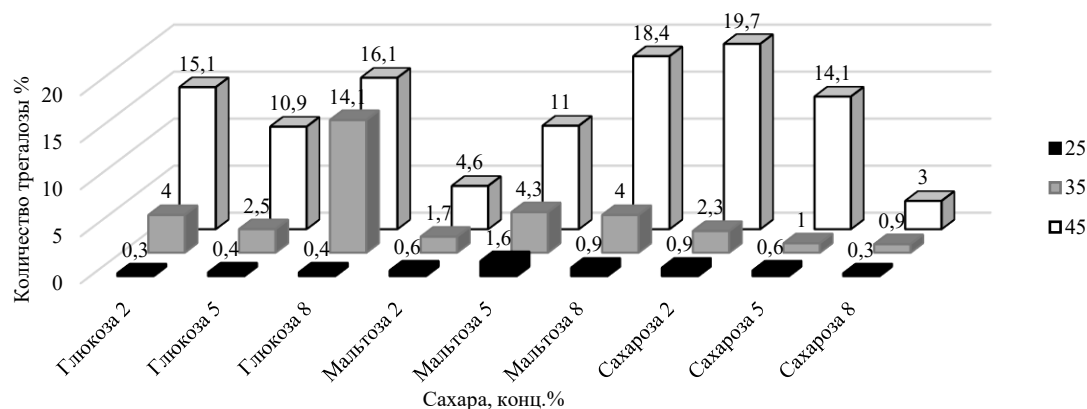


Рисунок 5. Концентрация трегалозы, штамм *Saccharomyces boulardii* Энтерол

Figure 5. Trehalose concentration, *Saccharomyces boulardii* Enterol strain

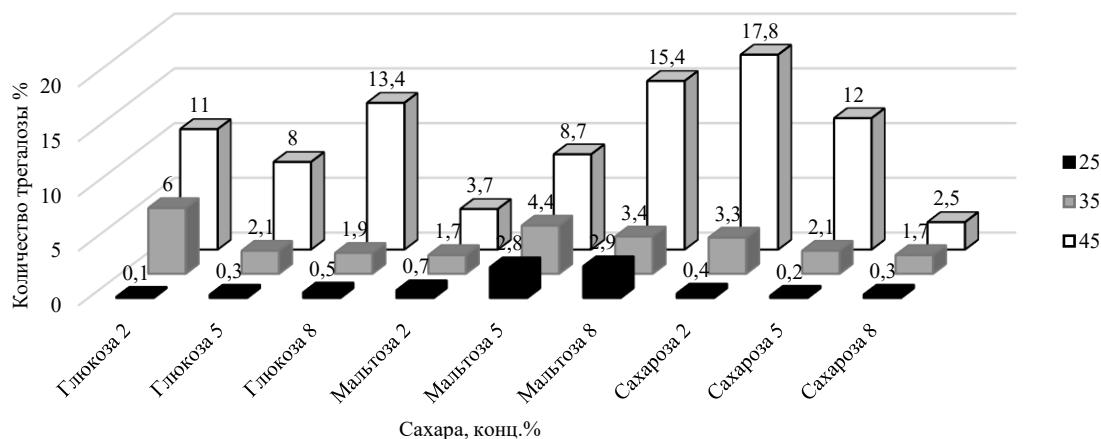


Рисунок 6. Концентрация трегалозы, штамм *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-103

Figure 6. Trehalose concentration, *Saccharomyces cerevisiae* strain VKPM Y 103

Полученные данные подтверждают литературные сведения научного сообщества, о том, что при повышении температуры, значительно вырастает процент трегалозы в клетке. Также стоит отметить, что синтез трегалозы во всех исследуемых штаммах интенсифицируется, со снижением концентрации сбраживаемых сахаров в среде. С использованием сахарозы как питательного компонента синтетической среды, наблюдается максимальное содержание внутриклеточного протектора.

Стоит отметить, что потенциал накопления трегалозы дрожжами *Saccharomyces cerevisiae boulardii* ВКПМ Y-3925 больше, чем в клетках хлебопекарных *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1037. Анализ данных по количеству живых клеток исследуемых штаммов при разных температурах, свидетельствует о том, что при 40–45 °С культуры снижают свою жизнедеятельность.

При промышленном культивировании использование таких температур, может пагубно сказаться на качестве инокулята.

Для дальнейших исследований, с целью направленного синтеза трегалозы в клетке, в качестве источника сахарозы – используется подготовленная питательная среда меласса. Для сохранения физиологической активности принято, не повышать температуру культивирования выше 37–38 °С.

Основываясь на полученных результатах, помимо увеличения температуры и подбора пит среды, необходимо определить время изменения температурных параметров, с целью увеличения экономического коэффициента производства, чтобы стрессовая для клетки температура не являлась подавляющим фактором на всех стадиях культивирования.

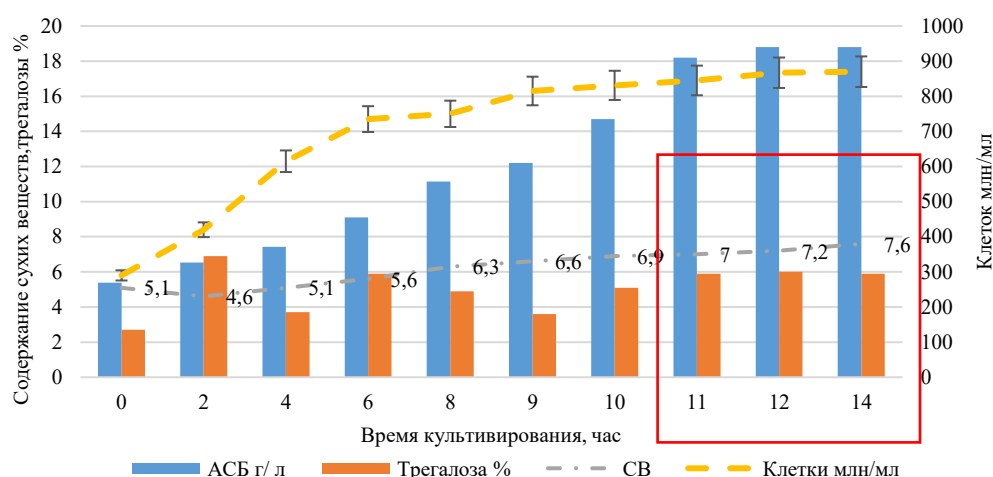


Рисунок 7. Содержание трегалозы при культивировании в ферментере *Saccharomyces cerevisiae boulardii* ВКПМ Y-3925
Figure 7. Trehalose content when cultured in *Saccharomyces cerevisiae boulardii* VKPM Y 3925 fermenter

Модельная ферментация с притоком питательной среды на ферментере, отражает кинетические параметры роста культуры, засев инокулята 0,025 % АСБ, температура культивирования 30–32 °С. На рисунке отражено содержание трегалозы в клетке на час культивирования, количество клеток выражено в абсолютно сухой биомассе и концентрации млн/мл, дополнительно отслеживалось содержание растворенной сахарозы в среде. Из рисунка следует, что минимальное содержание трегалозы в культуре приходится на стадию адаптации штамма, стационарная стадия наступает на 12–14 час культивирования, это отражает количественное содержание клеток и рост содержания растворенной сахарозы в среде, на момент культивирования. Стоит отметить, что содержание трегалозы также не изменяется на 12–14 час.

Для направленного накопления трегалозы в клетке, последующие запуски ферментера проводили в аналогичном режиме, но по наступлению 12-го часа культивирования отключали приток питательных веществ и поднимали температуру до 37–39 °С. На рисунке 8 представлено содержание трегалозы после изменения параметров культивирования.

Для оценки ростовой способности культур и анализа накопления трегалозы, производили культивирование штаммов *Saccharomyces cerevisiae boulardii* ВКПМ Y-3925, *Saccharomyces cerevisiae boulardii* Энтерол и *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1037, при аналогичном режиме. Содержание трегалозы %, с изменением параметров трех штаммов представлено на рисунке 9.

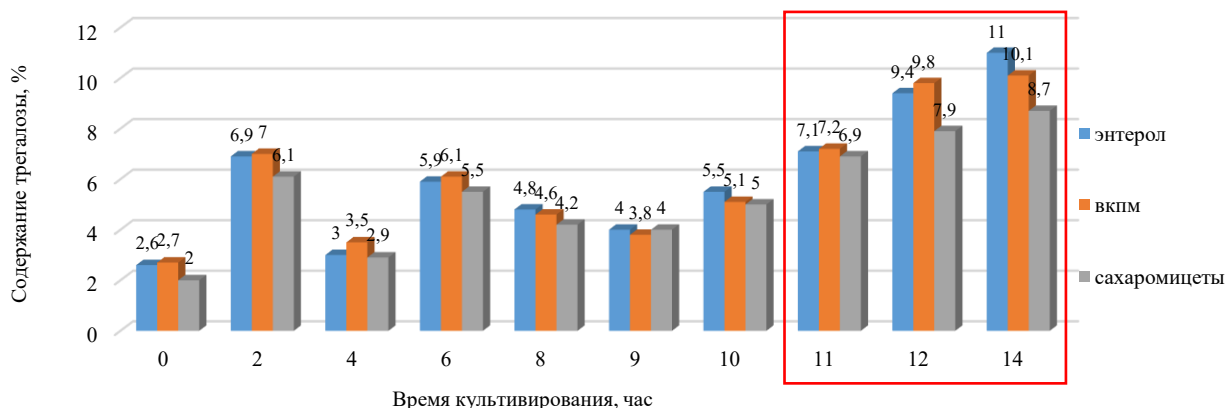


Рисунок 8. Накопление трегалозы с изменением параметров

Figure 8. Trehalose accumulation with changing parameters

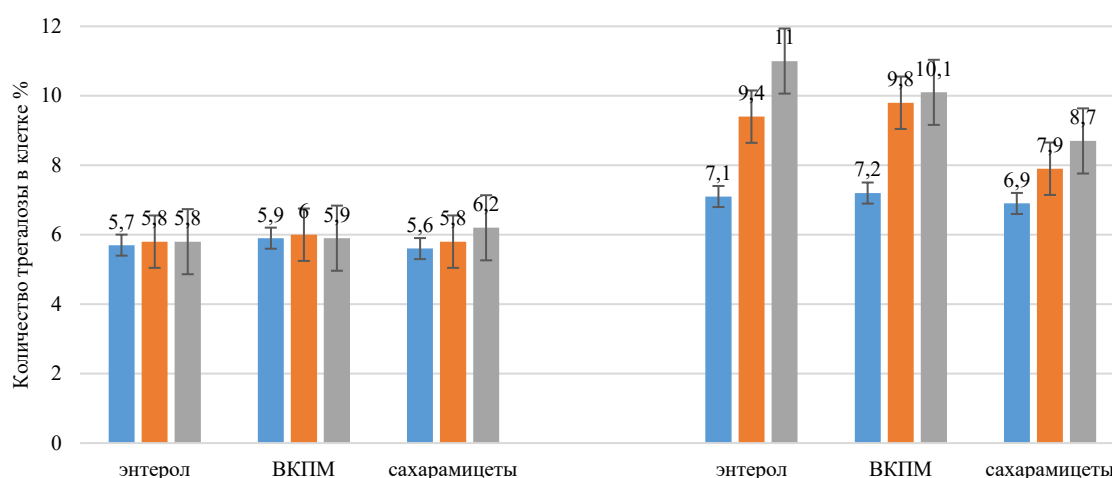


Рисунок 9. Накопление трегалозы с изменением параметров

Figure 9. Trehalose accumulation with changing parameters

Заключение

Температура культивирования и концентрация сахара в среде действительно оказывают значительное влияние на накопление трегалозы в пробиотических дрожжах. Высокие концентрации сахара в питательной среде ингибируют синтез трегалозы из-за катаболитной репрессии (дрожжи предпочитают использовать сахар для роста, а не для накопления запасных веществ). Умеренные концентрации сахара до 2–5 % могут способствовать накоплению трегалозы, особенно в условиях углеводного голодания – когда сахар почти исчерпан. Осмотический стресс, вызванный высокими концентрациями сахара, 15–20 %, по данным научных исследований, может стимулировать синтез трегалозы как совместимого растворенного вещества, защищающего клетки от обезвоживания. Существуют данные, что косвенную роль на накопление трегалозы в пробиотических дрожжах играют дополнительные факторы: ограничение азота в питательной среде, аэрация, pH (слабокислые условия ~5.0–6.0).

Результаты исследования показывают, что повышение температуры и отключение притока питательных веществ во время культивирования в простой периодической культуре на момент выхода в стационарную стадию роста, повышает процент трегалозы. Соответственно вместе с трегалозой вырастает уровень жизнеспособности микроорганизма. Следовательно изменение параметров культивирования на этапе перехода фаз роста клетки позволяет сохранить объём накопленной биомассы и повысить ее выживаемость при последующих технологических этапах производства.

Для максимального накопления трегалозы в пробиотических дрожжах, при производственном культивировании необходимо, повысить температуру культивирования до 39–40 °C на двенадцатый час производства биомассы, а также создать дефицит питательных веществ для клетки. Корректировка параметров культивирования позволит получить биомассу с высокой концентрацией трегалозы, соответственно с большим потенциалом к выживаемости после сушки и замораживания.

Литература

- 1 U.S. Food and Drug Administration: официальный сайт. URL: <https://www.fda.gov> (дата обращения: 20.03.2025)
- 2 Ranjha M.M.A.N., Shafique B., Batool M. et al. Nutritional and health potential of probiotics: a review // *Applied Sciences*. 2021. Vol. 11. № 23. 11204. doi: 10.3390/app112311204
- 3 McFarland L.V., Li T. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 for the treatment of pediatric acute diarrhea in China: a systematic review and meta-analysis // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2025. Vol. 15. 1587792. doi: 10.3389/fcimb.2025.1587792
- 4 Liao W., Chen C., Wen T. et al. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in adults: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials // *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2021. Vol. 55. № 6. P. 469-480. doi: 10.1097/MCG.0000000000001464
- 5 Mourey F., Sureja V., Kheni D. et al. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in infants and children with acute diarrhea // *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2020. Vol. 39. № 11. P. e347-e351. doi: 10.1097/INF.0000000000002849
- 6 Bader M.S., Hawboldt J., Main C. et al. Review of high dose vancomycin in the treatment of *Clostridioides difficile* infection // *Infectious Diseases*. 2020. Vol. 52. № 12. P. 847-857. doi: 10.1080/23744235.2020.1800080
- 7 Tariq R., Tahir M.W., Hayat M. et al. Systematic review and meta-analysis: safety and efficacy of *Saccharomyces boulardii* for prevention of *Clostridioides difficile* infection // *Journal of Gastrointestinal Infections*. 2022. Vol. 12. № 2. P. 94-100. doi: 10.1055/s-0043-1760738
- 8 Sirsat G.M., Saraf R. Beneficial Effect of Probiotic *Saccharomyces Boulardii* in Management of Acute Diarrhoea of Children-A Randomized Controlled Trial // *Research Journal of Medical Sciences*. 2024. Vol. 18. P. 500-504. doi: 10.36478/makrjms.2024.11.500.504
- 9 Ting T.Y., Lee W.J., Goh H.H. Molecular Genetics and Probiotic Mechanisms of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* // *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2025. P. 1-15. doi: 10.1007/s12602-025-10634-y
- 10 Duffey H.E., Watson A.K., McCann S.M. et al. Genomic and phenotypic comparison of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii* // *bioRxiv*. 2025. 2025.09.08.674931. doi: 10.1101/2025.09.08.674931
- 11 Samakkarn W., Vandecruys P., Moreno M.R.F. et al. New biomarkers underlying acetic acid tolerance in the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2024. Vol. 108. № 1. 153. doi: 10.1007/s00253-023-12946-x
- 12 Gopalan S., Al-Sinawi B., Al-Mogbali Z. et al. Unique properties of yeast probiotic *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745: A narrative review // *Cureus*. 2023. Vol. 15. № 10. e46314. doi: 10.7759/cureus.46314
- 13 Hudson L.E., McDermott C.D., Stewart T.P. et al. Characterization of the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* in the healthy mucosal immune system // *PLoS One*. 2016. Vol. 11. № 4. e0153351. doi: 10.1371/journal.pone.0153351
- 14 Rajkowska K., Kunicka-Styczynska A. Probiotic activity of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* against human pathogens // *Food Technology and Biotechnology*. 2012. Vol. 50. № 2. P. 230-236.
- 15 Rajkowska K., Kunicka-Styczynska A. Probiotic properties of yeasts isolated from chicken feces and kefir // *Polish Journal of Microbiology*. 2010. Vol. 59. № 4. P. 257-263. doi: 10.33073/pjm-2010-039
- 16 Suvana S., Dsouza J., Ragavan M.L. et al. Potential probiotic characterization and effect of encapsulation of probiotic yeast strains on survival in simulated gastrointestinal tract condition // *Food Science and Biotechnology*. 2018. Vol. 27. № 3. P. 745-753. doi: 10.1007/s10068-018-0310-8
- 17 Gut A.M., Vasiljevic T., Yeager T. et al. Salmonella infection-prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: a review // *Microbiology*. 2018. Vol. 164. № 11. P. 1327-1344. doi: 10.1099/mic.0.000709
- 18 Fakrudin M., Hossain M.N., Ahmed M.M. Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017. Vol. 17. 64. doi: 10.1186/s12906-017-1591-9
- 19 Banik A., Mondal J., Rakshit S. et al. Amelioration of cold-induced gastric injury by a yeast probiotic isolated from traditional fermented foods // *Journal of Functional Foods*. 2019. Vol. 59. P. 164-173. doi: 10.1016/j.jff.2019.05.039
- 20 Hsu S.A., Chou J.Y. Yeasts in fermented food and kefir: in vitro characterization of probiotic traits // *Journal of Animal & Plant Sciences*. 2021. Vol. 31. № 2. P. 461-470. doi: 10.36899/JAPS.2021.2.0245
- 21 Sanders M.E., Merenstein D., Merrifield C.A. et al. Probiotics for human use // *Nutrition Bulletin*. 2018. Vol. 43. № 3. P. 212-225. doi: 10.1111/nbu.12334
- 22 World Health Organization. Evaluation of certain contaminants in food: ninety-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO, 2023. 125 p.
- 23 Aghamohammad S., Hafezi A., Rohani M. Probiotics as functional foods: How probiotics can alleviate the symptoms of neurological disabilities // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023. Vol. 163. 114816. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114816
- 24 Martín R., Olivares M., Marín M.L. et al. Probiotic potential of 3 lactobacilli strains isolated from breast milk // *Journal of Human Lactation*. 2005. Vol. 21. № 1. P. 8-17. doi: 10.1177/0890334404272393
- 25 Trevelyan W.E., Harrison J.S. Studies on yeast metabolism. I. Fractionation and microdetermination of cell carbohydrates // *Biochemical Journal*. 1952. Vol. 50. № 3. P. 298-303. doi: 10.1042/bj0500298
- 26 Ferreira J.C., Neves M.J., Destruhaut A. et al. Comparison of three different methods for trehalose determination in yeast extracts // *Food Chemistry*. 1997. Vol. 60. № 2. P. 251-254. doi: 10.1016/S0308-8146(96)00337-5
- 27 Меледина Т.В., Иванова В.А., Федоров А.В. Аппаратурно-методическая база экспериментов в области пищевой биотехнологии продуктов из растительного сырья. М.: Издательство ВГУИТ, 2022. 156 с.
- 28 Пат. 2528872 Российская Федерация, МПК C12N 1/18, C12N 1/16. Способ культивирования хлебопекарных дрожжей / Чечина О.Н., Мартынов К.А., Сокол О.В. и др.; заявитель ФГБОУ ВО «ВГУИТ». № 2012138881; заявл. 10.09.2012; опубл. 27.04.2014, Бюл. № 12.

References

- 1 U.S. Food and Drug Administration: official website. URL: <https://www.fda.gov> (in Russian)
- 2 Ranjha M.M.A.N., Shafique B., Batool M. et al. Nutritional and health potential of probiotics: a review. *Applied Sciences*. 2021. vol. 11. no. 23. p. 11204. doi:10.3390/app112311204
- 3 McFarland L.V., Li T. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 for the treatment of pediatric acute diarrhea in China: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2025. vol. 15. p. 1587792. doi:10.3389/fcimb.2025.1587792
- 4 Liao W., Chen C., Wen T. et al. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in adults: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2021. vol. 55. no. 6. pp. 469-480. doi:10.1097/MCG.0000000000001464
- 5 Mourey F., Sureja V., Kheni D. et al. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in infants and children with acute diarrhea. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2020. vol. 39. no. 11. pp. e347-e351. doi:10.1097/INF.0000000000002849
- 6 Bader M.S., Hawboldt J., Main C. et al. Review of high dose vancomycin in the treatment of *Clostridioides difficile* infection. *Infectious Diseases*. 2020. vol. 52. no. 12. pp. 847-857. doi:10.1080/23744235.2020.1800080
- 7 Tariq R., Tahir M.W., Hayat M. et al. Systematic review and meta-analysis: safety and efficacy of *Saccharomyces boulardii* for prevention of *Clostridioides difficile* infection. *Journal of Gastrointestinal Infections*. 2022. vol. 12. no. 2. pp. 94-100. doi:10.1055/s-0043-1760738
- 8 Sirsat G.M., Saraf R. Beneficial Effect of Probiotic *Saccharomyces Boulardii* in Management of Acute Diarrhoea of Children-A Randomized Controlled Trial. *Research Journal of Medical Sciences*. 2024. vol. 18. pp. 500-504. doi:10.36478/makrjms.2024.11.500.504
- 9 Ting T.Y., Lee W.J., Goh H.H. Molecular Genetics and Probiotic Mechanisms of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2025. pp. 1-15. doi:10.1007/s12602-025-10634-y
- 10 Duffey H.E., Watson A.K., McCann S.M. et al. Genomic and phenotypic comparison of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. *bioRxiv*. 2025. p. 2025.09.08.674931. doi:10.1101/2025.09.08.674931
- 11 Samakkarn W., Vandecruys P., Moreno M.R.F. et al. New biomarkers underlying acetic acid tolerance in the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2024. vol. 108. no. 1. p. 153. doi:10.1007/s00253-023-12946-x
- 12 Gopalan S., Al-Sinawi B., Al-Moqbali Z. et al. Unique properties of yeast probiotic *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745: A narrative review. *Cureus*. 2023. vol. 15. no. 10. p. e46314. doi:10.7759/cureus.46314
- 13 Hudson L.E., McDermott C.D., Stewart T.P. et al. Characterization of the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* in the healthy mucosal immune system. *PLoS One*. 2016. vol. 11. no. 4. p. e0153351. doi:10.1371/journal.pone.0153351
- 14 Rajkowska K., Kunicka-Styczynska A. Probiotic activity of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* against human pathogens. *Food Technology and Biotechnology*. 2012. vol. 50. no. 2. pp. 230-236. doi:10.17113/ftb.50.02.12.2693
- 15 Rajkowska K., Kunicka-Styczynska A. Probiotic properties of yeasts isolated from chicken feces and kefir. *Polish Journal of Microbiology*. 2010. vol. 59. no. 4. pp. 257-263. doi:10.33073/pjm-2010-039
- 16 Suvama S., Dsouza J., Ragavan M.L. et al. Potential probiotic characterization and effect of encapsulation of probiotic yeast strains on survival in simulated gastrointestinal tract condition. *Food Science and Biotechnology*. 2018. vol. 27. no. 3. pp. 745-753. doi:10.1007/s10068-018-0310-8
- 17 Gut A.M., Vasiljevic T., Yeager T. et al. *Salmonella* infection-prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: a review. *Microbiology*. 2018. vol. 164. no. 11. pp. 1327-1344. doi:10.1099/mic.0.000709
- 18 Fakrudin M., Hossain M.N., Ahmed M.M. Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017. vol. 17. p. 64. doi:10.1186/s12906-017-1591-9
- 19 Banik A., Mondal J., Rakshit S. et al. Amelioration of cold-induced gastric injury by a yeast probiotic isolated from traditional fermented foods. *Journal of Functional Foods*. 2019. vol. 59. pp. 164-173. doi:10.1016/j.jff.2019.05.039
- 20 Hsu S.A., Chou J.Y. Yeasts in fermented food and kefir: in vitro characterization of probiotic traits. *Journal of Animal & Plant Sciences*. 2021. vol. 31. no. 2. pp. 461-470. doi:10.36899/JAPS.2021.2.0245
- 21 Sanders M.E., Merenstein D., Merrifield C.A. et al. Probiotics for human use. *Nutrition Bulletin*. 2018. vol. 43. no. 3. pp. 212-225. doi:10.1111/nbu.12334
- 22 World Health Organization. Evaluation of certain contaminants in food: ninety-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO, 2023. 125 p.
- 23 Aghamohammad S., Hafezi A., Rohani M. Probiotics as functional foods: How probiotics can alleviate the symptoms of neurological disabilities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023. vol. 163. p. 114816. doi:10.1016/j.biopha.2023.114816
- 24 Martín R., Olivares M., Marín M.L. et al. Probiotic potential of 3 lactobacilli strains isolated from breast milk. *Journal of Human Lactation*. 2005. vol. 21. no. 1. pp. 8-17. doi:10.1177/0890334404272393
- 25 Trevelyan W.E., Harrison J.S. Studies on yeast metabolism. I. Fractionation and microdetermination of cell carbohydrates. *Biochemical Journal*. 1952. vol. 50. no. 3. pp. 298-303. doi:10.1042/bj0500298
- 26 Ferreira J.C., Neves M.J., Destruhaut A. et al. Comparison of three different methods for trehalose determination in yeast extracts. *Food Chemistry*. 1997. vol. 60. no. 2. pp. 251-254. doi:10.1016/S0308-8146(96)00337-5
- 27 Meledina T.V., Ivanova V.A., Fedorov A.V. Apparatus and methodological base of experiments in the field of food biotechnology of products from plant raw materials. Moscow: Publishing House VGUI, 2022. 156 p. (in Russian)
- 28 Chechina O.N., Martynov K.A., Sokol O.V. et al. Patent RU 2528872. Method for cultivating baker's yeast. 2014. (in Russian)

Сведения об авторах

Анастасия С. Андреева доцент, факультет биотехнологий, Университет ИТМО, ул. Ломоносова 9, г. Санкт-Петербург, aandreeva@itmo.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-6179-2265>

Татьяна В. Меледина д.т.н., профессор, факультет биотехнологий, Университет ИТМО, ул. Ломоносова 9, г. Санкт-Петербург, 191002, Россия, meledinata@ya.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-7485-2802>

Инна В. Новикова д.т.н., профессор, заведующий кафедрой технологии бродильных и сахаристых производств, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, noviv@list.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-2360-5892>

Алексей А. Федоров к.т.н., заведующий лабораторией, факультет биотехнологий, Университет ИТМО, ул. Ломоносова 9, г. Санкт-Петербург, 191002, Россия, aafedorov@itmo.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-3860-7708>

Олеся С. Веселова бакалавр, факультет биотехнологий, Университет ИТМО, ул. Ломоносова 9, г. Санкт-Петербург, 191002, Россия, ole-saveselova3308@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0007-6397-8339>

Виктор О. Фаустов аспирант, факультет биотехнологий, Университет ИТМО, ул. Ломоносова 9, г. Санкт-Петербург, 191002, Россия, faustoff94@ya.ru

 <https://orcid.org/0009-0009-5998-5565>

Вклад авторов

Анастасия С. Андреева обзор литературных источников по исследуемой проблеме, провел эксперимент, выполнил расчёты
Татьяна В. Меледина предложил методику проведения эксперимента и организовал производственные испытания

Инна В. Новикова консультация в ходе исследования

Алексей А. Федоров написал рукопись, корректировал её до подачи в редакцию и несёт ответственность за плагиат

Олеся С. Веселова обзор литературных источников по исследуемой проблеме, провел эксперимент, выполнил расчёты

Виктор О. Фаустов написал рукопись, корректировал её до подачи в редакцию и несёт ответственность за плагиат

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about authors

Anastasia S. Andreeva associate professor, biotechnology faculty, ITMO University, 9 Lomonosova str., Saint Petersburg, 191002, Russia, aandreeva@itmo.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-6179-2265>

Tatiana V. Meledina Dr. Sci. (Engin.), professor, biotechnology faculty, ITMO University, 9 Lomonosova str., Saint Petersburg, 191002, Russia, meledinata@ya.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-7485-2802>

Inna V. Novikova Dr. Sci. (Engin.), professor, head of department, technologies for fermentation and sugar production department, Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, noviv@list.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-2360-5892>

Alexey A. Fedorov Cand. Sci. (Engin.), head of the laboratory, biotechnology faculty, ITMO University, 9 Lomonosova str., Saint Petersburg, 191002, Russia, aafedorov@itmo.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-3860-7708>

Olesya S. Veselova bachelor, biotechnology faculty, ITMO University, 9 Lomonosova str., Saint Petersburg, 191002, Russia, ole-saveselova3308@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0007-6397-8339>

Victor O. Faustof graduate student, biotechnology faculty, ITMO University, 9 Lomonosova str., Saint Petersburg, 191002, Russia, faustoff94@ya.ru

 <https://orcid.org/0009-0009-5998-5565>

Contribution

Anastasia S. Andreeva review of the literature on an investigated problem, conducted an experiment, performed computations

Tatiana V. Meledina proposed a scheme of the experiment and organized production trials

Inna V. Novikova consultation during the study

Alexey A. Fedorov wrote the manuscript, correct it before filing in editing and is responsible for plagiarism

Olesya S. Veselova review of the literature on an investigated problem, conducted an experiment, performed computations

Victor O. Faustof wrote the manuscript, correct it before filing in editing and is responsible for plagiarism

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила 12/05/2025	После редакции 26/05/2025	Принята в печать 02/06/2025
Received 12/05/2025	Accepted in revised 26/05/2025	Accepted 02/06/2025