

DOI: 10.31319/2519-2884.43.2023.21

УДК 574.24:579:.64:632.4

**Корнієнко І.М.**<sup>1</sup>, к.т.н., доцент, ORCID: 0000-0002-3872-0957,  
e-mail: irina.kornienko.1979@gmail.com

**Гуляєв В.М.**<sup>2</sup>, д.т.н., професор, ORCID: 0000-0002-4991-6250, e-mail: vgulyaev@dnepro.net

**Кравець В.В.**<sup>1</sup>, здобувач першого (бакалаврського рівня), e-mail: 5663373@stud.nau.edu.ua

**Гаркава К.Г.**<sup>1</sup>, д.б.н., ORCID: 0000-0003-0874-8315, e-mail: kateryna.harkava@npp.nau.edu.ua

**Анацький А.С.**<sup>2</sup>, к.т.н., доцент, ORCID: 0000-0001-5689-7660, e-mail: asanatsky@ukr.net

**Філімоненко О.Ю.**<sup>2</sup>, старший викладач, ORCID: 0000-0001-9343-960X,  
e-mail: olga.filimonenko82@gmail.com

**Коваленко А.Л.**<sup>2</sup>, к.т.н., доцент, ORCID: 0000-0003-1496-6634,  
e-mail: alla.kovalenko.1948@gmail.com

**Корнієнко Ю.М.**<sup>2</sup>, здобувач другого (магістерського) рівня, e-mail: kornijenko0327@gmail.com

<sup>1</sup>Національний авіаційний університет, м. Київ

<sup>2</sup>Дніпровський державний технічний університет, м. Кам'янське

**Korniienko Iryna**, PhD in Engineering Sciences, Associate Professor of Biotechnology Department

**Gulyaev Vitalii**, Doctor of engineering sciences, Professor of the Department of Chemical and Biological Technologies, rector

**Kravets Valeriia**, undergraduate student

**Harkava Katerina**, Doctor of biological sciences, Professor of Biotechnology Department

**Anatskyi Andrii**, Candidate of engineering sciences, Associate Professor of the Department of Chemical and Biological Technologies

**Filimonenko Olga**, Senior lecturer of the Department of Chemical and Biological Technologies

**Kovalenko Alla**, Candidate of chemical sciences, Associate Professor of the Department of Chemical and Biological Technologies

**Korniienko Yurii**, master's degree in «Biotechnologies and Bioengineering»

<sup>1</sup>National Aviation University, Kyiv

<sup>2</sup>Dniprovsky State Technical University, Kamianske

## ВПЛИВ НУТРИЄНТІВ ТА ПРЕБІОТИКУ ЛАКТУЛОЗИ НА ПЕРЕБІГ БРОДИЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ В ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО ПРОДУКТУ ХАРЧУВАННЯ З ПІДВИЩЕНИМ ТИТРОМ ЖИТТЄЗДАТНИХ КЛІТИН МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ

*Досліджено вплив нутрієнтів (жирозчинних вітамінів омега-3 жирних кислот та вітаміну D, також, водорозчинного вітаміну C), пребіотику лактулози на якість ферментованого продукту харчування, який оцінено за фізико-хімічними та мікробіологічними показниками: концентрація водневих іонів, окисно-відновлювальний потенціал, титрована кислотність дослідних зразків (I—10) із визначенням концентрації молочної кислоти, а також, титр життєздатних клітин молочнокислих бактерій задля подальшого використання отриманих результатів досліджень в біотехнології виробництва функціональних продуктів харчування зі скороченим часом ферментації та високої біологічної цінності.*

*Експериментами доведено доцільність використання нутрієнтів та лактулози, що підтверджено збільшенням титру МКБ, як на початку ферментації, так і протягом тривалого часу зберігання продукту (протягом 288 годин в умовах холодильника) не нижче ніж  $1,2 \times 10^8$  кл/мл.*

*Ключові слова:* пребіотик лактулоза; молочнокислі бактерії; вітаміни; титр клітин; редокс-потенціал, окисний стрес.

*The influence of nutrients (fat-soluble vitamins, omega-3 fatty acids and vitamin D, as well as water-soluble vitamin C), prebiotic lactulose on the quality of the fermented food product, which was evaluated by physico-chemical and microbiological parameters, was studied: hydrogen ion concentration, redox potential, titrated the acidity of experimental samples (1—10) with the determination of the concentration of lactic acid, as well as the titer of viable cells of lactic acid bacteria for the further use of the obtained research results in the biotechnology of production of functional food products with reduced fermentation time and high biological value.*

*Experiments proved the expediency of using nutrients and lactulose, which was confirmed by an increase in the titer of MKB, both at the beginning of fermentation and during the long-term storage of the product (within 288 hours in the refrigerator) not lower than  $1.2 \times 10^8$  cells/ml.*

**Key words:** *prebiotic lactulose; lactic acid bacteria; vitamins; cell titer; redox potential; oxidative stress.*

### **Постановка проблеми**

У Європі та США широкого поширення набула концепція функціонального харчування починаючи із 1990-х років, яка активно розвивається до теперішнього часу. І станом на сьогодні — це тренд сучасності в економічно-розвинутих країнах, оскільки кількість таких продуктів на полицях магазинів вже становить 30—35 % від представленого асортименту. Нажаль, в Україні кількість спеціалізованих продуктів обмежена і становить лише 3 %. Європейська комісія з якості харчування оцінює дану категорію спеціалізованих та оздоровчих продуктів харчування, як їжу, котра позитивно впливає на одну або кілька цільових функцій в організмі, і крім необхідних поживних ефектів, сприяє поліпшенню стану здоров'я та зниженню ризику захворювань — серцево-судинних, деяких видів раку, алергій, а також проблем із травною системою людини. Така категорія продуктів повинна бути обов'язковою частиною нормального харчового раціону.

Наукові дослідження, спрямовані на вивчення впливу функціонального харчування на організм людини, а також технології отримання якісних оздоровчих продуктів, вважаються актуальними та потребують подальшого розвитку, оскільки такі продукти містять біологічно-активні речовини (нутрієнти) та корисні пробіотичні мікроорганізми (молочнокислі бактерії), вплив яких на здоров'я людини є доведеним та обґрунтованим з наукової точки зору. Аналізуючи проблематичні питання в харчовій біотехнології, наразі необхідним є проведення наукових досліджень, спрямованих на виявлення залежностей впливу нутрієнтів (жиророзчинних вітамінів омега-3 жирних кислот та вітаміну D, а також водорозчинного вітаміну C) на перебіг ферментаційних процесів в технології отримання функціональних продуктів харчування, за участю бродильних агентів — пробіотичних культур молочнокислих бактерій.

### **Аналіз останніх досліджень та публікацій**

У Японії, яка є країною, котра першою серед економічно-розвинутих країн, започаткувала термін «функціональні продукти харчування» (ФПХ), створено спеціальну систему регулювання, яка спрямована на інформування громадськості про медичні дослідження щодо конкретних продуктів харчування. ФПХ віднесено до спеціалізованої категорії продуктів, які офіційно визнані законодавством країни, котрі повинні задовільняти трьом вимогам:

- доведена ефективність у клінічних випробуваннях;
- безпека у клінічних та неклінічних дослідженнях;
- представлений перелік біологічно-активних компонентів та біоагентів [1—4].

За даними японського міністерства охорони здоров'я, праці та соціального забезпечення, ФПХ повинні володіти наступними ознаками [5—10]:

1) заповнення дефіциту білка в раціонах харчування та окремих незамінних амінокислот, ліпідів, жирних кислот, вуглеводів та вітамінів, макро- та мікроелементів та інших біоактивних сполук;

2) регулювання калорійності раціону, що впливає на апетит та масу тіла;

3) підвищення імунітету організму до різних інфекцій, зниження ризику розвитку захворювань та порушення обміну речовин;

4) підтримання фізіологічного гомеостазу та нормальних функцій організму;

5) зв'язування та виведення чужорідних речовин, токсинів та алергенів;

б) підтримання природного складу та функціональної активності мікрофлори кишечника, особливо, молочнокислих бактерій (МКБ).

Основними (фізико-хімічними, мікробіологічними) показниками контролю процесу ферментації (за участю МКБ) в технології виробництва ФПХ, можна вважати: окисно-відновлювальний потенціал (редокс-потенціал), температура, кислотність, рН, кількість молочної кислоти, органолептичні показники якості готового продукту та титр життєздатних клітин МКБ.

На інтенсивність розмноження та кількість життєздатних клітин МКБ у ФПХ може впливати багато факторів, які змінюють стан поживного середовища, включаючи окисно-відновлювальний потенціал (Eh). Eh розчину відповідає загальному потоку електронів у системі поживного середовища. Електрохімічне вимірювання Eh не є новим, але воно привернуло чимало уваги, як контрольний параметр у процесах бродіння через чутливість МКБ щодо його зміни. Враховуючи це, Eh рекомендовано визначати в технологічних процесах виробництва ФПХ, оскільки в поживному середовищі, через присутність кисню, який володіє інгібуючою дією на МКБ, відбувається зниження якості ФПП через окислювальний стрес. Дійсно, кисень змінює здатність до росту мікроорганізмів і утворення кінцевих продуктів, і тому може брати участь у зміні якості ферментованих продуктів. Якість ферментованих продуктів, запропоновано досліджувати на предмет зміни Eh, яка впливає на оздоровчі властивості ФПХ [11].

Авторами досліджено процеси окислення в молоці в технології отримання йогуртів, які можуть призвести до різких присмаків і зниження його поживних властивостей. Отже, окислювальна стійкість молока та молочних продуктів має велике значення, особливо з огляду на термін їх зберігання [12].

В роботі [13] доведено, що антиоксидантна активність зумовлена природними антиоксидантами, присутніми в молоці. Ферментоване молоко, так як і йогурт, містять біоактивні пептиди, що утворюються шляхом гідролізу молочних білків у процесі бродіння, а також наділені антиоксидантною активністю [14]. Проте, все ще недостатньо знань про антиоксидантну здатність молочних продуктів, таких як пробіотичні йогурти, що містять різні види домішок, наприклад, фруктів. У цьому випадку антиоксидантна сила значною мірою залежить від наявності доданого фруктового пюре, що містить різні нутрієнти, такі як жиророзчинні вітаміни — токоферолі, каротиноїди, водорозчинні — аскорбат, і особливо фенольні сполуки, які вважаються прекрасним доповненням до загальної антиоксидантної здатності ФПХ [15].

Хоча МКБ зазвичай є мікроаерофілами, у яких відсутній функціональний дихальний ланцюг і каталази, деякі види є аеротолерантними. Незважаючи на це, МКБ чутливі до аеробних умов в технології виробництва ФПХ та в організмі господаря. Метаболізм  $O_2$  за допомогою МКБ, також, може призводити до виробництва активних форм кисню (АФК), а деякі штами можуть продукувати значні кількості  $H_2O_2$ . Вони також можуть піддаватися безпосередньому впливу АФК, наприклад, під час окислювального вибуху в клітинах імунної системи. Окислювальний стрес впливає на окисно-відновний потенціал клітини, впливаючи на багато ферментативних реакцій. АФК є високореакційноздатними фрагментами, які можуть пошкоджувати всі основні макромолекули клітини, включаючи білки, ДНК і ліпіди. МКБ володіють низкою механізмів детоксикації АФК. Тим не менш, було показано, що деякі МКБ зазнають дихання, якщо гем і/або менахінони надходять екзогенно. Наслідки дихання в МКБ все ще є предметом дослідження, але це, очевидно, додатковий захист від окисного стресу.

Для підтримки високого титру життєздатних МКБ у складі ФПХ, необхідно надалі вивчати фактори стресу, які виникають в умовах перебування МКБ. До таких факторів віднесено підвищення або пониження температури. Перепади температури, ймовірно, є найпоширенішим стресом, з яким стикаються бактерії та інші організми в природному світі, тому встановлення оптимальної температури культивування із подальшим контролем цього показника — є дуже важливим процесом. Живі клітини з усіх царств реагують на раптове підвищення температури швидкими змінами в експресії генів, що призводить до підвищення рівня набору білків, званих білками теплового шоку (HSP). За звичайних умов HSP допомагають у згортанні, складанні, транспортуванні та деградації білків, а під час стресу ці функції стають особливо важливими. Реак-

ція на тепловий шок є однією з найкраще охарактеризованих фізіологічних реакцій клітини. Первинна структура більшості HSP, здається, дуже консервативною під час еволюції, що вказує на те, що функція HSP збереглася серед різноманітних організмів. Таким чином, не дивно, що двома найпоширенішими класами HSP є молекулярні шаперони та енергозалежні протеази.

Незважаючи на збереження HSP у різних бактеріях, реакція на тепловий шок ілюструє дивовижну різноманітність регуляції бактеріальних генів, і останні дослідження виявили різноманітність механізмів регуляції експресії гена HSP у різноманітних бактеріях. У бактерій регуляція експресії генів відбувається головним чином у відповідь на зміни середовища та на рівні транскрипції. Основні HSP, які включають класичні шаперони DnaK, GroEL і GroES, а також сімейство білків Clp, відіграють незамінну роль у контролі якості білка як у стресових, так і в нестресових бактеріях. Багато HSP експресуються у значних кількостях у клітинах, що зберігаються в нормальних умовах росту, і є важливими для клітинного росту при всіх фізіологічно відповідних температурах. Білки DnaK і GroEL, наприклад, беруть участь у згортанні білка, транслокації білка і, можливо, збиранні білка вищого порядку. Холодовий стрес призводить до індукції набору білків, які називаються білками холодового шоку (CSP). Усі CSP належать до однієї родини близькоспоріднених низькомолекулярних білків. Вони можуть зв'язуватися з одноланцюговими нуклеїновими кислотами та розщеплювати вторинні структури, що утворюються при низьких температурах. Таким чином, вважається, що CSP підтримують транскрипцію та трансляцію під холодним стресом. Низькі температури вище нуля можуть призвести до зупинки росту МКБ, але такі умови не спровокують раптову загибель клітин. Фактично, багато МКБ можна зберігати при низьких температурах ( $>0^{\circ}\text{C}$ ) протягом кількох днів.

Голодування, як характерний стрес для вільноживучих мікроорганізмів, було певною мірою вивчено в МКБ, хоча вони проживають у високопоживних середовищах, у яких виснаження поживної речовини рідко стає обмежуючим фактором для росту. Загально визнано, що голодування може бути викликано опосередковано в МКБ, як побічний ефект іншого стресу. Типовим прикладом є голодування, спричинене автоокисленням молочної кислоти через вплив низького рН на дію транспортерів у цитоплазматичній мембрані та, як наслідок, припинення поглинання поживних речовин. Цукрове голодування є важливим з технологічної точки зору, оскільки за цих умов, пов'язані з їжею МКБ, починають катаболізувати амінокислоти, як альтернативне джерело вуглецю/енергії, що призводить до виробництва ароматичних сполук, тому використання пребіотику — лактулози дозволить уникнути стресового стану, який пов'язаний із нестачею субстрату під час тривалого зберігання ФПХ. Крім згаданих вище стресових умов, які стосуються більшості МКБ, існують стреси, з якими може зіткнутися виключно обмежена кількість видів. Під час підкислення поживного середовища, МКБ можуть спричиняти солюбілізацію металів, що може бути токсичним залежно від їх концентрації. Крім того, існують стреси, які не були досліджені в МКБ так ретельно, як в інших бактеріях (наприклад, пошкодження ДНК), і стреси, які не вважалися фізіологічно значущими для способу життя МКБ (наприклад, гіпоосмотичний або лужний стрес) [16—19].

Використання лактулози у якості спеціального субстрату є актуальним для технології отримання функціональних продуктів харчування, особливо з метою уникнення голодового стресу у МКБ, який може призвести до зниження кількості їх у складі ФПХ, що значно знизить їх біологічну цінність. В роботі [18] досліджували вплив пребіотиків — інуліну та лактулози на виживання *Lactobacillus acidophilus* LA-5 та *Bifidobacterium bifidum* BB-02 в йогурті *Acidophilus-Bifidus*. Зразки пробіотичних йогуртів з добавками мали значно вищий рівень рН (4,64—4,67) порівняно з контрольним зразком (4,42) на початку зберігання, проте рН знизився до 4,03 для контрольного зразка і до 4,27—4,42 для інших зразків після 14 днів зберігання. Вміст молочної кислоти не зазнав великих змін після додавання лактулози та/або інуліну.

Кількість *L. acidophilus* LA-5 у зразках випробування без додавання пребіотиків досягла  $6,3 \times 10^8$  та  $2,2 \times 10^8$  КУО/г у дні 0 і 14 відповідно. У зразках досліду із вмістом 0,5 % інуліну і 1,0% інуліну кількість МКБ становила  $7,0 \times 10^8$ — $3,5 \times 10^8$  і  $8,8 \times 10^8$ — $4,2 \times 10^8$  КУО/г. А у зразках йогурту з додаванням лактулози кількість *L. acidophilus* LA-5 була значно вищою, ніж у зразках, що містять інулін. Також встановлено, що концентрація лактулози є параметром, який суттєво ( $p < 0,05$ ) впливає на ріст цього виду МКБ. У день 0 кількість *L. acidophilus* LA-5 у зра-

зках з додаванням 0,25 % лактулози і з додаванням 2,5 % лактулози становила  $7,0 \times 10^9$  і  $1,1 \times 10^{10}$  КУО/г відповідно. Ці цифри, однак, зменшилися відповідно до  $3,2 \times 10^8$  та  $6,9 \times 10^8$  КУО/г після 14 днів зберігання.

На перший день додавання інуліну, і лактулози відбувалося значне збільшення ( $p < 0,05$ ) кількості клітин *B. bifidum* ВВ-02. *B. bifidum* ВВ-02 показав 4,6—7,5-кратне збільшення кількості для зразків з додаванням інуліну на рівнях 0,5 % і 1,0 % відповідно. Було ще більш вираженим для зразків, до яких додавали лактулозу на рівнях 0,25 % і 2,5 % у 10—14 разів відповідно. Показано, що лактулоза є більш ефективною у стимулюванні росту *B. bifidum* ВВ-02, ніж інулін. Під час зберігання кількість життєздатних клітин *B. bifidum* ВВ-02 у досліджених зразках зменшувалася [20].

Вплив лактулози на *Lactobacillus bifidus*, унікальний домінуючий мікроорганізм у кишковій флорі немовляти на грудному вигодовуванні, вивчався з урахуванням можливого використання цукру в дитячому харчуванні. Петуелі [20] показав, що чиста культура *Lactobacillus bifidus* утворюється у немовлят, а також у дітей старшого віку, коли лактулоза додається в кількості приблизно 1,2 г на 70 кал на добу в раціоні, вміст лактози в якому становить не менше 2,5 разів більше, ніж вміст білка. Без лактулози такого розмноження біфідофлори не відбувалося [21—26].

Вплив дисахариду лактулози, синтезованої з галактози та фруктози, на ріст бактерій був встановлений переважно для біфідобактерій (біфідогенний ефект) [23—25], тоді як для пробіотичних лактобацил ефект лактулози був менш вираженим [26]. Крім того, додавання лактулози не тільки збільшило кількість життєздатних клітин *B. animalis subsp. lactis* і *B. longum*, але також посилив їх сприяння біотрансформації ізофлавонових глікозидів в ізофлавонові аглікони в соєвому молоці [25—27]. Однак, у більш ранніх дослідженнях, ті ж автори виявили подібну дію цього дисахариду на деякі штами лактобацил. Було виявлено, що комерційно доступні продукти (що складаються в основному з інуліну та галактоолігосахаридів відповідно) сильніше стимулюють ріст лактобацил, ніж лактулоза [21]. Однак інше дослідження продемонструвало, що лактулоза мала значно більший вплив на ріст і ферментативні процеси *S. thermophilus* і *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* у виробництві йогуртів, ніж фрукто- та галактоолігосахариди [22], а також у виробництві кисломолочних напоїв [20]. Підтверджено вплив глікозидних зв'язків у галактотрисахаридах, синтезованих із лактулози та лактози, на ріст МКБ родів — *Lactobacillus*, *Streptococcus* і *Bifidobacterium*. На думку авторів, посиленому росту вищеперерахованих представників МКБ, сприяє специфічний моносахаридний, який складається із галактоолігосахаридів, а не тільки додаткові глікозидні зв'язки.

#### Формулювання мети дослідження

Метою роботи є дослідження впливу нутрієнтів (вітамінів D, омега-3 жирних кислот, аскорбінової кислоти), а також, пребіотику лактулози у складі функціонального продукту харчування на інтенсивність протікання бродильних процесів за фізико-хімічними показниками, котрі віднесено до показників окислювального стресу та загальних стресових факторів, що стосуються особливостей культивування МКБ: редокс-потенціал, рН, температура, кислотність, концентрація молочної кислоти. Для повноти оцінки впливу нутрієнтів, проведено контроль за мікробіологічним показником — титр життєздатних клітин МКБ.

#### Виклад основного матеріалу

Досліджено процес ферментації молока чистими культурами МКБ в присутності нутрієнтів, як біологічно-активних речовин, котрі безпосередньо впливають на титр МКБ та підвищують якість ФПХ за рахунок підвищення його біологічної цінності. Для оцінки глибини протікання бродильних процесів за участю МКБ під впливом БАР, було досліджено фізико-хімічні показники, котрі відносяться до показників оцінки стресових факторів щодо умов культивування МКБ. Чисті культури МКБ було внесено шляхом розведення пробіотичного препарату (закваска «VIVO йогурт», виробником якої є Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук України, яка має наступний склад: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*) в молоці. Приготування експериментальних зразків на основі молока: флакон препарату «VIVO йогурт», було розведено в 1 л пастеризованого фермерського молока жирністю 2,6 %, після чого дана суміш

була було розподілена на 10 рівних частин (по 100 мл на 1 флакон) для проведення подальших фізико-хімічних та мікробіологічних досліджень з урахуванням впливу доданих компонентів — пребіотику лактулози у кількості 1, 3, 5 та 7 % відповідно до дослідних зразків 1, 2, 3 та 4, а також нутрієнти — зразки 6, 7, 8, та 9. Дослідні зразки (5—9) із додаванням нутрієнтів містять наступні вітаміни на 1000 мл: № 5 — 90 EPA/ 60 DHA Омега-3, № 6 — 180 EPA/ 120 DHA Омега-3, № 7 — 270 EPA/ 180 DHA Омега-3, № 8 — 50 мкг (2,000 IU) вітаміну D, № 9 — вітамін С у кількості 500 мкг. Експериментальні зразки культивували в термостаті протягом 6 годин при температурі 37 °С. Методика проведення мікробіологічних досліджень полягала у контролі експериментальних зразків (1—10) із додаванням різних нутрієнтів та пребіотику лактулози на предмет встановлення титру МКБ методом десятикратних розведень із використанням електричного рідкого поживного середовища — м'ясопептонний бульйон із додаванням гідролізованого молока з подальшою денситометрією усіх зразків.

Метод вимірювання редокс-потенціалу та активної кислотності дослідних зразків полягає у визначенні рівня іонів водню за допомогою потенціометричних аналізаторів. Для виконання даної роботи був використаний портативний рН/mV/°C-метр H18314. Результати вимірювання виражаються в одиницях рН та mV і дозволяють оцінити активну кислотність та окисно-відновний потенціал зразків йогурту. Кислотність ФПХ визначали титрометричним методом, використовуючи розчин гідроксиду натрію та індикатору фенолфталеїну. Вміст концентрації молочної кислоти визначали шляхом загальноприйнятого перерахунку показників кислотності у зразках 1—10.

Інтенсивність бродильних процесів оцінювали за зміною кислотності в дослідних зразках 1—10, концентрацією водневих іонів (рН) та ОВП протягом процесу ферментації, який тривав 6 годин (заміри проводили кожні 2 години), а також протягом зберігання йогурту в холодних умовах при температурі 4 °С (дослідження проводили на 1,2 та 4,6 та 12 добу зберігання йогурту) (рис. 1, 2).

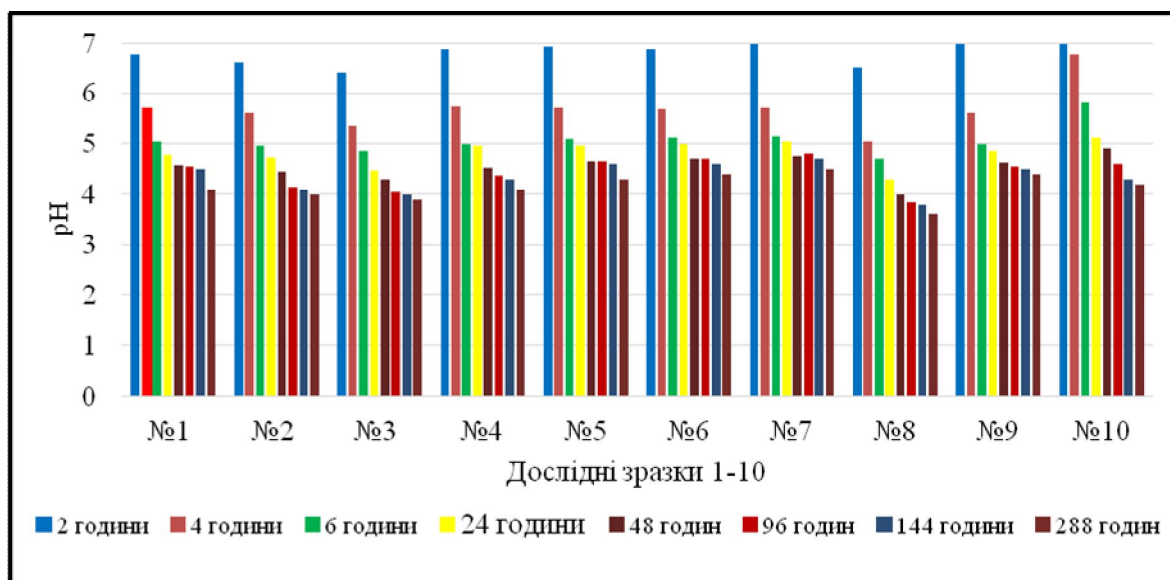


Рис. 1. Динаміка зміни концентрації водневих іонів (рН) в дослідних зразках (1—10) на 2, 4, 6, 24, 48, 96, 144 та 288 годину експерименту

Аналіз отриманих результатів досліджень (рис. 1) свідчить, що завдяки додаванню вище перерахованих нутрієнтів та лактулози, відбувається більш інтенсивне бродіння та кислотонакопичення порівняно із контрольним зразком № 10 (особливо наприкінці ферментації молока — на 6 годину), що свідчить про доцільність збагачення сировини в технології отримання ФПХ вітамінами та пребіотиком лактулозою, які потрібні для росту та розмноження МКБ. Показник рН не суттєво знижується в усіх дослідних зразках протягом 96 годин зберігання, далі відбува-

ється поступове закислення функціонального продукту (на 288 годину зберігання), хоча і в межах допустимих ДСТУ (рН не нижче 4,0). Окислювально-відновний (окисно-відновний) потенціал є важливим фізико-хімічним параметром, який разом із рН, температурою та іонною силою визначає мікрооточення в ФПХ. Різні дослідження показали, що на ріст мікроорганізмів у молочних продуктах може впливати окисно-відновний потенціал системи. Крім того, окислювально-відновний потенціал сприяє створенню умов, необхідних для розвитку смаку у ферментованих молочних продуктах. Молоко при 25 °С у рівновазі з повітрям зазвичай має значення  $E_h$  в діапазоні від +150 до +350 мВ при рН 6,6–6,7) через присутність кисню та окислювачів; однак після ферментації ФПХ має негативне значення  $E_h$ . Добре відомо, що анаеробіоз і низький окисно-відновний потенціал сприяють розвитку збалансованого смаку, а різні леткі ароматичні сполуки утворюються *in vitro* в умовах окиснення та відновлення [28].

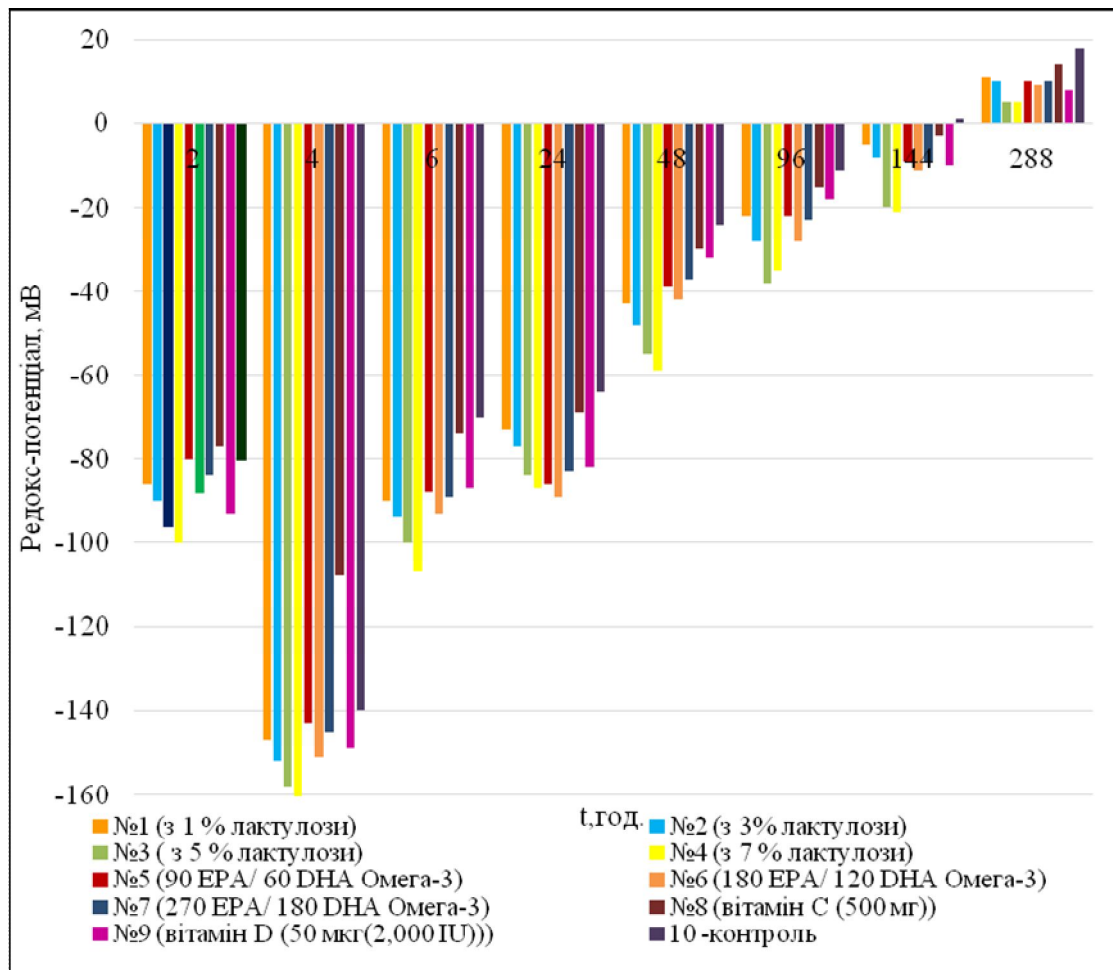


Рис. 2. Динаміка зміни редокс-потенціалу в дослідних зразках (1—10) на 2, 4, 6, 24, 48, 96, 144 та 288 годину експерименту

Аналіз результатів досліджень, представлених на рис. 2, свідчить про суттєві зміни цього показника впродовж експерименту (288 годин), визначення якого є дуже важливим в технології отримання ФПХ, враховуючи те, що зміни редокс-потенціалу можуть свідчити про окислювальний стрес, який виникає під час зберігання оздоровчого продукту, котрий містить живі пробіотичні культури МКБ. Результати експерименту свідчать, що на 4 годину ферментації молока МКБ відбувається суттєве зниження  $E_h$  в усіх пробах, особливо в зразках 1—9, до яких додавалися нутрієнти та лактулоза, що підтверджує необхідність збагачення сировини доданими функціональними компонентами, які прискорюють бродильні процеси з утворенням негати-

вного редокс-потенціалу в межах від  $-140$  до  $-168$  мВ, котрий свідчить про протікання відновлювальних процесів в середовищі. На 6 годину спостерігається збільшення цього показника (до  $-100$  мВ), але після зберігання ФПХ тривалістю 24 години та більше, відзначаємо початок окислювального процесу, який відбувається за участю кисню і показники Eh набувають позитивного значення (до  $+18$  мВ). В контрольній пробі (без додавання функціональних компонентів) цей показник є переважно більшим порівняно із пробами 1—9, що свідчить про виникнення окислювального стресу. Враховуючи вище вказане, можна зробити висновок, що ФПХ під час зберігання втрачають свою активність та оздоровчі властивості, тому рекомендований термін зберігання для дослідженого продукту становить не вище 24 годин, оскільки найбільш лікувальними властивостями володіють продукти, котрі мають Eh на рівні плазми крові (в межах  $-70$  мВ). В роботах авторів [29] також проведено аналогічні дослідження, що свідчить про актуальність даних досліджень. За мету дослідження вони поставили виявлення впливу оксидоредукційного потенціалу (Eh) на біосинтез ароматичних сполук молочнокислими бактеріями в знежиреному йогурті [28, 29], результати яких свідчать про зміну показника ОВП внаслідок штучного насичення даного продукту киснем.

Важливими контрольними параметрами оцінки якості йогурту під час його виробництва та зберігання вважаються кислотність та кількість молочної кислоти (рис. 3 та 4).

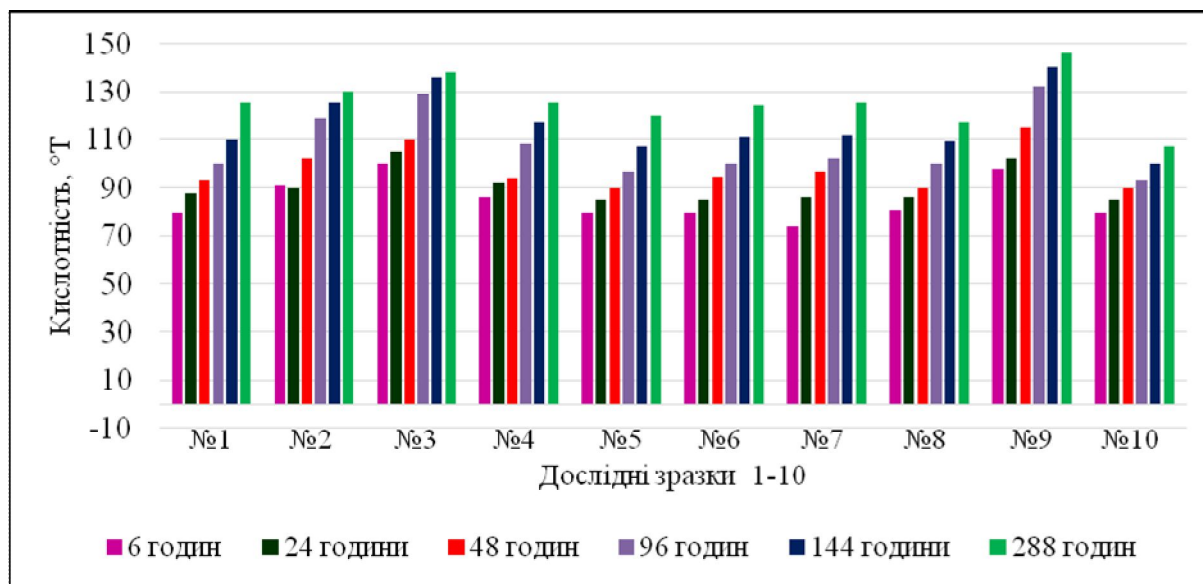


Рис. 3. Динаміка зміни кислотності в дослідних зразках 1—10 на 6, 24, 48, 96, 144 та 288 годину експерименту

Аналізуючи представлені результати досліджень (рис. 3) видно, що в зразках 2, 3 та 9 відмічається збільшення показнику титрованої кислотності, вже на початку ферментації (2 та 4 години бродіння), що свідчить про активацію нутрієнтів та лактулози бродильних процесів, хоча, при зберіганні йогурту протягом 288 годин — цей показник для усіх зразків 1—10 знаходиться в межах допустимих ДСТУ ( $80$ — $140$  °Т). Для зразків 2, 3 та 9 титрована кислотність на 96 годину відповідає значенням —  $119$ ,  $129$  та  $136$  °Т, що свідчить про активацію бродильних процесів в даних зразках в присутності лактулози та аскорбінової кислоти.

На рис. 4 представлено результати визначення концентрації молочної кислоти в зразках 1—10, які свідчать про помірне наростання даного показника, починаючи із 96 години. Максимальне значення концентрації молочної кислоти відмічене на 144 годину зберігання для усіх зразків функціонального продукту, навіть в умовах холодильника. Порівнюючи усі дослідні зразки між собою видно, що додавання лактулози (зразки 2, 3) сприяє більшому біосинтезу молочної кислоти, що пояснюється збільшенням титру МКБ в даних пробах. Також відмічається позитивний вплив щодо додавання вітаміну С перед початком ферментації, оскільки в зразку



9 зафіксовано збільшення концентрації молочної кислоти (1,24 г на 1 дм<sup>3</sup> йогурту) порівняно із контролем (0,96 г на 1 дм<sup>3</sup> йогурта). Експериментами встановлено, що додавання нутрієнтів та лактулози сприяє процесам кислотонакопичення, що підтверджується зниженням показників рН та ОВП, і свідчить про доцільність їх використання з точки зору прискорення ферментаційних процесів та зменшення окисного стресу.

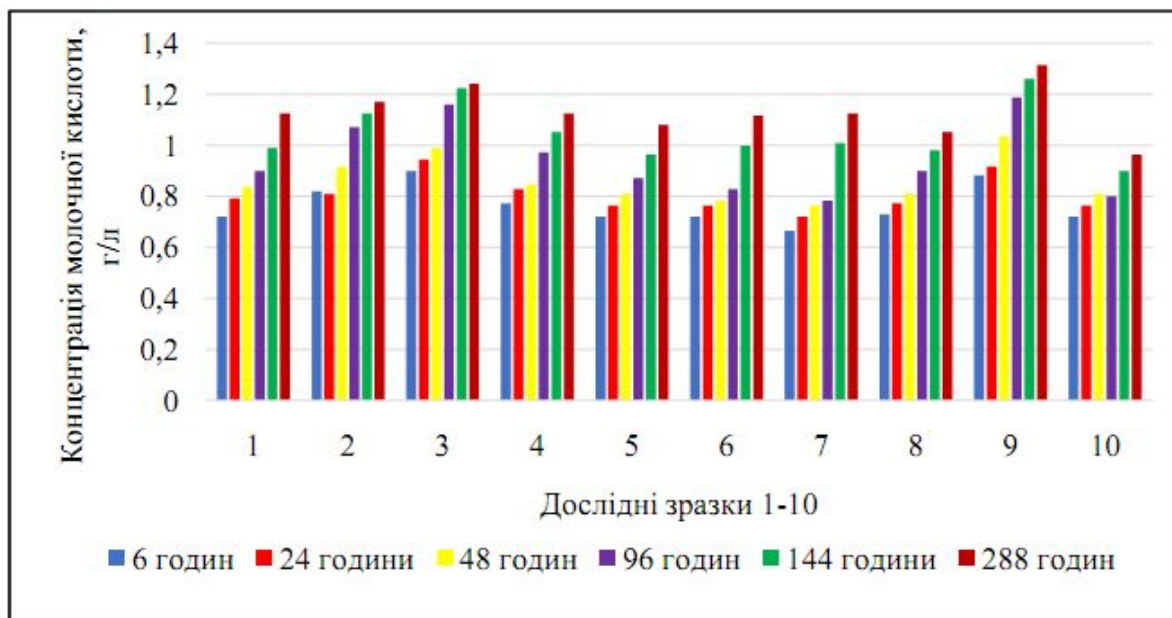


Рис. 4. Динаміка зміни концентрації молочної кислоти в дослідних зразках 1—10 на 6, 24, 48, 96, 144 та 288 годин експерименту

Аналіз отриманих результатів досліджень (рис. 3) свідчить, що завдяки додаванню пребіотику лактулози та БАР відбувається збільшення титру МКБ порівняно із контролем — дослідний зразок № 10. Це пояснюється тим, що доданий пребіотик у вигляді лактулози (оптимальна концентрація якої становить 5 % — зразок № 3) — це, по суті, довголанцюговий синтетичний вуглевод (дісахарид), отриманий шляхом ізомеризації молочного цукру лактози, який розкладається МКБ до галактози та фруктози, що уявляє собою харчову підвіску для корисних МКБ. Лактулоза вважається специфічним субстратом, оскільки тільки МКБ володіють певним ферментом щодо її розщеплення. Лактулоза демонструє біфідогенні властивості, стимулюючи ріст корисних для здоров'я бактерій, таких як *Bifidobacterium* і *Lactobacillus*, як це видно з рис. 4. Лактулоза розкладається лише бактеріями товстої кишки на кислоти та гази, що не потребує ферменту лактази. Лактулоза розкладається на коротколанцюжкові жирні кислоти, метан і водень, що спричиняє швидке і значне збільшення об'єму кишкового вмісту. Велика кількість газів, яка виникає при розкладі їжі, стимулює перистальтику товстого кишечника та прискорює переміщення рідини вниз по кишечнику. Аналіз результатів досліджень дозволяє зробити висновок, що завдяки додаванню лактулози, як додаткового субстрату, вдається підтримати максимальний титр МКБ протягом тривалості експерименту, а саме 192 години, що пояснюється присутністю достатньої кількості субстрату у вигляді лактулози в умовах лімітації лактози.

В табл. 1 представлено результати визначення кількості клітин МКБ (кл/мл) у дослідних зразках 1—10 протягом тривалості експерименту (288 годин).

Аналізуючи представлені результати досліджень (табл. 1) видно, що завдяки додаванню лактулози (зразки № 1—4) та нутрієнтів (зразки № 5—9) відбувається інтенсифікація росту МКБ в усіх представлених пробах окрім контрольної (зразок №10), що свідчить про доцільність використання біологічно-активних речовин та пребіотику в технології отримання ферментованих продуктів харчування. При додаванні лактулози вдається протягом терміну зберігання ФПХ

(288 години) тримати на високому рівні титр МКБ в пробах 1—4 в межах  $9,2 \times 10^8$  —  $8,2 \times 10^9$  кл/мл. При додаванні водорозчинного вітаміну С (зразок № 9), який має вуглеводисту природу, також, відмічається високий титр МКБ як по закінченню ферментації (на 6 годину експерименту), так і протягом зберігання — на 288 годину (титр МКБ на 288 годину експерименту становить  $9,7 \times 10^9$  кл/мл).

Таблиця 1. Залежність титру МКБ від часу експерименту і кількості доданих нутрієнтів та лактулози

| Зразок | Час визначення титру МКБ (кл/мл) протягом експерименту, год. |                    |                    |                    |                    |                   |
|--------|--------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
|        | 6                                                            | 24                 | 48                 | 96                 | 144                | 288               |
| 1      | $7,2 \times 10^9$                                            | $8,5 \times 10^9$  | $8,5 \times 10^9$  | $7,8 \times 10^9$  | $6,2 \times 10^9$  | $9,2 \times 10^8$ |
| 2      | $11,2 \times 10^9$                                           | $11,5 \times 10^9$ | $9,5 \times 10^9$  | $8,8 \times 10^9$  | $5,2 \times 10^9$  | $3,2 \times 10^9$ |
| 3      | $14,7 \times 10^9$                                           | $15,7 \times 10^9$ | $14,5 \times 10^9$ | $9,8 \times 10^9$  | $8,2 \times 10^9$  | $6,2 \times 10^9$ |
| 4      | $15,0 \times 10^9$                                           | $15,7 \times 10^9$ | $15,7 \times 10^9$ | $12,8 \times 10^9$ | $10,2 \times 10^9$ | $8,2 \times 10^9$ |
| 5      | $9,8 \times 10^9$                                            | $9,7 \times 10^9$  | $7,5 \times 10^9$  | $6,8 \times 10^9$  | $4,7 \times 10^8$  | $1,2 \times 10^8$ |
| 6      | $10,5 \times 10^9$                                           | $10,5 \times 10^9$ | $9,5 \times 10^9$  | $8,8 \times 10^9$  | $6,7 \times 10^8$  | $3,2 \times 10^8$ |
| 7      | $11,2 \times 10^9$                                           | $11,1 \times 10^9$ | $10,3 \times 10^9$ | $9,6 \times 10^9$  | $7,2 \times 10^9$  | $5,2 \times 10^8$ |
| 8      | $10,2 \times 10^9$                                           | $10,2 \times 10^9$ | $10,0 \times 10^9$ | $9,8 \times 10^9$  | $7,1 \times 10^8$  | $4,0 \times 10^8$ |
| 9      | $15,2 \times 10^9$                                           | $16,0 \times 10^9$ | $16,1 \times 10^9$ | $13,4 \times 10^9$ | $11,0 \times 10^9$ | $9,7 \times 10^9$ |
| 10     | $3,2 \times 10^8$                                            | $2,8 \times 10^8$  | $1,1 \times 10^8$  | $5,6 \times 10^7$  | $6,2 \times 10^6$  | $5,2 \times 10^4$ |

При додаванні жиророзчинних вітамінів омега-3-жирних кислот (проби № 5, 6, 7) та вітаміну D (проба № 8), відмічається суттєве збільшення цього показника порівно із контролем (проба № 10), але майже на рівні із пробами при додаванні пребіотику лактулози.

Експериментами доведено ефективність та доцільність збагачення ФПХ нутрієнтами та лактулозою задля отримання лікувально-профілактичного ФПХ високої якості.

Рекомендований час зберігання ФПХ, спираючись на такі показники як: ОВП, титр МКБ, рН та кількість молочної кислоти становить 24 та не більше 48 годин. Збільшення часу зберігання продукту призводить до появи окисного стресу, що підтверджуються збільшенням ОВП до позитивних значень (+18 мВ).

### Висновки

Проаналізовано важливу роль пробіотиків для організму людини, а саме, покращення засвоюваності поживних речовин, прискорення метаболізму та підвищення імунітету. Щодо терапевтичної дії, то пробіотики полегшують і запобігають таким станам, як непереносимість лактози, алергія, діарейні захворювання, діабет та ожиріння, що свідчить про актуальність проведених досліджень, які направлено на вирішення питань щодо збільшення титру МКБ задля розробки продуктів харчування із функціональними властивостями. Експериментами підтверджено доцільність додавання лактулози у концентрації 3—5 % задля підтримки високого титру МКБ у ФПХ протягом 14 діб.

У більшості досліджень стресової фізіології МКБ, штами піддаються впливу лише деяким факторам стресу одночасно (вплив жовчних солей і панкреатичного соку в дванадцятипалій кишці людини), але, щоб краще розібрати фізіологічні та молекулярні механізми, що лежать в основі відповідей, треба проводити подальші дослідження на молекулярному та генетичному рівнях. Насправді, МКБ в навколишньому світі живуть здебільшого в багатостресових середовищах, які є досить поживними, щоб компенсувати їх ауксотрофію. Вибаглива природа МКБ часто сприймається як вразливість, котра може бути пов'язана зі зниженою толерантністю до стресів навколишнього середовища. Це припущення далеке від істини, і хоча жодна МКБ офіційно не була охарактеризована як екстремофіл, деякі види/штами можуть переносити або навіть рости в суворих умовах. Клітинна оболонка є фізичним бар'єром, що відокремлює клітину від навколишнього середовища, і, таким чином, першою лінією захисту від збурень зовнішнього середовища. Зміни в хімічному складі як клітинної стінки, так і клітинної мембрани, спричинені стресом, допомагають виживанню клітин. Збереження цілісності клітинної стінки в умовах

стресу є питанням життя чи смерті для бактерій. Клітинна оболонка також є основною клітинною органелою з кількома фізіологічними функціями. Протягом останніх років експериментами доведено, що МКБ, як і інші бактерії, ретельно стежать за цілісністю своєї клітинної оболонки, і в разі її пошкодження спеціалізовані механізми індукують її відновлення.

Окисно-відновний потенціал є важливим селективним фактором для МКБ у будь-якому середовищі, а знання фактичних окисно-відновних умов є важливим для інтерпретації якості та свіжості продуктів ферментації (ФПХ). Окислювально-відновний потенціал (Eh) викликає зростаючий інтерес у дослідженнях молочної промисловості, хлібопекарської діяльності, тобто, процесах, які базуються на ферментації субстрату. МКБ здатні знижувати Eh до значних відновних значень, що є важливою ознакою технологічних характеристик молочнокислих заквасок і пробіотиків. Зменшення Eh, також, необхідне для розвитку характерного смаку для усіх ферментованих ФПХ, надаючи їм неперевершені смакові характеристики. Окисно-відновний потенціал треба визначити та оцінювати, як міру схильності хімічної/біохімічної системи окислюватися (втрачати електрони) або відновлювати (отримувати електрони). Під час вимірювання окислювально-відновного потенціалу важливо вказати не лише виміряне значення потенціалу, але й рН і температуру, при якій воно визначається. Крім того, подібно до того, як рН є мірою активності іонів водню в системі, окисно-відновний потенціал є мірою активності електронів у системі, тому на нього впливають усі окислювачі та відновники. Тому вимірювання окисно-відновного потенціалу слід брати до уваги під час усіх процесів бродіння.

Оптимальною температурою культивування для МКБ в технології отримання ФПХ вважається 37 °С, рН — не нижче 4,0. Задля уникнення окисного стресу, рекомендований термін зберігання йогурту із додаванням нутрієнтів та лактулози становить не більше 24 години, що підтверджується підтримкою ОВП на рівні не нижче – 70 мВ. При заданих умовах культивування та зберігання (в умовах холодильника при температурі не вище за – 4 °С) вдається тримати показники — титровану кислотність та концентрацію молочної кислоти на рівні вимог ДСТУ, що свідчить про високу якість отриманого функціонального продукту.

### Список використаної літератури

1. Patel, S. The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review/S. Patel, A. Goyal// 3 Biotech., 2012. 2(2). P.115–125.
2. Crowe, K. M., Francis, C. Position of the academy of nutrition and dietetics: functional foods /K. M. Crowe, C. Francis // Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, 2013. 113(8). P.1096–1103.
3. European Commission. Functional foods. [http://publications.europa.eu/resource/cellar/238407ee-0301-4309-9fac\\_e180e33a3f89.0001.02/DOC\\_1](http://publications.europa.eu/resource/cellar/238407ee-0301-4309-9fac_e180e33a3f89.0001.02/DOC_1)
4. Platkin, C., Cather, A., Butz, L., Garcia, I., Gallanter, M., Leung, MM. Food As Medicine: Overview and Report: How Food and Diet Impact the Treatment of Disease and Disease Management. 2022 <https://www.nycfoodpolicy.org/wp-content/uploads/2022/04/foodasmedicine.pdf>
5. Martirosyan, D., von Brugger, J., Bialow, S. Functional food science: Differences and similarities with food science /D. Martirosyan, J. von Brugger, S. Bialow// Functional Foods in Health and Disease, 2021. 11(9). P. 408–430.
6. Hill, C., Guarner, F., Reid, G. [et al.]. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic /C. Hill, F. Guarner, G. Reid et al. // Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014. 11. P. 506–514.
7. Report of a Joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food. <https://www.igb.es/digestivo/pdfs/probioticos.pdf>
8. Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation: report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. <https://catalogue.nla.gov.au/Record/3788914>
9. Bazzoli, F. [et al.]. In vivo Helicobacter pylori clearance failure with Lactobacillus acidophilus /F. Bazzoli et al. // Gastroenterology, 1992. 102. P. 38.

10. Aiba, Y. [et al.]. Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model/Y. Aiba et al. // *The American journal of gastroenterology*, 1998. 93 (11). P. 2097–2101.
11. Martin, F. [et al.]. Effect of oxidoreduction potential on aroma biosynthesis by lactic acid bacteria in nonfat yogurt/F. Matrin et al. *Journal of Dairy Science*, 2011. 94. P.614–622.
12. Citta, A. [et al.]. Oxidative changes in lipids, proteins, and antioxidants in yogurt during the shelf life /A Citta et al. // *Food Science & Nutrition*, 2017. 5 (6). P. 1079–1087.
13. Lindmark-Månsson, H., Akesson, B. Antioxidative factors in milk /H. Lindmark- Månsson, B. Akesson // *British Journal of Nutrition*, 2000. 84. P. 103–110.
14. Power, O., Jakeman, P., Fitzgerald, R. J. Antioxidative peptides: Enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides / O. Power, P. Jakeman, R.J. Fitzgerald // *Amino Acids*, 2013. 44. P. 797–820.
15. O'Connell, J. E., Fox, P. F. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: A review /J.E. O'Connell, P.F.Fox// *International Dairy*, 2001. 2. P. 614–622.
16. Varmanen, P., Savijoki, K. Responses of lactic acid bacteria to heat stress /P. Varmanen, K. Savijoki // *Stress Responses of Lactic Acid Bacteria*, 2011. P. 55–66.
17. Papadimitriou, K. [et al.]. Stress physiology of lactic acid bacteria /K. Papadimitriou et al.// *Microbiology and molecular biology reviews*, 2016. 80 (3). P. 837–890.
18. Özer, D., Akin, S., Özer, B. Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in *Acidophilus-Bifidus* Yoghurt /D. Özer, S. Akin, B. Özer // *Food Science and Technology International*, 2005. 11(1). P. 22–23.
19. Guowei, S. Effect of prebiotics on growth of *Bifidobacterium bifidum*/ S. Guowei // *Proceedings International Conference on Human Health and Biomedical Engineering*, Jilin, China, 2011. P. 981-984.
20. Adebola, O.O., Corcoran, O., Morgan, W.A. Synbiotics: The Impact of Potential Prebiotics Inulin, Lactulose and Lactobionic Acid on the Survival and Growth of *Lactobacilli* Probiotics /O.O. Adebola, O. Corcoran, W.A. Morgan // *J. Funct. Foods*, 2014. 10. P. 75–84.
21. De Souza Oliveira, [et al.]. Use of Lactulose as Prebiotic and Its Influence on the Growth, Acidification Profile and Viable Counts of Different Probiotics in Fermented Skim Milk / De Souza Oliveira, [et al.] // *Int. J. Food Microbiol*, 2011. 145. P. 22–27.
22. Pham, T.T., Shah, N.P. Effects of Lactulose Supplementation on the Growth of *Bifidobacteria* and Biotransformation of Isoflavone Glycosides to Isoflavone Aglycones in Soymilk /T.T. Pham, N.P. Shan // *J. Agric. Food Chem*, 2008. 56. P. 4703–4709.
23. Figueroa-González, I. [et al.]. Prebiotic Effect of Commercial Saccharides on Probiotic Bacteria Isolated from Commercial Products /I. Figueroa-González et al. *Food Sci. Technol*, 2019. 39. P. 747–753.
24. Delgado-Fernández, P. [et al.]. Effect of Selected Prebiotics on the Growth of Lactic Acid Bacteria and Physicochemical Properties of Yoghurts /P. Delgado-Fernández [et al.] // *Int. Dairy J*, 2019. 89. P. 77–85.
25. Nobakhti, A.R. [et al.]. Influence of Lactulose and Hi-Maize Addition on Viability of Probiotic Microorganisms in Freshly Made Synbiotic Fermented Milk Drink /A.R. Nobakhti // *Milchwissenschaft*, 2009. 64. P. 191–193.
26. Cardelle-Cobas, A. [et al.]. Galactooligosaccharides Derived from Lactose and Lactulose: Influence of Structure on *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* Growth /A. Cardelle-Cobas // *Int. J. Food Microbiol*, 2011. 149. P. 81–87.
27. Abraham, S. [et al.]. A procedure for reproducible measurement of redox potential (Eh) in dairy processes/S. Abraham// *Dairy Science & Technology*, 2013. 93(6). P. 675–690.
28. Caldeo, V., McSweeney, P. L. Changes in oxidation-reduction potential during the simulated manufacture of different cheese varieties/V. Caldeo, P.L. McSweeney// *International Dairy Journal*, 2012. 25(1). P. 16–20.
29. Sheu, W.H., Lee, W.H., Chen, I-T. W. Effects of xylooligosaccharides in type 2 diabetes mellitus / W.H. Sheu, W.H. Lee, I-T. W. Chen // *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2008. 54(5). P. 396–401.

## THE INFLUENCE OF NUTRIENTS AND LACTULOSE PREBIOTIC ON THE FERMENTATION PROCESSES IN THE TECHNOLOGY OF RECEIVING A FUNCTIONAL FOOD PRODUCT WITH AN INCREASED TITER OF VIABLE LACTIC ACID BACTERIA

### Abstract

A study of the influence of biologically active substances (fat-soluble vitamins, omega-3 fatty acids and vitamin D, as well as water-soluble vitamin C), prebiotic lactulose on the titer of viable cells of lactic acid bacteria was carried out for the further use of the obtained research results in the biotechnology of functional food products, obtained thanks to the successful course fermentation processes. Experiments have proven the expediency of using biologically active substances as stimulators of the growth of lactic acid bacteria, which contribute to the increase of biomass and support of their vital activity for 192 hours. Research has established that at the end of the experiment (192 hours), the highest titer of lactic acid bacteria was recorded in samples 1, 2, 3, 4, to which the prebiotic lactulose was added in the amount of 1, 3, 5 and 7 %, respectively. This is due to the fact that the prebiotic acts as a specific substrate that is used by the symbiosis of pure cultures of lactic acid bacteria for a long time, unlike milk sugar. Analyzing the obtained data, it is indicated that thanks to the addition of fat-soluble nutrients omega-3 fatty acids and vitamin D, as well as water-soluble vitamin C, there is a significant increase in the titer of viable cells of probiotic cultures at 6 and 24 hours of the experiment, although at the end of the experiment (by 192 hour) in these samples, an insignificant decrease of this indicator was recorded — from 10 to 8.9 log cells/ml. In the control sample (without the addition of biologically active substances and lactulose prebiotic), a significant decrease in the titer of viable cells of lactic acid bacteria was noted, compared to the test samples to which nutrients were added. The titer of lactic acid bacteria cells in the control sample was reduced by 192 hours from 8.5 to 5.5 log cells/ml. It is recommended to use the studied nutrients in the indicated concentrations to stimulate the growth and maintain the viability of lactic acid bacteria cultures in the technology of production of functional food products.

### References

- [1] Patel, S., Goyal, A. (2012). The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. *3 Biotech.* 2(2). P.115–125.
- [2] Crowe, K. M., Francis, C. (2013). Position of the academy of nutrition and dietetics: functional foods. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics.* 113(8). P.1096-1103.
- [3] European Commission. Functional foods. [http://publications.europa.eu/resource/cellar/238407ee-0301-4309-9fac-e180e33a3f89.0001.02/DOC\\_1](http://publications.europa.eu/resource/cellar/238407ee-0301-4309-9fac-e180e33a3f89.0001.02/DOC_1)
- [4] Platkin, C., Cather, A., Butz, L., Garcia, I., Gallanter, M., Leung, MM. (2022). Food As Medicine: Overview and Report: How Food and Diet Impact the Treatment of Disease and Disease Management. <https://www.nycfoodpolicy.org/wp-content/uploads/2022/04/foodasmedicine.pdf>
- [5] Martirosyan, D., von Brugger, J., Bialow, S. (2021). Functional food science: Differences and similarities with food science. *Functional Foods in Health and Disease.* 11(9). P. 408-430.
- [6] Hill, C., Guarner, F., Reid, G. *et al.* (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 11. P. 506–514.
- [7] Report of a Joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food. <https://www.iqb.es/digestivo/pdfs/probioticos.pdf>
- [8] Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation: report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. <https://catalogue.nla.gov.au/Record/3788914>
- [9] Bazzoli, F. [et al.] (1992). In vivo *Helicobacter pylori* clearance failure with *Lactobacillus acidophilus*. *Gastroenterology.* 102. P. 38.

- [10] Aiba, Y. [et al.] (1998). Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *The American journal of gastroenterology*. 93 (11). P. 2097–2101.
- [11] Martin, F. [et al.] (2011). Effect of oxidoreduction potential on aroma biosynthesis by lactic acid bacteria in nonfat yogurt. *Journal of Dairy Science*. 94. P.614–622.
- [12] Citta, A. [et al.] (2017). Oxidative changes in lipids, proteins, and antioxidants in yogurt during the shelf life. *Food Science & Nutrition*. 5 (6). P. 1079–1087.
- [13] Lindmark-Månsson, H., Akesson, B. (2000). Antioxidative factors in milk. *British Journal of Nutrition*. 84. P. 103–110.
- [14] Power, O., Jakeman, P., Fitzgerald, R. J. (2013). Antioxidative peptides: Enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk - derived antioxidative peptides. *Amino Acids*. 44. P. 797–820.
- [15] O'Connell, J. E., Fox, P. F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: A review. *International Dairy*. 2. P. 614–622.
- [16] Varmanen, P., Savijoki, K. (2011). Responses of lactic acid bacteria to heat stress. *Stress Responses of Lactic Acid Bacteria*. P. 55–66.
- [17] Papadimitriou, K. [et al.] (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*. 80 (3). P. 837–890.
- [18] Özer, D., Akin, S., Özer, B. (2005). Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in Acidophilus-Bifidus Yoghurt. *Food Science and Technology International*. 11(1). P. 22–23.
- [19] Guowei, S. (2011). Effect of prebiotics on growth of *Bifidobacterium bifidum*. *Proceedings International Conference on Human Health and Biomedical Engineering*, Jilin, China. P. 981–984.
- [20] Adebola, O.O., Corcoran, O., Morgan, W.A. (2014). Synbiotics: The Impact of Potential Prebiotics Inulin, Lactulose and Lactobionic Acid on the Survival and Growth of Lactobacilli Probiotics. *J. Funct. Foods*. 10. P. 75–84.
- [21] De Souza Oliveira [et al.]. (2011). Use of Lactulose as Prebiotic and Its Influence on the Growth, Acidification Profile and Viable Counts of Different Probiotics in Fermented Skim Milk. *Int. J. Food Microbiol.* 145. P. 22–27.
- [22] Pham, T.T., Shah, N.P. (2008). Effects of Lactulose Supplementation on the Growth of *Bifidobacterium* and Biotransformation of Isoflavone Glycosides to Isoflavone Aglycones in Soymilk. *J. Agric. Food Chem.* 56. P. 4703–4709.
- [23] Figueroa-González, I. [et al.]. (2019). Prebiotic Effect of Commercial Saccharides on Probiotic Bacteria Isolated from Commercial Products. *Food Sci. Technol.* 39. P. 747–753.
- [24] Delgado-Fernández, P. [et al.]. (2019). Effect of Selected Prebiotics on the Growth of Lactic Acid Bacteria and Physicochemical Properties of Yoghurts. *Int. Dairy J.* 89. P. 77–85.
- [25] Nobakhti, A.R., [et al.]. (2009). Influence of Lactulose and Hi-Maize Addition on Viability of Probiotic Microorganisms in Freshly Made Synbiotic Fermented Milk Drink. *Milchwissenschaft*. 64. P. 191–193.
- [26] Cardelle-Cobas, A. [et al.]. (2011). Galactooligosaccharides Derived from Lactose and Lactulose: Influence of Structure on *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* Growth. *Int. J. Food Microbiol.* 149. P. 81–87.
- [27] Abraham, S. [et al.] (2013). A procedure for reproducible measurement of redox potential (Eh) in dairy processes. *Dairy Science & Technology*. 93(6). P. 675–690.
- [28] Caldeo, V., McSweeney, P. L. (2012). Changes in oxidation-reduction potential during the simulated manufacture of different cheese varieties. *International Dairy Journal*. 25(1). P. 16–20.
- [29] Sheu, W.H., Lee, W.H., Chen, I-T. W. (2008). Effects of xylooligosaccharides in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 54(5). P. 396–401.