

БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ

DOI: 10.31319/2519-2884.42.2023.21

УДК 574.24:579:.64:632.4

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

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

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

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

Черненко Я.М.², к.т.н., доцент, ORCID: 0000-0001-7031-939X,
e-mail: yanachernenko30@gmail.com

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

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

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

¹Національний авіаційний університет, м. Київ

²Дніпровський державний технічний університет, м. Кам'янське

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

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

Kravets Valeriia, undergraduate student

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

Chernenko Yana, 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 Yuriy, master's degree student

¹National Aviation University, Kyiv

²Dniprovsky State Technical University, Kamianske

**ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА ПРЕБІОТИКУ ЛАКТУЛОЗИ
НА ПЕРЕБІГ ФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ЗА УЧАСТЮ
МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ**

Метою роботи є дослідження впливу жиророзчинних та водорозчинних вітамінів D та C, а також, омега-3 жирних кислот) та на титр життєздатних клітин молочнокислих бактерій, як показника ефективності проведення ферментаційних процесів. Визначено структурну характеристику та роль пребіотику лактулози щодо впливу на титр бактерій. Доведено ефективність її використання у складі поживного середовища для культивування бактерій. Описано вплив омега-3 кислот та вітамінів на кишкову мікробіоту. Омега-3 кислоти можуть сприяти зменшенню росту ентеробактерій та збільшенню біфідобактерій і подальшого інгібування запальної реакції, пов'язаної з метаболічною ендотоксемією. Щодо вітамінів, то вони можуть також позитивно впливати на ріст і функції молочнокислих бактерій. Оптимальними концентраціями жиророзчинних вітамінів у складі функціонального продукту із максимальним титром бактерій можна вважати зразки, до яких додавали нутрієнти у концентраціях: 5 % лактулози, 90 EPA/ 60 DHA Омега-3, 180 EPA/ 120 DHA Омега-3, вітамін С у концентрації 500 мкг та 25 мкг вітаміну D. Кількісні показники титру бактерій дозволи зробити висновок,

що завдяки присутності жиру та водорозчинних вітамінів відбувається пришвидшення швидкості розмноження бактерій та скорочення часу ферментації.

Ключові слова: нутрієнти; молочнокислі бактерії; біологічно-активні речовини; пробіотики; пребіотики; титр клітин.

The purpose of the work is to study the influence fat-soluble and water-soluble vitamins D and C, as well as omega-3 fatty acids) and the titer of viable cells of the lactic acid bacteria as an indicator of the efficiency of fermentation processes. The structural characteristics and role of the prebiotic lactulose in relation to the effect on the lactic acid bacteria titer were determined. The effectiveness of its use as part of a nutrient medium for cultivating lactic acid bacteria has been proven. The influence of omega-3 acids and vitamins on intestinal microbiota is described. Omega-3 acids may help reduce the growth of Enterobacteriaceae and increase Bifidobacteria and further inhibit the inflammatory response associated with metabolic endotoxemia. As for vitamins, they can also have a positive effect on the growth and functions of lactic acid bacteria. The optimal concentrations of fat-soluble vitamins in the composition of a functional product with the maximum titer of bacteria can be considered samples to which nutrients were added in concentrations: 5 % lactulose, 90 EPA/ 60 DHA Omega-3, 180 EPA/ 120 DHA Omega-3, vitamin C in concentration 500 mcg and 25 mcg of vitamin D. Quantitative indicators of the bacterial titer allowed us to conclude that due to the presence of fat and water-soluble vitamins, the rate of bacterial reproduction is accelerated and the fermentation time is reduced.

Keywords: nutrients; lactic acid bacteria; biologically active substances; probiotics; prebiotics; cell titer.

Постановка проблеми

У світі все більше зростає попит на здорове харчування, тому наукові дослідження у цій галузі стають все більш актуальними. Крім того, у зв'язку зі зміною способу життя людей та поширенням хвороб, які пов'язані зі зниженням імунітету та збільшенням кількості хворих на шлунково-кишковий тракт, значення молочнокислих бактерій (МКБ) у здоровому харчуванні зростає ще більше. Молочнокислі бактерії мають велике значення для харчової промисловості, оскільки є основними біоагентами в бродильних процесах, які стосуються виробництва функціональних продуктів харчування, таких як хлібопродукти на основі закваски із підвищеним титром МКБ та кисломолочні продукти харчування. Оскільки, дослідження впливу біологічно-активних речовин (жиророзчинних вітамінів) на титр молочнокислих бактерій дає можливість розширити сфери їх використання в напрямку харчової біотехнології, яка стосується розробки продуктів харчування із покращеними лікувально-профілактичними властивостями, особливо актуальним це питання є для спеціалізованої групи продуктів, які рекомендовано вживати хворим на цукровий діабет, при ожирінні та інші проблем зі здоров'ям, пов'язаних з порушенням мікробіоценозу кишечника.

Враховуючи вище сказане, наразі існує необхідність в наукових дослідженнях, які стосуються питань щодо підвищення титру життєздатних клітин МКБ під час реалізації ферментаційних процесів із подальшою підтримкою даного показника під час зберігання функціональних продуктів харчування, отриманих на основі молочнокислого бродіння.

Аналіз останніх досліджень та публікацій

Розробка нових функціональних харчових продуктів, що містять пробіотики, які представлені різними штамами МКБ — це галузь харчової біотехнології, яка потребує сучасного оновлення та вдосконалення, оскільки викликає особливий інтерес у різних верств населення, завдяки своїм корисним властивостям для здоров'я людини.

Слово «пробіотик» перекладається як «для життя», взяте з грецької та латинської етимології [1, 2]. Пробиотики забезпечують певні переваги для здоров'я, такі як підтримка здоров'я кишечника та сприяння підтримці збалансованої кишкової мікрофлори, важливої для належного функціонування травної системи та всього організму.

Роль пробіотичних культур МКБ для організму людини є особливо важливою, оскільки мікробні асоціації із різних видів МКБ в кишечнику покращують біодоступність та підвищують кількість і засвоюваність певних поживних речовин. Користь МКБ для здоров'я людини

пов'язана із біосинтезом таких біологічно-активних речовини (БАР) як: рибофлавін, ніацин, тіамін, вітаміни В6 та В12, також, і фолієва кислота. Пробиотики відіграють важливу роль у збільшенні біодоступності кальцію, заліза, марганцю, міді, фосфору і підвищують засвоюваність білка та жиру. Ферментативний гідроліз білків і жирів призводить до збільшення вільних амінокислот і коротколанцюгових жирних кислот. Органічні кислоти, такі як ацетат і лактат, що утворюються під час ферментації МКБ, знижують рН у кишечнику, тим самим, створюючи небажані умови для розвитку та розмноження шкідливих бактерій (прояв антагоністичних властивостей МКБ) [2—4]. В наукових роботах стверджується, що пробіотичні бактерії полегшують і запобігають таким станам, як непереносимість лактози, алергія, діарейні захворювання, зниження рівня холестерину в сироватці крові, зниження ризику, пов'язаного з мутагенністю та канцерогенністю та інгібування патогенів, а також стимулювання імунної системи [3—6].

Незважаючи на те, що БАР та МКБ мають різне походження, але їх об'єднує те, що вони позитивно впливають на нашу імунну систему, тому ідеально доповнюють один одного у складі функціональних продуктів харчування.

Вітаміни — це органічні сполуки, які не всі синтезуються організмом, тому, є необхідними для організму людини у невеликих кількостях для підтримки обміну речовин і життєдіяльності. Вітаміни класифікують за розчинністю в жирі або воді. Розчинність важлива, оскільки ця властивість визначає моделі транспортування, виведення та зберігання в організмі. Вітаміни можуть впливати двома способами: фізіологічно — як вітаміни та фармакологічно — як ліки. Жиророзчинні вітаміни є регуляторами специфічної метаболічної активності [7, 8].

Численними дослідженнями доведено, що вітаміни абсолютно необхідні нормальної життєдіяльності людини, оскільки є біологічними каталізаторами, які впливають обмін речовин і забезпечують захист від несприятливих чинників довкілля.

Омега-3 поліненасичені жирні кислоти (омега-3 ПНЖК), незамінні жирні кислоти, які люди повинні отримувати з раціону, мають потенційну користь для здоров'я. Окрім зміни структури та функції клітинних мембран, омега-3 ПНЖК (докозагексаєнова кислота (ДНА), ейкозапентаєнова кислота (ЕРА), альфа-ліноленова кислота (АЛА) і докозапентаєнова кислота (ДРА)) справляють різний вплив на імунну систему кишечника. толерантність і підтримку кишкової мікробіоти. Омега-3 ПНЖК можуть безпосередньо модулювати різноманітність і чисельність мікробіоти кишечника. Порівняно з соняшниковою олією споживання риб'ячого жиру з їжею справляло найбільший вплив на різноманітність кишкової флори. Високий рівень омега-3 ПНЖК у риб'ячому жирі викликає значні зміни в мікробіоті кишечника, що може пояснити користь для здоров'я від його використання. Омега-3 ПНЖК можуть справляти сприятливий вплив на кишкову мікробіоту шляхом зменшення росту ентеробактерій, збільшення росту молочнокислих бактерій і подальшого інгібування запальної реакції, пов'язаної з метаболічною ендотоксемією [9—14].

У дослідженні Кемдема та інших [8], кількість пробіотичних бактерій у зразках йогуртів без добавок та з додаванням риб'ячого жиру істотно не відрізнялася. Кількість пробіотиків була вище 7 log КУО/мл. Показники завжди були вищими (але не значно) у збагачених риб'ячим жиром ферментованого молока, хоча рН був нижче 4,5, а в контрольному йогурті рН був вище 4,7.

Рогніліном [9] було доведено, що риб'ячий жир, основне джерело двох важливих поліненасичених жирних кислот: ейкозапентаєнової кислоти (ЕРА) і докозагексаєнової кислоти (ДНА), є чудовим джерелом збагачення харчових продуктів, але створює проблеми окислення та неприємного присмаку чи запаху при додаванні до харчових продуктів.

Водорозчинні вітаміни функціонують як коферменти, невеликі молекули, які нещільно зв'язуються з білком ферменту або апоферментом, утворюючи голофермент [15—16]. Різні вітаміни можуть впливати на ріст і функції молочнокислих бактерій по-різному. Наприклад, вітамін С може збільшувати ріст деяких видів молочнокислих бактерій, таких як *Lactobacillus plantarum* і *Lactobacillus casei*. Вітаміни групи В також важливі для росту молочнокислих бактерій, зокрема, вітамін В12 необхідний для росту *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Деякі вітаміни можуть також впливати на функції молочнокислих бактерій, наприклад, вітамін D може підвищувати продукцію бактеріями *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium bifidum* протизапальних білків, що допомагають знизити запалення в кишечнику [17].

Препіотик лактулоза — це вибірково ферментований інгредієнт, який допускає специфічні зміни як у складі, так і/або в активності мікрофлори шлунково-кишкового тракту, що надає переваги добробуту та здоров'ю господаря», він збільшує титр МКБ, оскільки є специфічним субстратом для даної групи мікроорганізмів [18—21].

Формулювання мети дослідження

Метою роботи є дослідження впливу БАР(жиророзчинних та водорозчинних вітамінів D та С, а також, омега-3 жирних кислот) та на титр життєздатних клітин МКБ, як показника ефективності проведення ферментаційних процесів.

Виклад основного матеріалу

Задля оцінки перебігу ферментаційних процесів за участю МКБ під впливом БАР було досліджено процес сквашування молока симбіозом чистих культур МКБ 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*. Приготування дослідних зразків на основі молока: флакон препарату «VIVO йогурт», було розведено в 1л пастеризованого фермерського молока жирністю 2,6 %, після чого дана суміш була розподілена на 10 рівних частин (по 100 мл на 1 флакон) для проведення подальших мікробіологічних досліджень (метод десятикратних розведень), 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 БАР — зразки 6, 7 8, та 9 (рис. 1). Дослідні зразки (5—9) із додаванням БАР

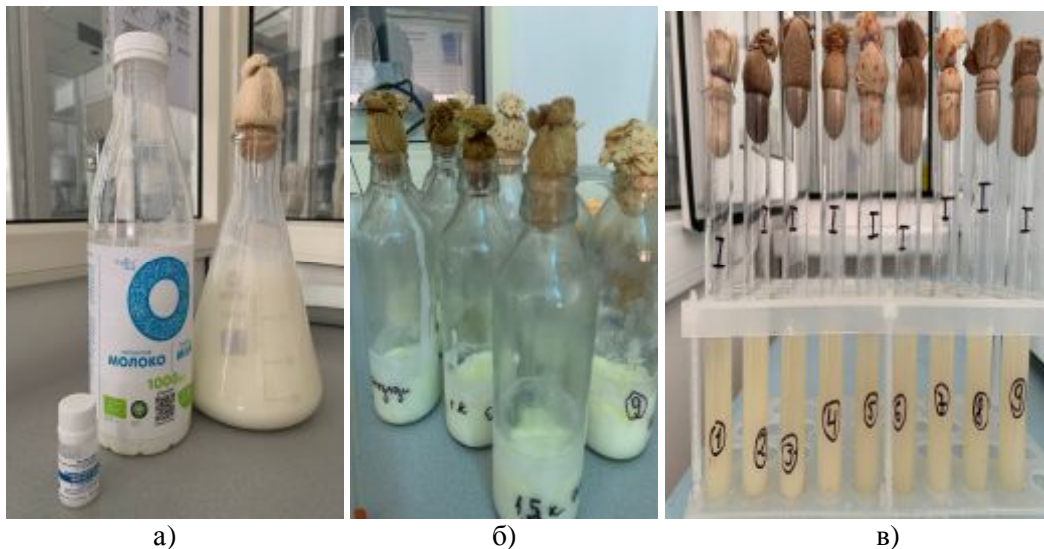


Рис. 1. Етапи дослідження експериментальних зразків (1—10) щодо визначення впливу БАР та лактулози на титр МКБ: а) приготування розведення; б); приготування дослідних зразків із додаванням БАР та лактулози в різних концентраціях; в) культивування МКБ в термостатних умовах

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 — вітамін С у кількості 5000 мкг та № 9—25 мкг (1,000 IU) вітаміну D перебували протягом ферментації, яка тривала 6 годин, в термостатних умовах при температурі культивування 37 °С. Методика проведення мікробіологічних дослідження полягала у контролі експериментальних зразків (1—10) із додаванням різних БАР та пребіотику лактулози шляхом висіву аліквоти на елективне рідке поживне середовище —



Рис. 2. Визначення титру МКБ в дослідних зразках (1—10) на денситометрі DEN-1

м'ясопептонний бульйон із додаванням гідролізованого молока з подальшою денситометрією усіх зразків задля встановлення титру МКБ. Загальна кількість МКБ у дослідних зразках визначалася методом десятикратних розведень із використанням елективного поживного середовища — МПБ із додаванням гідролізованого молока, приготовленого за рецептурою Богданова у співвідношенні 2:1; попередньо, згідно рецептури, гідролізоване молоко перед додаванням до МПБ було розведено стерильною водою у співвідношенні 1:2. Визначення титру МКБ здійснювали за допомогою приладу — денситометр DEN-1 (рис. 2). Денситометр DEN-1 призначений для вимірювання каламутності розчинів в межах 0,3—5,0 McF (одиниць Макфарланду) або 1×10^8 клітин/мл — 15×10^8 клітин/мл. Підрахунок кількості клітин МКБ в 1 мл проби проводили протягом через 6 годин ферментації, а також упродовж терміну зберігання зразків в холодильних умовах — при температурі 4 °C протягом 48, 96 та 192 години відповідно (рис. 3).

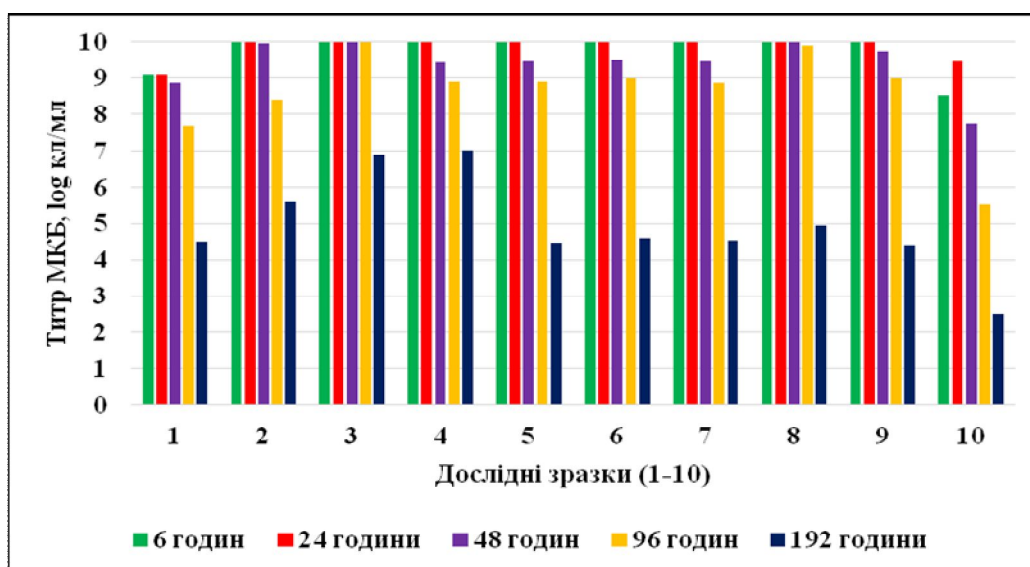


Рис. 3. Динаміка зміни титру життєздатних клітин МКБ в дослідних зразках (1—10)

Оцінку морфлого-культуральних властивостей виділених МКБ проводила шляхом фарбування дослідних зразків метиленовим синім. Для проведення мікроскопіювання клітин МКБ було підготовлено фіксовані препарат: на предметні скельця наносили суспензію дослідних зразків, висушували та зафіксували. Отримані фіксовані препарати фарбували метиленовим синім протягом 3—5 хв., після чого препарати добре промивалися дистильованою водою та підсушувалися. Мікроскопічне дослідження проводили під імерсією. Для цього на готові препарати було нанесено краплю кедрової олії, далі здійснювали мікроскопію на мікроскопі «Ortima Biofinder» зі збільшенням у 1000 разів.

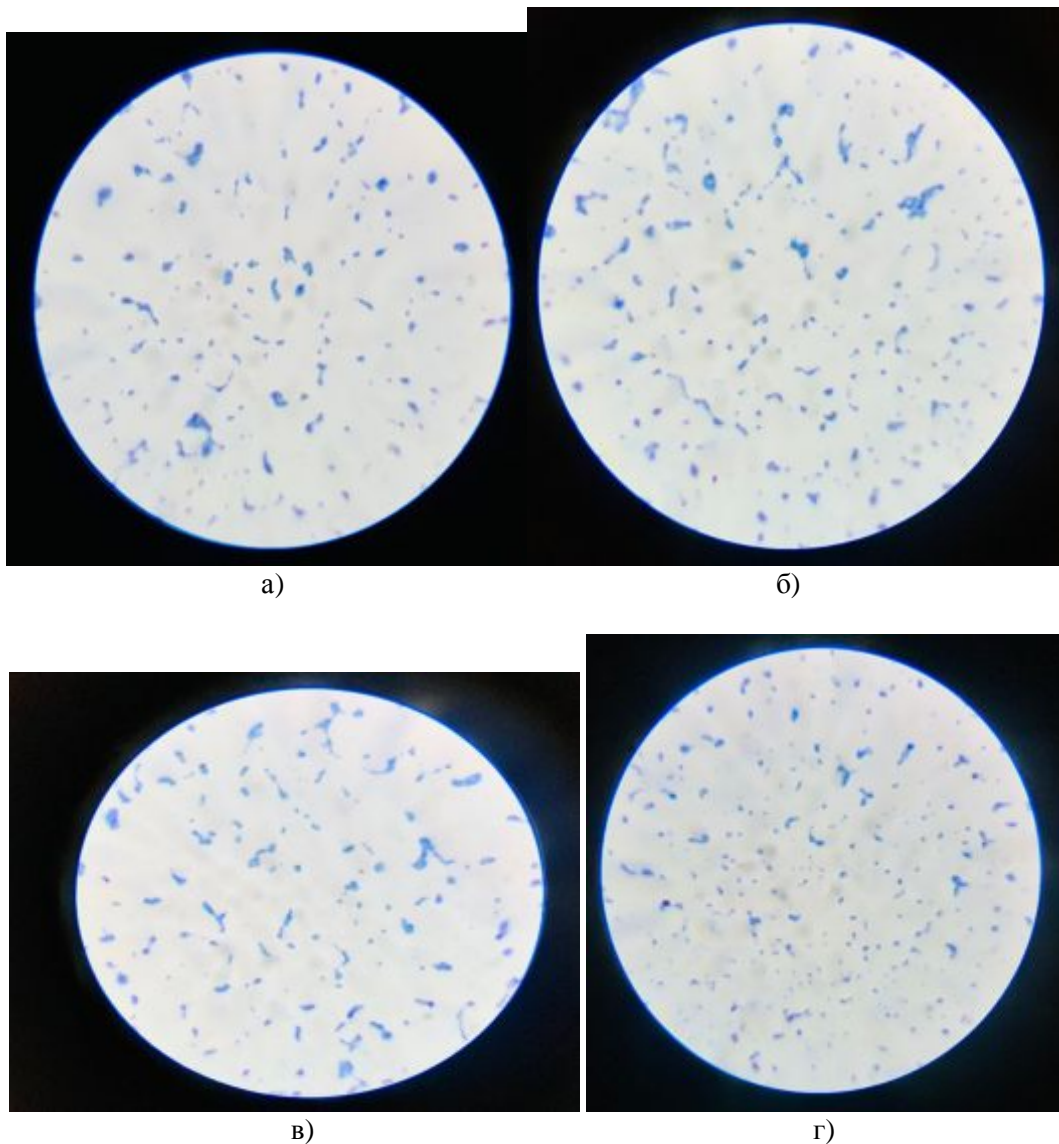


Рис. 4. Мікроскопія дослідних зразків: а) — зразок із додаванням 180 EPA/ 120 DHA Омега-3 на 1 1000 мл, вітамін D у кількості 50 мкг/1000 мл, що відповідає 2,000 IU, в) — зразок із додаванням лактулози (5 %); г) — зразок із додаванням вітаміну С у концентрації 500 мг/л

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 газу, 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.

Експериментами підтверджено, що омега-3 ПНЖК сприяють підвищенню титру МКБ у зразках 5—7 порівняно із контролем — зразок 10. Це пояснюється тим, що даний жиророзчинний вітамін може безпосередньо модулювати різноманітність і чисельність мікробіоти в поживному середовищі, що також, підтверджено автором статті щодо встановлення впливу соняшникової олії та рибачого жиру на кількість мікрофлори у кишечнику людини. Високий рівень омега-3 ПНЖК у рибачому жирі викликає значні зміни в мікробіоті кишечника, що може пояснити користь для здоров'я від його використання. Крім того, рибачий жир пригнічує різноманітні бактерії. Омега-3 ПНЖК можуть мати сприятливий вплив на кишкову мікробіоту шляхом зменшення росту ентеробактерій, збільшення росту біфідобактерій і подальшого інгібування запальної реакції, пов'язаної з метаболічною ендотоксемією. Авторами [11—14] встановлено, що внаслідок інкапсулювання пробіотичних бактерій та омега-3 жирних кислот разом, відбуваються синергетичні переваги для здоров'я. Повідомлялося про синергетичний ефект між омега-3 жирними кислотами та пробіотичними бактеріями під час травлення, де ліпіди омега-3 допомагають пробіотичним бактеріям прикріплюватися до стінки кишечника оптимальна концентрація омега-3 ПНЖК для МКБ становить для зразку № 6 — 180 EPA/ 120 DHA Омега-3. При додаванні 270 EPA/ 180 DHA Омега-3 не відбувається зростання титру МКБ (він на рівні із зразком № 6 та становить для обох зразків на 6 годину ферментації 10,1 log кл/мл, що дорівнює $12,8 \cdot 10^9$ кл/мл), тому збільшену концентрацію додавати не рекомендовано, враховуючи економічну доцільність. У дослідженні Кемдема та інших [12], кількість пробіотичних бактерій у зразках йогуртів без добавок та з додаванням рибачого жиру істотно не відрізнялася. Кількість пробіотиків була вище 7 log КУО/мл. Показники завжди були вищими (але не значно) у збагачених рибачим жиром ферментованого молока, хоча рН був нижче 4,5, а в контрольному йогурті рН був вище 4, 7.

Представлені результати досліджень (рис. 3) свідчать, що до середовища для культивування МКБ доцільно додавати жиророзчинний вітамін D та водорозчинний вітамін C, який є гамма-лактоном 2,3-дегідро-L-гулонової кислоти і здійснює позитивний вплив на підвищення титру МКБ. Автори роботи [15—16] повідомляють, що додавання антиоксидантів, таких як вітамін C, потенційно може посилити клітинний ріст і ферментаційні властивості мікробних штамів шляхом зниження рівня внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК) і підвищення антиоксидантної здатності.

В роботі показано, що кількість життєздатних клітин *Lactobacillus rhamnosus* на 1-й і 21-й день збільшується завдяки додаванню шипшини, яка містить велику концентрацію вітаміну C в молоко перед сквашуванням. Після 1-го дня зберігання титр МКБ (*L. Rhamnosus*) був на 0,18 log КУО/г вище, ніж у контролі.

Дослідження [17], що вивчають вплив добавок вітаміну D на склад мікробіоти кишечника здорових людей, обмежені, тому це питання залишається актуальним та до кінця не дослідженим. В одному дослідженні повідомлялося про підвищену відносну чисельність *Bacteroidetes* і зниження *Proteobacteria*, але лише в біоптатах із верхніх відділів шлунково-кишкового тракту, а не в зразках фекалій. Проте невелике дослідження за участю двадцяти здорових суб'єктів із дефіцитом/недостатком вітаміну D показало значне дозозалежне збільшення відносної чисельності *Bacteroides* і *Akkermansia spp* у поєднанні зі зниженням співвідношення *Firmicutes* до *Bacteroidetes* і зниженням відносної кількості *Fecalibacterium spp*.

Аналіз результатів мікроскопіювання показав, що під час культивування МКБ в присутності БАР, в переважній кількості зустрічаються лакто- та біфідобактерії, хоча молочні стрептококи, також присутні (рис. 4). Порівнюючи отримані результати досліджень встановлено, що омега-3 жирні кислоти та лактулоза володіють підвищеною біфідогенною властивістю, що видно із представлених фото на рис. 4.

Коли пробіотичні бактерії та омега-3 жирні кислоти разом інкапсулювані в одному продукті, можуть бути синергетичні переваги для здоров'я. Повідомлялося про синергетичний

ефект між омега-3 жирними кислотами та пробіотичними бактеріями під час травлення, де ліпиди омега-3 допомагають пробіотичним бактеріям прикріплюватися до стінки кишечника [11—15].

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.

Визначено структурну характеристику та роль пребіотику лактулози щодо впливу на титр МКБ. Доведено ефективність її використання у складі поживного середовища для культивування МКБ.

Описано вплив омега-3 ПНЖК та вітамінів на кишкову мікробіоту. Омега-3 ПНЖК можуть сприяти зменшенню росту ентеробактерій та збільшенню біфідобактерій і подальшого інгібування запальної реакції, пов'язаної з метаболічною ендотоксемією. Щодо вітамінів, то вони можуть також позитивно впливати на ріст і функції молочнокислих бактерій.

Аналізуючи отримані результати досліджень встановили, що оптимальними концентраціями жиророзчинних вітамінів у складі функціонального продукту із максимальним титром МКБ можна вважати зразки 3, 5, 6, 8, 9, до яких додавали нутрієнти у концентраціях: 5 % лактулози (зразок № 3), 90 EPA/ 60 DHA Омега-3 (зразок № 5), 180 EPA/ 120 DHA Омега-3 (зразок № 6), вітамін С у концентрації 500 мкг (зразок № 8) та 25 мкг (1,000 IU) вітаміну D — зразок № 9. Кількісні показники титру МКБ дозволи зробити висновок, що завдяки присутності жиру та водорозчинних вітамінів відбувається пришвидшення швидкості розмноження МКБ та скорочення часу ферментації.

Список використаної літератури

1. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics / K.S. Swanson et al. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2020. Vol. 17. no. 11. P. 687. URL: <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2> (date of access: 06.05.2023).
2. Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics and synbiotics: Approaching a definition/ J. Schrezenmeir J. M. de Vrese// *American Journal of Clinical Nutrition*. 2001. 362 p.
3. Parvez S. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health/ S. Parvez, K.A. Malik, S.A. Kang, H.Y Kim// *Journal of Applied Microbiology*. 2006. 1171–1185 p.
4. Collins M.D. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut/ Collins M.D., Gibson G.R.// *American Journal of Clinical Nutrition*. 1999. 1052–1057 p.
5. Gibson G.R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics/ G.R. Gibson, H.M Peobert, J.V. Loo, R.A. Rastall R.A, M.B. Roberfroid// *Nutrition Research Review*. 2004. 259–275 p.
6. Fernández, J. Healthy effects of prebiotics and their metabolites against intestinal diseases and colorectal cancer/ J. Fernández, S. Redondo-Blanco, E. M. Miguélez, C. J. Villar, A. Clemente, F. Lombó// *AIMS microbiology*, 2015. 48–71 p.
7. Sheu, W.H. 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. 396–401.
8. Kamdem E. P. , Yi Lv1 , Venuste M. , Ocen D. , Sandrine I., Bouelet N., Xiaoming Z. *Akademik Gıda. Development of EPA-DHA Microcapsules Supplemented Probiotic Fermented Milk* .Academic Food Journal. 2013. P.10. URL: <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/1186539> (date of access: 28.04.2023).
9. Rognlien M. *Yogurt as a Vehicle for Omega-3 Fatty Acid Enrichment* : thesis. 2010. P. 1 URL: <http://hdl.handle.net/10919/42511> (date of access: 29.04.2023).

10. Kaushik, R., Arora, S. Effect of calcium and vitamin D2 fortification on physical, microbial, rheological and sensory characteristics of yoghurt. *International Food Research Journal* 24(4). 2017. P.1744. URL: [http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20\(04\)%202017/\(52\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20(04)%202017/(52).pdf) (date of access: 28.04.2023).
11. Associations among Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, the Gut Microbiota, and Intestinal Immunity / Y. Fu et al. *Mediators of Inflammation*. 2021. Vol. 2021. P. 2. URL: <https://doi.org/10.1155/2021/8879227> (date of access: 03.05.2023).
12. Dayangaç A., Erdem B. The Metabolic Relationships between Probiotics and Fatty Acids. *Acta Physica Polonica A*. 2017. Vol. 132, no. 3-II. P. 816–818. URL: <https://doi.org/10.12693/aphyspola.132.816> (date of access: 03.05.2023).
13. Vlaseva R., Perifanova-Nemska M, Denev P., Ivanova/ Development of technology for lactic acid beverage enriched with omega-3 and omega-6 fatty acids and dietary fibre. 2012. Conference Narossa 2012. P.2. URL: https://www.academia.edu/6652407/Development_of_technology_for_lactic_acid_beverage_enriched_with_omega_3_and_omega_6_fatty_acids_and_dietary_fibre (date of access: 03.05.2023).
14. Associations among Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, the Gut Microbiota, and Intestinal Immunity- [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2021/8879227/>.
15. The supplement of vitamin C facilitates l-lactic acid biosynthesis in *Lactobacillus thermophilus* A69 from sweet sorghum juice coupled with soybean hydrolysate as feedstocks / X. Tian et al. *Industrial Crops and Products*. 2020. Vol. 146. P. 112159. URL: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112159> (date of access: 26.04.2023).
16. Znamirska A., Szajnar K., Pawlos M. Effect of Vitamin C Source on Its Stability during Storage and the Properties of Milk Fermented by *Lactobacillus rhamnosus*. *Molecules*. 2021. Vol. 26, no. 20. P. 3-9. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules26206187> (date of access: 26.04.2023).
17. The potential role of vitamin D supplementation as a gut microbiota modifier in healthy individuals / P. Singh et al. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77806-4> (date of access: 03.05.2023).
18. Nutritional Requirements and the Appropriate Use of Supplements- [Електронний ресурс].- Режим доступу: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780723670469500084>
19. Padilla B. Production of lactulose oligosaccharides by isomerisation of transgalactosylated cheese whey permeate obtained by β -galactosidases from dairy *Kluyveromyces*/ B. Padilla, F. Frau, A.I. Ruiz-Matute// (2015). *Journal of Dairy Res*, 2015. 356–364.
20. Лактулоза в сучасній медицині-[Електронний ресурс].- Режим доступу: <https://health-ua.com/article/32424-laktuloza-v-suchasnj-medycin-lkuvannya-zakrepu-pechnkovo-entcefalopatije>
21. Gustaw W., Kordowska-Wiater M., Justyna Koziol J. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of Food Science and Technology. Acta Sci. Pol., Technol.* 2011/ *Aliment* 10(4). P.455 URL: https://www.researchgate.net/publication/221734483_The_influence_of_selected_prebiotics_on_the_growth_of_lactic_acid_bacteria_for_bioyoghurt_production (date of access: 06.05.2023).

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES AND LACTULOSE PREBIOTICS ON THE FERMENTATION PROCESSES WITH THE PARTICIPATION OF 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] Swanson, K.S. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 17 (11). P. 687.
- [2] Schrezenmeir, J., & de Vrese, J.M. (2001). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73. P. 361–364.
- [3] Parvez, S., Malik, K., Kang, H., Kim, H. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*. 100(6). P. 1171–1185.
- [4] Collins, M.D., Gibson, G.R. (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*. 69. P. 1052–1057.
- [5] Gibson, G.R., Peobert, H.M., Loo, J.V., Rastall, R.A., Roberfroid, M.B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Review*. 17. P. 259–275.
- [6] Fernández, J., Redondo-Blanco, S., Miguélez, E., Villar, C., Clemente, A., Lombo, F. (2015). Healthy effects of prebiotics and their metabolites against intestinal diseases and colorectal cancer. *AIMS microbiology*. 1(1). P. 48–71.
- [7] Sheu, W. H., Lee, I.T., Chen, W. Effects of xylooligosaccharides in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 54(5). P. 396–401.
- [8] Kamdem, E. P., Yi, Lvl, Venuste, M., Ocen, D., Sandrine I. Bouelet N., Xiaoming, Z (2013). Development of EPA-DHA Microcapsules Supplemented Probiotic Fermented Milk. *Academic Food Journal*. 11(3–4). P. 6–15.
- [9] Rognien, M. (2010). Yogurt as a Vehicle for Omega-3 Fatty Acid Enrichment: thesis. 122 p.
- [10] Kaushik, R., Arora, S.(2017). Effect of calcium and vitamin D2 fortification on physical, microbial, rheological and sensory characteristics of yoghurt. *International Food Research Journal*. 24(4). P. 1744.
- [11] Fu, Y. [et al.] (2021). Associations among Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, the Gut Microbiota, and Intestinal Immunity. *Mediators of Inflammation*. Vol. 2021. P. 1–11.
- [12] Dayangaç A., Erdem, B. (2017). The Metabolic Relationships between Probiotics and Fatty Acids. *Acta Physica Polonica*. 132(3-II). P. 816–818.
- [13] Vlaseva, R., Perifanova-Nemska, M, Denev, P. (2012). Development of technology for lactic acid beverage enriched with omega-3 and omega-6 fatty acids and dietary fibre. *Conference Narossa*. P. 2.
- [14] Associations among Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, the Gut Microbiota, and Intestinal Immunity. <https://www.hindawi.com/journals/mi/2021/8879227/>

- [15] Tian, X. [etal.]. (2020). The supplement of vitamin C facilitates l-lactic acid biosynthesis in *Lactobacillus thermophilus* A69 from sweet sorghum juice coupled with soybean hydrolysate as feedstocks. *Industrial Crops and Products*. 146. P. 112–159.
- [16] Znamirowski, A., Szajnar, K., Pawlos, M. (2021). Effect of Vitamin C Source on Its Stability during Storage and the Properties of Milk Fermented by *Lactobacillus rhamnosus*. *Molecules*. 26(20). P. 3–9.
- [17] Singh, P. [et al.] (2020). The potential role of vitamin D supplementation as a gut microbiota modifier in healthy individuals. *Scientific Reports*. 10 (1). P. 1–14.
- [18] Nutritional Requirements and the Appropriate Use of Supplements. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780723670469500084>
- [19] Padilla, B., Frau, F., Ruiz-Matute, A.I. (2015). Production of lactulose oligosaccharides by isomerisation of transgalactosylated cheese whey permeate obtained by β -galactosidases from dairy *Kluyveromyces*. *Journal of Dairy Res.* 82. P. 356–364.
- [20] Laktuloza v suchasni medytsyni [in Ukrainian]. <https://health-ua.com/article/32424-laktuloza-v-suchasnj-meditcin-lkuvannya-zakrepy-pechnkovo-entcefalopat-gpe>
- [21] Gustaw, W., Kordowska-Wiater, M., Justyna, Koziół J. (2011). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of Food Science and Technology. Acta Sci. Pol., Technol.* 10(4). P. 455.

Надійшла до редколегії 12.04.2023