

14. Патент на винахід 107506 С2, МПК G 01N 33/00 (2015.01). Спосіб визначення біологічної активності об'єктів природного походження [Текст] / Хомич Г. П., Вікуль С. І., Капрельянц Л. В., Осипова Л. А., Лозовська Т. С. – власник Одеська національна академія харчових технологій. – № 1/201302626; заявл. 04.03.2013; опубл. 12.01.2015, Бюл. № 1.
15. Никитина, Е. В. Янтарная кислота и ее соли как индивидуальные антиоксиданты и генопротекторы [Текст] / Е. В. Никитина, Н. К. Романова // Вестник Казанского технологического университета. – 2010. – № 10. – С. 375–381.

Показано, що внесення ячмінного та вівсяно-го солодових екстрактів у співвідношенні 95:5 як пребіотичного комплексу при виробництві пробіотичних ферментованих напоїв значно підвищує життєздатність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* Їхня біохімічна активність характеризується інтенсифікацією виділення молочної кислоти та етанолу, вторинних метаболітів, що формують високі структурні та ароматичні властивості готового продукту

Ключові слова: солодові екстракти, пробіотичні бактерії, пребіотичні комплекси, ферментовані напої, життєздатність, біохімічна активність

Показано, что внесение ячменного и овсяного солодовых экстрактов в соотношении 95:5 как пребиотического комплекса при производстве пробиотических ферментированных напитков значительно повышает выживаемость бактерий *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* Их биохимическая активность характеризуется интенсификацией выделения молочной кислоты, этанола и вторичных метаболитов, которые формируют высокие структурные и ароматические свойства готового продукта

Ключевые слова: солодовые экстракты, пробиотические бактерии, пребиотические комплексы, ферментированные напитки, выживаемость, биохимическая активность

УДК 663 : 637.138

DOI: 10.15587/1729-4061.2015.51063

ВПЛИВ СОЛОДОВИХ ЕКСТРАКТІВ НА ЛАКТОВАЦИЛЛУ ТА БІФІДОБАКТЕРІЇ У ПРОБІОТИЧНИХ НАПОЯХ

Н. В. Чепель

Кандидат технічних наук, доцент
Кафедра технології молока
і молочних продуктів*

E-mail: natachepel@yandex.ru

В. М. Кошова

Кандидат технічних наук, професор
Кафедра біотехнології
продуктів бродіння та виноробства*

E-mail: 010446@ukr.net

*Національний університет харчових технологій
вул. Володимирська, 68, м. Київ, Україна, 01601

1. Вступ

Пробіотичні ферментовані напої на молочній основі відносяться до однієї з основних категорій функціональних продуктів, що передбачає застосування пробіотичних культур *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Vacillus*, *Bacteriodes*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Propionibacterium* [1, 2]. Такі напої визначають характер і стратегію впливу на нормальну мікрофлору організму людини, що сприяє модуляції імунної системи, підтриманні мікроекології кишківнику, стимуляції росту пробіотичних культур, дезактивації канцерогенів тощо [3]. Згідно ФАО/ВООЗ, ферментований напій набуває статусу функціонального лише при кількості КУО пробіотичних культур не менше $10^6 \dots 10^7$ на 1 см^3 продукту на кінець термін зберігання [4]. За сучасними уявленнями адекватного харчування від процесів мікробної ферментації в товстому кишківнику залежить не тільки нормальне функціонування травної системи, але й стан організму в цілому. А по-

рушення нормальної діяльності кишкової мікрофлори призводить до серйозних фізіологічних змін організму людини й може бути причиною ряду важких захворювань [5].

Але, деякі види *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* як убіотики (представники нормальної мікрофлори людини) вважаються чутливими до певних компонентів молочної сировини, що послаблює зростання і накопичення їх біомаси [6]. У молоці вони розвиваються повільно, оскільки коров'яче молоко не є природним середовищем їх існування, що потребує його збагачення біфідогенними факторами різної природи [7, 8]. Іншою причиною поганого їх росту може слугувати розчинений у ньому кисень, тому що бактерії *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* – це суворі анаероби.

Отже, для досягнення бажаних рівнів зростання біомаси пробіотичних культур вважається доцільним додавання біфідогенних факторів як пробіотиків й створення анаеробного середовища.

2. Аналіз літературних даних та постановка проблеми

Термін «пребіотики» вперше ввів *R.Gibson* та встановив їх використання у якості речовин, які не гідролізуються та не абсорбуються у тонкому кишківнику людини [9]. Вони являють собою природні полімери, у яких молекули з'єднані між собою β-глікозидними зв'язками. Відсутність в ферментній системі організму людини β-глікозидаз робить їх неперетравними. Пребіотики не засвоюються у верхніх частинах шлунково-кишкового тракту та гідролізуються виключно цукролітичною (нормальною) мікрофлорою кишечника, виступаючи її нутрицевтиками (харчовими субстратами) [10]. Вони є селективним субстратом бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* для стимуляції їхнього зростання або метаболічної активності, внаслідок чого поліпшується склад мікрофлори товстого відділу кишківнику [11]. У ферментованих напоях на молочній основі дані бактерії перебувають у активному стані, а самі напої характеризуються високими профілактичними та лікувальними властивостями щодо швидкого відновлення нормальної мікрофлори кишківнику за рахунок поєднання пробіотиків та пребіотиків.

До пребіотичних сполук відносяться моноцукриди, олігоцукриди, поліцукриди, харчові волокна, пептиди, білкові речовини, органічні кислоти, вітаміни-антиоксиданти тощо, які додатково змінюють баланс кишківної мікрофлори у бік більш сприятливого для організму людини її складу; індукують позитивні ефекти не тільки на рівні шлунково-кишкового тракту, але й організму в цілому, забезпечуючи системну оздоровчу дію [12]. Їх виділяють з різних видів харчової природної сировини (соевих бобів, плодів артишоку, висівки, клітинних стінок рослин тощо) екстрагуванням або біотехнологічним шляхом із застосуванням карбогідраз [13–15].

Вченими доведено, що для досягнення оптимального пребіотичного ефекту необхідно застосовувати не окремі пребіотичні сполуки, а їх комплекси, які складаються не менше ніж з трьох речовин різної довжини молекулярного ланцюга [16]. Це пояснюється їх дією на окрему частину шлунково-кишкового тракту. Так, мономерні пребіотики (з числом молекулярних ланок 1) проявляють ефект з порожнини рота й стравоходу; димерні пребіотики (з числом молекулярних ланок 2) – на рівні шлунку до тонкого кишківнику; олігомерні пребіотики (з числом молекулярних ланок від 3 до 10) – на рівні верхніх відділів товстого кишківнику; полімерні пребіотики (з числом молекулярних ланок більше 10) – на рівні нижніх відділів товстого кишківнику. Поєднання пребіотичних сполук різної довжини молекулярного ланцюга дозволяє створити збалансовані пребіотичні комплекси з акцентованими ефектами щодо певних органів й систем (для серця, імунної системи, печінки тощо).

Тому молочна промисловість потребує пошуку нових природних джерел, які б одночасно містили пребіотичні сполуки різної довжини молекулярного ланцюга, що дозволяло б застосовувати їх у якості пребіотичного комплексу. Враховуючи потреби сьогодення, доцільним вважається застосування солодових екстрактів як пребіотичних комплексів у виробництві ферментованих напоїв на молочній основі.

Солодові екстракти (*malt extracts*) виробляються із солоду зернових культур (ячмінь, овес, жито, кукурудзи тощо). В процесі їх виробництва активні ферменти солоду розщеплюють та роблять розчинними крохмаль, білкові речовини, вуглеводи, клітковину та інші високомолекулярні речовини [17]. Тому їх харчова цінність у значній мірі обумовлена високим вмістом легкозасвоюваних цукрів та низькомолекулярних продуктів гідролізу крохмалю (мальтози, сахарози, глюкози, фруктози, ксилози, декстринів) [18]. Відомо, що бактерії *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* одержують енергію для подальшої своєї життєздатності у процесі бродіння. Спектр цукрів, які зброджують ці бактерії досить широкий: усі штами цих бактерій утилізують фруктозу; більшість з них – сахарозу, мальтозу, лактозу й рафінозу. Їх високий вміст й обумовлює пребіотичні властивості солодових екстрактів, а сукупність пребіотичних сполук з різною довжиною молекулярного ланцюгу дозволяє виділити їх як окремий пребіотичний комплекс [19].

Належне місце серед солодових екстрактів посідають ячмінно-солодовий (ЯСЕ) та вівсяно-солодовий (ВСЕ), що вирізняються за вмістом сірковмісних незамінних амінокислот (метіоніну і цистину), які лімітовані у молоці; макро- і мікроелементів (калію, кальцію, магнію, заліза, міді та цинку) та рослинних ферментів [20]. Нижче наведено хімічний склад ЯСЕ та ВСЕ у табл. 1.

Таблиця 1

Хімічний склад ЯСЕ та ВСЕ

Показник	Ячмінно-солодовий екстракт (ЯСЕ)	Вівсяно-солодовий Екстракт (ВСЕ)
Сухі речовини, %	75,85	75,80
Білкові речовини, %	3,58	4,22
Гумі речовини, %	4,83	3,62
Зола, %	1,23	1,14
Вуглеводний склад продукту, г/100 г		
Декстрини	6,64	4,95
Мальтоза	24,00	28,00
Сахароза	0,60	10,00
Глюкоза	18,00	20,00
Фруктоза	3,00	3,00
Ксилоза	0,60	–
Амінокислотний склад, г/100 г		
Лізин	3,50	4,85
Лейцин	29,87	43,10
Ізолейцин	15,88	15,20
Тирозин	19,11	22,44
Триптофан	13,06	9,30
Фенілаланін	27,06	33,00
Валін	3,32	14,04
Метіонін	1,26	4,77

Існуючі технології ферментованих напоїв на молочній основі передбачають біотехнологічне оброблення молочної основи та застосування пребіотиків після процесу сквашування, які мають наступні недоліки – низьку в'язкість та вологоутримуючу здатність, що потребує використання стабілізаторів [21]. Перспективним шляхом у вирішенні цієї проблеми може

Таблиця 2

Характеристика DVS-заквашувальні препарати «Біфівіт» та «Симбілакт» для пробіотичних ферментованих напоїв на молочній основі

DVS-заквашувальний препарат	Склад	Фізіологічна дія
«Біфівіт»	– <i>Acetobacter aceti</i> – <i>Bifidobacterium bifidum</i> – <i>Bifidobacterium adolescentis</i> – <i>Bifidobacterium longum</i> – <i>Bifidobacterium animalis</i> – <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> – <i>Lactococcus lactis subsp. diacetylactis</i> – <i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Проявляє високу ефективність в лікуванні шлунково-кишкового тракту, стафілококової інфекції, алергій, респіраторних захворювань, обмінних та імунних порушень тощо
«Симбілакт»	– <i>Acetobacter aceti</i> – <i>Bifidobacterium bifidum</i> – <i>Bifidobacterium adolescentis</i> – <i>Bifidobacterium longum</i> – <i>Bifidobacterium animalis</i> – <i>Lactobacillus acidophilus</i> – <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> – <i>Propionibacterium freudenreichi</i>	Нормалізує травлення, очищає організм від токсинів, збільшує його стійкість до різних інфекцій.

стати комбінування молочної сировини із солодовими екстрактами, зокрема, з ЯСЕ та ВСЕ, які містять гумі речовини у межах 3,62...4,83 % як природні стабілізатори колоїдних харчових систем, з подальшою ферментацією молочно – солодової суміші заквашувальними препаратами з використанням змішаних культур *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.*

3. Ціль та задачі дослідження

Проведені дослідження ставили за мету визначення впливу солодових екстрактів як пребіотичних комплексів на життєздатність та біохімічну активність змішаних культур *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у пробіотичних ферментованих напоях на молочній сировині.

Для досягнення поставленої мети вирішувались наступні наукові задачі:

- визначення впливу солодових екстрактів на життєздатність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* різних заквашувальних препаратів;
- встановлення впливу кількості внесених солодових екстрактів на життєздатності *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* різних заквашувальних препаратів;
- визначення кількісних характеристик основних метаболітів бродіння у пробіотичних ферментованих напоях на молочній сировині з солодовими екстрактами;
- дослідження компонентного складу вторинних метаболітів бродіння у пробіотичних ферментованих напоях на молочній сировині з солодовими екстрактами.

4. Матеріали та методи дослідження солодових екстрактів як пребіотичних комплексів для пробіотичних ферментованих напоїв

Для приготування пробіотичних ферментованих напоїв на молочній основі використовували пастеризоване молоко з м.ч.ж. 2,5 % згідно ДСТУ 2661:2010; DVS-заквашувальні препарати «Біфівіт» та «Симбілакт» (Vivo, Україна) як композиції змішаних культур *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.*; ЯСЕ та ВСЕ згідно ТУ 18.193 – 94 (Київський завод солодових екстрактів, Україна) як пребіотичні комплекси з наступними фізико-хімічними показниками: масова частка сухих речовин – 75,0...75,8 %, рН – 3,7...4,5, кольорність (в 10 % розчині) – 1000...1100 °ЕВС, вільний аміний азот – 180-200 мг/кг, редуруючі цукри (глюкоза, фруктоза, мальтоза, сахароза, мальтотріоза) – не менше 65 % від сухих речовин. Характеристика DVS-заквашувальні препарати «Біфівіт» та «Симбілакт» у табл. 2.

Для проведених наукових досліджень готували серії зразків пробіотичних ферментованих напоїв на молочній основі для двох заквашувальних препаратів: перший – контроль (без солодових екстрактів), другий – з 5 % ЯСЕ (розведення до масової частки сухих речовин 12 %), третій – з 5 % суміші ЯСЕ та ВСЕ (розведення до масової частки сухих речовин 12 %) у співвідношенні 95:5.

Для встановлення впливу кількості внесених солодових екстрактів на активність життєдіяльності *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* заквашувальних препаратів «Біфівіт» та «Симбілакт» додатково виробляли дослідні зразки аналогічних ферментованих напоїв з різною масовою часткою сухих речовин розведених солодових екстрактів: 12 %, 14 %, 16 %.

4. 1. Приготування зразків пробіотичних ферментованих напоїв з солодовими екстрактами

Пробіотичні ферментовані напої готували наступним чином. Солодові екстракти розводили водою у співвідношеннях 1:6,25, 1:5,35, 1:4,67 в залежності від необхідної масової частки сухих речовин відповідно 12 %, 14 %, 16 %. До 90 см³ молока з м.ч.ж 2,5 % вносили 5см³ розведених солодових екстрактів та пастеризували за температури 94...96 °С упродовж 5 хв. Суміш охолоджували до температури 37 °С та вводили 5 см³ заквашувального препарату («Біфівіт» або «Симбілакт»), сквашували 8...16 год. За зміною активної кислотності визначали тривалість проведення процесу сквашування, зокрема, до зменшення рН від 6,5 до 4,6.

4. 2. Дослідження КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у пробіотичних ферментованих напоях на молочній сировині з солодовими екстрактами

У 5 см³ усіх зразків ферментованих напоїв визначали темпи зростання бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* шляхом вимірювання на спектрофотометрі при 650 нм (компанія *Hewlett-Packard*, США) кожені перші чотири сквашування, після сквашування та упродовж чотирьох тижнів зберігання.

4. 3. Визначення молочної кислоти та етанолу у пробіотичних ферментованих напоях на молочної сировині з солодовими екстрактами

Біохімічна активність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* в присутності різних пребіотиків визначали шляхом вимірювання кінцевих продуктів ферментації (молочна кислота й етанол) з використанням газорідинного хроматографа (компанія *Agilent 7890A*, США).

Перед застосуванням газорідинної хроматографії проводили підготовку проби наступним чином. 100 мкл 15,8н HNO₃ та 14,9 см³ 9 н H₂SO₄ були додані до 1,5 см³ кожного дослідного зразку ферментованого напою з подальшим центрифугуванням упродовж 10 хв. Зберігали профільтовані розчини після центрифугування за температури – 20 °С до проведення аналізу.

Для газохроматографічного аналізу використовували: капілярну колонку *Aminex HPX-87H* (компанія *Bio-Rad Laboratories*, США). Встановлено наступні умови аналізу: газ-носії – азот, температура колонки – 65 °С, температура інжектора – 150 °С, температура детектора – 200 °С, витрати: газу-носія через колонку – 33 см³/хв, водню – 33 см³/хв, повітря – 330 см³/хв; тип детектора – полум'яно-іонізаційний.

Ідентифікацію молочної кислоти (компанія *Sigma*, Австрія) та етанолу проводили за їх стандартами, а кількісні характеристики (концентрації) визначали за калібрувальними кривими розведених стандартних розчинів.

4. 4. Визначення компонентного складу вторинних метаболітів бродіння пробіотичних ферментованих напоїв на молочної сировині з солодовими екстрактами

Біохімічна активність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* щодо вторинних метаболітів бродіння (одор активних ароматичних сполук) для ферментованих напоїв, сквашених на заквашувальному препараті «Біфівіт», визначали також шляхом їх вимірювання з використанням газорідинного хроматографа (компанія *Agilent 7890A*, США), але за інших газохроматографічних умов: капілярна колонка *DB-5MS* (компанія *J & W Scientific*, США), газ-носії – гелій, початкова температура колонки – 120 °С, кінцева температура колонки – 200 °С, швидкість нагріву – 4 °С/хв, температура інжектора – 230 °С, температура детектора – 250 °С, витрати: газу-носія через колонку – 33 см³/хв, водню – 33 см³/хв, повітря – 330 см³/хв; тип детектора – полум'яно-іонізаційний.

Ідентифікацію одор активних ароматичних сполук проводили порівнянням їх індексів утримування з індексами утримування автентичних стандартних з'єднань. Індокси утримування були розраховані з урахуванням часу утримування одор ароматичних сполук та вищих спиртів C₁–C₅ як зовнішніх стандартів.

Відносні концентрації одор активних ароматичних сполук були проаналізовані за допомогою комп'ютерного пакету *CHROMPROCESSOR* (*Авангард* ТМ, Україна) та розраховані на основі калібрування і відновлення.

4. 5. Статистичний аналіз

Усі результати досліджень наведено у вигляді середнього значення ± стандартне відхилення. Статистичної відмінності між експериментальними групами були оцінені за допомогою аналізу дисперсії (*ANOVA*)

з використанням пакету програмного забезпечення *COSTAT* (компанія *Software*, США).

5. Результати досліджень показників щодо впливу солодових екстрактів як пребіотичних комплексів на життєздатність та біохімічну активність змішаних культур *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у пробіотичних ферментованих напоях на молочної сировині

Внесення ЯСЕ та ВСЕ як пребіотичних комплексів при виробництві пробіотичних ферментованих напоїв на молочної основі передбачає підвищення життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* до рівня кількості КУО не менше 10⁷...10⁸ на 1 см³ продукту на кінець терміну зберігання відповідно рекомендаціям ФАО/ВООЗ для надання йому статусу функціонального продукту. Тому, для дослідження пребіотичних властивостей даних солодових екстрактів проводили визначення кількості КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у 1 см³ ферментованих напоях після сквашування та упродовж 4 тижнів зберігання, що дозволило визначити відсоток життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* на кінець терміну зберігання. Також важливим аспектом внесення солодових екстрактів було встановлення впливу їх кількості на життєздатність *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* (кількість КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.*), яка, навіпаки, не гальмувала б їх ріст та розвиток.

Іншим вагомим показником впливу ЯСЕ та ВСЕ на бактерії *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* було дослідження біохімічної активності пробіотичних культур, що характеризувалась концентраціями основних та вторинних метаболітів бродіння, які формували структуру та сенсорні характеристики готового продукту.

5. 1. Визначення впливу солодових екстрактів на життєздатність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* заквашувальних препаратів «Біфівіт» та «Симбілакт»

Для оцінки впливу солодових екстрактів на життєздатність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* заквашувальних препаратів «Біфівіт» та «Симбілакт» першочергово визначали кількість КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у 1 см³ дослідних зразків пробіотичних ферментованих напоїв, що характеризувало сприятливість умов їх росту та розмноження у даному поживному середовищі упродовж перших 4 годин сквашування як періоду логарифмічної фази розвитку клітин бактерій. Результати досліджень представлено в табл. 3.

Наступним важливим етапом оцінки пребіотичних властивостей ЯСЕ та ВСЕ є визначення відсотку життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* упродовж терміну зберігання ферментованих напоїв. Цей показник характеризував збереження активності життєдіяльності пробіотичних культур під час їх зберігання й розраховувався як співвідношення кількості КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у 1 см³ ферментованого напою після 4 тижнів зберігання до кількості КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у 1 см³ ферментованого напою зразу після сквашування. Одержані результати досліджень зведено у табл. 4.

Таблиця 3

Кількість КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у 1 см³ ферментованого напою упродовж 4 год сквашування

Зразки ферментованих напоїв	Загальна кількість КУО бактерій <i>Lactobacillus spp.</i> та <i>Bifidobacterium spp.</i> у 1 см ³ ферментованого напою, КУО/см ³					
	Контроль (без солодових екстрактів)	Молоко+5 % ЯСЕ		Молоко+5 % (95 % ЯСЕ з 5% ВСЕ)		
ЗАКВАШУВАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ «БІФІВІТ»						
	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifido-bacterium spp.</i>	<i>Lacto-bacillus spp.</i>	<i>Bifido-bacterium spp.</i>	<i>Lacto-bacillus spp.</i>	<i>Bifido-bacterium spp.</i>
1год	12100±128	12470±132	13760±133	12900±133	13840±134	13100±132
2год	1214000±1180	1530000±1285	1642000±1294	2085000±1334	1840000±1312	2234000±1347
3год	2170000±1345	2322000±1348	2490000±1350	2590000±1352	2580000±1351	2710000±1423
4год	2182000±1351	2362000±1345	2579000±1348	2590000±1349	2670000±1351	2710000±1353
ЗАКВАШУВАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ «СИМБЛАКТ»						
	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifido-bacterium spp.</i>	<i>Lacto-bacillus spp.</i>	<i>Bifido-bacterium spp.</i>	<i>Lacto-bacillus spp.</i>	<i>Bifido-bacterium spp.</i>
1год	10200±116	12250±128	10890±118	12700±129	11370±121	12810±129
2год	804000±996	905000±1012	835000±1004	1060000±1095	847000±997	1135000±1100
3год	1170000±1112	1460000±1182	1310000±1154	1370000±1157	1324000±1158	1407000±1180
4год	1490000±1192	1525000±1285	1395000±1179	1418000±1177	1435000±1181	1465000±1182

Таблиця 4

Вплив ЯСЕ та ВСЕ на відсоток життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* упродовж 4 тижнів зберігання ферментованих напоїв

Зразки ферментованих напоїв	Загальна кількість КУО бактерій <i>Lactobacillus spp.</i> та <i>Bifidobacterium spp.</i> у 1 см ³ ферментованого напою, КУО/см ³		
	Контроль (без солодових екстрактів)	Молоко+5 % ЯСЕ	Молоко+5 % (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ)
ЗАКВАШУВАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ «БІФІВІТ»			
0 тиждень	1,78±0,06*10 ⁸	1,69±0,05*10 ⁸	2,07±0,09*10 ⁸
4 тиждень	6,65±0,15*10 ⁷	1,12±0,04*10 ⁸	1,59±0,04*10 ⁸
% життєдіяльності	37,4±0,1	66,2±0,2	75,7±0,3
ЗАКВАШУВАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ «СИМБЛАКТ»			
0 тиждень	1,98±0,07*10 ⁸	1,94±0,06*10 ⁸	1,98±0,07*10 ⁸
4 тиждень	5,65±0,11*10 ⁷	1,25±0,04*10 ⁸	1,50±0,04*10 ⁸
% життєдіяльності	28,5±0,2	64,4±0,2	72,4±0,4

5. 2. Встановлення впливу кількості внесених солодових екстрактів на життєздатність *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* заквашувальних препаратів «Біфівіт» та «Симбілакт»

Одним із важливих факторів впливу на життєздатність *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* є поживне середовище, від якого залежить інтенсивність їх росту та розвитку. Сприятливі умови поживного середовища для даних бактерій залежать не лише від вмісту есенціальних біологічно активних речовин молочної основи та солодових екстрактів, а й їх кількостей, які можуть, навпаки, гальмувати їх життєздатність. Тому готували серію пробіотичних ферментованих напоїв із внесенням солодових екстрактів з різною масовою часткою сухих речовин (відповідно

12 %, 14 %, 16 %) та визначали кількість КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* після процесу сквашування (табл. 5).

Таблиця 5

Встановлення впливу кількості внесених солодових екстрактів на активність життєдіяльності *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* заквашувальних препаратів «Біфівіт» та «Симбілакт»

Зразки ферментованих напоїв	Загальна кількість КУО бактерій <i>Lactobacillus spp.</i> та <i>Bifidobacterium spp.</i> у 1 см ³ ферментованого напою, КУО/см ³		
	Контроль (без сусла)	Молоко+5 % ЯСЕ	Молоко+5 % (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ)
ЗАКВАШУВАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ «БІФІВІТ»			
12 % СР	1,78±0,06*10 ⁸	1,69±0,05*10 ⁸	2,07±0,09*10 ⁸
14 % СР	–	1,21±0,04*10 ⁸	2,16±0,09*10 ⁸
16 % СР	–	1,13±0,05*10 ⁸	2,03±0,09*10 ⁸
ЗАКВАШУВАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ «СИМБЛАКТ»			
12 % СР	1,98±0,08*10 ⁸	1,94±0,07*10 ⁸	1,98±0,07*10 ⁸
14 % СР	–	1,99±0,08*10 ⁸	2,02±0,09*10 ⁸
16 % СР	–	1,95±0,08*10 ⁸	2,01±0,09*10 ⁸

5. 3. Визначення кількісних характеристик основних метаболітів бродіння у пробіотичних ферментованих напоях на молочної сировині з солодовими екстрактами

У процесі життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* проходить обмін речовин у їх клітинах, в результаті якого клітини одержують необхідні поживні речовини, а самі виділяють основні (у значних концентраціях) та вторинні (у низьких концентраціях) метаболіти.

Молочна кислота є одним із основних кінцевих продуктів метаболізму молочнокислих бактерій. Вона

має важливе значення при виробництві ферментованих напоїв на основі молочної сировини за наступних аспектів. По-перше, молочна кислота допомагає дестабілізувати міцели казеїну, розщеплюючи колоїдний кальцієвоказеїнофосфатний комплекс у розчинну фракцію фосфат кальцію, яка дифундує у водну фазу молока. При цьому міцели казеїну поступово втрачають кальцій, що призводить до коагуляції казеїну за рН 4,6...4,7 з утворенням розчинного лактат кальцію та формування гелю (структури) ферментованого напою. По-друге, молочна кислота надає ферментованим напоям характерний смак з гострими та кислими присмаками, а також може сприяти утворенню специфічних тонів аромату продукту, зокрема, горіховому.

Сучасне бачення біохімії молочнокислого бродіння розглядається з точки зору продукування пробіотичними культурами ізомерів молочної кислоти. Молочна кислота існує у двох енантіомерних формах (*D* (-) – молочна кислота та *L* (+) – молочна кислота) через його асиметричний вуглець C_2 . Присутність того чи іншого ізомера молочної кислоти визначає фізико-хімічні показники готового продукту завдяки можливості повороту поляризованого світла [22]. Наявність ізомер – конкретного ферменту у молочнокислих бактеріях є вирішальним фактором для продукування певного ізомеру молочної кислоти шляхом синтезу лактату з пірватату. *L* (+) – молочна кислота одержується за присутності *L*-молочної кислоти дегідрогенази (*L*-МКДГ), що міститься у бактеріях, рослинах й тваринах. *D*(-) –молочна кислота виробляється групою *D* – молочної кислоти дегідрогенази, які структурно не пов'язаних з *L*-МКДГ [23].

Молочна кислота зазвичай присутня у крові людини за рахунок діяльності мікрофлори шлунково-кишкового тракту або через розщеплення глікогену крові [24]. Підвищений вміст *D*(-) – молочної кислоти в сироватці крові (≥ 3 ммоль/дм³) може призводити до *D* – лактат ацидозу. Це захворювання частіше зустрічається у людей, які страждають від больових колітів короткого кишківника [25]. У пацієнтів з *D* – лактат ацидозом проявляються неврологічні дисфункції, що характеризуються атаксією, невиразною мовою, галюцинаціями, сонливістю, незграбністю, млявістю, запамороченням тощо [26].

Бактерії родів *Lactococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* продукують тільки *L* (+) – молочну кислоту, рід *Leuconostoc spp.* – *D* (-) – молочну кислоту. А такі молочнокислі бактерії як *Lactobacillus brevis* – обидва ізомери молочної кислоти, утворюючи рацемат ізомерів (суміш *L* (+) – молочної кислоти та *D*(-) – молочної кислоти). Деякі види *Lactobacillus curvatus* виробляють фермент рацемази. Цей фермент перетворює *L*(+) – молочної кислоти з *D* (-) – молочної кислоти [27]. За сучасними уявленнями про здорове харчування кисломолочні продукти повинні містити концентрацію молочної кислоти не більше 1800см³/дм³, що вказуватиме на малу присутність *D*(-) – молочної кислоти, яка призводить до *D*-лактат-ацидозу [28].

Іншим основним метаболітом, який дозволяє оцінити процес ферментації, є етанол. Бактерії *Bifidobacterium spp.* у процесі катаболізму лактози продукують, в

основному, молочну кислоту з дуже низькими концентраціями оцтової та мурашиної кислоти, етанолу за гомоферментативним метаболічним шляхом, а бактерії *Lactobacillus spp.* – за гетероферментативним, у результаті якого синтезуються одна молекула молочної кислоти, етанол і CO_2 з однієї молекули гексози. Концентрації етанолу вказують на тип протікання молочнокислого бродіння, який спричиняють загалом у своїй сукупності мікроорганізми заквашувальних препаратів.

Встановлені концентрації молочної кислоти у контролі та дослідних ферментованих напоях показано на рис. 1.

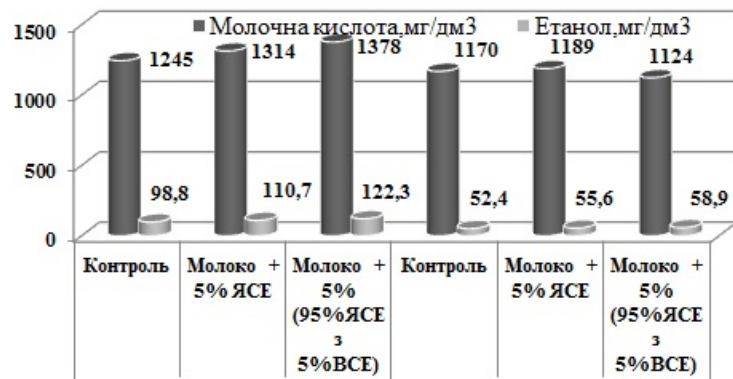


Рис. 1. Концентрації молочної кислоти та етанолу у пробіотичних ферментованих напоях на молочної сировині з солодовими екстрактами

5. 4. Дослідження компонентного складу вторинних метаболітів бродіння у пробіотичних ферментованих напоях на молочної сировині з солодовими екстрактами

У разі протікання молочнокислого бродіння виділяються вторинні метаболіти, що відносяться до одор активних ароматичних сполук різних органічних класів: нелеткі сполуки (молочна, пірвіноградна, щавлева або бурштинова кислоти), леткі кислоти (мурашина, оцтова, пропіонова або масляна), карбонільні сполуки (ацетальдегід, ацетон, ацетоїн або діацетил), деякі амінокислоти або сполуки, утворені при термічному розпаді білків, жирів або лактози [29]. Виділення цих сполук у певних масових співвідношеннях якраз дозволяє оцінити біохімічну активність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* заквашувальних препаратів «Біфіт» та «Симбілакт» з їх впливом на формування аромату пробіотичних ферментованих напоїв із солодовими екстрактами.

При сенсорних дослідженнях пробних ферментованих напоїв кращих органолептичних показників набули зразки з солодовими екстрактами (розведення до масової частки сухих речовин 14 %) та застосуванням заквашувального препарату «Біфівіт», які мали в'язку однорідну консистенцію із порушеним згустком, чистий кисломолочний ароматом та смак з злагодженими тонами та присмаками ЯСЕ і ВСЕ. А так як у виробництві пробіотичних ферментованих напоїв важливо досягти оптимального поєднання функціональних та технологічних властивостей, то в подальшому дослідження компонентного складу вторинних метаболітів бродіння проводили лише для пробіотичних ферментованих напоїв на молочної сировині з солодовими екстрактами, сквашених на заквашувальному препараті «Біфівіт» (табл. 6).

Таблиця 6

Концентрації одор активних ароматичних сполук пробіотичних ферментованих напоїв на молочній сировині з солодовими екстрактами сквашених на заквашувальному препараті «Біфівіт»

Вторинні метаболіти бродіння	Концентрації одор активних ароматичних сполук, мг/см ³		
	Контроль (молоко з м.ч.ж, 2,5 %)	Молоко + 5 % ЯСЕ	Молоко + 5 % (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ)
ацетальдегід	45,5±0,06	36,5±0,05	27,00±0,04
метилацетат	17,83±0,04	15,12±0,04	10,61±0,06
етилацетат	93,44±0,51	91,67±0,51	85,11±0,11
метанол	14,55±0,08	15,18±0,03	16,32±0,03
2-фенілетилетанол	46,75±2,39	74,77±2,94	82,82±5,63
n-пропанол	14,74±0,10	13,34±0,10	11,84±0,01
3-(метилтіо)-1-пропанол	4,56±0,10	10 7,05±0,63	12,80±0,97
ізобутанол	35,15±0,19	34,22±0,18	29,30±0,04
2-метил-1-бутанол	0,78±0,05	74,66±0,27	77,37±0,27
3-метил-1-бутанол	46,04±4,93	201,11±1,24	211,11±1,24
бутанова кислота	0,02±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00
3-метил бутанової кислоти	0,43±0,01	0,76±0,06	1,41±0,11
2-метил бутанової кислоти	0,57±0,03	0,90±0,04	1,70±0,04
етилдеканоат	2,80±0,07	4,83±0,21	11,20±1,03
додеканоат	2,92±0,04	3,69±0,22	5,84±1,27
тетрадеканоат	27,85±4,34	40,38±3,89	90,01±24,55

Сенсорна оцінка усіх зазначених дослідних зразків засвідчила їх високі органолептичні показники. Але за ароматичними властивостями було виділено ферментований напій з солодовим сусликом із 95 % ЯСЕ та 5 % ВСЕ, який характеризувався кисломолочним ароматом із злегка солодовими та солодко-квітковими тонами.

6. Обговорення результатів дослідження солодових екстрактів як пребіотичних комплексів для пробіотичних ферментованих напоїв

Порівняльна характеристика кількості КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* в 1 см³ усіх дослідних зразках (табл.3) упродовж 4 год показала, що більш інтенсивне зростання навіть після 1 год сквашування спостерігалось як для *Lactobacillus spp.* на заквашувальному препараті «Біфівіт» в усіх зразках (контроль – 2182000 КУО/1 см³, молоко + 5 % ЯСЕ – 2579000 КУО/1 см³; молоко + 5 % (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ) – 2670000 КУО/1 см³), так й для *Bifidobacterium spp.* (контроль – 2322000 КУО/1см³, молоко + 5 % ЯСЕ – 2590000 КУО/1 см³; молоко + 5 % (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ) – 2710000 КУО/1 см³). Дані результати досліджень вказують ще й на те, що застосування суміші 95 % ЯСЕ та 5 % ВСЕ як пребіотичного комплексу у всіх ферментованих напоях створюють більш сприятливі умови для життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.*

Наступним кроком оцінки пребіотичних властивостей ЯСЕ та ВСЕ був аналіз відсотку життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* упродовж 4 тижнів зберігання ферментованих напоїв. Дані табл.4. засвідчили значне збереження життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* на 75,7±0,3 % у зразку з сумішню

солодових екстрактів (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ) на заквашувальному препараті «Біфівіт»; на 72,4±0,04 % у зразку з сумішню солодових екстрактів (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ) на заквашувальному препараті «Симбілакт» порівняно з контролем (28,5±0,2...37,4±0,1 %). Кількості КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у 1 см³ цих напоїв відповідали рекомендованій кількості КУО пробіотичних молочнокислих культур у харчових продуктах згідно ФАО/ВООЗ (не менше 10⁶...10⁷ на 1 см³ продукту на кінець терміну зберігання).

При збільшенні масової частки сухих речовин внесених солодових екстрактів до 14 % у ферментованих напоях спостерігалось різке збільшення кількості КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* при застосуванні обох заквашувальних препаратів, а за масової частки сухих речовин 16 % проходило їх поступове зменшення. Це пояснювалося завищеними концентраціями представників вуглеводного складу солодових екстрактів (декстринів, мальтози, сахарози, глюкози, фруктози, ксилози), що сприяло пригніченню життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* Оптимальною масовою часткою сухих речовин для введення солодових екстрактів до молочної основи обрано 14 %, що дозволило досягти найбільших значень кількостей КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у ферментованому напої з 95 % ЯСЕ та 5 % ВСЕ для двох заквашувальних препаратів («Біфівіт» – 2,16±0,09*10⁸ КУО/см³, «Симбілакт» – 2,02±0,09*10⁸ КУО/см³).

Результатом життєздатності бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* є їх біохімічна активність, яка характеризується концентраціями продукованих основних та вторинних метаболітів. Концентрації основних метаболітів – молочної кислоти і етанолу – відповідають за утворення молочного згустку пробіотичного ферментованого напою, а концентрації вторинних метаболітів – за формування його аромату і смаку.

Але, за сучасними уявленнями щодо здорового харчування кисломолочні продукти повинні мати концентрацію молочної кислоти не більше 1800 мг/дм³, що вказуватиме на незначну присутність D(-) – молочної кислоти, яка призводить до D-лактат-ацидозу [28]. Так, концентрації молочної кислоти у дослідних ферментованих напоях на заквашувальному препараті «Біфівіт» (контроль – 1245 мг/дм³, молоко + 5 % ЯСЕ – 1314 мг/дм³; молоко + 5 % (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ) – 1378 мг/дм³) у двічі вищі, ніж на заквашувальному препараті «Симбілакт» (молочна кислота: контроль – 1170 мг/дм³, молоко + 5 % ЯСЕ – 1189 мг/дм³; молоко + 5 % (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ) – 1124 мг/дм³). Чим більші концентрації молочної кислоти, тим швидше протікає процес кислотної коагуляції, що сприяло зменшенню тривалості біотехнологічного оброблення молочно-солодової суміші [21]. Поєднання бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* двох заквашувальних препаратів забезпечило виділення молочної кислоти на рівні, що не перевищувало гранично дозволених та виключало накопичення значних концентрацій D(-) – молочної кислоти.

Інтенсивне накопичення етанолу спостерігалось у дослідних зразках ферментованих напоїв, сквашених на заквашувальному препараті «Біфівіт», що приблизно на 50 % більше порівняно з ферментованими напоями на заквашувальному препараті «Симбілакт» (рис. 1). Одержані концентрації етанолу вказують на протікання гетероферментативного молочнокислого бродіння, яке спричинене загалом у своїй сукупності мікроорганізми обох заквашувальних препаратів. У разі протікання даного типу бродіння одержують ферментовані напої високих ароматичних властивостей за рахунок виділення значних кількостей ароматичних сполук бродіння як вторинних метаболітів.

Враховуючи сенсорні дослідження усіх пробних ферментованих напоїв та біохімічну активність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* двох заквашувальних препаратів, для дослідження компонентного складу вторинних метаболітів бродіння було доцільно використовувати лише пробіотичні ферментовані напої з солодовими екстрактами, сквашеними на заквашувальному препараті «Біфівіт».

Існує загальна наукова думка, що аромат й смак ферментованих напоїв, в основному, тісно пов'язаний з продукуванням летких і нелетких кислот, карбонільних сполук. Доведено, що органолептичні характеристики ферментованих напоїв на молочній сировині мають високу сенсорну оцінку при низьких концентраціях ацетальдегіду, а за типовий їх аромат відповідають наступні карбонільні сполуки – ацетон, ацетоїн або діацетил [30]. Присутність ацетальдегіду надає природньому молочнокислому аромату солодових тонів, а вміст інших карбонільних сполук – фруктові, квіткові та рослинні тони, що утворюють букет аромату готового продукту.

Дані табл. 6 показали високі концентрації усіх одор активних ароматичних сполук у зразку з сумішшю солодових екстрактів (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ), крім ацетальдегіду, що надає перевагу даному зразку (контроль – 45,5 мг/дм³, молоко + 5 % ЯСЕ – 36,5 мг/дм³; молоко + 5 % (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ) – 27,00 мг/дм³) порівняно з іншими дослідними зразками.

Одним із факторів впливу на склад вищих спиртів, кислот та ефірів є комбінації бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* Накопичення вищих спиртів при бродінні визначається інтенсивністю обміну речовин у період розмноження мікроорганізмів та пов'язано з амінуванням, утворенням кетокислот із продуктів перетворення ізолейцину та лейцину [31]. Вищі спирти також можуть утворюватись без участі амінокислот, наприклад, через оцтову кислоту за схемою: оцтова кислота → ацетоацетат → ацетон → ізопропанол [32]. Вищі спирти є леткими речовинами з певним запахом та смаком, що проявляється після утворення з них ефірів. Складні ефіри утворюються в результаті етерифікації як продукти життєдіяльності бактерій з летких або нелетких органічних кислот і вищих спиртів. Деякі дослідження ферментованих напоїв показали, що високі ароматичні властивості мають ферментовані напої з низькими концентраціями н-пропану, ізобутану та високими концентраціями 2-метил-1-бутанолу й 3-метил-1-бутанолу [33]. Тому за вмістом вищих спиртів кращим також виявився зразок з сумішшю солодових екстрактів (95 % ЯСЕ з 5 % ВСЕ) з наступними концентраціями: н-пропану – 11,84 мг/см³, ізобутану – 29,30 мг/см³, 2-метил-1-бутано-

лу – 77,37 мг/см³, 3-метил-1-бутанолу – 211,11 мг/см³. Концентрації метилацетату цього дослідного ферментативного напою (10,61 мг/см³) й етилацетату (85,11 мг/см³) є оптимальними для формування злагоженого аромату ферментованого напою, так як не перевищували порогові концентрації цих сполук (30 мг/см³ та 180 мг/см³) без надання різкого аромату фруктовій есенції.

Для усіх пробіотичних ферментованих напоїв з солодовими екстрактами, сквашеними на заквашувальному препараті «Біфівіт», 3-метилбутанова, 2-метилбутанова й бутанова кислоти у встановлених концентраціях були визнані як одор активні сполуки з приємними тонами свіжого сиру, а складні ефіри (етилдеканоат, додеканоат, тетрадеканоат) додавали квіткові та солодкі тони аромату в усіх дослідних зразках.

Отже, солодові екстракти, зокрема ЯСЕ та ВСЕ у співвідношенні 95:5, максимально підвищують життєздатність бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* та позитивно впливають на їх біохімічну активність з інтенсифікацією виділення молочної кислоти та етанолу; вторинних метаболітів, формуючи високі ароматичні властивості готового продукту.

7. Висновки

На основі проведених досліджень солодових екстрактів як пребіотичних комплексів для пробіотичних ферментованих напоїв, можна зробити наступні висновки:

1. Кращу життєздатність *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у ферментованих напоях з ЯСЕ та ВСЕ у співвідношенні 95 : 5 проявляли на заквашувальному препараті «Біфівіт» упродовж 4 тижнів, де їх кількість КУО/см³ через 4 год сквашування більша на 50 %; максимальний відсоток життєздатності – на 75,7 %, ніж на заквашувальному препараті «Симбілакт».

2. Оптимальною масовою часткою сухих речовин для введення солодових екстрактів до молочної основи обрано 14 %, що дозволило досягти найбільших значень кількостей КУО бактерій *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* у ферментованому напої з 95 % ЯСЕ та 5 % ВСЕ у співвідношенні 95:5 для двох заквашувальних препаратів.

3. Концентрації молочної кислоти у ферментованих напоях з ЯСЕ та ВСЕ на заквашувальному препараті «Біфівіт» у двічі вищі, ніж на заквашувальному препараті «Симбілакт», що засвідчило прискорення процесу кислотної коагуляції та зменшення тривалості біотехнологічного оброблення молочно-солодової суміші. А інтенсивне накопичення етанолу у всіх пробіотичних ферментованих напоїв вказало на протікання гетероферментативного молочнокислого бродіння.

4. Кращою ароматичною композицією вторинних метаболітів бродіння характеризувався ферментований напій із 95 % ЯСЕ та 5 % ВСЕ, що відповідав низьким концентраціям ацетальдегіду (27,00 мг/см³), н-пропану (11,84 мг/см³), ізобутану (29,30 мг/см³), ацетальдегіду (27,00 мг/см³) та високим концентраціям 2-метил-1-бутанолу (77,37 мг/см³) й 3-метил-1-бутанолу (211,11 мг/см³), а концентрації метилацетату (10,61 мг/см³) й етилацетату (85,11 мг/см³) є оптимальними для формування злагоженого аромату ферментованого напою.

Література

1. Lourens-Hattingh, A. Yogurt as probiotic carrier food [Text] / A. Lourens-Hattingh, B. C. Viljoen // *International Dairy Journal*. – 2001. – Vol. 11, Issue 1-2. – P. 1–17. doi: 10.1016/s0958-6946(01)00036-x
2. Tian Hong, B. Prebiotic and Probiotic cultured dairy products [Text] / B. Tian Hong, M. Xiang Chen // *China Dairy Industry*. – 2004. – Vol. 32. – P. 32–34.
3. Donkor, O. Survival and activity of selected probiotic organisms in set- type yogurt during cold storage [Text] / O. Donkor, S. Nilmini, P. Stolic, T. Vasiljevic, N. Shah // *International Dairy Journal*. – 2007. – Vol. 17, Issue 6. – P. 657–665. doi: 10.1016/j.idairyj.2006.08.006
4. FAO/WHO [Electronic resource]. – Guidelines for the evaluation of probiotics in food, Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, 2002. – Available at: <http://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>
5. Burgain, J. In vitro interactions between probiotic bacteria and milk proteins probed by atomic force microscopy [Text] / J. Burgain, C. Gaiani, G. Francius, A. Revol-Junelles, C. Cailliez-Grimal, S. Lebeer, et. al. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2013. – Vol. 104. – P. 153–162. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.11.032
6. Douglas, L. C. Probiotics and prebiotics in dietetics practice [Text] / L. C. Douglas, M. E. Sanders // *Journal of the American Dietetic Association*. – 2008. – Vol. 108, Issue 3. – P. 510–521. doi: 10.1016/j.jada.2007.12.009
7. Meile, L. Safety assessment of dairy microorganisms: Propionibacterium and Bifidobacterium [Text] / L. Meile, G. Blay, A. Thierry // *International Journal of Food Microbiology*. – 2008. – Vol. 126, Issue 3. – P. 316–320. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.019
8. Rayes, A. A. Enhancement of probiotic bioactivity by some prebiotics to produce bio-fermented milk [Text] / A. A. Rayes // *Life Science Journal*. – 2012. – Vol. 9, Issue 3. – P. 2246–2253.
9. Al-Sheraji, S. Prebiotics as functional foods: A review [Text] / S. Al-Sheraji, A. Ismail, M. Manap, S. Mustafa, R. Yusof, F. Hassan // *Journal of Functional Foods*. – 2013. – Vol. 5, Issue 4. – P. 1542–1553. doi: 10.1016/j.jff.2013.08.009
10. Boehm, G. Prebiotic concept for infant nutrition [Text] / G. Boehm, S. Fanaro, J. Jelinek, B. Stahl, A. Marini // *Acta Paediatr Suppl*. – 2003. – Vol. 91, Issue 441. – P. 64–67.
11. Yasmin, A. Prebiotics, gut microbiota and metabolic risks: Unveiling the relationship [Text] / A. Yasmin, M. Butt, M. Afzaal, M. Baak, M. Nadeem, M. Shahid // *Journal of functional foods*. – 2015. – Vol. 17. – P. 189–201. doi: 10.1016/j.jff.2015.05.004
12. Kurdi, P. Assessment of the prebiotic potential of oligosaccharide mixtures from rice bran and cassava pulp [Text] / P. Kurdi, C. Hansawasdi // *LWT – Food Science and Technology*. – 2015. – Vol. 63, Issue 2. – P. 1288–1293. doi: 10.1016/j.lwt.2015.04.031
13. Pandey, S. Optimization of the prebiotic & probiotic concentration and incubation temperature for the preparation of synbiotic soy yoghurt using response surface methodology [Text] / S. Pandey, H. Mishra // *LWT – Food Science and Technology*. – 2015. – Vol. 62, Issue 1. – P. 458–467. doi: 10.1016/j.lwt.2014.12.003
14. Li, W. Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke [Text] / W. Li, J. Zhang, C. Yu, L. Qing, F. Dong, G. Wang, G. Gu, Z. Guo // *Carbohydrate Polymers*. – 2015. – Vol. 121, Issue 5. – P. 315–319. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.12.055
15. Kallel, F. Production of xylooligosaccharides from garlic straw xylan by purified xylanase from *Bacillus mojavensis* UEB-FK and their in vitro evaluation as prebiotics [Text] / F. Kallel, D. Driss, F. Bouaziz, M. Neifer, R. Ghorbel, S. Chaabouni // *Food and Bioproducts Processing*. – 2015. – Vol. 94. – P. 536–546. doi: 10.1016/j.fbp.2014.07.012
16. Stam, J. A mixture of three prebiotics does not affect vaccine specific antibody responses in healthy term infants in the first year of life [Text] / J. Stam, M. Stuijvenberg, J. Garssen, K. Knipping, P. Saue // *Vaccine*. – 2011. – Vol. 29, Issue 44. – P. 7766–7772. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.07.110
17. Szwajgier, D. The addition of malt to milk-based desserts: Influence on rheological properties and phenolic acid content [Text] / D. Szwajgier, W. Gustaw // *LWT – Food Science and Technology*. – 2015. – Vol. 62, Issue 1. – P. 400–408. doi: 10.1016/j.lwt.2015.01.028
18. Kazemi, M. Mathematical modeling of crossflow microfiltration of diluted malt extract suspension by tubular ceramic membranes [Text] / M. Kazemi, M. Soltanieh, M. Yazdanshenas // *Journal of Food Engineering*. – 2013. – Vol. 116, Issue 4. – P. 926–933. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.029
19. Gebremariam, M. Investigation of fermentation conditions for teff (*Eragrostis tef*) malt-wort by *Lactobacillus amylolyticus* [Text] / M. Gebremariam, A. Hassani, M. Zarnkow, T. Becker // *LWT – Food Science and Technology*. – 2015. – Vol. 61, Issue 1. – P. 164–171. doi: 10.1016/j.lwt.2014.11.008
20. Махинько, Л. В. Використання солодових екстрактів у продуктах ко-екструзії [Текст] / Л. В. Махинько, В. М. Ковбаса, О. В. Запогоцька (Герасименко), Н. О. Ємельянова, Є. І. Ковалевська // *Наукові праці НУХТ*. – 2004. – № 15. – С. 68–70.
21. Некрасов, П. О. Інноваційна технологія біфідовмісних комбінованих кисломолочних напоїв функціонального призначення [Текст] / П. О. Некрасов, Н. А. Ткаченко // *Харчова наука та технологія*. – 2014. – Т. 2, № 27. – С. 49–56.

22. Ewaschuk, J. B. D-Lactate in human and ruminant metabolism [Text] / J. B. Ewaschuk, J. M. Naylor, G. A. Zello // *Journal of Nutrition*. – 2005. – Vol. 135. – P. 1619–1625.
23. Jin, Q. Production of l-lactate in *Leuconostoc citreum* via heterologous expression of l-lactate dehydrogenase gene [Text] / Q. Jin, J. Jung, Y. Kim, H. Eom, S. Kim, T. Kim, N. Han // *Journal of Biotechnology*. – 2009. – Vol. 144, Issue 2. – P. 160–164. doi: 10.1016/j.jbiotec.2009.08.012
24. Gleeson, T. T. Lactate: a substrate for reptilian muscle gluconeogenesis following exhaustive exercise [Text] / T. T. Gleeson, P. M. Dalessio // *Journal of Comparative Physiology B*. – 1990. – Vol. 160, Issue 3. – P. 331–338. doi: 10.1007/bf00302600
25. Brasca, M. Redox potential to discriminate among species of lactic acid bacteria [Text] / M. Brasca, S. Morandi, R. Lodi, A. Tamburini // *Journal of Applied Microbiology*. – 2007. – Vol. 103, Issue 5. – P. 1516–1524. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03392.x
26. Bongaerts, G. P. Role of bacteria in the pathogenesis of short bowel syndrome-associated d-lactic acidemia [Text] / G. P. Bongaerts, J. J. Tolboom, A. H. Naber, W. J. Sperl, R. S. Severijnen, J. A. Bakkeren, J. L. Willems // *Microbial Pathogenesis*. – 1997. – Vol. 22, Issue 5. – P. 285–293. doi: 10.1006/mpat.1996.0122
27. Csutak, E. Effect of various prebiotics on LA-5 and BB-12 probiotic bacteria multiplication, and on probiotic yoghurt production [Text] / E. Csutak // *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria*. – 2010. – Vol. 3. – P. 35–52.
28. Chramostová, J. Influence of Cultivation Conditions on the Growth of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., and *Streptococcus thermophilus*, and on the Production of Organic Acids in Fermented Milks [Text] / J. Chramostová, R. Mošňová, I. Lisová, E. Pešek, J. Drbohlav, I. Němečková // *Czech J. Food Sci.* – 2014. – Vol. 32, Issue 5. – P. 422–429.
29. Luana, N. Manufacture and characterization of a yogurt-like beverage made with oat flakes fermented by selected lactic acid bacteria [Text] / N. Luana, C. Rossana, J. Curiel, P. Kaisa, G. Marco, C. Rizzello // *International Journal of Food Microbiology*. – 2014. – Vol. 185. – P. 17–26. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.05.004
30. Mota, M. Probiotic yogurt production under high pressure and the possible use of pressure as an on/off switch to stop/start fermentation [Text] / M. Mota, R. Lopes, I. Delgadillo, J. Saraiva // *Process Biochemistry*. – 2015. – Vol. 50, Issue 6. – P. 906–911. doi: 10.1016/j.procbio.2015.03.016
31. Dragone, G. Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation [Text] / G. Dragone, S. Mussatto, J. Oliveira, J. Teixeira // *Food Chemistry*. – 2009. – Vol. 112, Issue 4. – P. 929–935. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.07.005
32. Pino, J. Analysis of volatile compounds of mango wine [Text] / J. Pino, O. Queris // *Food Chemistry*. – 2011. – Vol. 125, Issue 4. – P. 1141–1146. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.09.056
33. Park, H. Characterization of volatile components in makgeolli, a traditional Korean rice wine, with or without pasteurization, during storage [Text] / H. Park, S. Lee, S. Song, Y. Kim // *Molecules*. – 2013. – Vol. 18, Issue 5. – P. 5317–5325. doi: 10.3390/molecules18055317