

НОВІТНІ ТЕХНОЛОГІЇ ОЗДОРОВЧИХ ПРОДУКТІВ

УДК 547.458.1

Αί άääί Άί ΕΟΑ,
Ñá³ðëàí à ÄÄÍ ÈÈÁÍ ÊÎ ,
Ãàí í à ÐÓÄÄÃÑÛÊÄ

ПРЕБІОТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПРИРОДНИХ ДЖЕРЕЛ ПОЛІСАХАРИДІВ

У виробництві функціональних молочних продуктів важливе значення мають молочні продукти пробіотичного спрямування, які містять корисну мікрофлору. Постійне вдосконалення штамів мікроорганізмів відбувається з метою поліпшення їхніх технологічних і функціональних властивостей. Останні щодо пробіотичних культур здатні до імуномодуляції, синтезу вітамінів та інших корисних мікроелементів, до колонізації кишечника людини, мають високу антагоністичну активність до ентеропатогенної мікрофлори. Однією з важливих проблем покращання функціональності таких культур і продуктів в цілому є підвищення виживаності мікроорганізмів під час проходження через висококіслотне середовище шлунку та на початковому етапі колонізації кишечника.

Сучасним способом підвищення виживаності пробіотичних мікроорганізмів при проходженні через шлунок є інкапсулювання та іммобілізація пробіотичних клітин у гідроколоїдах, наприклад у карагенані, який додається до ферментованого молочного продукту. Водночас менш витратним, простим у технології та таким, що має додаткове функціональне навантаження, є застосування з цією метою пробіотичних вуглеводних компонентів, які в сукупності з пробіотичними рецептурними інгредієнтами становлять основу відносно нової асортиментної групи синбіотичних продуктів.

Пребіотики – речовини, які не засвоюються організмом людини, але водночас стимулюють життєдіяльність корисної мікрофлори кишечника. Перш за все до них відносяться сполуки вуглеводного характеру. Здебільшого це полісахариди першого та другого порядку, які

© Αί άääί Άί ΕΟΑ, Ñá³ðëàí à ÄÄÍ ÈÈÁÍ ÊÎ , Ãàí í à ÐÓÄÄÃÑÛÊÄ, 2009

стимулюють колонізацію або антагоністичні властивості молочно-кислих бактерій та біфідобактерій – основних пробіотичних культур. Дослідження *in vitro* з мікрофлорою фецес людини та чистими культурами пробіотичних мікроорганізмів показали, що подібні властивості притаманні фруктоолігосахаридам, галактоолігосахаридам, ізомальтоолігосахаридам, ксилоолігосахаридам, інуліну та лактулозі [1; 2; 3; 4].

Серед різноманітних вуглеводів-пробіотиків чільне місце посідають *фруктани* (фруктоолігосахариди та інулін) і *глюкани*. Низка досліджень показала корисний ефект інуліну на *Bifidobacterium* і *Lactobacillus*. Водночас спостерігалось зменшення кількості *Clostridium* і *Desulfovibrio*. Подібний ефект був також під час введення стійкого до перетравлювання крохмалю – стимулювання *Lactobacillus* при одночасному пригніченні *Enterobacter* [5; 6]. Основним промислово важливим джерелом фруктанів є інулін і топінамбур, а глюканів – зернобобові культури.

Природні джерела фруктанів містять суміш оліго- та полісахаридів, які складаються з фруктози. Це дисахариди інулобіоза, ізомальтулоза, галактосахароза, олігофруктози, лінійні поліфруктози – леван та інулін. Останні різняться між собою ступенем полімеризації та зазвичай містять понад десяти залишків молекул фруктози. Відмінністю інуліну від левану є наявність β -2-1-глікозидного зв'язку. Також зустрічаються розгалужені та циклічні поліфруктози. Ступінь полімеризації рослинних поліфруктоз не перевищує 200 одиниць, тоді як мікробних сягає 100 000 одиниць, при цьому останні характеризуються значною розгалуженістю [7].

У зернобобових β -глюкани (суміш полісахаридів глюкози з β -1-3- та β -1-4-глікозидними зв'язками) містяться разом із арабіноксиланами. Останні є полісахаридами, які складаються з ланцюга β -D-ксилози з β -1-4-глікозидним зв'язком і приєднаних до нього залишків α -L-арабінози.

Дослідженнями встановлено пробіотичні властивості олігосахаридів також і з інших джерел, зокрема бурих водоростей, які представлені переважно *фукоїданами*, *альгінатами* та *ламінарином*. *Фукоїдани* – полісахаридні утворення з L-дезоксигалактози (F-фукоїдану) або L-дезоксигалактози та глюкуронової кислоти у співвідношенні 80/20 (U-фукоїдану). *Альгинати* (солі альгінової кислоти) – полісахариди, що складаються з поліуронових кислот (L-глюкуронової та D-мануронової), ступінь полімеризації яких становить 80–85 одиниць. *Ламінарин* – глюкан лінійної структури з β -1-3-глікозидним зв'язком [8; 9; 10].

Мета дослідження – визначення рівня пробіотичної активності природних джерел полісахаридів (промислово придатної сировини – цикорію кореневого, вівса й водорості ламінарії) стосовно біфідо-

бактерій і виявлення таких, які можуть рекомендуватися до рецептур ферментованих молочних напоїв спеціального дієтичного призначення.

Об'єкти дослідження – чисті монокультури біфідобактерій *Bifidobacterium longum* (МК1) і *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (МК2), а також їхня суміш у рівній пропорції (МК1+МК2) [4].

Культивування біфідобактерій проведено відповідно до методичних вказівок "Визначення кількості біфідобактерій у кисло-молочних продуктах" і вимог чинних стандартів [11; 12; 13]. Для субстратів використано водний екстракт цикорію кореневого *Chicorium intybus*, кріопорошок ламінарії та цільнозернове вівсяне борошно.

Кількість екстракту цикорію виробництва ВАТ "Славутський цикорієсушильний завод" (вміст сухих речовин 73.0, фруктанів – 21.5 % (29.5 % на с. р.) підібрана під час попередніх досліджень, ґрунтуючись на рекомендованій добовій дозі пребіотиків та біфідогенній активності [4].

Кріопорошок ламінарії японської (*Laminaria japonica* Aresch) "Ламідан" виробництва ПП "Ламідан", отриманий висушуванням по запатентованій виробником технології, вміщував 45.5 % суми полісахаридів на суху речовину. Концентрацію "Ламідану" підібрано, виходячи з рекомендацій щодо вживання, наведених в експертному висновку ГУ НДІ харчування РФ №72/з-5037/и-05 від 26.05.2005 р.

Вівсяне борошно виготовлено з цілого зерна голозерного вівса (*Avena sativa*), вміст у ньому суми полісахаридів становив 43.2 % (50.2 % на с. р.). Кількість борошна визначено, виходячи з відомостей щодо його впливу на реологічні властивості ферментованих молочних напоїв [14].

Загальну схему дослідження наведено на *рисунку*.



Схема експерименту

Після вирощування біфідобактерій у середовищі з цикорієм визначено рН середовища та приріст чисельності методом граничних десятикратних розведень і наступного висіву 1 см³ розведень 10⁵, 10⁶, 10⁷ і 10⁸ у гідролізатно-молочний агар. Після 72-годинної інкубації визначено загальну чисельність бактерій [13] та приріст кількості колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів у досліджуваних зразках [15].

Аналітична повторюваність трикратна. Наведено середні арифметичні дані серійних досліджень і їхнє середнє квадратичне відхилення (табл. 1, 2, 3).

Таблиця 1

Кількість і приріст біфідобактерій при вирощуванні в субстраті з водним екстрактом цикорію, 10⁸ · КУО/см³

Дослідні культури	Контроль	Концентрація водного екстракту цикорію в субстраті, %					
		12.0		15.0		17.0	
		дослід	приріст, разів	дослід	приріст, разів	дослід	приріст, разів
МК1	0.207±0.017	0.387±0.002	1.87	1.613±0.011	7.79	1.351±0.028	6.53
МК2	0.031±0.002	0.128±0.004	4.13	1.909±0.012	61.58	1.342±0.019	43.29
МК1+МК2	0.310±0.022	0.403±0.003	1.30	2.213±0.017	7.14	1.557±0.015	5.02

Проведені дослідження підтвердили значний пребіотичний ефект фруктанів. У субстратах із додаванням водного екстракту цикорію спостерігався найбільший приріст кількості біфідобактерій порівняно з контролем. Проте слід відзначити вищу пребіотичну активність досліджуваної субстанції щодо *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Дослідження вуглеводної активності цього штаму бактерій виявили низьку вуглеводну активність до інуліну й фруктози. Це дає змогу припустити, що пребіотична активність водного екстракту цикорію зумовлена насамперед олігофруктозами. Саме тому доцільним є частковий ферментний чи кислотний гідроліз водного екстракту цикорію для збільшення вмісту олігофруктоз.

Таблиця 2

Кількість і приріст біфідобактерій при вирощуванні в субстраті з кріопорошком ламінарії, 10⁸ · КУО/см³

Дослідні культури	Контроль	Концентрація кріопорошку ламінарії в субстраті, %			
		0.1		0.2	
		дослід	приріст, разів	дослід	приріст, разів
МК1	4.00±0.599	1.818±0.011	0.46	2.727±0.110	0.68
МК2	2.273±0.302	6.545±1.005	2.88	0.355±0.019	0.16
МК1+МК2	3.702±0.300	3.103±0.223	0.84	1.987±0.417	0.54

Слабкий стимулюючий ефект або його відсутність у кріопорошку ламінарії відзначено для обох дослідних культур. Опосередковано це свідчить про низьку мінеральну цінність першого, оскільки біфідобактерії чутливі до вмісту марганцю, магнію та заліза. Тож вміст зазначених елементів достатньо низький як для концентрату бурих водоростей.

Таблиця 3

Кількість і приріст біфідобактерій при вирощуванні в субстраті з цільнозерновим вівсяним борошном, $10^8 \cdot \text{КУО}/\text{см}^3$

Дослідні культури	Контроль	Концентрація вівсяного борошна в субстраті, %					
		3.0		5.0		7.0	
		дослід	приріст, разів	дослід	приріст, разів	дослід	приріст, разів
МК1	1.018±0.095	1.532±0.223	1.51	2.351±0.841	2.31	2.721±0.018	2.67
МК2	0.081±0.004	0.114±0.054	1.41	0.247±0.011	3.05	0.081±0.003	1.00
МК1+МК2	2.645±0.088	3.450±0.289	1.30	0.810±0.037	0.31	1.631±0.015	0.62

Вівсяне борошно показало стійкий, хоч і незначний порівняно з фруктановмісною сировиною, біфідогенний ефект. Відзначено зростання стимулювальної дії для всіх дослідних концентрацій щодо *Bifidobacterium longum* і відсутність такої відносно *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* при 7%-й концентрації. Не виявлено стимулюючого ефекту стосовно змішаної культури, що можна пояснити слабким ростом *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* при наявності вівсяного борошна. При цьому зростання біфідогенної активності в межах досліджуваних концентрацій свідчить про значний потенціал цієї сировини. Однак реологічні властивості при високому вмісті вівсяного борошна погіршуватимуться, тому, на відміну від природних екстрактів фруктанів, природні екстракти β -глюканів менш привабливі в рецептурах молочних напоїв, ферментованих біфідобактеріями.

Дослідження підтвердили значний біфідогенний ефект фруктанів, що уможливує використання в технології синбіотичних молочних напоїв, ферментованих біфідобактеріями, не лише чисті препарати фруктанів, а й екстракти з природних джерел. Для посилення біфідогенних властивостей слід зменшити частку фракції фруктанів із великою молекулярною масою шляхом гідролізу. Біфідогенний ефект альгінатів не був підтверджений, хоча це не ставить під сумнів значний профілактичний ефект концентратів бурих водоростей. Природні джерела β -глюканів виявили стійкий біфідогенний ефект, що також дає змогу рекомендувати їх використання в технології синбіотичних молочних напоїв із біфідобактеріями.

Результати досліджень довели можливість застосування доступної в Україні сировини з пребіотичними властивостями для виготовлення синбіотичних молочних напоїв, ферментованих біфідобактеріями.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. *Handbook of prebiotics* / [ed. Glenn R. Gibson, Marcel R. Roberfroid]. — Boca Raton ; London ; New York : CRC Press, 2008. — 504 p.
2. *The effect of prebiotics on production of antimicrobial compounds, resistance to growth at low pH and in the presence of bile, and adhesion of probiotic cells to intestinal mucus* / M. Brink, S.D. Todorov, J.H. Martin [et al.] // *Journal of Applied Microbiology*. — 2008. — Vol. 4, N 100. — P. 813—820.
3. *Growth and acidification performance of probiotics in pure culture and co-culture with *Streptococcus thermophilus*: The effect of inulin* / R. P. De Souza Oliveira, P. Perego, A. Converti [et al.] // *Food Science and Technology*. — 2009. — Vol. 42, N 5. — P. 1015—1021.
4. Голуб Б. О. Біфідогенні властивості цикорію (*Cichorium intybus*) / Б. О. Голуб, С. Г. Даниленко, Г. Б. Рудацька // *Товари і ринки*. — 2008. — № 2. — С. 40—48.
5. *Culture-independent microbial community analysis reveals that inulin in the diet primarily affects previously unknown bacteria in the mouse cecum* / J. H. Arajalahti, H. Kettunen, A. Kettunen [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology*. — 2002. — Vol. 68, N 10. — P. 4986—4995.
6. *A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides* / C.E. Rycroft, M.R. Jones, G.R. Gibson [et al.] // *Journal of Applied Microbiology*. — 2001. — Vol. 91, N 5. — P. 878—887.
7. *Roberfroid M. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients* / Marcel Roberfroid. — Boca Raton ; London ; New York : CRC Press, 2005. — 402 p.
8. *Venugopal V. Marine Products for Healthcare: Functional and Bioactive Nutraceuticals Compounds from the Ocean* / Vazhiyil Venugopal. — Boca Raton ; London ; New York : CRC Press, 2009. — 528 p.
9. *Grabitske H. A. Low-Digestible Carbohydrates in Practice* / Hollie A. Grabitske, Joanne L. Slavin // *Journal of the American Dietetic Association*. — 2008. — Vol. 108, N 10. — P. 1677—1681.
10. *Gudiel-Urbano M. Effect of edible seaweeds (*Undaria pinnatifida* and *Porphyra tenera*) on the metabolic activities of intestinal microflora in rats* / Montserrat Gudiel-Urbano, Isabel Goñi // *Nutrition Research*. — 2002. — Vol. 22, N 3. — P. 323—331.
11. МВК 10.10.2.2.—119—2005. Визначення кількості біфідобактерій у кисломолочних продуктах : метод. вказівки. — К. : Держ. сан.-епід. служба України ; МОЗ України, 2005.
12. *Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Готування досліджуваних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного досліджування. Частина 1. Загальні правила готування вихідної суспензії та десятикратних розведень (ISO 6887-1:1999, IDT) : ДСТУ ISO 6887-1:2003.* — [Чинний від 2004—01—10]. — К. : Держспоживстандарт України, 2005. — 10 с. (Національний стандарт України).
13. *Молоко і молочні продукти. Визначення кількості мікроорганізмів. Метод підраховування колоній за температури 30 °C (IDF 100B:1991) ДСТУ IDF 100B:2003.* — [Чинний від 2005—01—01]. К. : Держспоживстандарт України, 2005. — 10 с. (Національний стандарт України).

