

НОВІТНІ ТЕХНОЛОГІЇ ОЗДОРОВЧИХ ПРОДУКТІВ

УДК 633.78

**Богдан ГОЛУБ,
Світлана ДАНИЛЕНКО,
Ганна РУДАВСЬКА**

БІФІДОГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ ЦИКОРІЮ (*CICHORIUM INTYBUS*)

Група харчових продуктів, спрямованих на поліпшення мікрофлори кишково-шлункового тракту людини, посідає одне з чільних місць на ринку так званих функціональних продуктів. До їхнього асортименту належать пробіотичні, пребіотичні та синбіотичні продукти. Перші містять корисну мікрофлору, яка, колонізуючи кишково-шлунковий тракт, позитивно впливає на загальний фізіологічний стан людини. До таких мікроорганізмів відносять представників десятків родів та видів, однак переважають бактерії роду *Bifidobacterium*. Вони є облігатними складниками мікрофлори кишечника й існують переважно в товстій кишці, де їхня кількість сягає 10^9 – 10^{10} клітин на один грам¹. Із організму людини виділено декілька видів цих бактерій: *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. catenulatum*, *B. pseudocatenulatum* та *B. dentium*². Хоча ці бактерії ферментують досить широкий спектр моно- та дисахаридів, особливості ферментного апарату та основний шлях катаболізму, а саме – відсутність альдолаз і ферментування за спеціальним фруктозо-

¹ Goktepe I. Probiotics in food safety and human health / I. Goktepe, V. K. Juneja, M. Ahmedna ; CRC Press / Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2005. — 494 p.

² Lauer E. DNA–DNA homology, murein types and enzyme patterns in the type strains of the genus *Bifidobacterium* / E. Lauer, O. Kandler // Systematic and Applied Microbiology. — 1983. — Vol. 4 (1). — P. 42–64.

6-фосфатним шунтом, зумовлюють виражений стимулюючий ефект фруктоолігосахаридів на їхню життєдіяльність³.

Різні несприятливі чинники, в тому числі нестача поживних речовин, можуть зменшити кількість корисної мікрофлори й таким чином сприяти розвитку антагоністичної мікрофлори кишечника, яка у надмірній кількості спричиняє негативний вплив на функціонування організму. Одним із найпростіших способів подолання мікрофлорою стресових ситуацій та нормалізації мікробіоти кишечника є аліментарний – споживання пробіотичних та пребіотичних харчових продуктів.

Засвоювання основних макро- та мікронутрієнтів їжі відбувається у кишечнику до надходження у товсту кишку (місця існування основної маси пробіотичної мікрофлори), що й зумовлює виникнення певної конкуренції між організмом і мікрофлорою. Тільки важко перетравлювані компоненти їжі доходять до товстої кишки. Деяким з них притаманна пребіотична дія. Сьогодні пребіотики мають таке тлумачення: "Речовини, які піддаються частковій ферментації та призводять до визначених змін у складі та/або активності мікробіоти кишково-шлункового тракту, яка справляє позитивний ефект на здоров'я господаря"⁴.

Пребіотичними харчовими компонентами гіпотетично можуть вважатися будь-які фізіологічно активні речовини, якщо вони відповідають певним вимогам⁵:

Обов'язкові вимоги	Рекомендовані вимоги
<ul style="list-style-type: none"> • відсутність гідролізу та адсорбції у верхніх відділах кишково-шлункового тракту • здатність вибірково піддаватися ферментації під впливом одного або обмеженої кількості потенційно корисних бактерій-коменсалів кишечника, у яких спостерігається активізація метаболізму або прискорення росту 	<ul style="list-style-type: none"> • здатність зміщувати баланс кишково-шлункової мікробіоти у бік домінування корисної мікрофлори завдяки стимулюванню сахаролітичної та пригнічення алкалофільної і аерофільної мікрофлори • здатність діставатися периферійних ділянок товстої кишки з огляду на їхню важливість в етіології захворювань кишково-шлункового тракту, а також онкологічних

³ Collins M. D. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: Approaches for modulating the microbial ecology of the gut / M. D. Collins, G. R. Gibson // American Journal of Clinical Nutrition. — 1999. — Vol. 69 (5). — P. 1052—1057.

⁴ Gibson G. R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics / G. R. Gibson, H. M. Probert, J. Van Loo, R. A. Rastall, M. B. Roberfroid // Nutrition Research Reviews. — 2004. — Vol. 17 (2). — P. 259—275.

⁵ Salminen S. Functional food science and gastrointestinal physiology and function / S. Salminen, C. Bouley, M. C. Boutron-Ruault [et al] // British Journal of Nutrition. — 1998. — Vol. 80. — P. 147—171.

Нині пребіотиками у повному сенсі поданого визначення вважають ксилоолігосахариди, ізомальтоолігосахариди, олігосахариди сої (рафіноза, стахіоза), фруктоолігосахариди, лактулозу (дисахарид фруктози та галактози). Серед них широке застосування у харчових продуктах набули саме фруктоолігосахариди, полімери з ланцюгом довжиною 3–10 одиниць, який складається з β -D-фруктанів (полімери із залишків D-фруктози), сполучених β -2-1 глікозидним зв'язком і можуть містити залишки глюкози. Ці речовини є абсолютно безпечними. У США вони мають статус *GRAS* (*Generally Recognized as Safe* – абсолютно безпечні) з 1992 р. В Японії їх включено до переліку харчових продуктів та інгредієнтів *FOSHU* (*Foods for Specified Health Use* – харчові продукти для спеціального оздоровчого використання).

Харчові фруктоолігосахариди отримують шляхом гідролізу полісахаридів, які складаються з фруктози. Залежно від способу полімеризації у живих організмах такі сполуки можуть накопичуватись у вигляді інуліну (в рослинах) або левану (в бактеріях).

Найрозповсюдженішим із цих сполук є інулін. Ступінь полімеризації його становить зазвичай до 100 одиниць, здебільшого не вище 60. У природних умовах інулін накопичується як резервна речовина у кореневому цикорії, бульбах топінамбуру, жоржин, у ріпчастій цибулі, лопуху, бататі тощо (табл. 1). Крім інуліну, в цих рослинах також містяться олігофруктози, моносахариди, інші вуглеводи, які можуть певним чином впливати на розвиток пробіотичної мікрофлори.

Таблиця 1

Вміст інуліну в природних джерелах, %⁶

Джерело	Їстівна інулінвмісна частина	Вміст сухих речовин	Вміст інуліну
Артишок	Черешки	14–16	3–10
Камасія	Цибулина	31–50	12–22
Кульбаба	Листя	50–55	12–15
Лопух	Корені	21–25	3.5–4.0
Мурнонг (австралійська бульбоподібна рослина)	Бульба	25–28	8–13
Топінамбур	– " –	19–25	14–19
Цибуля	Цибулина	6–12	2–6
Цибуля-порей	– " –	15–20	3–10
Цикорій кореневий	Корені	20–25	15–20
Часник	Цибулина	40–45	9–16

⁶ Van Loo J. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet / J. Van Loo, P. Coussement, L. De Leenheer, H. Hoebregs, G. Smits // *Critical Review in Food Science Nutrition*. — 1995. — Vol. 35. — P. 525—552.

Існує ряд відомостей щодо біфідогенних, а отже й пребіотичних властивостей екстрактів інулінвмісної сировини⁷. Серед них досить багато публікацій, які підтверджують пробіотичну активність інуліну та олігофруктоз стосовно майже всіх видів пробіотичної мікрофлори за винятком *Eubacteria*⁸.

В Україні основними промислово важливими джерелами фруктоолігосахаридів та інуліну є кореневий цикорій і топінамбур. Переважна кількість публікацій, у тому числі й результати наших попередніх досліджень, доводять значний загальний профілактичний ефект цикорію при використанні його у складі харчових продуктів, що зумовлено насамперед вмістом фруктоолігосахаридів та інуліну. Отанній за стандартами *Codex Alimentarius Commissions* віднесено до харчових волокон. Він є основним функціональним пребіотичним складником цикорію⁹.

Вміст інуліну у нових вітчизняних сортах кореневого цикорію Уманський 90, Уманський 95, Уманський 96, Уманський 97, Уманський 99 сягає 13–16%¹⁰. Екстрагування теплою водою дає змогу вилучити практично всі розчинні та умовно розчинні вуглеводи з цикорію. В Україні водні екстракти цикорію кореневого виробляють ВАТ "Славутський цикорієсушильний завод" і ВАТ "Цикорій". Сьогодні на ринку представлено переважно зразки першого виробника. У попередніх дослідженнях цикорно-молочних напоїв авторами вивчено хімічний склад водних екстрактів цикорію. Виявлено, що на подіб-

⁷ Roberfroid M. A review of the bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products / M. Roberfroid, J. Van Loo // *Journal of Nutrition* — 1998. — Vol. 128. — P. 11–19; Santos A. Prebiotics and their long-term influence on the microbial populations of the mouse bowel / A. Santos, M. San Mauro, D. Marquina Diaz // *Food Microbiology*. — 2006. — Vol. 23. — P. 498–503; Li D. Prebiotic effectiveness of inulin extracted from edible burdock / D. Li, J. M. Kim, Z. Jin, J. Zhou // *Anaerobe*. — 2008. — Vol. 14. — P. 29–34.

⁸ Hartemink R. Effects of fructooligosaccharides on the human intestinal flora / R. Hartemink, M. J. R. Nout, F.M. Rombouts // *Proceedings of Fourth Seminar on Inulin*. — Wageningen, The Netherlands. — 1994. — P. 79–89; Hartemink R. Growth of enterobacteria on fructooligosaccharides / R. Hartemink, K. M. J. van Laere, F. M. Rombouts // *Journal of Applied Microbiology*. — 1997. — Vol. 83. — P. 367–374.

⁹ Голуб Б. О. Цикорій та "Цикорлакт" як складові раціону профілактичного харчування / Б. О. Голуб, Т. М. Денисенко, Н. В. Велика, Т. І. Аністратенко // *Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. "Стратегія розвитку туристичної індустрії та громадського харчування"*, 25–26 жовт. 2000 р. — К. : Київ. нац. екон.-торг. ун-т, 2000. — С. 326–328; Ципріян В. І. Застосування цикорію у фітодієтиці / В. І. Ципріян, Н. В. Велика, Т. І. Аністратенко, Г. Б. Рудавська, Б. О. Голуб // *Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. "Оздоровлююче природне харчування, розвантажувальна дієтотерапія"*, 6–9 жовт. 2000 р., Поляна. — Ужгород : Ужгородський держ. ун-т, 2000. — С. 49–53; *SAC/GL 2–1985 (rev. 1–1993) Codex Guidelines on Nutrition Labelling*.

¹⁰ Гументик Н. Я. Підвищення продуктивності цикорію та зменшення втрат коренеплодів при збиранні : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук : спец. 06.01.09 "Рослинництво" / М. Я. Гументик. — Київ, 2004. — 20, [1] с.

ність технології й сировини впливає майже однаковий вміст суми інуліну та олігофруктоз у названих водних екстрактах – близько 17–18 %¹¹.

Мета дослідження – вивчення впливу водного екстракту цикорію кореневого на розвиток різних видів біфідобактерій.

Об'єктами обрано чисті монокультури біфідобактерій *Bifidobacterium longum* (МК-1) і *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (МК-2), водний екстракт цикорію кореневого *Chicorium intybus* (ВЕЦ) із вмістом сухих речовин 73 %, інуліну й олігофруктоз – 21.5 % виробництва ВАТ "Славутський цикорієсушильний завод". Ці біфідобактерії – одні з найрозповсюджених пробіотиків, що використовуються у виробництві ферментованих молочних продуктів профілактичної дії. Монокультура *Bifidobacterium longum* виділена спеціалістами Технологічного інституту молока та м'яса УААН (паспорт культури ІМВ В 7165). Монокультура *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (*Bifidobacterium bb-12*) є закваскою прямого внесення, яка застосовується для виробництва кисломолочних напоїв (сублімована закваска АВТ-10, виробник *CHR Hansen*).

Культивування біфідобактерій проведено відповідно до Методичних вказівок "Визначення кількості біфідобактерій у кисломолочних продуктах"¹². Музейні культури відновлено у гідролізатно-молочному середовищі (найпридатнішому для розвитку й росту біфідобактерій) через низку послідовних пересівів. Інокуляти кожного із штамів МК-1 і МК-2 приготовлено окремо внесенням добових бульйонних культур. Активовану у такий спосіб культуру висіяно у кількості 3 % й інкубовано впродовж 16 год при температурі 36±1 °С. Повторюваність аналізів трикратна.

Розрахунок кількості мікроорганізмів проведено за формулою:

$$N = \frac{C}{v(n_1 + 0.1n_2)} d,$$

де N – загальна кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) мікроорганізмів;

C – сума кількості колоній у врахованих пробірках;

v – об'єм інокуляту, внесеного у пробірки під час посіву;

n_1 – кількість пробірок із першого з врахованих розведень;

n_2 – кількість пробірок із другого з врахованих розведень;

d – значення першого врахованого розведення.

Приріст кількості колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів розраховано за формулою:

¹¹ Голуб Б.О. Использование биокорректоров растительного происхождения в разработке новых видов кофейных напитков специального назначения / Б. О. Голуб // Пищевая пром-сть. — 2001. — № 2. — С. 40—42.

¹² МВК 10.10.2.2.–119–2005. Визначення кількості біфідобактерій у кисломолочних продуктах. Методичні вказівки.

$$E = 10^{\Delta \log KYO},$$

де E – значення приросту кількості колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів;
 $\Delta \log KYO$ – різниця між десятковими логарифмами кількості коло-
нієутворюючих одиниць мікроорганізмів, вирощених із додаванням
певної кількості водного екстракту цикорію та без нього¹³.

Після нарощування біфідобактерій у середовищі з цикорієм визначено його рН і приріст чисельності методом граничних десятикратних розведень і наступного висіву 1 см³ розведень 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ у гідролізатно-молочний агар. Після 72-годинної інкубації визначено загальну чисельність бактерій у досліджуваних зразках (табл. 2).

Таблиця 2

**Кількість біфідобактерій після інкубування нарощених
бульйонних культур**

Концентрація ВЕЦ, %	Кількість МК-1, КУО/см ³	Кількість МК-2, КУО/см ³
Етап 1-й		
0 (контроль)	0.60·10 ⁸	0.64·10 ⁸
3	0.79·10 ⁸	0.95·10 ⁸
5	1.09·10 ⁸	1.06·10 ⁸
13	1.81·10 ⁸	1.55·10 ⁸
32	0.48·10 ⁸	0.16·10 ⁸
Етап 2-й		
0 (контроль)	0.51·10 ⁸	0.27·10 ⁸
10	1.13·10 ⁸	0.99·10 ⁸
12	1.39·10 ⁸	1.27·10 ⁸
15	1.63·10 ⁸	1.64·10 ⁸
17	1.36·10 ⁸	1.35·10 ⁸

Наведено середні арифметичні незалежних досліджень та їхнє середнє квадратичне відхилення. Розрахунок кількості колонієутворюючих одиниць здійснено згідно з чинним стандартом (ДСТУ ISO 4833:2006. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахунку мікроорганізмів. Техніка підрахування колоній за температури 30 °С).

Дослідження проведено у два етапи. На першому проаналізовано широкий діапазон концентрацій цикорію (3, 5, 13, 32 %) із вираженим позитивним впливом на кількість біфідобактерій. У чистій культурі чисельність біфідобактерій досягала 6x10⁷ КУО/см³, тобто порівняно з початковою в інокуляті їх збільшилося у 3.6 раза. Під час

¹³ Пирог Т. П. Загальна мікробіологія : [підруч.] / Т. П. Пирог. — К. : НУХТ, 2004. — 471 с.

росту в середовищі з концентрацією ВЕЦ 32 % кількість клітин МК-1 та МК-2 зростала лише у 2.8 і 1.3 раза відповідно. Отже, спостерігався пригнічувальний ефект високих концентрацій ВЕЦ. Найбільш виражений стимулюючий ефект виявлено при внесенні 13 % ВЕЦ: кількість біфідобактерій МК-1 зросла у 10.7, а МК-2 – у 12.9 раза (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив екстракту цикорію на кількість біфідобактерій після інкубування нарощених бульйонних культур

Концентрація ВЕЦ, %	Кількість біфідобактерій, lg КУО/см ³					
	МК-1			МК-2		
	Після інкубування	Δ після інкубації	Приріст кількості, разів	Після інкубування	Δ після інкубації	Приріст кількості, разів
Етап 1-й*						
Контроль (0)	7.78±0.09	0.55	3.55	7.81±0.11	0.73	5.37
3	7.90±0.05	0.67	4.68	7.98±0.07	0.90	7.94
5	8.04±0.05	0.81	6.46	8.03±0.05	0.95	8.91
13	8.26±0.08	1.03	10.72	8.19±0.11	1.11	12.88
32	7.68±0.10	0.45	2.82	7.20±0.13	0.12	1.32
Етап 2-й**						
Контроль (0)	7.71±0.09	0.81	6.42	7.43±0.06	0.53	3.40
10	8.05±0.05	1.15	14.23	8.00±0.10	1.10	12.46
12	8.14±0.08	1.24	17.50	8.10±0.07	1.20	15.99
15	8.21±0.06	1.31	20.52	8.21±0.5	1.31	20.65
17	8.13±0.04	1.23	17.12	8.13±0.5	1.23	17.12

Примітки: * початкова кількість біфідобактерій МК-1 – 7.23±0.28 та МК-2 – 7.08±0.14 lg КУО/см³;

** початкова кількість МК-1 – 6.90 та МК-2 – 6.09 lg КУО/см³.

При доборі концентрацій ВЕЦ на другому етапі дослідження за медіану взято 13 %, при якій відбувся найбільший приріст кількості біфідобактерій. На другому етапі внесено 10, 12, 15, 17 % ВЕЦ.

Введення 10 % екстракту цикорію активізувало розвиток МК-1 у 14, а МК-2 у 12.5 раза відносно початкової кількості біфідобактерій. Внесення 12 % ВЕЦ уже збільшило ріст МК-1 у 17.5, а МК-2 майже у 16 разів.

Наведені дані свідчать про поступове наростання позитивного впливу водного екстракту цикорію на інтенсивність росту біфідо-

бактерій приблизно до 15 %. Починаючи з концентрації ВЕЦ 17 %, настає спад росту понад 3 %.

Вплив концентрації ВЕЦ більше виражений стосовно монокультури *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (МК-1), однак навіть при стабільності різниці дані знаходяться у межах помилки дослідження. Закономірність активізації росту обох монокультур із підвищенням вмісту екстракту цикорію у середовищі до меж 15–17 % є наочною, не викликає сумнівів та ілюструється кількістю колоній (рис. 1).

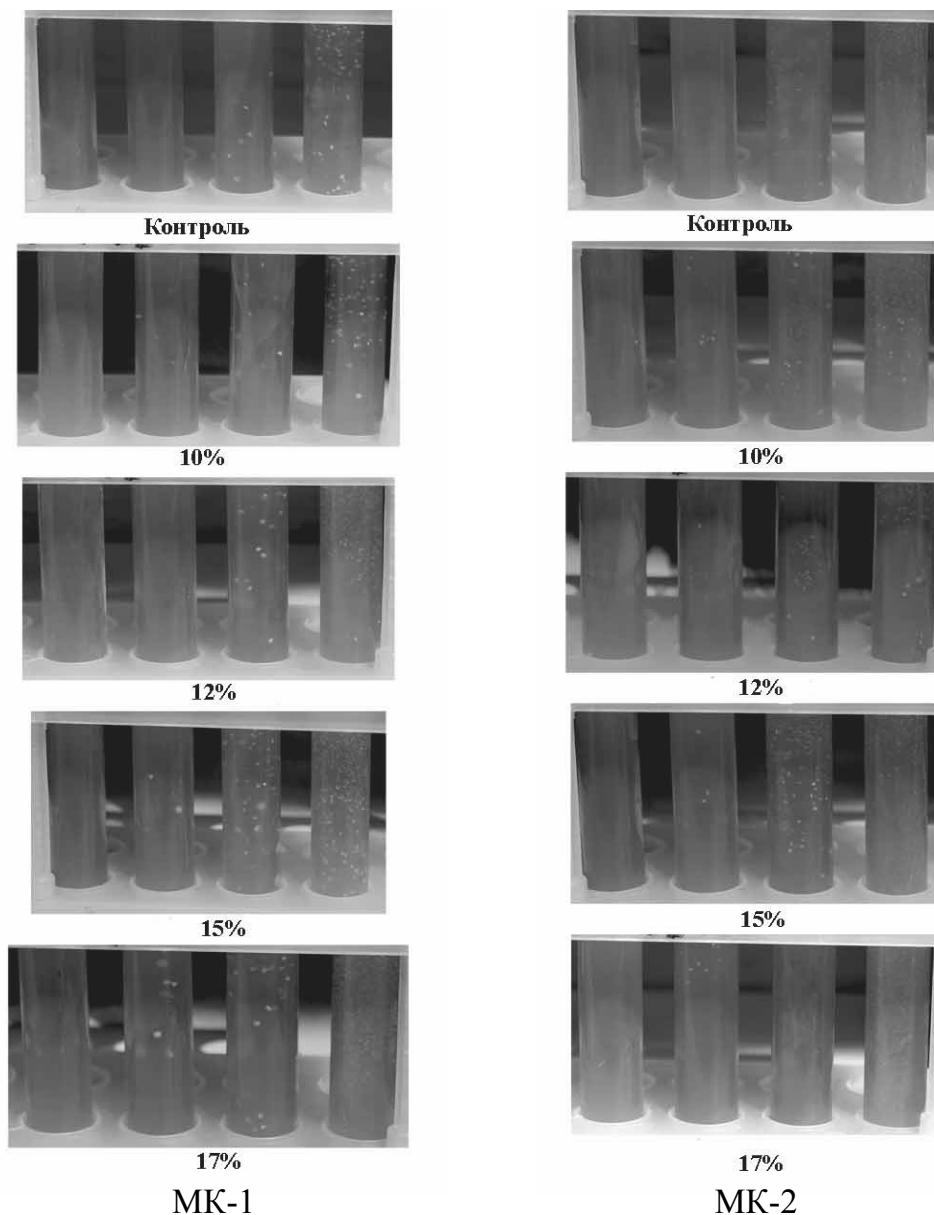


Рис. 1. Вплив концентрації ВЕЦ на інтенсивність росту монокультур біфідобактерій (розведення 10^{-5} (крайня пробірка праворуч), 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8})

Динаміка розвитку біфідобактерій також підтверджується значеннями рН середовища після 16-годинного попереднього їх нарощування у середовищах із різною концентрацією екстракту цикорію (рис. 2).

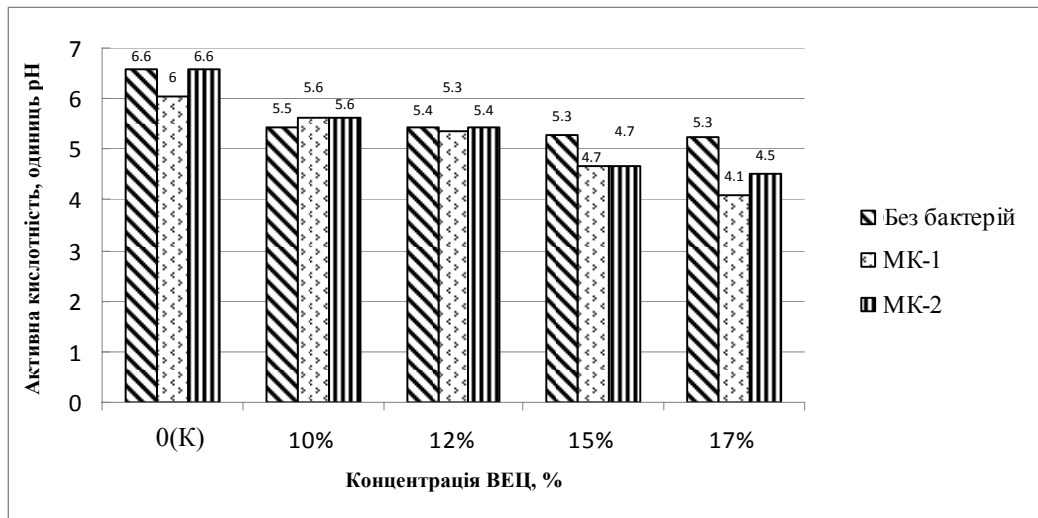


Рис. 2. Значення рН середовища після 16-годинного передінкубаційного нарощування монокультур

Серед основних продуктів життєдіяльності біфідобактерій переважають різноманітні органічні кислоти, переважно молочна та оцтова. Саме тому підвищена активність біфідобактерій повинна супроводжуватися ростом кислотності середовища. Активна кислотність інтенсивно змінювалася протягом 16 год по мірі нагромадження біфідобактерій. Незважаючи на низький рівень рН, найактивніший приріст біфідобактерій порівняно з контролем спостерігався у середовищі з концентрацією 15%. При цьому вища кислотність середовища з концентрацією ВЕЦ 17% та з меншою кількістю колоній бактерій пояснюється кислотністю самого екстракту цикорію.

Результати експерименту свідчать, що дослідженому водному екстракту цикорію притаманний біфідогенний ефект, який більш виражений для *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Водночас спостерігається вища колонієутворювальна активність *Bifidobacterium longum* за всіх концентрацій ВЕЦ і в контролі. Найкраще біфідогенний ефект для обох монокультур зафіксовано при концентрації 12–17% ВЕЦ у середовищі, що відповідає вмісту інуліну та суми олігофруктоз 2.58–3.67%. Рекомендований рівень споживання харчових волокон становить майже 20–25 г на добу, в тому числі інуліну та суми олігофруктоз – 10 г при максимальному рівні 20 г¹⁴. Отже, це уможливить розроблення синбіотичних молочних продуктів для щоденного споживання саме з таким вмістом екстракту цикорію.

¹⁴ Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ : метод. рекоменд. 2.3.1. 1915–04 (утв. 2 июля 2004 г.). — М., 2004.