

IRSTI: 34.27.19

A.G. NOGAIBAEVA<sup>1</sup>, K. MAKHMADEN<sup>2\*</sup>, Zh.K. TULEMISOVA<sup>3</sup>,  
Z.A. KOZHAKHMETOVA<sup>3</sup>, G.T. KASSENOVA<sup>4</sup>, K.A. MYRZABEK<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Almaty Technological University, Almaty, Kazakhstan

<sup>2</sup>Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

<sup>3</sup>Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan

<sup>4</sup>ENERGYMAX, Almaty, Kazakhstan

\*e-mail: mahmadenkalima@gmail.com

## INFLUENCE OF BERRY EXTRACTS ON THE TECHNOLOGICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROBIOTIC YOGURT BASED ON LACTIC ACID BACTERIA

doi:10.53729/MV-AS.2023. 04.08

### Abstract

This document describes the effect of berry extracts on the fermentation process, sensory parameters, and the number of viable bacterial cells of lactic acid bacteria in probiotic yogurt.

The document presents the results on the effect of berry extracts of *Rubus caesius* L. (blackberry) and *Rubus idaeus* L. (common raspberry) on the growth and reproduction of probiotic lactic acid bacteria, specifically *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1 and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3, as well as commercial bacterial sourdough thermophilic *Streptococcus viscosus* (BZ-TV) (StST). Additionally, the document provides results on the fermentation kinetics and sensory characteristics of the final probiotic yogurt.

As a result, it was found that the addition of berry water extracts reduces the acidity of milk at the beginning of fermentation, after which the acidity becomes almost almost equal to that of the control sample. Fermentation of milk in the control sample (without berry extracts) was observed after 4.5 hours. Samples with raspberry and blackberry extracts fermented with a difference of 15 and 30 minutes, respectively.

The addition of berry extracts during the fermentation of the probiotic product was found not to reduce its sensory qualities. In other words, no deviations in acidity, taste, and consistency of the product were observed.

When determining the number of viable lactic acid bacteria cells in the final product on the 1st, 7th and 14th days, it was shown that the addition of berry extracts to the starter culture before fermentation had a positive effect on the viability of lactic acid bacteria. As a result, abundant growth of probiotic lactic acid bacteria was determined on the 3rd day of storage, with a cell count of not less than  $1 \cdot 10^{10}$  CFU. Determination of CFU titers was carried out in the laboratory «Nurtitest» at the Kazakh Academy of Nutrition.

**Keywords:** probiotic yogurt, prebiotic, lactic acid bacteria, blackberry, raspberry.

A complete and balanced diet is the key to the health of a modern person. In this regard, the growth of the functional food market directly depends on the trend of deteriorating health in the population. It is known that poor ecology, antibiotic therapy, the use of pesticides, and unhealthy food lead to an imbalance in the human microbiome. The concept of functional nutrition comes from the philosophical traditions of the East, where there is no clear distinction between medicines and nutrition. Probiotics and prebiotics hold a special place in this concept [1,2].

In recent years, there has been an increasing focus among scientists on probiotics and prebiotics, and the publicity surrounding microbiome research has broadened the public's understanding of microorganisms. This extends beyond viewing them solely as disease-causing agents to be avoided, toward a more rational perspective that recognizes the beneficial role of microorganisms in human health. In line with these advances, public awareness and acceptance of probiotics and prebiotics continues to expand [3], with probiotic industry growth estimated at 7% per year and prebiotic growth projected at 12.7% over the next 8 years [4].

Microorganisms such as *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and other lactic acid-producing bacteria (LAB), predominantly isolated from fermented milk products and the intestinal microbiome, are used as probiotics.

Currently, many modern research methods are used, incl. sequencing method that allows to isolate and characterize a new spectrum of microorganisms used as next-generation probiotics from the human microbiome. On this basis, various bacteria have been isolated, such as *Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium* spp., *Bacteroides* spp. and *Akkermansia muciniphila* from the human intestine [5, 6].

In the search for new probiotic candidates, not only the intestinal microbiome is of great interest, but also the female genitourinary tract, oral cavity, nasopharynx, and skin [7–9]. Also, the environment, soil, and plants can be sources of isolation of new types of bacteria [10].

When creating functional products with the addition of prebiotics, it is important to determine which prebiotic is most appropriate for the particular product being developed. Consideration should be given to the special characteristics of prebiotics, including their nutritional and technological properties, such as resistance to processing conditions, minimum and maximum concentrations that lead to the desired effects, and side effects [11].

Currently, there is a narrow range of confirmed prebiotic substances, among which galactans and fructans (for example, inulin) predominate. Current prebiotics are not always beneficial. The problem with traditional transport derivatives of prebiotics is that they also promote the growth of pathogenic bacteria [12] and have different bioavailability depending on the composition of the intestinal microbiota.

A number of studies have shown the ability to use FOS (fructooligosaccharides) by pathogenic strains of *Escherichia coli* [13-17] and various pathogenic streptococci [18, 19].

In an effort to stimulate a wider group of commensal organisms, new prebiotic candidate compounds have been developed. These include carbohydrate-based substances derived from plants—the source of traditional prebiotics such as inulin—but may also include substances that mimic animal-derived substrates (eg, milk oligosaccharides; O-linked glycans found in mucins), yeast substances and many non-carbohydrate substances, including polyphenols, fatty acids, herbs, and other micronutrients [20]. Of particular interest are polyphenols and plant sources rich in them.

In this direction, a lot of research has been carried out by foreign scientists. Deisy Hervert-Hernández et al. investigated the effects of a phenolic extract from grape pomace on the growth of *Lactobacillus acidophilus*. Their main discovery was that the phenolic extract of grape pomace significantly increased the biomass of *L. acidophilus* grown in liquid culture media [21]. Scientists A.P. do Espírito Santo studied the effect of passion fruit peel powder added to milk powder and whole milk during fermentation on fermentation kinetics, texture and bacterial viability in probiotic yogurt. [22].

Premalatha Muniandy in his studies determined the effect of green, white and black tea on lactic acid production, acid formation activity and viability level of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus* spp. in yogurt during 3 weeks of storage in the refrigerator [23]. Vendrame, S et al. (2011) conducted an in vivo study where people were given juice from wild blueberry powder for 6 weeks, which showed that juice consumption leads to the growth of *Bifidobacteria* in the human intestine [24].

A number of studies have also been done related to the antimicrobial properties of berry polyphenols, and their inhibitory effect on the growth of certain pathogens. In particular, Puupponen-Pimia et al (2001,2005) investigated the inhibitory properties of berry polyphenols and organic acids on the growth of intestinal pathogens [25, 26].

In this regard, we faced the task of determining the effect of berry extracts on probiotic yogurt prepared on the basis of active strains of lactic acid bacteria isolated and selected by us. For this, a test production of probiotic yogurt with and without addition (control samples) of berry extracts of *Rubus caesius* L. (blackberry gray) and *Rubus idaeus* L. (common raspberry) was carried out.

In the experiment, we studied the effect of berry extracts on the milk fermentation process, the resulting products' sensory indicators, and on the viability of lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3 and a commercial bacterial starter culture of thermophilic viscous streptococcus (BZ-TV) (StST) in the final product. Strains *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1 and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3, with collection numbers B-RKM 0511 and B-RKM-0509, respectively, belong to the authors of this scientific article and were obtained from the collection of cultures of the Kazakh National Agrarian Research University.

### Materials and methods of research

Objects of study: collection strains of lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3, a bacterial starter culture based on Streptococcus thermophiles strain, blackberry and raspberry. Strains *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1 and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3 have collection numbers B-RKM 0511 and B-RKM-0509, respectively, and were obtained from the culture collection of the Kazakh National Agrarian Research University. Previously, these LAB strains were isolated by the authors of a scientific article (Tulemisova Zh.K., Kozhakhmetova Z.A., Kasenova G.T.) from koumiss, a traditional fermented milk product in the educational and research laboratory "Microbiocyonoses and design of probiotics" at the Kazakh National agricultural research university.

#### Preparation of mother sourdough and fermentation process

The strains *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1 and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3 were grown in MRS medium for 24 hours. Subsequently, 0.5 ml of the culture was added to test tubes containing 10 ml of milk, and the mixture was placed in a thermostat until a stable clot formed.

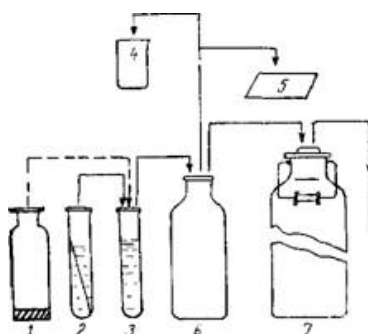


Figure 1 - Scheme of the mother sourdough preparation: 1 - dry thermophilic streptococcus from freeze-drying; 2 — liquid starter set from MRS medium; 3 - brisk culture after secondary reseeding in milk; 4 - organoleptic check of the starter in a glass; 5—check by microscopy; 6 - propagated culture in a flask; 7 - fermentation of the test probiotic product

The mixture was then cooled for 4 hours. Following this, a starter was created based on a combination of the two aforementioned LAB strains and a commercial bacterial starter culture of thermophilic viscous Streptococcus (BZ-TV) (StST) in a quantitative ratio of 2% - 2% - 1%, respectively.

#### Preparation of plant extracts

The preparation of plant extracts was conducted using the method described by Molan et al. with some modifications [27]. Berries (blackberries, raspberries) weighing 100 g were mixed with 100 ml of distilled water and ground using a blender (Philips). The resulting solution was centrifuged (3000 rpm, 15 min), and the plant liquid was then filtered through an ash filter. For sterilization purposes, the resulting liquid was autoclaved at 121°C and 1 bar for 10 minutes. The extracts were subsequently stored at -20°C for further use.

#### Test production and control of the fermentation process of the probiotic product

The prepared sourdough was used to ferment a probiotic product with and without berry extracts (control sample). The sourdough was added in the amount of 5% of the volume of milk, berry extracts 10% each. Next, the finished mixture of milk, starter and extracts was poured into sterile jars in a laminar box and placed in a thermostat at 37°C for fermentation.

During fermentation, acidity measurements were made for 3 samples using a pH meter. Measurements were taken at the beginning of fermentation and 3 and 4 hours after the start of fermentation. In order not to miss the pH -4.60 after 4 hours, measurements were taken more frequently, every 30 then 15 minutes. Fermentation proceeded until a good curd was formed and a pH of 4.60. After fermentation, the jars were cooled in the refrigerator.

#### Organoleptic evaluation

A tasting was conducted to evaluate the sensory characteristics of the products. In this study, we employed the profile, or descriptor-profile, method (Flavor Profile Method according to ISO 6564) [28]. This method is an organoleptic approach for assessing a set of features (aroma, taste, texture) using pre-selected descriptive characteristics (descriptors). It involves verbal descriptions and the quantitative expression of organoleptic features, evaluated on a points scale. Products were assessed for appearance, color, smell, taste, and texture on a 5-point scale.

#### Number of viable bacterial cells

To determine the CFU titers, 1 ml of the test product, the control sample, and the samples containing the plant extract were serially diluted 10-fold in physical solution and after 1 ml of an aliquot of the dilution was inoculated onto the surface of the MRS plates and incubated at 37°C for 48 hours. The number of viable bacterial cells was then counted. Cell counts were performed on the 1st, 7th, 14th days of product storage in the refrigerator.

## Results and discussion

### Fermentation control and schedule for probiotic products

To monitor the fermentation and the fermentation process of the desired product, acidity was measured during the entire fermentation of all 3 samples using a pH meter.

According to the data obtained from the control of fermentation, shown in Figure 3, changes in the pH values from the beginning of milk fermentation to the complete fermentation process for all three samples are shown. The graph indicates that the addition of plant extracts initially increases the acidity of milk during fermentation, after which the acidity becomes nearly equal to that of the control sample. Notably, the control sample completed fermentation in 4.5 hours, while samples with raspberry and blackberry extracts fermented with a difference of 15 and 30 minutes, respectively.

Acidity measurements for the resulting product were conducted the day after fermentation, where the control sample showed a pH value of 4.32, the blackberry sample - 4.28 and the raspberry sample - 4.22. Additionally, the graph results indicate that the addition of berry extracts does not significantly affect the acidity of the final product.

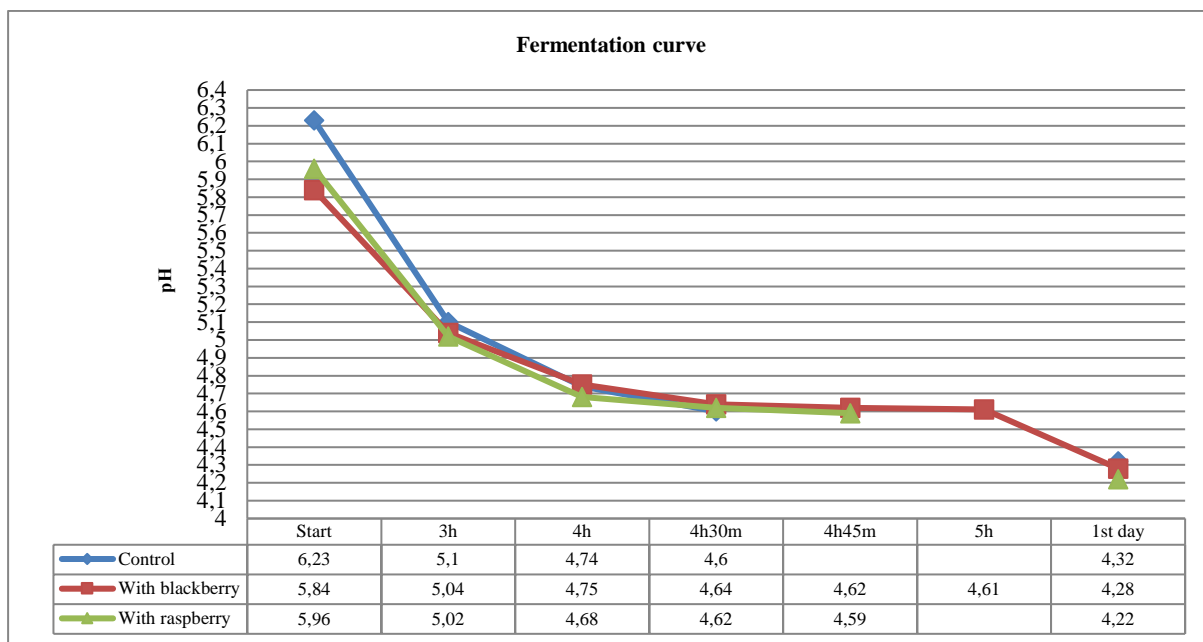


Figure 2 – Kinetic of pH changing during fermentation

Organoleptic evaluation of probiotic products

The organoleptic evaluation of the products was evaluated in terms of appearance, color, smell, taste and texture on a 5-point scale.

The data obtained from the experiment (Figure 4) showed a positive assessment of the products for each criterion. The results of the tasting did not reveal critical changes in the organoleptic characteristics of probiotic products. The control sample was slightly inferior in consistency and smell of the product to samples with the addition of plant extracts. The highest score for the best indicator for all the studied criteria was shown by the sample with blackberry.

It is important to note that when adding extracts during the fermentation of the probiotic product, no deviations in the acidity, taste and consistency of the product were detected. At the same time, the extract was distributed evenly throughout the entire structure of the product, there was no whey separation, and the clot was even and strong.

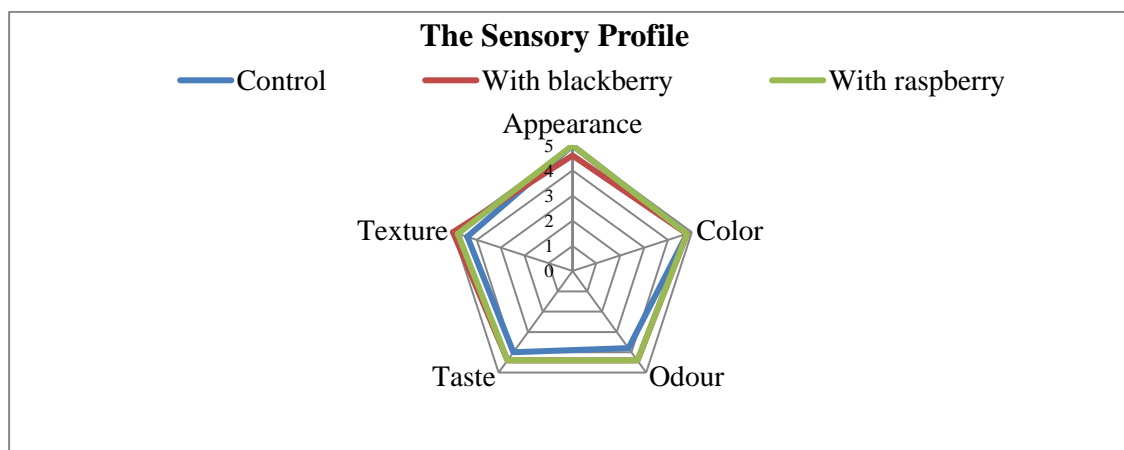


Figure 3 - Sensory profile of probiotic products

### Number of viable bacterial cells

An important indicator of the evaluation of functional probiotic products is the number of viable cells in the final product consumed.

In this regard, we were faced with the task of determining the level of survival of probiotic starter cultures in the probiotic yogurt obtained during the test production, as a result of which positive indicators were obtained.

From the presented data (Figure 4) it is shown that the addition of berry extracts to the starter culture before fermentation has a positive effect on the viability of lactic acid bacteria. The obtained probiotic yoghurts with plant extract showed high titers of bacteria compared to the control sample. At the beginning of the determination of the survival of starter probiotic cultures, results were obtained with a difference of 65 and 70 CFU, on day 7 for 17 and 12 CFU, on day 14 30 and 25 CFU.

In order to confirm our results, the determination of CFU titers in the studied products was additionally carried out in the Nurtitest laboratory at the Kazakh Academy of Nutrition. Based on the results of the obtained data, it was found that abundant growth was observed in all three studied products on the 3rd day of storage, at least  $1 \cdot 10^{10}$  CFU.

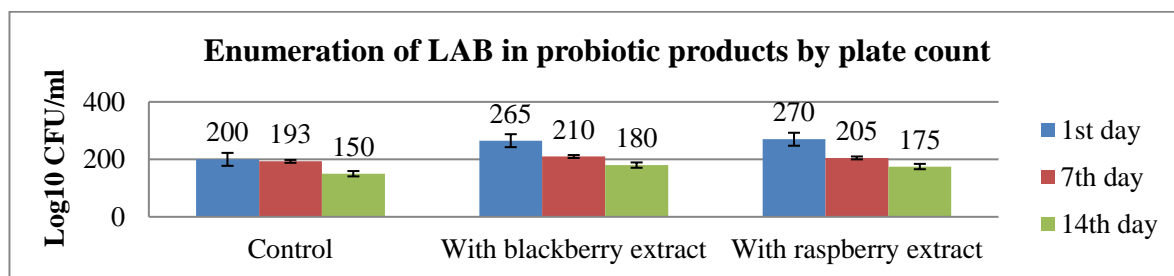


Figure 4 -Colony-forming units of LAB in probiotic products

### Conclusion

In conclusion, the data obtained indicate that the addition of blackberry and raspberry extracts in the production of probiotic yogurt, based on LAB starter cultures, did not significantly affect the fermentation kinetics. Sensory indicators were positive for all samples, and the addition of plant extracts resulted in the most improved consistency and elasticity of the clot. All three types of yogurt obtained maintained high levels of lactic acid bacteria when stored in the refrigerator.

In our opinion, the obtained indicators could represent desirable product characteristic that benefits the health of the consumer and ensures the desire of producers to improve the organoleptic properties, protect the safety and effectiveness of functional products. It could also lead to a change from the traditional methods of dairy products production, rationalization of the composition, and the development of hybrid dairy products that include non-dairy ingredients.

In this regard, we believe that our research work addresses an urgent task for the dairy industry. It should be noted that further studies are needed to investigate the viability of starter lactic acid bacteria in yogurt after modeling gastrointestinal digestion. Additionally, consideration should be given to other methods of obtaining berry extracts, particularly in the form of a powder, which would facilitate their storage and use.

### References:

- 1 Brodmann T., Endo A., Gueimonde M., Vinderola G., Kneifel W., de Vos W.M., and Gómez-Gallego C. Safety of novel microbes for human consumption: Practical examples of assessment in the European Union. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:1725 (doi:10.3389/fmicb.2017.01725)
- 2 Saubenova M., Oleynikova Ye., Chizhayeva A., Alybayeva A., Aytzhanova A., Amangeldi A., Potoroko I. Mikrobiota cheloveka i tsivilizatsii: v poiskakh vykhoda. *Mikrobiologiya zhəne virusologiya*. 2022, 3(38), 4–22 (doi/10.53729/MV-AS.2022.03.01) Убрать лишние запятыя

3 Cunningham M., Andrea M., Azcarate-Peril, Barnard A., Benoit V., Grimaldi R., Guyonnet D., Holscher H.D., Hunter K., Manurung S., Obis D., Petrova M.I., Steinert R.E., Swanson K.S., Sinderen D., Vulevic J., Gibson G.R. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics, *Trends in Microbiology*, 2021, 29(8), 667–685, ISSN 0966-842X (doi.org/10.1016/j.tim.2021.01.003)

4 Cunningham M., Azcarate-Peril M.A., Barnard A., Benoit V., Grimaldi R., Guyonnet D. and Gibson G.R. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology*, 2021, 29(8):667–685 (doi:10.1016/j.tim.2021.01.003)

5 O'Toole P., Marchesi J., Hill C. Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nat Microbiol* 2. 2017, 17057 (doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.57)

6 Brodmann T., Endo A., Gueimonde M., Vinderola G., Kneifel W., de Vos WM, Salminen S., Gómez-Gallego C. Safety of Novel Microbes for Human Consumption: Practical Examples of Assessment in the European Union. *Front Microbiol*. 2017, Sep 12; 8:1725 (doi: 10.3389/fmicb.2017.01725)

7 Maguire M., Maguire G. The role of microbiota, and probiotics and prebiotics in skin health. *Arch. Dermatol. Res.* 2017, 309 (6), 411–421 (doi: 10.1007/s00403-017-1750-3)

8 George V.T., Varghese M.M., Vaseem M.S., Thomas A., Ittycheria P.G., Sreejith C.K. The Promising Future of Probiotics: A New Era in Periodontal Therapy. *Journal of International Oral Health*, 2016, 8, 404-408 (doi:10.2047/jioh-08-03-21)

9 Hayashida Sh., Takada K., Melnikov V.G., Komine-Aizawa Sh., Tsuji N.M., Hayakawa S., How were Lactobacillus species selected as single dominant species in the human vaginal microbiota? Coevolution of humans and Lactobacillus. *Medical Hypotheses*, 2022, 163, 110858, ISSN 0306-9877 (doi.org/10.1016/j.mehy.2022.110858)

10 Kumari R., Singh A., Yadav A.N., Mishra S., Sachan A., Sachan Sh.G., Chapter 11 - Probiotics, prebiotics, and synbiotics: Current status and future uses for human health. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier. 2020, 173-190, ISBN 9780128205280 (doi.org/10.1016/B978-0-12-820528-0.00012-0)

11 Goh Y.J. and Klaenhammer T.R. Genetic mechanisms of prebiotic oligosaccharide metabolism in probiotic microbes. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2015, 6(1):137–156 (doi:10.1146/annurev-food-022814-015706)

12 Venema K., Carmo A.P. *Probiotics and Prebiotics UK*: Caister Academic Press Norfolk, p. 275 -348. ISBN: 978-1-910190-10-4 (ebook), 2015

13 Dolejska M., Villa L., Minoia M., Guardabassi L., Carattoli A. Complete sequences of IncHI1 plasmids carrying blaCTX-M-1 and qnrS1 in equine Escherichia coli provide new insights into plasmid evolution. *J. Antimicrob. Chemother*, 2014, 69 (9), 2388–2393 (doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015706)

14 Le Bouguéne C, Schouler C. Sugar metabolism, an additional virulence factor in enterobacteria. *Int.J. Med. Microbiol.* 2011, 301 (1), 1–6 (doi :10.1016/j.ijmm.2010.04.021)

15 Porcheron G., Chanteloup N.K., Trottereau A., Bree A., Schouler C. Effect of fructooligosaccharide metabolism on chicken colonization by an extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* strain. *PLOS ONE*, 2012, 7 (4), e35475 (doi: 10.1371/journal.pone.0035475)

16 Porcheron G., Kut E., Canepa S., Maurel M.C., Schouler C. Regulation of fructooligosaccharide metabolism in an extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* strain. *Mol. Microbiol.*, 2011, 81 (3), 717–733 (doi: 10.1111/j.1365-2958.2011.07725.x)

17 Schouler C., Taki A., Chouikha I., Moulin-Schouleur M., Gilot P. A genomic island of an extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strain enables the metabolism of fructooligosaccharides, which improves intestinal colonization. *J. Bacteriol.*, 2009, 191 (1), 388–393 (doi: 10.1128/JB.01052-08)

18 Hartemink R., Quataert M.C., van Laere K.M., Nout M.J., Rombouts F.M. Degradation and fermentation of fructo-oligosaccharides by oral streptococci. *J. Appl. Bacteriol.*, 1995, 79(5), 551–557 (doi: 10.1111/j.1365-2672.1995.tb03176)

19 Linke C.M., Woodiga S.A., Meyers D.J., Buckwalter C.M., Salhi H.E., King S.J. The ABC transporter encoded at the pneumococcal fructooligosaccharide utilization locus determines the ability to utilize long- and short-chain fructooligosaccharides. *J. Bacteriol.*, 2013, 195 (5), 1031–1041 (doi: 10.1128/JB.01560-12)

20 Cunningham M., Azcarate-Peril M.A., Barnard A., Benoit V., Grimaldi R., Guyonnet D., Gibson G.R. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology*, 2021, 29 (8), 667–685 (doi:10.1016/j.tim.2021.01.003)

21 Hervert-Hernández D, Pintado C, Rotger R, Goñi I. Stimulatory role of grape pomace polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* growth. *Int J Food Microbiol*, 2009, Nov 30;136(1):119-22 (doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.016)

22 do Espírito Santo A.P., Perego P., Converti A. and Oliveira M.N. Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yoghurts. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 2012, 47(2):393–399.(doi:10.1016/j.lwt.2012.01.038)

23 Muniandy P., Shori A.B. and Baba A.S. Comparison of the effect of green, white and black tea on *streptococcus thermophilus* and *lactobacillus* spp. in yogurt during refrigerated storage. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 2017, 22(1):26–30 (doi:10.1016/j.jaubas.2015.11.002)

24 Vendrame S., Guglielmetti S., Riso P., Arioli S., Klimis-Zacas D. and Porrini M. Six-week consumption of a wild blueberry powder drink increases bifidobacteria in the human gut. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(24):12815–12820 (doi:10.1021/jf2028686)

25 Puupponen-Pimia R., Nohynek L., Hartmann-Schmidlin S., Kahkonen M., Heinonen M., Maatta-Riihinen K. and Oksman-Caldentey K.M. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 98(4):991–1000 (doi:10.1111/j.1365-2672.2005.02547.x)

26 Puupponen-Pimia R., Nohynek L., Meier C., Kahkonen M., Heinonen M., Hopia A. and Oksman-Caldentey K.M. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 2001 90(4):494–507 (doi:10.1046/j.1365-2672.2001.01271.x)

27 Molan A.L., Lila M.A., Mawson J. and De S. In vitro and in vivo evaluation of the prebiotic activity of water-soluble blueberry extracts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, 25(7):1243–1249 (doi:10.1007/s11274-009-0011-9)

28 Sensory analysis – Methodology – Flavour profile methods [Text]: ISO 6564-1985. Geneva 1985

А.Г. НОГАЙБАЕВА<sup>1</sup>, К. МАХМАДЕН<sup>2\*</sup>, Ж.К. ТУЛЕМИСОВА<sup>3</sup>,  
З.А. КОЖАХМЕТОВА<sup>3</sup>, Г.Т. КАСЕНОВА<sup>4</sup>, К.А. МЫРЗАБЕК<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Алматы технологиялық университеті, Алматы, Қазақстан

<sup>2</sup>әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

<sup>3</sup> Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан

<sup>4</sup>ENERGYMAX, Алматы, Қазақстан

\* e-mail: mahmadenkalima@gmail.com

## ЖИДЕК СЫҒЫНДЫЛАРЫНЫҢ ПРОБИОТИКАЛЫҚ ЙОГУРТТЫҢ АШУ ПРОЦЕСІНЕ, СЕНСОРЛЫҚ ПАРАМЕТРЛЕРІНЕ ЖӘНЕ СҮТҚЫШҚЫЛДЫ БАКТЕРИЯЛАРДЫҢ ӨМІРШЕҢ БАКТЕРИЯЛЫҚ ЖАСУШАЛАР САНЫНА ӘСЕРІ

### Түйін

Бұл мақалада *Rubus caesius* L. (сұр қаражидек) және *Rubus idaeus* L. (қарапайым таңқурай) жидек сығындыларының *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1 және *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* 018k сүт қышқылды бактерияларының өсуі мен көбеюіне әсері, пробиотикалық йогурттың ашу кинетикасы және сенсорлық параметрлері сипатталған. Зерттеу барысында қымыздан бөлініп алынған *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1, *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* 018k-3 штамдары және *Streptococcus thermophiles* коммерциялық штаммы мен жидектердің сығындысы қосылып пробиотикалық йогурт сынама түрінде дайындалды. Бақылау үлгісі ретінде жидек сығындыларынсыз йогурт дайындалды.

Жидек сығындылары ашу процесінің алғашқы сатысында сүттің қышқылдығын төмендететіні, ал 3 сағаттан кейін сүттің қышқылдылығы бақылау үлгісімен бірдей болатындығы анықталды. Бақылау үлгісінің ашу уақыты 4,5 сағатты құрады. Содан кейін таңқурай мен қаражидек қосылған үлгілер сәйкесінше 15 және 30 минуттық айырмашылықпен ашытылды. Пробиотикалық өнімді ашыту кезінде сығындыларды қосу өнімнің қышқылдығына, дәміне және консистенциясына



эсер еткен жоқ. Сығынды өнімнің бүкіл құрылымына біркелкі таралды, сарысудың бөлінуі болмады, біркелкі және қою ұйытылды.

Сондай-ақ сынақ кезінде сүт қышқылды бактерияларының өміршең жасушаларының саны 1-ші, 7-ші, 14-ші күні анықталды. Нәтижелер ферментация алдында ашытқы бактерияларына жидек сығындыларын қосу сүт қышқылды бактерияларының өміршеңдігіне оң әсер еткенін көрсетті. Сонымен қатар, Қазақ тағамтану академиясының Nutritest зертханасында КТБ титрі анықталды. Нәтижелер пробиотикалық йогурттар үшін сақтаудың 3-ші күні кемінде  $1 \cdot 10^{10}$  КТБ мол өсім көрсетті.

**Кілтті сөздер:** каражидек, таңқурай, пребиотиктер, сүт қышқылы бактериялары.

МРНТИ: 34.27.19

А.Г. НОГАЙБАЕВА<sup>1</sup>, К. МАХМАДЕН<sup>2\*</sup>, Ж.К. ТУЛЕМИСОВА<sup>3</sup>,  
З.А. КОЖАХМЕТОВА<sup>3</sup>, Г.Т. КАСЕНОВА<sup>4</sup>, К.А. МЫРЗАБЕК<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Алматинский технологический университет, Алматы, Казахстан

<sup>2</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

<sup>3</sup>Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан

<sup>4</sup>ENERGYMAX, Алматы, Казахстан

\*e-mail: mahmadenkalima@gmail.com

## ВЛИЯНИЕ ЯГОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА ПРОЦЕСС ФЕРМЕНТАЦИИ, СЕНСОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И КОЛИЧЕСТВО ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ЙОГУРТА

doi:10.53729/MV-AS.2023.04.08

### Аннотация

В статье описывается влияние ягодных экстрактов *Rubus caesius* L. (ежевика сизая) и *Rubus idaeus* L. (малина обыкновенная) на рост и размножение молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1 и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3, кинетику ферментации и сенсорные показатели пробиотического йогурта.

В ходе исследования было сделано тестовое производство пробиотического йогурта с *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3, выделенных из кумыса, и коммерческого штамма *Streptococcus thermophiles* с добавлением ягодных водных экстрактов и без (контрольный образец).

Выяснилось, что добавление экстрактов снижает кислотность молока в начале заквашивания, а спустя 3 часа кислотность практически выравнивается с контрольным образцом. Время закваски контрольного образца составило 4,5 часа. Затем заквасились образцы с малиной и с ежевикой с разницей в 15 и 30 минут, соответственно.

Добавление экстрактов во время сквашивания пробиотического продукта не повлияло на кислотность, вкус и консистенцию продукта. Экстракт был распределен равномерно по всей структуре продукта, отделения сыворотки не было, сгусток образовался ровный и крепкий.

Также в ходе теста определялось количество жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий в 1-й, 7-й, 14-й дни. Результаты показали, что добавление ягодных экстрактов в заквасочную культуру до ферментации влияет положительно на жизнеспособность молочнокислых бактерий. Дополнительно было сделано определение титров КОЕ в лаборатории «Нутритест» при Казахской Академии питания. Результат показал обильный рост молочнокислых бактерий для пробиотических йогуртов на 3 день хранения, не менее  $1 \cdot 10^{10}$  КОЕ.

**Ключевые слова:** ежевика, малина, пребиотики, молочнокислые бактерии.

Полноценное и сбалансированное питание является залогом здоровья современного человека. Рост рынка продуктов функционального питания напрямую зависит от тенденции ухудшения здоровья населения. Плохая экология, антибиотикотерапия, использование

пестицидов в сельском хозяйстве, нездоровая пища ведут к дисбалансу микробиома человека. Концепция функционального питания происходит от философских традиций Востока, в которых нет явного различия между лекарствами и питанием. Особое место в этой концепции занимают пробиотики и пребиотики [1, 2].

Пробиотикам и пребиотикам в последние годы уделяется все больше внимания. В соответствии с этими достижениями общественное сознание и признание пробиотиков и пребиотиков продолжает расширяться [3], при этом рост индустрии пробиотиков оценивается в 7% в год, а пребиотический рост прогнозируется на уровне 12,7% в течение последних 8 лет [4].

Традиционно *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и другие бактерии, продуцирующие молочную кислоту, преимущественно выделенные из кисломолочных продуктов и фекального микробиома используются в качестве пробиотиков.

Секвенирование и современные методы культивирования позволили выделить и охарактеризовать новый спектр микроорганизмов из микробиома человека, которые могут быть пробиотиками нового поколения. Например, такие как *Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium spp.*, *Bacteroides spp.* и *Akkermansia muciniphila*, были выделены из кишечника человека [5,6].

В поиске новых кандидатов - источников пробиотиков большой интерес представляет не только микробиом кишечника человека, но и женский мочеполовой тракт, полость рта, носоглотка и кожа [7–9]. Также источниками выделения новых видов бактерий могут быть окружающая нас среда, почва и растения [10].

При создании функциональных продуктов с добавлением пребиотиков важно определить, какой пребиотик является наиболее подходящим для конкретного разрабатываемого продукта. Следует принять во внимание особые характеристики пребиотиков, в том числе их питательные и технологические свойства, такие как устойчивость к условиям обработки, минимальные и максимальные концентрации, позволяющие достичь желаемых эффектов, с учетом побочного действия [11].

В настоящее время существует узкий круг подтвержденных пребиотических веществ, среди которых преобладают галактаны и фруктаны (например, инулин). Существующие на сегодня пребиотики не всегда приносят пользу. Проблема с традиционными транспортными производными пребиотиков заключается в том, что они также способствуют росту патогенных бактерий [12] и обладают различной биодоступностью в зависимости от состава кишечной микробиоты.

В ряде исследований показана способность использования ФОС (фруктоолигосахариды) патогенными штаммами *Escherichia coli* [13-17] и различными патогенными видами стрептококков [18,19].

Стремление стимулировать более широкую группу комменсальных организмов позволило разработать новые пребиотические соединения-кандидаты. Они включают в себя вещества на основе углеводов, полученные из растений — источников традиционных пребиотиков, таких как инулин, — но могут также включать вещества, имитирующие субстраты животного происхождения (например, олигосахариды молока; О-связанные гликаны, содержащиеся в муцинах), дрожжевые вещества и многие неуглеводные вещества, включая полифенолы, жирные кислоты, травы и другие микроэлементы [20]. Особый интерес занимают полифенолы и растительные источники, богатые ими.

Очень много исследований сделано зарубежными учеными в этой области. Deisy Hervert-Hernández и др. исследовали влияние фенольного экстракта виноградных выжимок на рост *Lactobacillus acidophilus*. Основным открытием было то, что фенольный экстракт виноградных выжимок вызвал значительное увеличение биомассы *L. acidophilus*, выращенного в жидких культуральных средах [21]. А.Р. do Espírito Santo провели исследование, где они добавляли порошок кожуры маракуйи в сухое и цельное молоко во время сквашивания, изучали влияние на кинетику ферментации, текстуру и жизнеспособность бактерий в пробиотическом йогурте [22]. Premalatha Muniandy изучили

влияние зеленого, белого и черного сортов чая на производство молочной кислоты, кислотообразование и жизнеспособность *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus spp.* в йогурте во время 3-недельного хранения в холодильнике [23]. Vendrame, S и др. (2011) провели *in vivo* исследование, где людям давали пить сок из порошка дикой черники в течение 6 недель. Результат исследования показал, что потребление сока приводит к росту *Bifidobacteria* в кишечнике человека [24].

Также был проведен ряд исследований, связанных с антимикробными свойствами ягодных полифенолов, и их ингибирующим действием на рост некоторых патогенов. В частности, Руурпонен-Римиа и др. исследовали ингибирующие свойства ягодных полифенолов и органических кислот на рост кишечных патогенов [25, 26].

В этом исследовании было проведено тестовое производство пробиотического йогурта с добавлением ягодных экстрактов *Rubus caesius L.* (ежевика сизая) и *Rubus idaeus L.* (малина обыкновенная), и без добавления - контрольные образцы. Изучено влияние ягодных экстрактов на процесс ферментации, сенсорные показатели и жизнеспособность молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3, *Streptococcus thermophiles* (коммерческий штамм).

### Материалы и методы исследования

Объекты исследования: ежевика, малина, *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3, *Streptococcus thermophiles* (коммерческий штамм). *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1 и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3, коллекционные номера В-РКМ 0511 и В-РКМ-0509, соответственно, были получены из коллекции культур Казахского национального аграрного исследовательского университета. Ранее МКБ были выделены из кумыса, традиционного кисломолочного напитка в учебно-научно-исследовательской лаборатории «Микробиоцинозов и конструирование пробиотиков» при Казахском национальном аграрном исследовательском университете.

Приготовление маточной закваски и процесс ферментации.

Штаммы *Lactobacillus acidophilus* 0015k-1 и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 018k-3 выращивались в MRS среде в течение 24 часов, далее 0,5 мл вносили в пробирки с молоком (10 мл) и ставили в термостат до появления стабильного сгустка, далее охлаждали в течение 4 часов. Затем делали готовую закваску из 2 штаммов и *Streptococcus thermophiles* (коммерческий штамм), в количественном соотношении 2%–2%–1%, соответственно.

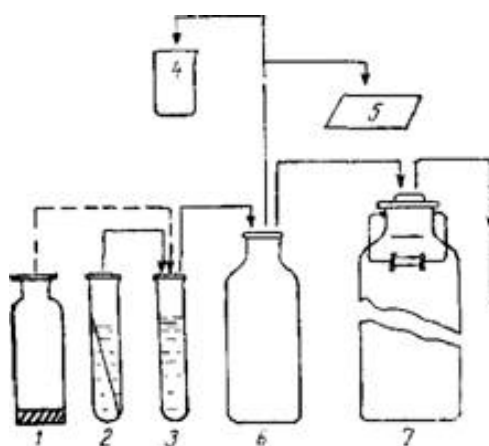


Рисунок 1- Схема приготовления маточной закваски: 1- сухой термобактериальный препарат из сублимационной сушки; 2 — жидкий заквасочный набор из MRS среды; 3— оживленная культура после второго пересева на молоке; 4 — органолептическая проверка закваски в стаканчике; 5— проверка микроскопированием; 6 — размноженная культура в колбе; 7 — заквашивание тестового пробиотического продукта

### Приготовление растительных экстрактов

Методика приготовления растительных экстрактов. Растительные экстракты были приготовлены по методике Molan и др. с некоторыми изменениями [27]. Неочищенные водные экстракты ягод (ежевика, малины) взвешивали (100 г), смешивали со 100 мл дистиллированной воды и измельчали с помощью блендера (Philips). Полученный раствор центрифугировали (3000 об, 15 мин), затем растительную жидкость фильтровали через зольный фильтр. Для стерилизации экстракты автоклавировали при 121°C при 1 БАР в течение 10 минут. Водные экстракты растений хранили при -20 °С для дальнейшей работы.

Тестовое производство и контроль процесса сквашивания пробиотического продукта

Приготовленную закваску использовали для заквашивания пробиотического продукта с ягодными экстрактами и без них (контрольный образец). Закваску вносили в количестве 5% от объема молока, ягодные экстракты - по 10 %. Далее готовую смесь из молока, закваски и экстрактов разливали в стерильные баночки в ламинарном боксе и ставили в термостат при +37°C. В течение ферментации были сделаны измерения кислотности для 3-х образцов с помощью рН метра в начале теста, через 4 часа после начала сквашивания. После измерения рН проводили чаще, каждые 30, затем каждые 15 минут. Ферментация проходила до образования хорошего сгустка и рН 4,60. После ферментации баночки охлаждали в холодильнике.

### Органолептическая оценка

Для оценки сенсорных показателей продуктов была проведена дегустация. В этой работе использовался профильный, дескрипторно-профильный, метод (Flavour Profile Method по ISO 6564) [28], органолептический метод оценки совокупности признаков-свойств (аромата, вкуса, консистенции) с использованием предварительно выбранных описательных характеристик-дескрипторов. Метод подразумевает словесное описание и количественное выражение органолептических признаков, оцениваемых в баллах. Продукты оценивались по внешнему виду, цвету, запаху, вкусу и консистенции по 5-балльной шкале.

### Количество жизнеспособных бактериальных клеток

Для определения титров КОЕ 1 мл тестового продукта, контрольный образец и образцы, содержащие растительный экстракт, последовательно разводили в 10 раз в физическом растворе и после 1 мл аликвоты разведения инокулировали на поверхность чашек Петри с питательной средой MRS и инкубировали при +37°C в течение 48 часов. Затем подсчитывали количество жизнеспособных бактериальных клеток. Подсчет клеток проводили через день, неделю и две недели после хранения продукта в холодильнике.

## Результаты и обсуждение

### Контроль ферментации и график сквашивания пробиотических продуктов

В течение ферментации были сделаны измерения кислотности 3-х образцов с помощью рН метра. График ферментации показывает изменение значения рН от начала заквашивания до полного сквашивания продуктов (рисунок 2). Показано, что добавление экстрактов снижает кислотность молока в начале заквашивания, далее кислотность практически выравнивается с контрольным образцом. Первым заквасился контрольный образец - за 4,5 часа, далее - образцы с малиной и ежевикой, с разницей в 15 и 30 минут, соответственно. В первый день после заквашивания контрольный образец показал рН 4,32, продукт с ежевикой - 4,28, с малиной - 4,22. Установлено, что добавление ягодных экстрактов незначительно влияет на кислотность продукта.

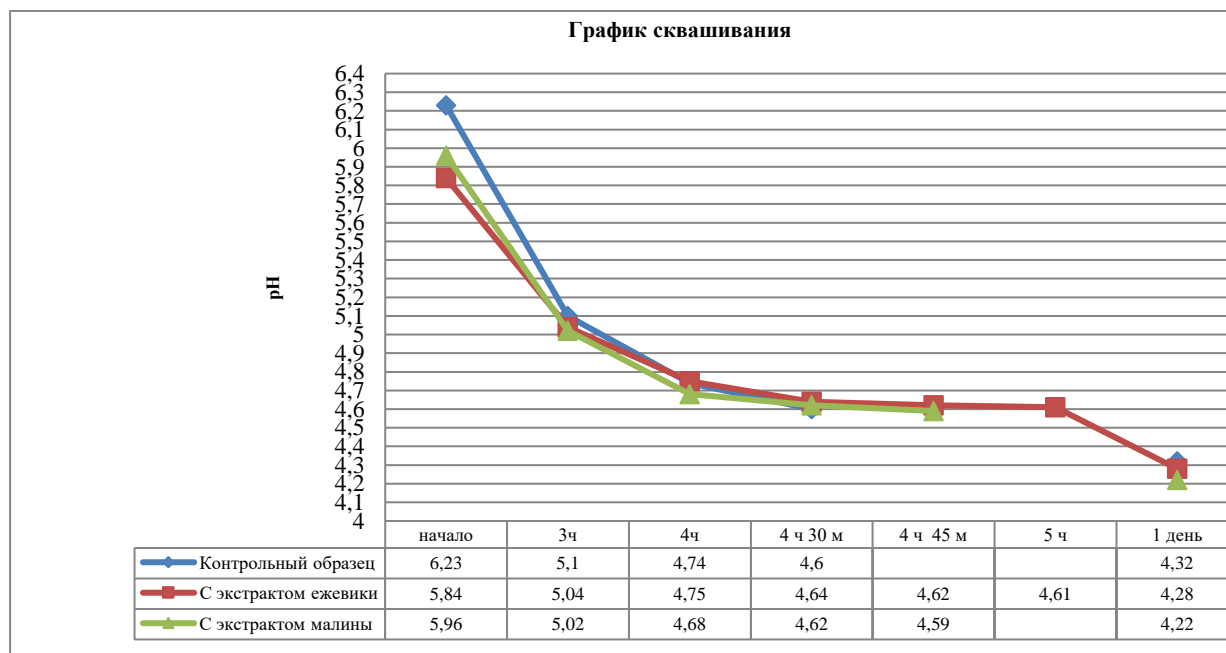


Рисунок 2– График изменения рН во время ферментации

**Органолептическая оценка пробиотических продуктов**

Продукты оценивались по внешнему виду, цвету, запаху, вкусу и консистенции по 5-балльной шкале. На рисунке 3 представлены средние оценки продуктов по каждому критерию. Результаты дегустации не выявили критических изменений в органолептических показателях пробиотических продуктов. Контрольный образец незначительно уступал в оценках консистенции и запахе продуктов. Продукт с ежевикой показал немного лучшие результаты по сравнению продуктом с малиной. Добавление экстрактов во время сквашивания пробиотического продукта не выявило отклонений в кислотности, вкусе и консистенции продукта. Экстракты были распределены равномерно по всей структуре продукта, отделения сыворотки не было, сгусток ровный и крепкий.

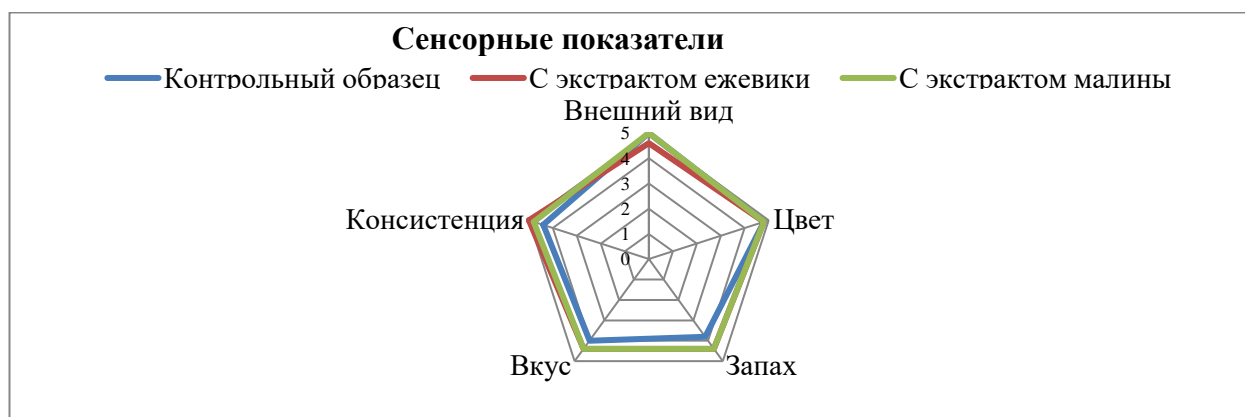


Рисунок 3 – Сенсорный профиль пробиотических продуктов

**Количество жизнеспособных бактериальных клеток**

Важным показателем оценки функциональных пробиотических продуктов является количество жизнеспособных клеток в потребляемом конечном продукте.

В связи с этим перед нами стояла задача определить уровень приживаемости пробиотических заквасок в пробиотическом йогурте, полученном при опытно-производстве, в результате чего были получены положительные показатели.

Из представленных данных (рисунок 4) видно, что добавление ягодных экстрактов в закваску перед ферментацией положительно влияет на жизнеспособность молочнокислых бактерий. Полученные пробиотические йогурты с растительным экстрактом показали высокие титры бактерий по сравнению с контрольным образцом. В начале определения выживаемости заквасочных пробиотических культур были получены результаты с разницей 65 и 70 КОЕ, на 7-е сутки - 17 и 12 КОЕ, на 14-е сутки - 30 и 25 КОЕ.

Для подтверждения наших результатов определение титров КОЕ в исследуемых продуктах дополнительно проводили в лаборатории «Нуртитест» Казахской академии питания. По результатам полученных данных установлено, что обильный рост наблюдался у всех трех исследуемых продуктов на 3-и сутки хранения, не менее  $1 \cdot 10^{10}$  КОЕ.

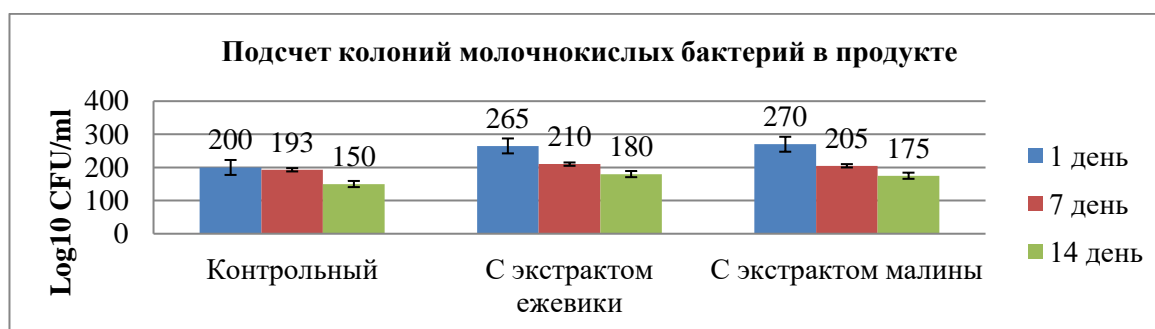


Рисунок 4- Подсчет колоний молочнокислых бактерий

### Заключение

Таким образом, полученные данные показали, что добавление экстрактов ежевики и малины при производстве пробиотического йогурта на основе заквасок МКБ не оказывает существенного влияния на кинетику ферментации. Органолептические показатели были положительными для всех образцов, при добавлении растительных экстрактов получен наиболее улучшенный показатель по консистенции и эластичности сгустка. Все три вида полученного йогурта имели высокий уровень молочнокислых бактерий при хранении в холодильнике при  $+6 - +8^{\circ}\text{C}$ .

Полученные результаты могут расширить ассортимент продуктов питания функционального назначения. Следует отметить, что необходимы дальнейшие исследования для изучения жизнеспособности молочнокислых бактерий в йогурте через моделированный желудочно-кишечного тракт. Также необходимо рассмотреть другие способы получения экстрактов ягод, в частности в виде порошка, что облегчит их хранение и использование.

### Литература:

1 Brodmann T., Endo A., Gueimonde M., Vinderola G., Kneifel W., de Vos W.M., and Gómez-Gallego C. Safety of novel microbes for human consumption: Practical examples of assessment in the European Union. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:1725 (doi:10.3389/fmicb.2017.01725)

2 Саубенова М., Олейникова Е., Чижасева А., Алыбаева А., Айтжанова А., Амангелді А., Потороко И. Микробиота человека и болезни цивилизации: в поисках выхода. *Микробиология және вирусология*. 2022, 3(38), 4–22 (doi.org/10.53729/MV-AS.2022.03.01)

3 Cunningham M., Andrea M., Azcarate-Peril, Barnard A., Benoit V., Grimaldi R., Guyonnet D., Holscher H.D., Hunter K., Manurung S., Obis D., Petrova M.I., Steinert R.E., Swanson K.S., Sinderen D., Vulevic J., Gibson G.R. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics, *Trends in Microbiology*, 2021, 29(8), 667-685, ISSN 0966-842X (doi.org/10.1016/j.tim.2021.01.003)

4 Cunningham M., Azcarate-Peril M.A., Barnard A., Benoit V., Grimaldi R., Guyonnet D. and Gibson G.R. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology*, 2021, 29(8):667–685 (doi:10.1016/j.tim.2021.01.003)

- 5 O'Toole P., Marchesi J., Hill C. Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nat Microbiol* 2. 2017, 17057 (doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.57)
- 6 Brodmann T., Endo A., Gueimonde M., Vinderola G., Kneifel W., de Vos WM, Salminen S., Gómez-Gallego C. Safety of Novel Microbes for Human Consumption: Practical Examples of Assessment in the European Union. *Front Microbiol.* 2017, Sep 12; 8:1725 (doi: 10.3389/fmicb.2017.01725)
- 7 Maguire M., Maguire G. The role of microbiota, and probiotics and prebiotics in skin health. *Arch. Dermatol. Res.* 2017, 309 (6), 411–421 (doi: 10.1007/s00403-017-1750-3)
- 8 George V.T., Varghese M.M., Vaseem M.S., Thomas A., Ittycheria P.G., Sreejith C.K. The Promising Future of Probiotics: A New Era in Periodontal Therapy. *Journal of International Oral Health*, 2016, 8, 404-408 (doi:10.2047/jioh-08-03-21)
- 9 Hayashida Sh., Takada K., Melnikov V.G., Komine-Aizawa Sh., Tsuji N.M., Hayakawa S., How were Lactobacillus species selected as single dominant species in the human vaginal microbiota? Coevolution of humans and Lactobacillus. *Medical Hypotheses*, 2022, 163, 110858, ISSN 0306-9877 (doi.org/10.1016/j.mehy.2022.110858)
- 10 Kumari R., Singh A., Yadav A.N., Mishra S., Sachan A., Sachan Sh.G., Chapter 11 - Probiotics, prebiotics, and synbiotics: Current status and future uses for human health. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering, Elsevier.* 2020, 173-190, ISBN 9780128205280 (doi.org/10.1016/B978-0-12-820528-0.00012-0)
- 11 Goh Y.J. and Klaenhammer T.R. Genetic mechanisms of prebiotic oligosaccharide metabolism in probiotic microbes. *Annual Review of Food Science and Technology.* 2015, 6(1):137–156 (doi:10.1146/annurev-food-022814-015706)
- 12 Venema K., Carmo A.P. *Probiotics and Prebiotics UK: Caister Academic Press Norfolk*, p. 275 -348. ISBN: 978-1-910190-10-4 (ebook), 2015
- 13 Dolejska M., Villa L., Minoia M., Guardabassi L., Carattoli A. Complete sequences of IncHII plasmids carrying blaCTX-M-1 and qnrS1 in equine *Escherichia coli* provide new insights into plasmid evolution. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2014, 69 (9), 2388–2393 (doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015706)
- 14 Le Bouguéne C, Schouler C. Sugar metabolism, an additional virulence factor in enterobacteria. *Int.J. Med. Microbiol.* 2011, 301 (1), 1–6 (doi :10.1016/j.ijmm.2010.04.021)
- 15 Porcheron G., Chanteloup N.K., Trotureau A., Bree A., Schouler C. Effect of fructooligosaccharide metabolism on chicken colonization by an extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* strain. *PLOS ONE*, 2012, 7 (4), e35475 (doi: 10.1371/journal.pone.0035475)
- 16 Porcheron G., Kut E., Canepa S., Maurel M.C., Schouler C. Regulation of fructooligosaccharide metabolism in an extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* strain. *Mol. Microbiol.*, 2011, 81 (3), 717–733 (doi: 10.1111/j.1365-2958.2011.07725.x)
- 17 Schouler C., Taki A., Chouikha I., Moulin-Schouleur M., Gilot P. A genomic island of an extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strain enables the metabolism of fructooligosaccharides, which improves intestinal colonization. *J. Bacteriol.*, 2009, 191 (1), 388–393 (doi: 10.1128/JB.01052-08)
- 18 Hartemink R., Quataert M.C., van Laere K.M., Nout M.J., Rombouts F.M. Degradation and fermentation of fructo-oligosaccharides by oral streptococci. *J. Appl. Bacteriol.*, 1995, 79(5), 551–557 (doi: 10.1111/j.1365-2672.1995.tb03176)
- 19 Linke C.M., Woodiga S.A., Meyers D.J., Buckwalter C.M., Salhi H.E., King S.J. The ABC transporter encoded at the pneumococcal fructooligosaccharide utilization locus determines the ability to utilize long- and short-chain fructooligosaccharides. *J. Bacteriol.*, 2013, 195 (5), 1031–1041 (doi: 10.1128/JB.01560-12)
- 20 Cunningham M., Azcarate-Peril M.A., Barnard A., Benoit V., Grimaldi R., Guyonnet D., Gibson G.R. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology*, 2021, 29 (8), 667–685 (doi:10.1016/j.tim.2021.01.003)
- 21 Hervert-Hernández D, Pintado C, Rotger R, Goñi I. Stimulatory role of grape pomace polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* growth. *Int J Food Microbiol*, 2009, Nov 30;136(1):119-22 (doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.016)
- 22 do Espírito Santo A.P., Perego P., Converti A. and Oliveira M.N. Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yoghurts. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 2012, 47(2):393–399.(doi:10.1016/j.lwt.2012.01.038)

23 Muniandy P., Shori A.B. and Baba A.S. Comparison of the effect of green, white and black tea on *streptococcus thermophilus* and *lactobacillus* spp. in yogurt during refrigerated storage. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 2017, 22(1):26–30 (doi:10.1016/j.jaubas.2015.11.002)

24 Vendrame S., Guglielmetti S., Riso P., Arioli S., Klimis-Zacas D. and Porrini M. Six-week consumption of a wild blueberry powder drink increases bifidobacteria in the human gut. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(24):12815–12820 (doi:10.1021/jf2028686)

25 Puupponen-Pimia R., Nohynek L., Hartmann-Schmidlin S., Kahkonen M., Heinonen M., Maatta-Riihinen K. and Oksman-Caldentey K.M. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 98(4):991–1000 (doi:10.1111/j.1365-2672.2005.02547.x)

26 Puupponen-Pimia R., Nohynek L., Meier C., Kahkonen M., Heinonen M., Hopia A. and Oksman-Caldentey K.M. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 2001 90(4):494–507 (doi:10.1046/j.1365-2672.2001.01271.x)

27 Molan A.L., Lila M.A., Mawson J. and De S. In vitro and in vivo evaluation of the prebiotic activity of water-soluble blueberry extracts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, 25(7):1243–1249 (doi:10.1007/s11274-009-0011-9)

28 Sensory analysis – Methodology – Flavour profile methods [Text]: ISO 6564-1985. Geneva 1985