



Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2519–268X print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8527
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC [679.872+ 579.873. 1] : 579.222.3 : 615.331

Non-waste biotechnology of obtaining a symbiotic and a metabolite on the basis of *Bifidobacterium longum* – Ya 3 and *Propionibacterium shermanii* – 4

L. Krupytka, L. Kaprelyants, O. Kylymenchuk, T. Velichko

Odessa National Academy of Food Technologies, Odessa, Ukraine

Article info

Received 19.02.2018
Received in revised form
12.03.2018
Accepted 16.03.2018

Odessa National Academy of Food
Technologies, Kanatna Str., 112,
Odesa, 65039, Ukraine.
Tel. +38-097-503-20-73
E-mail: dlauren271@gmail.com

*Krupytka, L., Kaprelyants, L., Kylymenchuk, O., & Velichko, T. (2018). Non-waste biotechnology of obtaining a symbiotic and a metabolite on the basis of *Bifidobacterium longum* – Ya 3 and *Propionibacterium shermanii* – 4. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(85), 148–154. doi: 10.15421/nvlvet8527*

In order to eliminate dysbiotic violations of microbiota of the human gastrointestinal tract probiotics are used. However, in recent years data has been accumulated on the reduction of the effectiveness of classical probiotics, especially against antibiotic therapy, so a promising group of probiotics of a metabolic type is gaining popularity. Metabiotics contain metabolic products or structural components of probiotic microorganisms. The purpose of experimental work was to develop a technology of non-waste production using a culture fluid of probiotic microorganisms as raw material for the creation of a cell-free probiotic. The objects of the study were cultures of microorganisms of the Museum of the Department of Biochemistry, Microbiology and Nutrition Physiology ONAFT *Bifidobacterium longum* – Ya 3, *Propionibacterium shermanii* – 4, the culture fluid of these probiotic strains. Subject of research - structural elements of metabolic activity of probiotic microorganisms, organoleptic, physico-chemical and microbiological indices. After co-cultivating *B. longum* – I 3 + *P. shermanii*-PS 4 in a lactose medium with the addition of soy serum at a temperature of $(34 \pm 1)^\circ\text{C}$ for 24 hours with a titre of at least $1 \cdot 10^{10}$ CFU/cm³, a culture medium supernatant was obtained by centrifugation at 8000 rpm for 20 minutes and further filtration because of bacterial filters in aseptic conditions. The bifidogenic growth stimulator was purified from the microbial biomass residue by vacuum filtration using bacterial filters (Millipore, 0.22 μm). Its determination was carried out by gas-liquid chromatography using the GC-16A «Shimadzu» (Japan) gas chromatograph with the possibility of temperature programming up to 330 $^\circ\text{C}$, flame-ionization detector and software «GC solution». The content of 1,4-dihydroxy-2-naphthoic acid in the supernatant of the consortium *Bifidobacterium longum* – Ya 3, *Propionibacterium shermanii* – 4 in the amount of 4.1 mg/liter was determined. The principle of technological schemes of non-waste production of biologically active additives based on the classical and metabolic probiotic developed.

Key words: propionic acid bacteria, bifidobacteria, supernatant, metabolites, probiotic.

Безвідходна біотехнологія отримання симбіотика і метабіотика на основі *Bifidobacterium longum* – Я 3 та *Propionibacterium shermanii* – 4

Л.О. Крупицька, Л.В. Капрельянц, О.О. Килименчук, Т.О. Велічко

Одеська національна академія харчових технологій, м. Одеса, Україна

Для усунення дисбіотичних порушень мікробіоти шлунково-кишкового тракту людини використовують препарати пробіотики. Однак в останні роки накопичуються дані про зниження ефективності класичних пробіотиків, особливо на фоні антибіотикотерапії, тому популярності набуває перспективна група пробіотиків метабіотичного типу. Метабіотики містять продукти метаболізму чи структурні компоненти пробіотичних мікроорганізмів. Метою експериментальної роботи стала розробка технології безвідходного виробництва, використовуючи культуральну рідину пробіотичних мікроорганізмів як сировину для створення безклітинного пробіотика. Об'єкти дослідження – культури мікроорганізмів музею кафедри біохімії, мікробіології і фізіології харчування ОНАХТ *Bifidobacterium longum* – Я 3, *Propionibacterium shermanii* – 4, культуральна рідина зазначених пробіотичних штамінів. Предмет дослідження – структурні елементи метабіотичної активності пробіотичних мікроорганізмів, органолептичні, фізико-хімічні і мікробіологічні показники. Після сумісного культивування *B. longum* – Я 3 + *P. Shermanii* – PS 4 на лактозному середовищі

з додаванням соєвої сироватки за температури $(34 \pm 1) ^\circ\text{C}$ протягом 24 год з титром не менше $1 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, отримували супернатант культуральної рідини шляхом центрифугування при 8000 об/хв протягом 20 хв і подальшого фільтрування через бактеріальні фільтри в асептичних умовах. Біфідогенний стимулятор росту очищували від залишків мікробної біомаси за допомогою вакуум-фільтрації із застосуванням бактеріальних фільтрів (Millipore, 0,22 мкм). Його визначення проводили за методом газової рідинної хроматографії з використанням газового хроматографа GC-16A «Shimadzu», Японія з можливістю програмування температури до 330 °C, полум'яно-іонізаційним детектором і програмним забезпеченням «GC solution». Визначено вміст 1,4-дигідрокси-2-нафтоїнової кислоти у супернатанті консорціуму *Bifidobacterium longum* – Я 3, *Propionibacterium shermanii* – 4 у кількості 4,1 мг/л. Розроблено принципні технологічні схеми безвідходного виробництва біологіно активних добавок на основі класичного та метаболітного пробіотика.

Ключові слова: пропіоновокислі бактерії, біфідобактерії, супернатант, метаболіти, пробіотик.

Вступ

Промислове виробництво збалансованих харчових продуктів завжди було однією з найважливіших проблем людства. Людина і навколишнє середовище представляють єдину екологічну систему, яка знаходиться у стані біологічної рівноваги. Нормальна мікробіота шлунково-кишкового тракту (ШКТ) людини представляє мікробний пейзаж сформований в процесі тривалої еволюції.

Складна мікроекологічна система організму людини представлена станом динамічної рівноваги, яке визначається, з одного боку, його фізіологічними та імунологічними особливостями, а з іншого – кількісним та якісним складом мікробних асоціацій. На тлі різкого зниження популяційного рівня біфідобактерій і лактобацил, зростає кількість умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів, що сприяє розвитку дисбактеріозу. У зв'язку з цим, пошук нових засобів профілактики для корекції дисбіотичних порушень набуває актуальності. Сьогодні препарати пробіотики набули широкого застосування у клінічній практиці з метою корекції дисбактеріозів і відновлення кількісного та якісного складу мікробіоти ШКТ людини. Також особливу увагу займають функціональні пробіотичні продукти, які підтримують мікроекологічну рівновагу у ШКТ. В цьому аспекті симбіотики грають важливу роль. Синбіотик – це функціональний харчовий продукт мікробіологічного походження, який є комбінацією пробіотичних мікроорганізмів та пребіотичних компонентів.

Пробіотики – це живі мікроорганізми, використання яких в необхідній кількості нормалізують кишкову мікробіоту та мають лікувально профілактичну дію на організм людини (FAO/WHO, 2002).

Сьогодні пробіотики поділяють на п'ять основних поколінь: I покоління – класичні монокомпонентні пробіотики, до яких відносять рідкі або сухі препарати, що складаються з одного штаму мікроорганізмів («Біфідумбактерин», «Біфідумбактерин – форте»); II покоління – полікомпонентні препарати (симбіотиків), що включають різні штами мікроорганізмів або кілька культур бактерій-симбіонтів («Біфікол», «Лінекс», «Пробіотікс», «Ацидофіліс» і ін.); III покоління – антогоністи, що самоелімінуються, які засновані на використанні неспецифічних для людини мікроорганізми і складаються з спорових бактерій і сахароміцетів («Споробактерія», «Биоспорин», «Бактисубтил», «Ентерол»); IV покоління – комбіновані препарати (синбіотики), що містять мікроорганізми і основу, яка несе додаткове функціональне навантаження, тобто

речовини, що сприяють їх росту, розмноження і метаболічної активності («Ламінолакт», «Біфілор», «Біфілиз», «Аципол», «Малюк»); V покоління – безклітинні пробіотики, що містять продукти обміну автохтонної мікробіоти ШКТ («Хілак-форте») (Krysenko et al., 2010).

Позитивний ефект пробіотиків, навіть при тривалому застосуванні, нерідко носить тимчасовий характер, а часом і повністю відсутній.

Результати даних (Di Caro et al., 2005; Chang et al., 2009) свідчать про те, що не всі пробіотичні бактерії безпечні, навіть якщо вони відносяться до бактерій родів *Lactobacillus* або *Bifidobacterium* і не мають генів патогенності. З показників медичних обстежень можна зробити висновок, що молочнокислі бактерії і навіть біфідобактерії, які використовуються у вигляді пробіотиків, іноді зв'язуються з опортуністичними інфекціями людини, особливо у пацієнтів, що проходять курс антибіотикотерапії, і у хворих з важким імунодефіцитом (Yuan et al., 2008; Chang et al., 2009).

В останні роки виявилось, що горизонтальний перенос генів може відбуватися між молочнокислими бактерій і кишковими бактеріями, а також в межах одного роду молочнокислих бактерій (Di Caro et al., 2005; Clayton et al., 2009; Bourdichon et al., 2012).

Доведено, що мікроорганізми-пробіотики і автохтонні мікроорганізми можуть як стимулювати, так і пригнічувати ростові і антимікробні властивості один одного. За результатами досліджень (Semenov, 2011) пробіотичні бактерії поділяють на: біосумісні з домінантною мікробіотою індивідуума і здатні пригнічувати ріст патогенів; небіосумісні з нормобіотою, але здатні стимулювати її захисні властивості і володіють антагонізмом до патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів; небіосумісні, здатні пригнічувати антимікробні властивості автохтонного мікробіома ШКТ і володіють слабкою антагоністичною активністю до патогенів.

Для визначення біосумісності препаратів-пробіотиків з автохтонною мікробіотою необхідно проводити ряд досліджень для конкретного індивідуума, або розробляти аутопробіотики, що є досить складним процесом.

У зв'язку з цим, фахівці покладають великі надії на групу метаболітних про- і синбіотиків, які в порівнянні з клітинною формою більш стабільні при зберіганні, не знижують свою біологічну активність при застосуванні на тлі лікувального курсу антибіотиків, не спричиняють побічних дій на організм людини при гострих запальних процесах і хронічних захворюваннях, на відміну від живих мікроорганізмів (Di Caro et

al., 2005; Chang et al., 2009; Bomba et al., 2012; Bourdichon et al., 2012).

Різні пробіотичні штами можуть стати джерелом сотень низькомолекулярних біологічно активних речовин (НБАВ): бактеріоцинів (і інших антимікробних речовин), інших органічних кислот, біосурфактантів, полісахаридів, пептидогліканів, тейхоевих кислот, ліпо- і глікопротеїдів, вітамінів, антиоксидантів, нуклеїнових кислот, різних білків, ферментів і лектинів, пептидів різної активності, амінокислот, факторів росту і коагуляції, захисних речовин і їх індукторів в клітинах людини, сигнальних молекул, плазмалогенів, кофакторів (Goldfine, 2010; Holmes et al., 2011; Ishikawa et al., 2011).

У дослідженні (Krupytska and Kaprelyants, 2016; Krupytska et al., 2017) наведені дані щодо вивчення жирнокислотного складу заквасок з включенням *Propionibacterium shermanii* – 4. За допомогою ВЕРХ встановлено, що у заквасці симбіотичного консорціуму *B. longum*-Я 3 і *P. Shermanii* – 4 сума ненасичених жирних кислот (78,36%), була вищою, ніж в інших досліджуваних зразках. Кількість лінолевої кислоти становило 23,99%. Результати цього дослідження доводять перспективність виробництва біологічно активних добавок на основі сумісного культивування біфідо- і пропіоновокислих бактерій з високим вмістом есенціальних жирних кислот.

Ці групи НБАВ, виділені з симбіотичних чи пробіотичних мікроорганізмів або їх культуральної рідини, можуть використовуватися для виробництва харчових добавок, продуктів харчування і лікарських препаратів з метою профілактики і лікування хронічних захворювань людини.

Культуральна рідина – це продукт відходу в традиційній технології виробництва бактеріальних препаратів або концентратів. Вона містить в собі метаболіти продукти життєдіяльності пробіотичних бактерій і може бути використана, як основа безклітинної форми пробіотика. Її утилізація, як відходу виробництва, призводить до значних економічних втрат. Тому розробка і виробництво безклітинних пробіотиків є актуальною задачею біотехнологічного процесу, як одним з етапів створення безвідходного виробництва бактеріальних препаратів – це напрямок є інноваційним.

У попередньому дослідженні (Krupytska et al., 2017), яке присвячено вивченню антагоністичної активності вторинних метаболітів пропіоновокислих бактерій, доведено, що культуральна рідина штаму *P. shermanii* – 4, яку отримали при культивуванні на лактозному середовищі з додавання 3% соєвої сироватки за температури $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ з титром не менше $1 \cdot 10^9$ КУО/см³, здатна стимулювати ріст біфідобактерій, а також встановлено, що використання мінімальної концентрації у кількості 2% супернатанту культуральної рідини пригнічували ріст усіх умовнопатогенних мікроорганізмів (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ОНУ-223, *Bacillus cereus* ОНУ-67).

Це свідчить, що ефективність пробіотичних препаратів зумовлена продуктами життєдіяльності мікроорганізмів, тобто екзотметаболітами. У зв'язку з цим, актуальним завданням біотехнології є розробка технологій виділення з безклітинних фільтратів або

супернатантів біологічно активних екзотметаболітів для створення пробіотиків метаболітного типу. Новий метаболітний пробіотик не містить живих, чи мертвих клітин бактерій. Його дія базується на відновленні власної мікрофлори шляхом стимуляції та нормалізації облигатних представників ШКТ людини.

Літературні джерела свідчать, що пропіоновокислі бактерії є продуцентами біфідогенного ростового фактору неуглеводної природи, а саме 1,4-гідроксі-2-нафтоїної кислоти (Kouya et al., 2007; Kaprelyants and Krupytska, 2017).

Метою експериментальної роботи довести наявність 1,4-гідроксі-2-нафтоїної кислоти у культуральній рідині пробіотичного консорціуму та розробити технологію безвідходного виробництва, використовуючи культуральну рідину як сировину для створення метаболітного пробіотика.

Матеріал та методи досліджень

Для проведення експериментальної роботи використовували культури мікроорганізмів музею кафедри біохімії, мікробіології і фізіології харчування ОНАХТ *Bifidobacterium longum* – Я3, *Propionibacterium shermanii* – 4. Культивування проводили на лактозному середовищі з додаванням 3 % соєвої сироватки (молочна сироватка; пептон; цитрат натрію; калій; натрій фосфорнокислий; аскорбінова кислота; соєва сироватка; вода).

Після одночасного внесення бактеріальних інокулятів *B. longum* – Я3 і *P. Shermanii* – 4 у співвідношенні 1:1, проводили сумісне культивування за температури $(34 \pm 1)^\circ\text{C}$ протягом 24 год з титром не менше $1 \cdot 10^{10}$ КУО/см³. Супернатант культуральної рідини консорціуму отримали за допомогою центрифугування при 8000 об/хв протягом 20 хв і подальшого фільтрування через бактеріальні фільтри (Millipore, 0,22 мкм) в асептичних умовах.

Біфідогенний стимулятор росту, 1,4-гідроксі-2-нафтоїнову кислоту (DHNA), визначали за допомогою високоєфективної газорідинної хроматографії з використання газового хроматографа GC-16A «Shimadzu» (Японія) з можливістю програмування температури до 330°C , полум'яно-іонізаційним детектором і програмним забезпеченням «GC solution». Для поділу використовували капілярну колонку THERMO TR-FAME (30 mm x 0,25 mm ID x 0,25 um film) з температурним градієнтом від 70 до 230°C . Нерухома фаза – 70% Cyanopropyl (equip) Polysiphenylene-siloxane. Рухома фаза – гелій, швидкість потоку газу – 1 мл/хв. Температура інжектора і детектора дорівнювала 280°C і 260°C , відповідно. Ідентифікацію DHNA проводили шляхом порівняння часу витримки речовин, що визначали з часом витримки стандартного маркера 1,4-гідроксі-2-нафтоїної кислоти.

Мікробіологічну оцінку кількості життєздатних клітин проводили за допомогою методу 10 кратних розведень на полурідкому соєволактозному середовищі (Kaprelyants et al., 2016) та завдяки мікроскопіюванню експериментальних зразків.

Результати та їх обговорення

На основі літературних даних та власних досліджень прийнято до уваги кількість метаболітів, що було продуковано та їх біохімічну активність для отримання метаболітного препарату, отримано найперспективніший варіант – культуральну рідину консорціуму *B. longum* – Я 3 і *P. Shermanii* – 4. Після сумісного культивування *B. longum* – Я 3 і *P. Shermanii* –

4 за температури $(34 \pm 1)^\circ\text{C}$ протягом 24 год проводили підрахунок життєздатних клітин консорціуму. Кількість клітин *B. longum* – Я 3 у консорціумі становила $4 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, а *P. Shermanii* – 4 – $4 \cdot 10^{10}$ КУО/см³. Після відділення культуральної рідини, бактеріальна маса консорціуму *B. longum* – Я 3 і *P. Shermanii* – 4 стала пробіотичною основою класичного синбіотика (рис. 1).

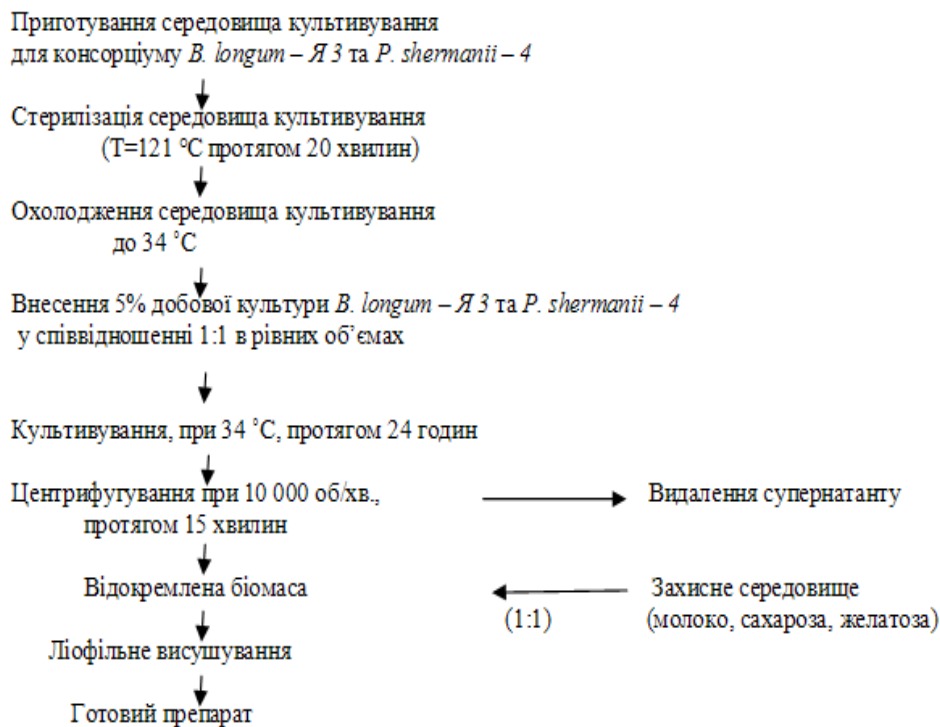


Рис. 1. Принципова технологічна схема отримання синбіотика

У якості пребіотичної частини виступала соєва сироватка, яка входила до складу середовища культивування. Соева сироватка багата на соєві олігосахариди (а саме на рафінозу та стахіозу), які володіють вираженими пребіотичними ефектами вуглеводної природи.

Після видалення супернатанту, біомасу симбіотичного консорціуму *B. longum* – Я 3 та *P. shermanii* – 4 ресуспендували захисним середовищем, яке містило наступні компоненти, %: сахарозу – 50, желатозу – 25, молоко – 25.

Висушування суміші проводили із попереднім заморожуванням за температури -20°C протягом 12 годин. Через 8 годин від початку заморозки температуру знижували до -30°C . Для отримання сухого порошкоподібного продукту із залишком вологи 5%, сублимацію проводили протягом 20–24 годин з подальшим таблетуванням суміші.

Для отримання таблетованої форми використовували гідралітичну машину таблетування методом прямого фасування із тиском 30 МПа та розігрівом матриці до 45°C .

Готовий препарат містив наступну кількість пробіотичних клітин: *B. longum* – Я 3 – $4 \cdot 10^{10}$ КУО/см³

P. shermanii – 4 – $3 \cdot 10^{10}$ КУО/см³. Сторонньої мікрофлори не виявлено.

Отримана біологічно активна добавка характеризувалась порошкоподібною структурою бежевого кольору, специфічним смаком та запахом.

Для вилучення метаболітичних і клітинних фракцій мікроорганізмів використовують три основні методи: центрифугування чи осадження з послідовним відділенням супернатанту; ультрафільтрація, яка дозволяє розділити низько- та високомолекулярні сполуки; гідроліз. На наш погляд, раціональніше використовувати процес ультрафільтрації, оскільки цей метод дозволяє отримати в м'яких умовах максимально скоцентровану біомасу і ультрафільтрат для отримання метаболітного препарату.

Відділену культуральну рідину консорціуму *B. longum* – Я 3 і *P. Shermanii* – 4 після очищення фільтрацією використовували для визначення DHNA за допомогою ВЕРХ. Ідентифікацію DHNA проводили шляхом порівняння часу витримки речовин, що визначали з часом витримки стандартного маркера 1,4-гідрокси-2-нафтоїної кислоти. Був зареєстрований пік при утриманні часу на 25,8 хв (рис. 2).

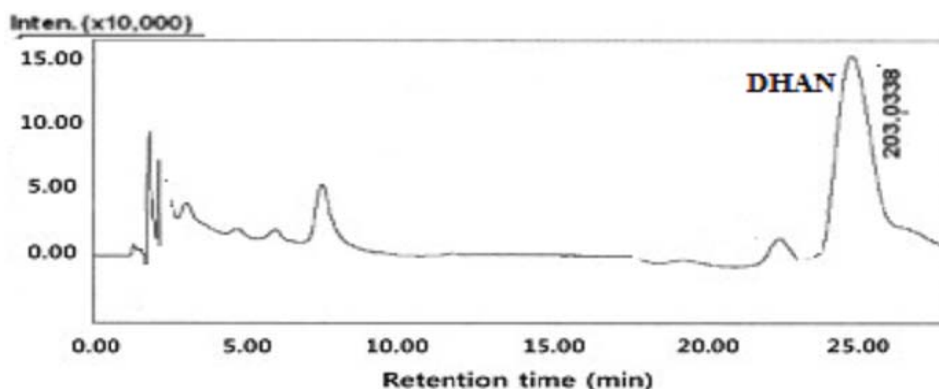


Рис. 2. Ідентифікація DHNA у супернатанті *P. shermanii* – 4

Таким чином було доведено, що здатність пропіоновокислих бактерій стимулювали ріст клітин біфідобактерій, здійснюється завдяки наявності у культуральній рідині DHNA.

DHNA є попередником менахінону (вітамін K2) та за літературними джерелами (Kouya et al., 2007; Kaprelyants and Krupytka, 2017) є найбільш відповідальним за стимуляцію росту біфідобактерій. Цікаво відзначити, що DHNA має позитивні ефекти не тільки для біфідобактерій, а й для людини. У дослідженні (Okada et al., 2006), автори повідомляють, що DHNA

здійснює відновлення мікробіоценозу товстої кишки не тільки шляхом балансування мікробіоти кишечника, але і шляхом придушення інфільтрації лімфоцитів шляхом відновлення молекули адгезії слизової оболонки 1 (MAdCAM-1).

Отримані експериментальні дані свідчать про доцільність застосування супернатанта культуральної рідини *P. shermanii* – 4 для створення пробіотика метаболітного типу.

На рис. 3 представлена принципова технологічна схема виробництва пробіотика метаболітного типу.

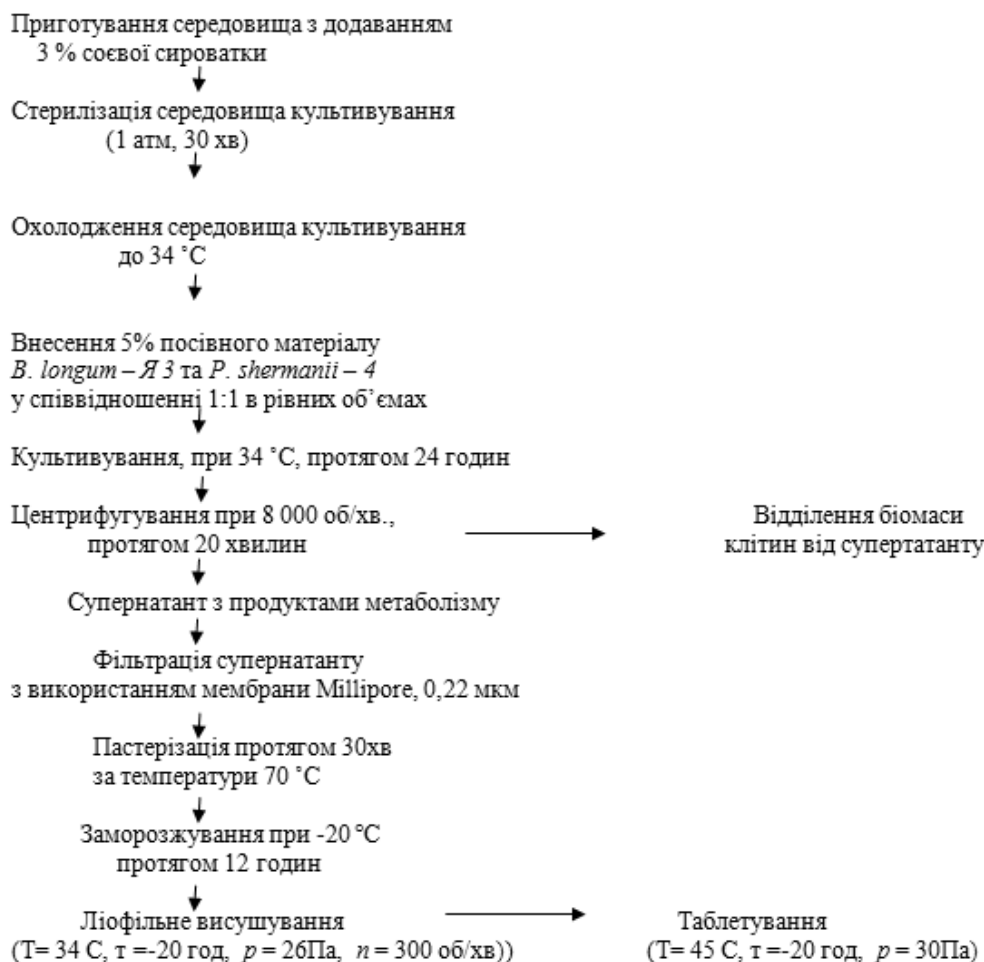


Рис. 3. Принципова технологічна схема отримання пробіотика метаболітного типу

Отриманий супернатант із вмістом 6,0 ... 6,2% сухих речовин, у тому числі 1,4-дигідроксі-2-нафтоїнова кислота у кількості 0,07% (4,1 мг/л), пастеризували за температури 70 °С протягом 30 хв за для усунення сторонньої умовнопатогенної мікробіоти.

Висушування суміші проводили із попереднім заморожуванням, яке проводили за температури -20 °С протягом 12 годин. Через 8 годин від початку заморожки температуру знижували до -30 °С. Для отримання сухого порошкоподібного продукту із залишком вологи 5%, сублимацію проводять протягом 20–24 годин з подальшим таблетуванням суміші.

Для отримання таблетованої форми використовували метод прямого фасування із тиском 30МПа та розігрівом матриці до 45 °С.

Отриманий пробіотик метаболітного типу характеризується порошкоподібною структурою бежевого кольору, специфічним смаком та запахом, сторонньої мікрофлори не виявлено.

Висновки

У результаті проведених дослідів, доведена здатність *P. shermanii* – 4 стимулювати приріст біомаси біфідобактерій завдяки наявності у культуральній рідині 1,4-дигідроксі-2-нафтоїнової кислоти. За допомогою ВЕРХ було визначено вміст 1,4-дигідроксі-2-нафтоїнової кислоти у супернатанті консорціуму у кількості 4,1 мг/л.

На основі експериментальних даних рекомендовано використовувати супернатант пробіотичного консорціуму *B. longum* – Я3 і *P. shermanii* – 4 як для створення пробіотика метаболітного типу, так і для конструювання поліштамового синбіотика, використовуючи ДННА як пребіотик не вуглеводної природи.

Розроблено принципові технологічні схеми виробництва синбіотика та метаболітного пробіотика, що дало змогу теоритично сторити безвідходну біотехнологію виробництва нових біокоректорів. Отримані дієтичні добавки за органолептичними та фізико-хімічними показниками мали порошкоподібну структуру, специфічний смак та запах. За мікробіологічними показниками синбіотик містить *B. longum* – Я3 у кількості $4 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ *P. shermanii* – 4 – $3 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, сторонньої мікробіоти не виявлено; пробіотик метаболітного типу містить 1,4-дигідроксі-2-нафтоїнової кислоти у кількості 4,1 мг/л і не містить пробіотичних клітин та будь-якої умовнопатогенної мікробіоти.

Перспектив подальших досліджень. Подальші дослідження будуть присвячені вивченню мікробіологічних та органолептичних показників у процесі зберігання в умовах холодильної та морозильної камер, а також заплановано провести дослідження «in vitro», які моделюють виживання біфідо- і пропіоновокислих бактерій в умовах, що імітують шлунково-кишковий тракт людини (рН 2 та при дії 40% жовчі).

References

- Bomba, A., Brandeburova, A., Ricanyova, J., Strojny, L., Chmelarova, A., Szabadosova, V., et al. (2012). The role of probiotics and natural bioactive compounds in modulation of the common molecular pathways in pathogenesis of atherosclerosis and cancer. *Biologia*, 67, 1–13. doi: 10.2478/s11756-011-0155-6.
- Bourdichon, F., Berger, B., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J.C. & Gerds, M.L. (2012). Safety Demonstration of Microbial Food Cultures in Fermented Food Products. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 455–458.
- Chang, G., Shi, Y., Le, G., Xu, Z., Sun, J., Li, J., et al. (2009). Effects of *Lactobacillus plantarum* of genes expression pattern in mice jejunal Peyer's patches. *Cell Immunol.* 258, 1–8. doi: 10.1016/j.cellimm.2009.02.005.
- Clayton, T.A., Baker, D., Lindon, J.C., Everett, J.R. & Nicholson, J.K. (2009). Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 106, 14728–14733. doi: 10.1073/pnas.0904489106.
- Di Caro, S., Tao, H., Grillo, A., Elia, C., Gasbarrini, G., & Sepulveda, A.R. (2005). Effects of *Lactobacillus GG* on gene expression pattern in small bowel mucosa. *Dig Liver Dis.* 37, 320–9. doi: 10.1016/j.dld.2004.12.008.
- FAO/WHO (2002). *Join FAO/WHO Working group Guidelines for the Evolutions of Probiotics in Foods.* London. Ontario.Canada. 30.
- Goldfine, H. (2010). The appearance, disappearance and reappearance of plasmalogens in evolution. *Prog Lipid Res.* 49, 493–498. doi: 10.1016/j.plipres.2010.07.003.
- Holmes, E., Li, J.V., Athanasiou, T., Ashrafiyan, H. & Nicholson, J.K. (2011). Understanding the role of gut microbiome-host metabolic signal disruption in health and disease. *Trends Microbiol.* 19, 349–59. doi: 10.1016/j.tim.2011.05.006.
- Ishikawa, K., Handa, N., Sears, L., Raleigh, E.A. & Kobayashi, I. (2011). Cleavage of a model DNA replication fork by a methyl-specific endonuclease. *Nucl Acids Res.* 39, 5489–5498. doi: 10.1093/nar/gkr153.
- Kaprelyants, L.V., Trufkati, L.V. & Krupyt'ska L.O. (2016). Pozhyvne seredovysheche dlya pidrakhunku kilkosti zhyt'tyezdatnykh klityn bifidobakteriy u produktakh kharchuvannya ta preparatakh probiotysnoho proznachennya. *Naukovyy visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoyi medytsyny ta biotekhnolohiy imeni S.Z. Gzhytskoho.* 18(1), 70–75 (in Ukrainian).
- Kaprelyants, L.V. & Krupyt'ska, L.O. (2017). Probiotychni vlastyvoli ta byotekhnolohichniy potentsial propionovokyslykh bakterii. *Mikrobiolohiia i biotekhnolohiia.* 1(37). 6–15. doi: 10.18524/2307-4663.2017.1(37).96324 (in Russian).
- Kouya, T., Misawa, K., Horiuchi, M., Nakayama, E., Deguchi, H., Tanaka, T., & Taniguchi, M. (2007). Production of extracellular bifidogenic growth stimulator by anaerobic and aerobic cultivations of several propionibacterial strains. *Journal of bioscience and bioengineering.* 103(5), 464–471. doi: 10.1263/jbb.103.464.

- Krupytska, L.O. & Kaprelyants, L.V. (2016). Zhyrnokyslotnyi sklad biolohichno aktyvnykh dobavok z vkluchenniam propionovokyslykh bakterii. (2016). Visnyk Lvivskoho universytetu. Serii biolohichna. 73, 442–442 (in Ukrainian).
- Krupytska, L.O., Kaprelyants, L.V., Trufkti, L.V., & Shpyrko, T.V. (2017). Research into fatty acid composition of probiotic consortiums with the inclusion of propionic acid bacteria. Vostochno-Evropskij zhurnal peredovyh tehnologij. 3(6), 15–20. doi: 10.15587/1729-4061.2017.101015.
- Krupytska, L.O., Kaprelyants, L.V., & Trufkti, L.V. (2017). Investigation of the antagonistic activity of secondary metabolites of propionic acid bacteria. Kharchova nauka ta tekhnolohiia. 11(2), 16–20. doi: 10.15673/fst.v11i2.508.
- Krysenko, O.V., Skliar, T.V., & Vinnikov, A.I. (2010). Mikrobiolohichni aspekty probiotychnykh preparativ. Visnyk Dnipropetrovskoho universytetu. Biolohiia. Ekolohiia. 18(2), 25–33 (in Ukrainian).
- Okada, Y., Tsuzuki, Y., Miyazaki, J., Matsuzaki, K., Hokari, R., Komoto, S. et al. (2006). Propionibacterium freudenreichii component 1,4-dihydroxy-2-naphthoic acid (DHNA) attenuates dextran sodium sulphate induced colitis by modulation of bacterial flora and lymphocyte homing. Gut. 55, 681–688. doi: 10.1136/gut.2005.070490.
- Semenov, A.V. (2011). Harakteristika otnoshenij mezhdru probioticheskimi i avtohtonnymi mikroorganizmami i algoritm individual'nogo podbora probiotikov. (2011). Kazanskij medicinskij zhurnal. 92(6), 792–795 (in Russian).
- Yuan, J., Wang, B., Sun, Z., Bo, X., Yuan, X., He, X., et al. (2008). Analysis of host-inducing proteome changes in *Bifidobacterium longum* NCC2705 grown in vivo. J Proteome Res. 7, 375–385. doi: 10.1021/pr0704940.