

УДК 637.146.2:579

Оценка потенциала пропионовокислых бактерий для получения постбиотиков

ФГАНУ «Всероссийский
научно-исследовательский институт
молочной промышленности»

А. В. Бегунова, Н. А. Жижин

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Бегунова Анна Васильевна

Адрес: 115093, Россия, г. Москва,

ул. Люсиновская 35, корп. 7

E-mail: a_begunova@vniimi.org

ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования

доступны по запросу

у корреспондирующего автора.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Бегунова, А. В., & Жижин, Н. А. (2022).

Оценка потенциала пропионовокислых
бактерий для получения постбиотиков.

Хранение и переработка сельхозсырья,

(4), 102–112. [https://doi.org/10.36107/](https://doi.org/10.36107/spfp.2022.356)

spfp.2022.356

ПОСТУПИЛА: 23.08.2022

ПРИНЯТА: 03.10.2022

ОПУБЛИКОВАНА: 14.10.2022

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии

конфликта интересов.



АННОТАЦИЯ

Введение. Многочисленные современные исследования показали, что продукты метаболизма пробиотических культур, как и пробиотические микроорганизмы могут оказывать положительные эффекты на здоровье потребителя. Их использование является профилактической стратегией для укрепления здоровья человека.

Цель. Охарактеризовать потенциал штамма *P. shermanii* Э2 для использования при получении постбиотиков.

Материалы и методы. Штамм *P. shermanii* Э2 культивировали на питательной среде следующего состава: дрожжевой автолизат – 40 см³/дм³, КН₂РO₄ – 4 г/дм³, СоСl₂ – 1 см³/дм³, гидролизованное молоко до 1 дм³. Ферментативную активность штамма определяли с использованием тест-системы API ZYM («BioMerieux», Франция). Протеолитическую активность определяли методом TNBS (2,4,6-тринитробензолсульфоновая кислота) и выражали в ммоль/л-эквивалентов лейцина. Антиоксидантную активность определили методом ORAC. Оценку содержания органических кислот проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), а определение витамина В₁₂ методом высокочувствительной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС).

Результаты. Определен профиль ферментативной активности *P. shermanii* Э2, протеолитическая и антиоксидантная активность, кроме того установлено содержание органических кислот и витамина В₁₂ в бесклеточных супернатантах. Установлено, что штамм обладает выраженной аминопептидазной активностью, высокой активностью кислой фосфатазы, α-галактозидазы и β-галактозидазы. Однако активностей трипсина, липазы, β-глюкорнидазы, β-глюкозидазы, N-ацетил-β-глюкозаминидазы, α-маннозидазы и α-фруктозидазы не наблюдалось. Показано повышение протеолитической и антиоксидантной активности в процессе культивирования *P. shermanii* Э2. Наибольших значений протеолитическая и антиоксидантная активности достигли через 72 ч культивирования *P. shermanii* Э2. Кроме того, в бесклеточных супернатантах, полученных через 72 ч культивирования *P. shermanii* Э2 показано наибольшее содержание пропионовой, уксусной и янтарной кислот – (4858,0 ± 173) мг/дм³, (1542,0 ± 44) мг/дм³, (338,0 ± 11) мг/дм³ соответственно, а количество витамина В₁₂ составило (3,67 ± 0,05) мкг/дм³. Учитывая, что пробиотические свойства штаммов связаны с образованием определенных метаболитов, проведенные исследования позволяют сделать вывод о пробиотическом потенциале штамма *P. shermanii* Э2 и возможности его использования не только в составе заквасок, но и при получении постбиотиков.

Выводы. Применение постбиотиков при производстве продуктов питания в качестве функциональных ингредиентов будет способствовать расширению рынка функциональных продуктов, а определение их биологической активности позволит расширить область применения постбиотиков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

пропионовокислые бактерии, пробиотический потенциал, постбиотики, метаболиты

Evaluation of the Potential of Propionic Acid Bacteria for Obtaining Postbiotics

ALL-Russian Dairy Research Institute

Anna V. Begunova, Nikolay A. Zhizhin

CORRESPONDENCE:

Anna V. Begunova

35/7, Lyusinovskaya str.,
Moscow, 115093, Russian Federation
E-mail: a_begunova@vnimi.org

FOR CITATIONS:

Begunova, A. V., & Zhizhin, N. A. (2022). Evaluation of the Potential of Propionic Acid Bacteria for Obtaining Postbiotics. *Storage and processing of Farm Products*, (4), 102–112. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.356>

RECEIVED: 23.08.2022

ACCEPTED: 03.10.2022

PUBLISHED: 14.10.2022

DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



ABSTRACT

Introduction. Numerous modern studies show that the products of potentially probiotic cultures, like probiotic microorganisms, can cause positive effects on the health of users. Their using is a preventive strategy for approaching human health.

Purpose. To characterize the potential of the *P. shermanii* E2 strain for use for the production of postbiotics.

Materials and methods. The *P. shermanii* E2 strain was cultivated on a nutrient medium with the following composition: yeast autolysate, 40 cm³/dm³, KH₂PO₄, 4 g/dm³, CoCl₂, 1 cm³/dm³, and hydrolyzed milk up to 1 dm³. The enzymatic activity of the strain was determined by using the API ZYM test system (BioMerieux, France). Proteolytic activity was determined by the TNBS method (2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid) and expressed in mmol/l leucine equivalents. Antioxidant activity was determined by the ORAC method. The content of organic acids was evaluated by high performance liquid chromatography (HPLC), and vitamin B₁₂ was determined by high performance liquid chromatography with a mass spectrometric detector (HPLC-MS).

Results. The profile of the enzymatic activity of *P. shermanii* E2, its proteolytic and antioxidant activity was determined, in addition, the content of organic acids and vitamin B₁₂ in cell-free supernatants was determined. It was found that the strain has a pronounced aminopeptidase activity, high activity of acid phosphatase, α -galactosidase and β -galactosidase. However, the activities of trypsin, lipase, β -glucuronidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, α -mannosidase and α -fructosidase were not observed. An increase in proteolytic and antioxidant activity during the cultivation of *P. shermanii* E2 was shown. The highest values of proteolytic and antioxidant activity were reached after 72 h of cultivation *P. shermanii* E2. In addition, cell-free supernatants obtained after 72 hours of *P. shermanii* E2 cultivation showed the highest content of propionic, acetic and succinic acids – (4858.0 $\pm$ 173) mg/dm³, (1542.0 $\pm$ 44) mg/dm³, (338.0 $\pm$ 11) mg/dm³, respectively, and the amount of vitamin B₁₂ was (3.67 $\pm$ 0.05) μ g/dm³. Taking into account that the probiotic properties of the strains are associated with the formation of certain metabolites, the conducted studies allow us to conclude that the *P. shermanii* E2 strain has a probiotic potential and the possibility of its use not only as part of starter cultures, but also in the production of postbiotics.

Conclusions. The use of postbiotic in food production as food additives will correspond to the expansion of the market for functional products, and the determination of their biological applicability will expand the field of postbiotics.

KEYWORDS

propionic acid bacteria, probiotic potential, postbiotics, metabolites

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к продуктам питания для укрепления и поддержания здоровья неизменно высок, что является дополнительной мотивацией производителей к увеличению исследований в области разработок инновационных продуктов с функциональными свойствами (Коростелева & Агаркова, 2020; Донская & Дрожжин, 2020; Файзуллина и соавт., 2020). Спектр продуктов питания с добавлением пробиотических культур как функциональных ингредиентов постоянно увеличивается на рынке специализированных продуктов. Микроорганизмы, используемые в качестве заквасочных и пробиотических культур при производстве кисломолочных продуктов с функциональными свойствами могут обеспечить преимущества для здоровья (Rezasc et al., 2018). Накоплены многочисленные данные о значительном потенциале пробиотических бактерий в продуктах питания, которые способны модулировать микробиоту желудочно-кишечного тракта, метаболизм и иммунитет за счет биосинтеза ценных метаболитов (Rabah, 2017). Популярность кисломолочных продуктов связана с их безопасностью, питательными, органолептическими и функциональными свойствами, которые обусловлены содержанием биоактивных молекул, витаминов и других компонентов, образующихся в процессе ферментации, а также содержанием жизнеспособных клеток заквасочных культур (Marco et al., 2017; Зобкова & Фурсова, 2020; Зобкова и соавт., 2021). Кроме молочнокислых бактерий при производстве кисломолочных продуктов в качестве пробиотических культур в составе заквасок используются *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*. При этом все большее внимание привлекают *Propionibacterium freudenreichii*. Эти микроорганизмы являются членами семейства *Propionibacteriaceae*, а вид *Propionibacterium freudenreichii* признан безопасным, т.е. имеет статус GRAS (EFSA, 2013) и широко известен своим пробиотическим потенциалом (Rabah, 2017). Ряд исследований показал, что пропионовокислые бактерии обладают бифидогенными, антиоксидантными, антимуtagenными, иммуномодулирующими и др. свойствами (Cousin et al., 2011). Кроме того, пропионовокислые бактерии синтезируют витамин B₁₂, который необходим для многих функций организма человека, так как участвует в регуляции основных процессов обмена веществ в организме, активизируя белковый, углеводный и жировой обмен,

способствует повышению иммунитета (Hugenholtz et al., 2002). *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* обладают ценными технологическими свойствами, такими как использование лактозы и лактатов в качестве источника углерода, синтез внутриклеточных пептидаз и протеаз, а также синтез соединений, обладающих консервирующими свойствами (бактериоцины, пропионовая и уксусная кислоты). Они также обладают способностью вырабатывать витамин B₁₂ (Hugenholtz et al., 2002), который является незаменимым витамином и необходим для поддержания здоровья (Zárate, 2012), он относится к кобаламинам, и включает цианокобаламин, гидроксокобаламин, метилкобаламин, дезоксиаденозилкобаламин. Оптимальная суточная доза витамина B₁₂ для людей старше 14 лет составляет 2,4 мкг (Piwowarek et al., 2018). Пропионовая кислота относится к группе карбоновых кислот, является основной антимикробной молекулой, вырабатываемой *P. freudenreichii* и используется как консервант для подавления роста дрожжей и плесневых грибов в пищевой промышленности и в производстве кормов для животных.

В настоящее время ученые во всем мире занимаются поиском штаммов, которые можно использовать в составе заквасок для обогащения продуктов биоактивными метаболитами, либо использовать отдельно для получения постбиотиков (Raveschot et al., 2018; Tagliazucchi et al., 2019). В связи с этим появляются новые перспективы в использовании компонентов пробиотических культур, а не жизнеспособных клеток, которые сегодня известны как постбиотики (метаболиты и клеточные компоненты), приносящие пользу для здоровья (Todorov et al., 2021; Salminen et al., 2021). Внеклеточные метаболиты пробиотических микроорганизмов могут свободно попадать в кровоток, а также ткани и органы человека, что является еще одной интересной областью исследований (Molina-Tijeras et al., 2019; Nishiyama et al., 2020). Постбиотики — многообещающая область исследований для функциональных пищевых продуктов, обладающих полезными эффектами, а также новых фармацевтических препаратов (Poluektova et al., 2021).

Пропионовокислые бактерии и их метаболиты широко используются в косметической, фармацевтической и пищевой промышленности (Piwowarek et al., 2018), так как обладают спектром физиолого-биохимических свойств (Vorobjeva et al., 2008),

которые зависят от штамма, однако потенциал пропионовокислых бактерий как постбиотиков недооценен. Отсюда, целью исследований являлось определение *in vitro* пробиотического потенциала штамма *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* Э2 из коллекции ФГАНУ «ВНИМИ» для использования при разработке постбиотиков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект

В работе использовали культуру *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* Э2 из коллекции Центральной лаборатории микробиологии Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ФГАНУ «ВНИМИ»).

Методы

Культивирование штамма и получение бесклеточных супернатантов

Штамм *P. shermanii* Э2 культивировали на питательной среде следующего состава: дрожжевой автолизат — 40 см³/дм³, КН₂РO₄ — 4 г/дм³, СоСl₂ — 1 см³/дм³, гидролизованное молоко до 1 дм³. Для определения *in vitro* протеолитической и антиоксидантной активности, а также содержания пропионовой, уксусной, янтарной кислот и витамина В₁₂ инокулят вносили в количестве 3% в 100 см³ питательной среды, состав которой указан выше и культивировали при температуре (30 ± 1)°С. Отбор проб проводили через 24, 48 и 72 ч культивирования. Для получения бесклеточных фракций образцы центрифугировали при температуре 4°С в течение 30 мин при 10 000 г на центрифуге Rotanta, (Германия).

Ферментативный профиль

Ферментативную активность штамма определяли с использованием тест-системы API ZYM («BioMerieux», Франция), в которую входит стрип с лунками, содержащими хромогенный субстрат. Суспензию клеток вносили в лунки стрипа, после чего проводили инкубирование в течение 4,0–4,5 ч при температуре (37 ± 1)°С. Затем в каждую лунку стрипа вносили реагент ZYM A и реагент ZYM B. Че-

рез 5–10 минут проводили визуальную оценку изменения цвета субстрата в лунке.

Протеолитическая и антиоксидантная активность

Полученные бесклеточные супернатанты фильтровали через складчатый бумажный фильтр (MN 640W, «Macherey-Nagel», Германия), затем устанавливали активную кислотность (pH) — 4,6 добавлением 0,1 М раствора NaOH, повторно центрифугировали как указано выше и пропускали через фильтры с диаметром пор 0,45 мкм («Sartorius», Германия).

Протеолитическую активность определяли методом TNBS (2,4,6-тринитробензолсульфоновая кислота) (Adler-Nissen, 1979). Оптическую плотность растворов измеряли на микропланшетном фотометре-флуориметре Synergy2 («BioTek», США) при длине волны 340 нм. В качестве стандарта использовали L-лейцин («Sigma-Aldrich», США). Результаты измерений выражали в ммоль/л-эквивалентов лейцина.

Антиоксидантную активность определили методом ORAC с помощью микропланшетного фотометра-флуориметра Synergy 2 («BioTek», США). В качестве стандарта использовали тролокс («Sigma-Aldrich», США). Величину антиоксидантной активности образцов рассчитывали в ммоль эквивалентов тролокса (ТЭ).

Определение содержания органических кислот

Оценку содержания пропионовой, уксусной и янтарной кислот проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе «Маэстро» (Россия) оснащенного диодно-матричным детектором. Для разделения органических кислот была использована хроматографическая колонка NanoSpher OrgAcids 500*4,6. Для количественной оценки каждого аналита были использованы аналитические стандарты органических кислот («ACROS», Бельгия).

Определение витамина В₁₂

Содержание витамина В₁₂ оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС) с использованием хроматографической системы

Agilent 1260 (Сингапур), оснащённой детектором triple quad Agilent 6465. Для хроматографического разделения применяли колонку Agilent InfinityLab 120 Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 3.0×100 mm, 2.7 µm.

Анализ данных

Все исследования были проведены в трех повторностях, дисперсионный анализ (ANOVA) данных проводили с использованием пакета Statistica 10.0. Значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Определение ферментативного профиля

Данные по определению ферментативного профиля *P. shermanii* Э2 представлены на Рисунке 1.

В результате проведенных исследований у штамма *P. shermanii* Э2 выявлена умеренная активность эстеразы (C4) и эстераз-липазы (C8), выраженная аминокислотная активность (лейцин ариламидаза, ва-

лин ариламидаза и цистин ариламидаза), выявлена активность протеиназы (α -химотрипсина), однако отсутствовала активность трипсина. Штамм показал достаточно высокую активность кислой фосфатазы, α -галактозидазы и β -галактозидазы и слабую нафтол-AS-BI-фосфогидролазную и α -глюкозидазную активность. Активность липазы, β -глюкорнидазы, β -глюкозидазы, N-ацетил- β -глюкозаминидазы, α -маннозидазы и α -фруктозидазы не наблюдалось.

Протеолитическая и антиоксидантная активность

Данные по изменению протеолитической и антиоксидантной активности в процессе накопления метаболитов *P. shermanii* Э2 представлены в Таблице 1.

Установлено, что в образцах, полученных через 24 ч культивирования *P. shermanii* Э2 происходит незначительное повышение антиоксидантной активности ($256,31 \pm 22$) мкмоль ТЭ и количества эквивалентов L-лейцина ($3,29 \pm 0,24$) по сравнению с контролем. Это обусловлено достаточно низкой протеолитической активностью штамма *P. shermanii*

Фермент	Активность фермента, у. ед.	Фермент	Активность фермента, у. ед.
Контроль	0	Кислая фосфатаза	2,0
Щелочная фосфатаза	≤0,5	Нафтол-AS-BI-фосфогидролаза	0,5
Эстераза (C4)	1,5	α -галактозидаза	≤5,0
Эстераза-липаза (C8)	1,0	β -галактозидаза	≤5,0
Липаза	≤0,5	β -глюкорнидаза	0
Лейцин ариламидаза	4,0	α -глюкозидаза	0,5
Валин ариламидаза	3,5	β -глюкозидаза	0
Цистин ариламидаза	3,0	N-ацетил- β -глюкозаминидаза	0
Трипсин	0	α -маннозидаза	0
α -химотрипсин	4,0	α -фруктозидаза	0

Рисунок 1

Профиль ферментативной активности (API ZYM) штамма *P. shermanii* Э2

Таблица 1

Протеолитическая и антиоксидантная активность *P. shermanii* Э2

Продолжительность, ч	Активная кислотность, ед. pH	Протеолитическая активность, (Эквиваленты L-лейцина, ммоль/мл)	Антиоксидантная активность (ORAC), мкмоль ТЭ/мл
0	6,40 ± 0,12	2,72 ± 0,21	217,17 ± 16
24	5,37 ± 0,15	3,29 ± 0,24	256,31 ± 22
48	4,13 ± 0,10	7,57 ± 0,38	598,48 ± 21
72	3,87 ± 0,11	9,86 ± 0,25	746,21 ± 26

Э2. В последующие 24 часа наблюдается статистически значимое увеличение антиоксидантной активности ($598,48 \pm 21$) на фоне повышения количества эквивалентов L-лейцина ($7,57 \pm 0,38$). Бесклеточные фракции, полученные через 72 ч культивирования *P. shermanii* Э2 обладали наибольшей антиоксидантной активностью, которая составила ($746,21 \pm 26$) мкмоль ТЭ. Протеолитическая активность также увеличилась и составила ($9,86 \pm 0,25$) ммоль L-лейциновых эквивалентов.

Содержание органических кислот

Данные по содержанию пропионовой, уксусной и янтарной кислот представлены в Таблице 2.

Показано, что в бесклеточном супернатанте *P. shermanii* Э2 содержание органических кислот увеличивается в процессе культивирования штамма. Так, через 24 ч содержание пропионовой кислоты

Таблица 2

Содержание органических кислот в бесклеточном супернатанте в зависимости от продолжительности накопления метаболитов штаммом *P. shermanii* Э2

Продолжительность, ч	Содержание органических кислот, мг/дм ³		
	Пропионовая	Уксусная	Янтарная
0	<0,1	105,0 ± 8	<0,1
24	1465,0 ± 57	434,0 ± 16	120,0 ± 8
48	3940,0 ± 138	1051,0 ± 31	190,0 ± 8
72	4858,0 ± 173	1542,0 ± 44	338,0 ± 11

(пропионатов) в бесклеточном супернатанте составило ($1465,0 \pm 57$) мг/дм³, а уксусной (ацетатов) — ($434,0 \pm 16$) мг/дм³. При дальнейшем культивировании их содержание увеличивалось и через 72 ч составило ($4858,0 \pm 173$) мг/дм³ и ($1542,0 \pm 44$) мг/дм³ соответственно.

Установлено, что кроме пропионовой и уксусной кислоты, обладающих антимикробными свойствами, в бесклеточном супернатанте присутствует янтарная кислота, содержание которой через 72 ч культивирования штамма составляет ($338,0 \pm 11$) мг/дм³.

Определение содержания витамина B₁₂

Данные по определению содержания витамина B₁₂ в бесклеточных супернатантах в зависимости от продолжительности культивирования *P. shermanii* Э2 представлены в Таблице 3.

Таблица 3

Содержание витамина B₁₂ в бесклеточном супернатанте

Продолжительность, ч	Содержание витамина B ₁₂ , мкг/дм ³
0	<0,01
24	2,30 ± 0,03
48	2,54 ± 0,03
72	3,67 ± 0,05

В бесклеточном супернатанте *P. shermanii* Э2 определено наличие витамина B₁₂, содержание которого зависит от продолжительности культивирования штамма. Так, в полученных супернатантах через 24 ч и 48 ч культивирования *P. shermanii* Э2 содержание витамина B₁₂ различается незначительно и составляет (2,30–2,54) мкг/дм³. В бесклеточном супернатанте, полученном через 72 ч культивирования *P. shermanii* Э2 содержание витамина B₁₂ составляет ($3,67 \pm 0,05$) мкг/дм³.

ОБСУЖДЕНИЕ

Способность микроорганизмов высвобождать функциональные ферменты проявляется штаммозависимым образом, и имеет важное значение в оздоравливающем действии на организм (Indira et al., 2019). Активность ферментов у микроорга-

низмов играет значительную роль. Так, протеазная активность приводит к производству различных биологически активных пептидов, а гликозилгидролазная активность способствует повышению биодоступности растительных полисахаридов и т.д. (Begunova et al., 2021). Полученные в этом исследовании результаты показывают, что штамм *P. shermanii* Э2 обладает выраженной и разнообразной гликозилгидролазной активностью. Известно, что гликозилгидролазная активность повышает доступность растительных полисахаридов (Cockburn & Koropatkin, 2016), а активность протеаз и пептидаз приводит к образованию биологически активных пептидов (Korhonen, 2009). Учитывая то, что гликозил-гидролазы отсутствуют или недостаточно активны у человека, данный штамм может быть использован в составе заквасок для кисломолочных продуктов и для получения постбиотиков.

Протеолитическая активность бактерий проявляется в зависимости от содержания протеиназ, а антиоксидантные свойства связаны с синтезом биоактивных пептидов в процессе культивирования штамма. Эти активности являются штаммоспецифичными свойствами (Raveschot et al., 2018). Текущее исследование показывает положительную динамику увеличения протеолитической и антиоксидантной активностей. Увеличение антиоксидантной активности соответствовало изменению степени протеолиза, что свидетельствует о продукции пептидов ферментами *P. shermanii* Э2. Поскольку у штамма *P. shermanii* Э2 не обнаружено активности трипсина в профиле ферментативной активности, наблюдаемое повышение протеолитической активности можно частично обосновать кислотным гидролизом белков и возможным действием некоторых внутриклеточных аминопептидаз, которые высвобождаются при лизисе клеток, что подтверждается исследованиями (Zhang et al., 2020). Полученные результаты по протеолитической и антиоксидантной активности постбиотиков на основе *P. shermanii* Э2 сопоставимы с данными для пробиотических штаммов *Lactobacillus* (Izuddin et al., 2020).

Важным фактором, определяющим пробиотический потенциал штаммов, является их антимикробная активность, которая связана с продуцированием определенных метаболитов. В ранее проведенных исследованиях продемонстрировано,

что *P. shermanii* Э2 обладает антагонистической активностью по отношению к *E. coli* B-125 и *S. aureus* ATCC 6538 (Бегунова & Рожкова, 2021). Текущее исследование подтверждает, что бесклеточный супернатант содержит органические кислоты — пропионовую, уксусную и янтарную, которые могут ингибировать рост условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Антибактериальные свойства этих органических кислот подтверждается в исследованиях Wang et al. (Wang et al., 2020). В опубликованных исследованиях показано, что пропионат обладает не только антибактериальными эффектами, но и иммуномодулирующими (Arpaia et al. 2013), противоопухолевыми (Cousin et al., 2012), антиатеросклеротическими эффектами (Bush & Milligan, 1971). Обнаруженная в этом исследовании янтарная кислота, образует производные с антиоксидантным действием (Nowak et al., 2008). Также сообщалось, что янтарная кислота обладает кардиопротекторным, антитромботическим, противовоспалительным и антибактериальным эффектом (Wang et al., 2020).

Известно, что источниками витамина B₁₂ в рационе человека являются молоко и молочные продукты, яйца, мясо, птица, рыба, ракообразные и мясные субпродукты (Piwowarek et al., 2018). Витамин B₁₂ может синтезироваться бактериальными клетками, в том числе микроорганизмами пищеварительного тракта человека. *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermani* является единственным производителем витамина B₁₂, который имеет статус GRAS (EFSA, 2013, р. 3449) и синтезируется как кофактор ферментации пропионовой кислоты. Данные полученные в нашем исследовании по содержанию витамина B₁₂ сопоставимы с результатами Gardner (Gardner & Champagne, 2005). Представленные в научной литературе данные показывают, что увеличить биосинтез витамина B₁₂ можно оптимизировав состав среды культивирования пропионовокислых бактерий, в частности, обогатив её предшественником витамина B₁₂ (Murooka et al., 2005).

Полученные данные о пробиотических свойствах бесклеточных супернатантов *P. shermanii* Э2 имеют большое значение с точки зрения использования данного штамма для получения постбиотиков.

ВЫВОДЫ

В настоящей работе проведена систематическая оценка *in vitro* потенциала *P. shermanii* Э2 для использования при получении постбиотиков. Результаты определения ферментативной, протеолитической и антиоксидантной активностей, содержания органических кислот и витамина B₁₂ в бесклеточных супернатантах, полученных при культивировании *P. shermanii* Э2 подтверждают наличие пробиотического потенциала у данного штамма. Установлено, что штамм обладает выраженной аминопептидазной активностью, высокой активностью кислой фосфатазы, α -галактозидазы и β -галактозидазы. Показана положительная динамика изменения протеолитической и антиоксидантной активностей бесклеточных супернатантов, полученных в процессе культивирования *P. shermanii* Э2. Бесклеточные супернатанты, полученные через 72 ч культивирования *P. shermanii* Э2 обладали наибольшей антиоксидантной активностью, которая составила $(746,21 \pm 26)$ мкмоль ТЭ. Выявлено наличие пропионовой, уксусной и янтарной кислот в бесклеточных супернатантах, содержание которых через 72 ч составило $(4858,0 \pm 173)$ мг/дм³, $(1542,0 \pm 44)$ мг/дм³ и $(338,0 \pm 11)$ мг/дм³ соответственно. Наибольшее

содержание витамина B12 определено в бесклеточном супернатанте, полученном через 72 ч культивирования *P. shermanii* Э2 и составило $(3,67 \pm 0,05)$ мкг/дм³. Пробиотические свойства связаны с образованием полезных метаболитов, поэтому проведенные исследования позволяют сделать вывод, что штамм *P. shermanii* Э2 обладает пробиотическим потенциалом для использования при получении постбиотиков. Применение постбиотиков при производстве продуктов питания в качестве функциональных ингредиентов будет способствовать появлению новых специализированных продуктов для различных групп населения и расширению рынка функциональных продуктов.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Бегунова А. В.: Концептуализация, разработка методологии исследования, проведение исследования, визуализация данных, написание и редактирование рукописи.

Жижин Н. А.: Разработка методологии исследования, проведение исследования, валидация данных, написание.

ЛИТЕРАТУРА

- Бегунова, А. В., & Рожкова, И. В. (2021). Оценка антагонистической активности пропионовокислых бактерий и ассоциаций с их использованием. В *Актуальные направления научных исследований: Технологии, качество и безопасность: Сборник материалов II Национальной (Всероссийской) конференции ученых в рамках III международного симпозиума «Инновации в пищевой биотехнологии»* (с. 28–30). Кемерово: Кемеровский государственный университет.
- Донская, Г. А., & Дрожжин, В. М. (2020). Биологически активные ингредиенты в кисломолочных продуктах. *Переработка молока*, (7), 20–23. <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2020-07-20-23>
- Зобкова, З. С., & Фурсова, Т. П. (2020). Разработка инновационных технологий кисломолочных продуктов адаптивной направленности. *Актуальные вопросы молочной промышленности, межотраслевые технологии и системы управления качеством*, 1(1), 205–214. <https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-205-214>
- Зобкова, З. С., Лазарева, Е. Г., & Шелагинова, И. Р. (2021). Выбор ингредиентов с антиоксидантными свойствами для функциональных кисломолочных продуктов. *Молочная промышленность*, (6), 48–49. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-06-48-49>
- Коростелева, М. М., & Агаркова, Е. Ю. (2020). Принципы обогащения пищевых продуктов функциональными ингредиентами. *Молочная промышленность*, 11, 6–8. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-11-6-8>
- Файзуллина, Р. А., Самороднова, Е. А., & Федотова, О. Б. (2019). Кисломолочные продукты в питании детей раннего возраста: эволюция от традиционных к функциональным. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*, 64(4), 133–140. <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2019-64-4-133-140>
- Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 27(6), 1256–1262. <https://doi.org/10.1021/jf60226a042>
- Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., van der Veecken, J., deRoos, P., Pfeffer, K., Coffey, P. J., & Rudensky, A. Y. (2013). Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*, 504, 451–455. <https://doi.org/10.1038/nature12726>
- Begunova, A. V., Rozhkova, I. V., Glazunova, O. A., Moiseenko, K. V., Savinova, O. S., & Fedorova, T. V. (2021). Fermentation Profile and Probiotic-Related Characteristics of *Bifidobacterium longum* MC-42. *Fermentation*, 7(3), 101. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030101>

- Bush, R. S., & Milligan, L. P. (1971). Study of the mechanism of inhibition of ketogenesis by propionate in bovine liver. *Canadian Journal of Animal Science*, 51(1), 121–127. <https://doi.org/10.4141/cjas71-016>
- Cockburn, D. W., & Koropatkin, N. M. (2016). Polysaccharide degradation by the intestinal microbiota and its influence on human health and disease. *Journal of Molecular Biology*, 428(16), 3230–3252. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.06.021>
- Cousin, F. J., Jouan-Lanhuet, S., Dimanche-Boitrel, M. T., Corcos, L., & Jan, G. (2012). Milk fermented by *Propionibacterium freudenreichii* induces apoptosis of HGT-1 human gastric cancer cells. *PLoS One*, 7(3), Article e31892. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031892>
- Cousin, F. J., Mater, D. D., Foligné, B., & Jan, G. (2011). Dairy propionibacteria as human probiotics: a review of recent evidence. *Dairy Science & Technology*, 91(1), 1–26. <https://doi.org/10.1051/dst/2010032>
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2013). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update). *EFSA Journal*, 11(11), Article 3449. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3449>
- Gardner, N., & Champagne, C. P. (2005). Production of *Propionibacterium shermanii* biomass and vitamin B12 on spent media. *Journal of Applied Microbiology*, 99(5), 1236–1245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02696.x>
- Hugenholtz, J., Hunik, J., Santos, H., & Smid, E. (2002). Nutritional production by propionibacteria. *Le Lait*, 82(1), 103–112. <https://doi.org/10.1051/LAIT:2001009>
- Indira, M., Venkateswarulu, T. C., Abraham Peele, K., Bobby, N., & Krupanidhi, S. (2019). Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: A review. *Biotech*, 9(8), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1841-2>
- Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samudin, A. A. (2020). Dietary postbiotic *Lactobacillus plantarum* improves serum and ruminal antioxidant activity and upregulates hepatic antioxidant enzymes and ruminal barrier function in post-weaning lambs. *Antioxidants*, 9(3), 250. <https://doi.org/10.3390/antiox9030250>
- Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 177–187. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.01.007>
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., & Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>
- Molina-Tijeras, J. A., Gálvez, J., & Rodríguez-Cabezas, M. E. (2019). The immunomodulatory properties of extracellular vesicles derived from probiotics: a novel approach for the management of gastrointestinal diseases. *Nutrients*, 11(5), 1038. <https://doi.org/10.3390/nu11051038>
- Murooka, Y., Piao, Y., Kiatpapan, P., & Yamashita, M. (2005). Production of tetrapyrrole compounds and vitamin B12 using genetically engineering of *Propionibacterium freudenreichii*. An overview. *Le Lait*, 85(1–2), 9–22. <https://doi.org/10.1051/LAIT:2004035>
- Nishiyama, K., Takaki, T., Sugiyama, M., Fukuda, I., Aiso, M., Mukai, T., Odamaki, T., Xiao, J.-Z., Osawa, R., & Okada, N. (2020). Extracellular vesicles produced by *Bifidobacterium longum* export mucin-binding proteins. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(19), Article e01464–20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01464-20>
- Nowak, G., Clifton, G. L., & Bakajsova, D. (2008). Succinate ameliorates energy deficits and prevents dysfunction of complex I in injured renal proximal tubular cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 324(3), 1155–1162. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.130872>
- Piwożarek, K., Lipińska, E., Hać-Szymańczuk, E., Kieliszek, M., & Ścibisz, I. (2018). *Propionibacterium* spp. — source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(2), 515–538. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8616-7>
- Poluektova, E., Yunes, R., & Danilenko, V. (2021). The putative antidepressant mechanisms of probiotic bacteria: relevant genes and proteins. *Nutrients*, 13(5), 1591. <https://doi.org/10.3390/nu13051591>
- Rabah, H. (2017). Luiz Rosa do Carmo F. Jan G. Dairy *Propionibacteria*: Versatile Probiotics. *Microorganisms*, 5, 24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5020024>
- Raveschot, C., Cudennec, B., Coutte, F., Flahaut, C., Fremont, M., Drider, D., & Dhulster, P. (2018). Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>
- Rezac, S., Kok, C. R., Heermann, M., & Hutkins, R. (2018). Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1785. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01785>
- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., & Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(9), 649–667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
- Tagliazucchi, D., Martini, S., & Solieri, L. (2019). Bioprospecting for bioactive peptide production by lactic acid bacteria isolated from fermented dairy food. *Fermentation*, 5(4), 96. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040096>
- Todorov, S. D., Tagg, J. R., & Ivanova, I. V. (2021). Could Probiotics and Postbiotics Function as “Silver Bullet” in the Post-COVID-19 Era? *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(6), 1499–1507. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09833-0>
- Vorobjeva, L. I., Khodjaev, E. Y., & Vorobjeva, N. V. (2008). Propionic acid bacteria as probiotics. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20(2), 109–112. <https://doi.org/10.1080/08910600801994954>
- Wang, H., Xia, B., Lin, M., Wang, Y., Sun, B., & Li, Y. (2020). Succinic acid inhibits the activity of cytochrome P450

- (CYP450) enzymes. *Pharmaceutical Biology*, 58(1), 1159–1164. <https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1839110>
- Zárate, G. (2012). Dairy Propionibacteria: Less conventional probiotics to improve human and animal health. In E. Rigobelo (Ed.), *Probiotics in Animals* (pp. 153–202). In: techOpen. <https://doi.org/10.5772/50320>
- ## REFERENCES
- Begunova, A. V., & Rozhkova, I. V. (2021). Otsenka antagonistskoi aktivnosti propionovokislykh bakterii i assotsiatsii s ikh ispol'zovaniem [Evaluation of the antagonistic activity of propionic acid bacteria and associations with their use]. In *Aktual'nye napravleniya nauchnykh issledovaniy: Tekhnologii, kachestvo i bezopasnost': Sbornik materialov II Natsional'noi (Vserossiiskoi) konferentsii uchenykh v ramkakh III mezhdunarodnogo simpoziuma "Innovatsii v pishchevoi biotekhnologii"* [Actual directions of scientific research: Technology, quality and safety: Collection of materials of the 2nd National (All-Russian) conference of scientists in the framework of the 3rd international symposium "Innovations in food biotechnology"] (pp. 28–30). Kemerovo: Kemerovskii gosudarstvennyi universitet.
- Donskaya, G. A., & Drozhzhin, V. M. (2020). Biologicheski aktivnye ingredienty v kislomolochnykh produktakh [Biologically active ingredients in dairy products]. *Pererabotka moloka* [Milk Processing], (7), 20–23. <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2020-07-20-23>
- Faizullina, R. A., Samorodnova, E. A., & Fedotova, O. B. (2019). Kislomolochnye produkty v pitanii detei rannego vozrasta: evolyutsiya ot traditsionnykh k funktsional'nym [Fermented milk products in the nutrition of young children: evolution from traditional to functional]. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii* [Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics], 64(4), 133–140. <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2019-64-4-133-140>
- Korosteleva, M. M., & Agarkova, E. Yu. (2020). Printsipy obogashcheniya pishchevykh produktov funktsional'nymi ingredientami [Principles of Food Fortification with Functional Ingredients]. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], 11, 6–8. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-11-6-8>
- Zobkova, Z. S., & Fursova, T. P. (2020). Razrabotka innovatsionnykh tekhnologii kislomolochnykh produktov adaptatsionnoi napravlenosti [Development of innovative technologies for fermented milk products of adaptogenic orientation]. *Aktual'nye voprosy molochnoi promyshlennosti, mezhotraslevye tekhnologii i sistemy upravleniya kachestvom* [Actual issues of the dairy industry, cross-industry technologies and quality management systems], 1(1), 205–214. <https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-205-214>
- Zobkova, Z. S., Lazareva, E. G., & Shelaginova, I. R. (2021). Vybor ingredientov s antioksidantnymi svoystvami dlya funktsional'nykh kislomolochnykh produktov [The choice of ingredients with antioxidant properties for functional fermented milk products]. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry], (6), 48–49. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-06-48-49>
- Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 27(6), 1256–1262. <https://doi.org/10.1021/jf60226a042>
- Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., van der Veeken, J., deRoos, P., Pfeffer, K., Coffey, P. J., & Rudensky, A. Y. (2013). Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*, 504, 451–455. <https://doi.org/10.1038/nature12726>
- Begunova, A. V., Rozhkova, I. V., Glazunova, O. A., Moiseenko, K. V., Savinova, O. S., & Fedorova, T. V. (2021). Fermentation Profile and Probiotic-Related Characteristics of *Bifidobacterium longum* MC-42. *Fermentation*, 7(3), 101. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030101>
- Bush, R. S., & Milligan, L. P. (1971). Study of the mechanism of inhibition of ketogenesis by propionate in bovine liver. *Canadian Journal of Animal Science*, 51(1), 121–127. <https://doi.org/10.4141/cjas71-016>
- Cockburn, D. W., & Koropatkin, N. M. (2016). Polysaccharide degradation by the intestinal microbiota and its influence on human health and disease. *Journal of Molecular Biology*, 428(16), 3230–3252. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.06.021>
- Cousin, F. J., Mater, D. D., Foligné, B., & Jan, G. (2011). Dairy propionibacteria as human probiotics: a review of recent evidence. *Dairy Science & Technology*, 91(1), 1–26. <https://doi.org/10.1051/dst/2010032>
- Cousin, F. J., Jouan-Lanhouet, S., Dimanche-Boitrel, M. T., Corcos, L., & Jan, G. (2012). Milk fermented by *Propionibacterium freudenreichii* induces apoptosis of HGT-1 human gastric cancer cells. *PloS One*, 7(3), Article e31892. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031892>
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2013). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update). *EFSA Journal*, 11(11), Article 3449. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3449>
- Gardner, N., & Champagne, C. P. (2005). Production of *Propionibacterium shermanii* biomass and vitamin B12 on spent media. *Journal of Applied Microbiology*, 99(5), 1236–1245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02696.x>
- Hughenoltz, J., Hunik, J., Santos, H., & Smid, E. (2002). Nutritional production by propionibacteria. *Le Lait*, 82(1), 103–112. <https://doi.org/10.1051/LAIT:2001009>

- Indira, M., Venkateswarulu, T. C., Abraham Peele, K., Bobby, N., & Krupanidhi, S. (2019). Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: A review. *Biotech*, 9(8), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1841-2>
- Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samudin, A. A. (2020). Dietary postbiotic *Lactobacillus plantarum* improves serum and ruminal antioxidant activity and upregulates hepatic antioxidant enzymes and ruminal barrier function in post-weaning lambs. *Antioxidants*, 9(3), 250. <https://doi.org/10.3390/antiox9030250>
- Korhonen, H. (2009). Milk derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 177–187. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.01.007>
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., & Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>
- Molina-Tijeras, J. A., Gálvez, J., & Rodríguez-Cabezas, M. E. (2019). The immunomodulatory properties of extracellular vesicles derived from probiotics: a novel approach for the management of gastrointestinal diseases. *Nutrients*, 11(5), 1038. <https://doi.org/10.3390/nu11051038>
- Murooka, Y., Piao, Y., Kiatpapan, P., & Yamashita, M. (2005). Production of tetrapyrrole compounds and vitamin B12 using genetically engineering of *Propionibacterium freudenreichii*. An overview. *Le Lait*, 85(1–2), 9–22. <https://doi.org/10.1051/LAIT:2004035>
- Nishiyama, K., Takaki, T., Sugiyama, M., Fukuda, I., Aiso, M., Mukai, T., Odamaki, T., Xiao, J.-Z., Osawa, R., & Okada, N. (2020). Extracellular vesicles produced by *Bifidobacterium longum* export mucin-binding proteins. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(19), Article e01464–20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01464-20>
- Nowak, G., Clifton, G. L., & Bakajsova, D. (2008). Succinate ameliorates energy deficits and prevents dysfunction of complex I in injured renal proximal tubular cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 324(3), 1155–1162. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.130872>
- Piowarek, K., Lipińska, E., Hać-Szymańczuk, E., Kieliszek, M., & Ścibisz, I. (2018). *Propionibacterium* spp. — source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(2), 515–538. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8616-7>
- Poluektova, E., Yunes, R., & Danilenko, V. (2021). The putative antidepressant mechanisms of probiotic bacteria: relevant genes and proteins. *Nutrients*, 13(5), 1591. <https://doi.org/10.3390/nu13051591>
- Rabah, H. (2017). Luiz Rosa do Carmo F. Jan G. Dairy Propionibacteria: Versatile Probiotics. *Microorganisms*, 5, 24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5020024>
- Raveschot, C., Cudennec, B., Coutte, F., Flahaut, C., Fremont, M., Drider, D., & Dhulster, P. (2018). Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>
- Rezac, S., Kok, C. R., Heermann, M., & Hutkins, R. (2018). Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1785. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01785>
- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., & Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(9), 649–667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
- Tagliazucchi, D., Martini, S., & Solieri, L. (2019). Bioprospecting for bioactive peptide production by lactic acid bacteria isolated from fermented dairy food. *Fermentation*, 5(4), 96. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040096>
- Todorov, S. D., Tagg, J. R., & Ivanova, I. V. (2021). Could Probiotics and Postbiotics Function as “Silver Bullet” in the Post-COVID-19 Era? *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(6), 1499–1507. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09833-0>
- Vorobjeva, L. I., Khodjaev, E. Y., & Vorobjeva, N. V. (2008). Propionic acid bacteria as probiotics. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20(2), 109–112. <https://doi.org/10.1080/08910600801994954>
- Wang, H., Xia, B., Lin, M., Wang, Y., Sun, B., & Li, Y. (2020). Succinic acid inhibits the activity of cytochrome P450 (CYP450) enzymes. *Pharmaceutical Biology*, 58(1), 1159–1164. <https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1839110>
- Zárate, G. (2012). Dairy Propionibacteria: Less conventional probiotics to improve human and animal health. In E. Rigobelo (Ed.). *Probiotics in Animals* (pp. 153–202). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/50320>
- Zhang, C., Zhang, Y., Li, H., & Liu, X. (2020). The potential of proteins, hydrolysates and peptides as growth factors for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*: Current research and future perspectives. *Food & Function*, 11(3), 1946–1957. <https://doi.org/10.1039/c9fo02961c>