

KATARZYNA SKRZYPCZAK, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO

WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI TECHNOLOGICZNE I PROBIOTYCZNE SZCZEPÓW Z GATUNKU *LACTOBACILLUS HELVETICUS*

Streszczenie

Wciąż poszukiwane są szczepy bakterii, które wykazują pożądane cechy technologiczne i mogą wpływać na poprawę właściwości fizykochemicznych i reologicznych produktów spożywczych, a równocześnie wykazywać działanie prozdrowotne. Celem pracy było scharakteryzowanie skrzepów kwasowych uzyskanych w wyniku procesu fermentacji mleka, który prowadzono przy udziale szczepów *Lactobacillus helveticus*, porównanie wrażliwości analizowanych bakterii na obecność soli żółci w podłożu oraz określenie wpływu procesu fermentacji, prowadzonego przy udziale badanych drobnoustrojów, na właściwości przeciwnadciwrodnikowe wyselekcjonowanego preparatu białka serwatkowego. W badaniach wykazano, że analizowane szczepy bakterii były zróżnicowane pod względem wrażliwości na obecność soli żółci w podłożu hodowlanym. Udział tego składnika w pożywce, w ilości 0,25 %, spowodował zahamowanie dynamiki wzrostu wszystkich badanych drobnoustrojów. Najwrażliwszymi na ten czynnik były szczepy *Lb. helveticus* T80 oraz T15, natomiast największą odporność wykazywał szczep T105. Aktywność przeciwnadciwrodnikowa α -laktoalbuminy, kształtująca się na poziomie 15,4 %, znacząco wzrosła po procesie fermentacji. W zależności od użytego szczepu bakterii wartość ta zawierała się w zakresie 45,1 ÷ 75,3 %. W próbkach fermentowanych bakteriami z polskiej kolekcji najwyższą aktywność przeciwnadciwrodnikową wykazywał *Lb. helveticus* 80 (63,4%). Pod względem zdolności do tworzenia najtwardszych, jednorodnych skrzepów kwasowych największą przydatność technologiczną wykazały szczepy T104 oraz T105. Twardość skrzepów uzyskanych przy udziale tych szczepów wynosiła odpowiednio: 0,275 N i 0,316 N.

Słowa kluczowe: bakterie fermentacji mlekowej (LAB), *Lactobacillus helveticus*, tekstura, aktywność przeciwnadciwrodnikowa

Wprowadzenie

Bakterie *Lactobacillus helveticus* są to pałeczki termofilne, Gram dodatnie, homofermentatywne, niewytwarzające przetrwalników, należące do bakterii fermentacji

Mgr inż. K. Skrzypczak, dr hab. A. Waśko, Katedra Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, prof. dr hab. W. Gustaw, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: skrzypczakatarzyna@wp.pl

mlekowej (ang. *lactic acid bacteria*, LAB). Procesy proteolityczne prowadzone przy udziale tych mikroorganizmów w znacznym stopniu kształtują smak, aromat oraz teksturę, dlatego mają szczególne znaczenie w technologii produkcji mlecznych wyrobów fermentowanych [6, 14, 17].

Złożony system proteolityczny *Lb. helveticus* warunkuje uwalnianie z natywnej struktury białek mleka peptydów charakteryzujących się szerokim zakresem działań biologicznie czynnych. Te krótkie sekwencje aminokwasowe wykazują m.in. działanie hipocholesterolemiczne, antyoksydacyjne i przeciwzakrzepowe. Przejawiają one także zdolność do wiązania związków mineralnych oraz wykazują aktywność agonistyczną lub/i antagonistyczną wobec receptorów opioidowych [7, 8].

Jednym z etapów przemysłowej produkcji mlecznych wyrobów fermentowanych jest wzbogacenie mleka przerobowego w suchą masę. W celu uzyskania odpowiedniej tekstury najczęściej stosowane są dodatki hydrokoloidów polisacharydowych lub preparatów białek serwatkowych [9]. Preparaty tych białek wpływają równocześnie na zwiększanie walorów prozdrowotnych mlecznych napojów fermentowanych oraz na nadanie im cech żywności funkcjonalnej, ponadto sprzyjają rozwojowi bakterii probiotycznych [11, 16]. Alternatywnymi źródłami białka pozytywnie wpływającego na teksturę produktu są także: kazeiniany, kazeina kwasowa oraz podpuszczkowa [18].

Celem niniejszej pracy było otrzymanie i scharakteryzowanie właściwości mlecznych skrzepów kwasowych uzyskanych w procesie fermentacji prowadzonej przy udziale wybranych szczepów *Lactobacillus helveticus* oraz określenie odporności analizowanych bakterii na obecność soli żółci w podłożu, jako wybranej cechy wykazywanej przez organizmy probiotyczne. W badaniach określono także wpływ procesu fermentacji prowadzonego przy udziale analizowanych szczepów na właściwości przeciwnadciwrodnikowe białka mleka.

Material i metody badań

Material biologiczny stanowiły szczepy *Lb. helveticus* pochodzące z polskiej kolekcji: 80, B734, T15, T80, T103, T104, T105, T159, T199, 141 (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Polska), K1 (Instytut Rosell-Lallemand, Kanada) oraz referencyjny szczep DSM 20075 (DSMRZ, Niemcy).

W celu porównania aktywności przeciwnadciwrodnikowej preparatu białka serwatkowego fermentowanego przez monokultury analizowanych szczepów *Lactobacillus helveticus* do badań użyto probiotycznych szczepów: *Lactobacillus rhamnosus*: E/N, PEN oraz OXY (BIOMED Lublin, Polska) oraz szczep *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB12 (Chr. Hansen, Polska).

W doświadczeniu stosowano: podłoże podstawowe – bulion MRS (BTL, Łódź), sole żółci (Sigma-Aldrich, Poznań, Polska), odtłuszczone mleko w proszku (OMP)

(Biomlek Chełm, Polska), α -laktoalbuminę (α -la) (Arla Food, Dania) zawierającą 88 % białka, 10 % laktozy, 2,5 % tłuszczu, 5,0 % związków mineralnych oraz 5,5 % wody.

Wpływ soli żółciowych na dynamikę wzrostu hodowli komórek bakterii

Badania oporności bakterii na sole żółciowe wykonuje się przez określenie stopnia przeżycia lub stopnia rozwoju bakterii podczas hodowli w pożywce zawierającej ich dodatek [20]. W celu określenia dynamiki wzrostu komórek szczepów badanych bakterii w obecności soli żółciowych wykonywano pomiary gęstości optycznej (OD) hodowli bakteryjnych przy wykorzystaniu automatycznego czytnika wzrostu drobnoustrojów – Bioscreen C (OY Growth Curves, Finlandia) [11]. Hodowle komórek analizowanych szczepów prowadzono w mikropłytkach, w płynnym podłożu MRS z 0,25-procentowym dodatkiem soli żółci [2] przez 48 h w temp. 42 °C. Układ kontrolny stanowiły hodowle prowadzone w bulionie MRS bez dodatku soli. Pomiar zmian gęstości optycznej hodowli bakteryjnych następował co 2 h przy długości fali $\lambda = 600$ nm.

Określenie aktywności przeciwnadkwasotwórczej preparatu białka mleka fermentowanego przy udziale bakterii

Określano wpływ procesu fermentacji prowadzonego przy udziale analizowanych szczepów bakterii na właściwości przeciwnadkwasotwórcze preparatu białka mleka. W tym celu 10-procentowy wodny roztwór α -la pasteryzowano (80 °C/ 30 min), a następnie po ochłodzeniu do temp. ok. 45 °C zaszczipiano 2 % inoculum (18-godzinna hodowla komórek szczepów). Układ kontrolny stanowiły próbki roztworu α -la nieszczipione bakteriami. Próbki, w których inoculum stanowiły szczepy *Lb. helveticus* inkubowano w warunkach anaerobowych w temp. 42 °C, natomiast szczepy *Lb. rhamnosus* oraz szczep *Bifidobacterium lactis* w temp. 37 °C przez 12 h.

Do analizy pobierano 0,4 ml próbki i dodawano 0,8 ml alkoholowego roztworu DPPH[•] (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazylu) o stężeniu 0,2 mM, dokładnie mieszano i inkubowano bez dostępu światła w temp. 20 ± 2 °C przez 30 min, po czym próbkę wirowano $15\ 000 \times g/10$ min/4 °C (Eppendorf Centrifuge 5415R) i pobierano do oznaczenia 1 ml klarownego supernatantu.

Oznaczenie polegało na ocenie zdolności wyselekcjonowanego białka mleka (α -la), fermentowanego badanymi szczepami, do wygaszania rodnika DPPH[•], co przejawiało się w obniżaniu absorbancji roztworu metanolowego DPPH[•] podczas reakcji ze składnikami fermentowanego roztworu. Długość fali analitycznej wyznaczano w maksimum absorpcji roztworu DPPH[•] ($\lambda = 515$ nm) (BIO-RAD Smart Spec™ Plus). Próbkę wzorcową stanowił 96-procentowy etanol. Pomiary wykonano w trzech seriach po trzy powtórzenia. Procentową wartość aktywności przeciwnadkwasotwórczej obliczano z równania [15]:

$$\text{Inhibition [\%]} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

gdzie:

A_{control} – alkoholowy roztwór DPPH* (0,4 ml etanolu i 0,8 ml alkoholowego roztworu DPPH*),

A_{test} – analizowana próbka (0,4 ml próbki i 0,8 ml alkoholowego roztworu DPPH*).

Do wyznaczenia krzywej wzorcowej zastosowano szereg rozcieńczeń 500 μM roztworu wzorcowego troloxu.

*Analiza tekstury i właściwości fizykochemicznych skrzepów kwasowych uzyskanych przy udziale szczepów *Lb. helveticus**

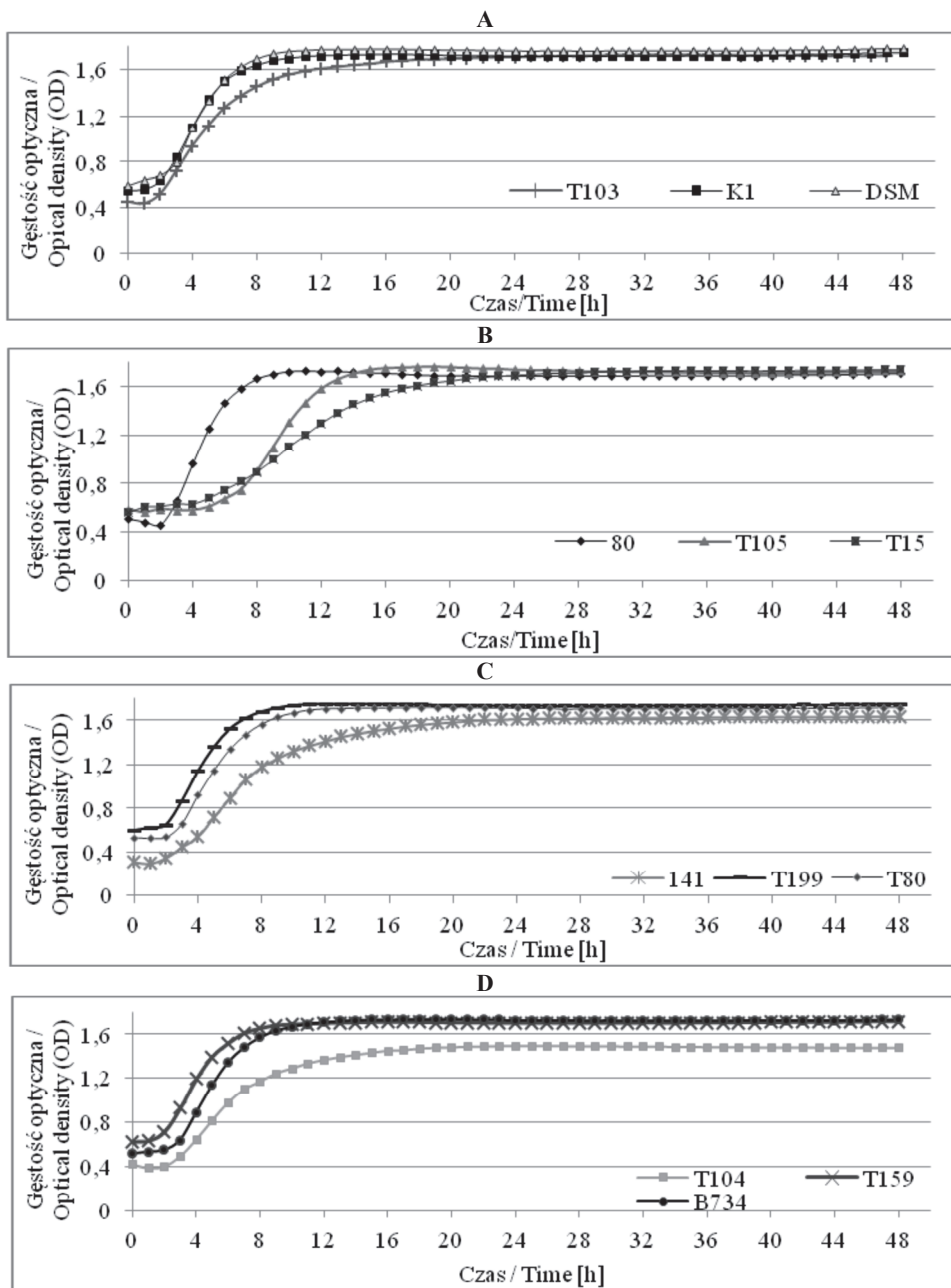
Trzynastoprocentowy roztwór odtłuszczonego mleka w proszku pasteryzowano w łaźni wodnej (80 °C/ 30 min), a następnie chłodzono do temp. 40 - 45 °C i rozlewano po do opakowań jednostkowych o poj. 50 ml, zaszczepiano 2 % inoculum, które stanowiła monokultura danego szczepu *Lb. helveticus*. Próbkę inkubowano w temp. 42 °C przez 12 h, a następnie chłodzono do temp. 4 °C i przechowywano w warunkach chłodniczych przez kolejne 12 h.

Twardość mlecznych napojów fermentowanych oznaczano za pomocą analizatora tekstury TA-XT2i (Stable Micro Systems, Godalming, Wielka Brytania) po 12 h przechowywania w temp. 4 °C. Próbkę penetrowano trzpieniem o średnicy 15 mm na głębokość 20 mm przy prędkości przesuwu głowicy analizatora – 1 mm/s. Uzyskane krzywe analizowano przy użyciu szablonu A [3], w którym oznaczano jedynie twardość. Pomiar wykonano w pięciu powtórzeniach.

Szybkość tworzenia się skrzepu kwasowego monitorowano przy użyciu reometru dynamicznego RS300 (Haake, Karlsruhe, Niemcy), wyposażonego w układ cylindrów współosiowych (Z31). Rejestrowano zmiany modułu zachowawczego (G') i modułu stratności (G'') przy $f = 0,1$ Hz i odkształceniu równym 0,01. Pomiar prowadzono w ciągu 12 h inkubacji w temp. 42 °C. Po upływie tego czasu próbkę chłodzono i przechowywano przez 10 h w temp. 5 °C.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wyników opracowano w programie statystycznym SAS/STAT®. Ocenę istotności różnic między wartościami średnimi szacowano testem Tukeya na poziomie istotności $p \leq 0,05$ [11].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Szczepy: / Strains: *Lactobacillus helveticus*-141, K1, B734, T159, 80, T104, T103, T80, T199, T105, T15, DSM 20075.

Rys. 1. A, B, C, D. Dynamika wzrostu szczepów *Lactobacillus helveticus* w podłożu MRS

Fig. 1. A, B, C, D. Growth dynamics of *Lactobacillus helveticus* strains in MRS medium

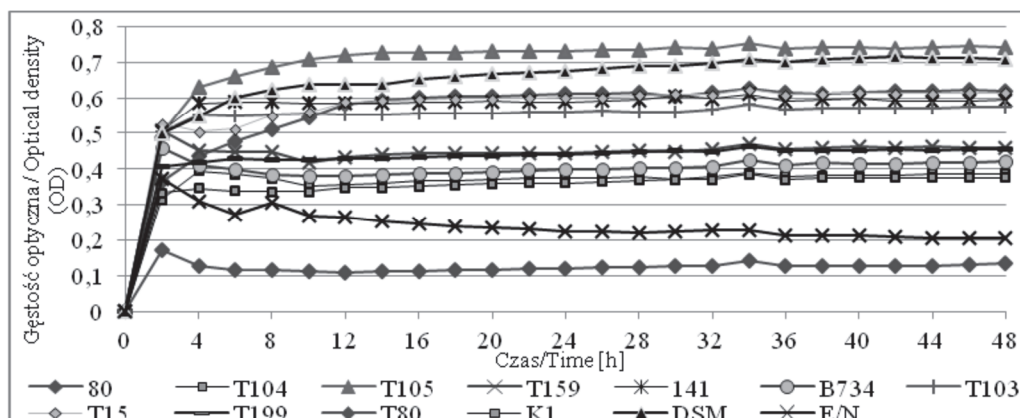
Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie badań monitorowano dynamikę wzrostu szczepów *Lb. helveticus* w płynnym podłożu MRS, w temp 42 °C, w warunkach anareobowych (optymalne warunki hodowli) oraz wpływ soli żółciowych na rozwój drobnoustrojów (rys. 1 A, B, C, D). Faza intensywnego wzrostu większości analizowanych szczepów następowała pomiędzy 4. a 8. h inkubacji, wyjątek stanowiły szczepy T105, K1, T15 oraz 141, w których faza logarytmicznego wzrostu trwała dłużej (rys. 1 A, B i C).

Mikroorganizmy probiotyczne wpływają na poprawę funkcjonowania mikroflory przewodu pokarmowego, dzięki czemu wykazują działanie prozdrowotne. Istotnymi cechami przystosowawczymi bakterii jest zdolność do przeżywania w stosunkowo niskim pH środowiska oraz oporność bakterii na kwasowość soku żołądkowego i sole żółciowe [20].

Po zastosowaniu 0,25-procentowego dodatku soli żółciowych do płynnego podłoża monitorowano zmiany gęstości optycznej podczas hodowli bakterii. Dynamika wzrostu komórek badanych drobnoustrojów w hodowlach kontrolnych (rys. 1 A, B, C i D) oraz w podłożach z dodatkiem soli żółciowych (rys. 2) wskazuje na hamujący wpływ tego składnika na wzrost hodowli komórek badanych mikroorganizmów. Analizowane szczepy wykazywały zróżnicowaną wrażliwość na czynnik stresowy. *Lb. helveticus* T105 oraz referencyjny DSM 20075 były szczepami najlepiej rozwijającymi się w tych warunkach. Na obecność soli żółci w podłożu najbardziej wrażliwy był szczep T80. W badaniach prowadzonych przez Lankaputhra i Shah [12] szczepy *Bifidobacterium* były utrzymywane w roztworach soli żółciowych o stężeniach 0 ÷ 1,5 % do 3 h. Autorzy stwierdzili, że przeżywalność bakterii zależała m.in. od rodzaju szczepu oraz stężenia i czasu ekspozycji komórek bakterii na działanie soli. Burns i wsp. [34] wykazali wyraźną różnicę wrażliwości na sole żółci przez szczepy, które zasiedlają jelito zdrowych ludzi (*Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* i *Lb. plantarum*) oraz przez szczepy stosowane do wytwarzania produktów mlecznych (*Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii subsp. lactis* i *Lb. helveticus*). Te pierwsze rozwijały się w roztworach o dużym stężeniu soli kwasu żółciowego (1 %), podczas gdy dla większości *Lb. delbrueckii* i *Lb. helveticus* był to czynnik znacząco ograniczający rozwój.

Bakterie kwasu mlekowego przejawiają aktywność proteolityczną i zdolność do hydrolizy białek mleka, prowadzącą do wytworzenia peptydów o aktywności biologicznej. W badaniach, w których zastosowano kazeinę mleka jako substrat, zaobserwowano, że bakterie należące do rodzaju *Lactobacillus* wykazują wysoką aktywność przeciwtleniającą [13].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Szczepy: / Strains: *Lactobacillus helveticus* - 141, K1, B734, T159, 80, T104, T103, T80, T199, T105, T15, DSM 20075; *Lactobacillus rhamnosus* - E/N.

Rys. 2. Dynamika wzrostu szczepów *Lactobacillus helveticus* w podłożu MRS z dodatkiem 0,25 % soli żółciowych

Fig. 2. Growth dynamics of *Lactobacillus helveticus* strains in MRS medium with bile salts added in the amount of 0.25 %

Tabela 1. Aktywność przeciwnadrodnikowa α -la fermentowanej przez monokultury szczepów bakterii

Table 1. Antiradical activity of α -la fermented with monocultures of bacterial strains

Szczep Strain	Aktywność przeciwnadrodnikowa Antiradical activity [%] $\bar{x} \pm s / SD$	Szczep Strain	Aktywność przeciwnadrodnikowa Antiradical activity [%] $\bar{x} \pm s / SD$
141	53,5 ^a \pm 0,111	T199	49,5 ^l \pm 0,071
K1	50 ^b \pm 0,054	T105	59,9 ^{hij} \pm 0,007
B734	55,7 ^c \pm 0,025	T15	56 ^k \pm 0,093
T159	53 ^d \pm 0,099	DSM 20075	75,3 ^{a-l} \pm 0,115
80	63,4 ^e \pm 0,089	E/N	52,9 ^{ll} \pm 0,146
T104	52,7 ^f \pm 0,024	PEN	49,3 ^{lm} \pm 0,073
T103	53,1 ^g \pm 0,019	OXY	45,1 ^{bcdeijklm} \pm 0,054
T80	47,8 ^{eh} \pm 0,062	BB12	50,6 ^{jl} \pm 0,158
α -laktoalbumina α -lactoalbumin (próba kontrolna control sample)	15,4 ^{a-o} \pm 0,053	-	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Szczepy: / Strains: *Lactobacillus helveticus* - 141, K1, B734, T159, 80, T104, T103, T80, T199, T105, T15, DSM 20075, *Lactobacillus rhamnosus* - E/N, PEN, OXY, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* - BB12; \bar{x} - wartość średnia / mean value; s / SD - odchylenie standardowe / standard deviation; n = 6; a - o - różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) / differences among mean values denoted using different letters are statistically significant ($p \leq 0,05$).

W tab. 1. przedstawiono aktywność przeciwdrobnikową roztworu α -la fermentowanego przy udziale szczepów *Lb. helveticus*. Najwyższą wartość uzyskano w próbce, w której proces fermentacji był przeprowadzony przy udziale szczepu referencyjnego DSM 20075 (75,3 %). Wśród szczepów pochodzących z polskiej kolekcji najwyższą aktywność przeciwdrobnikową stwierdzono w próbkach fermentowanych przez szczep *Lb. helveticus* 80 (63,4 %). W porównaniu z roztworem wzorcowym zaobserwowano, że zbliżone wartości aktywności przeciwdrobnikowej (53,7 %) uzyskano w przypadku alkoholowego roztworu troloxu o stężeniu 250 μ M. Fermentacja w znaczącym stopniu wpłynęła na zwiększenie aktywności przeciwdrobnikowej roztworu α -la. W próbie niepoddanej fermentacji uzyskano najniższą aktywność przeciwdrobnikową (15,4 %).

Maryam i wsp. [13] wykazali, że aktywność przeciwutleniająca fermentowanego odtłuszczonego mleka zależy od użytego szczepu bakterii (LAB) i jego aktywności proteolitycznej. Wartość mierzonego parametru jest także uzależniona od czasu prowadzenia procesu fermentacji. Dłuższy proces fermentacji wpływa bowiem na zwiększenie stopnia hydrolizy frakcji białkowych, co w konsekwencji prowadzi do zwiększenia aktywności przeciwutleniającej [10].

Tabela 2. Twardość napojów mlecznych fermentowanych przez szczepy *Lb. helveticus*

Table 2. Hardness of milk fermented beverages by the *Lb. helveticus* strains

Szczep Strain	Twardość / Hardness [N] $\bar{x} \pm s / SD$	Szczep Strain	Twardość / Hardness [N] $\bar{x} \pm s / SD$
T103	0,233 ^b \pm 0,02	T104	0,275 ^f \pm 0,02
T199	0,239 ^c \pm 0,05	80	0,334 ^{abg} \pm 0,03
DSM 20075	0,262 ^a \pm 0,04	141	0,194 ^{ac} \pm 0,04
T105	0,316 ^{bd} \pm 0,03	T159	0,137 ^{acdefg} \pm 0,02
B734	0,342 ^{abce} \pm 0,08	T15	0,173 ^{a-g} \pm 0,08

Objaśnienia: / Explanatory notes:

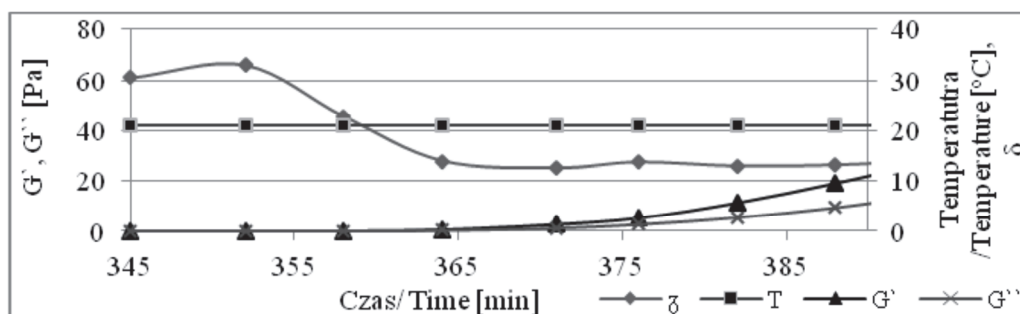
Objaśnienia symboli jak pod rys. 1 / Explanatory notes as in Fig. 1; \bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 5; a - g – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) / differences among mean values denoted using different letters are statistically significant ($p \leq 0.05$).

Właściwości reologiczne mlecznych napojów fermentowanych zależą od zdolności szczepów bakteryjnych do ukwaszania mleka [5]. W przeprowadzonych badaniach analizowano twardość skrzepów kwasowych uzyskanych z mleka (tab. 2). Największą średnią wartością mierzonego parametru charakteryzowały się próbki, w których proces fermentacji przeprowadzono przy udziale szczepu *Lb. helveticus* B734. Równocześnie obserwowano, że poszczególne próbki były wizualnie bardzo zróżnicowane między sobą. Zaszczepione tym samym szczepem próbki różniły się pod względem ilości wydzielonej serwatki, struktury i wyglądu skrzepu, który w części był nierównomier-

ny. Taką samą tendencję wykazywały próbki, w których inoculum stanowił szczep T15. Najtwardsze jednorodne skrzepy uzyskano w próbkach powstałych przy udziale szczepów T104 i T105.

Obróbka mleka (95 °C/5 min) powoduje hydrolizę części białek serwatkowych oraz indukuje interakcje pomiędzy α -laktoalbuminą, κ -kazeiną i β -laktoglobuliną. Dzięki temu zwiększają się właściwości hydrofilowe skrzepu kazeinowego oraz stabilność żelu [19]. Pomiar reologiczne mlecznych napojów fermentowanych pozwalają na dobranie odpowiednich parametrów procesu, jak również uzyskanie struktury produktu o odpowiedniej konsystencji [1].

W celu zbadania szybkości tworzenia skrzepu kwasowego przez analizowane szczepy bakterii monitorowano zmiany modułu zachowawczego (G') i modułu stratności (G'').



Rys. 3. Zmiany modułu zachowawczego (G'), modułu stratności (G'') i kąta fazowego (δ) podczas fermentacji (w temperaturze $T = 42$ °C) napojów mlecznych fermentowanych przez szczep *Lb. helveticus* T105, otrzymanych z odtłuszczonego mleka.

Fig. 3. Changes in storage modulus (G'), loss modulus (G''), and phase angle (δ) during fermentation (at a temperature: $T = 42$ °C) of milk beverages derived from skimmed milk fermented with *Lb. helveticus* T105 strain.

Wraz z rozpoczęciem procesu żelowania we wszystkich analizowanych próbkach wzrastały wartości G' i G'' , a tendencja ta utrzymywała się w czasie procesu fermentacji. Szybkość przebiegu tego procesu była skorelowana z szybkością tworzenia się skrzepu. Proces tworzenia skrzepu zachodził najszybciej w próbkach inokulowanych szczepem T105, w których obserwowano zmiany wartości G' oraz G'' po upływie ok. 364 min, podczas fermentacji w temp. 42 °C (rys. 3). Po tym czasie następowało zmniejszenie wartości kąta fazowego (δ) poniżej 45°, przy jednoczesnym wzroście wartości G' i G'' , co świadczyło o powstawaniu skrzepu kwasowego.

Wnioski

1. Dodatek soli żółciowych do podłoża hodowlanego spowodował osłabienie wzrostu badanych szczepów *Lactobacillus helveticus*. Najwrażliwszymi na ten czynnik szczepami były T80 oraz T15. Szczep T105 wykazywał najwyższą odporność na wpływ dodatku soli żółciowych do pożywki, co jest cechą wymaganą dla organizmów probiotycznych.
2. Aktywność przeciwnadkwasotwórcza wyselekcjonowanego preparatu α -laktoalbuminy znacząco wzrosła po procesie fermentacji prowadzonej przy udziale szczepów *Lb. helveticus*. Najwyższą aktywność przeciwnadkwasotwórczą wykazywała próba fermentowana przy udziale szczepu *Lb. helveticus* DSM 20075. Natomiast wśród szczepów polskiej kolekcji najwyższą wartość mierzonego parametru uzyskano w próbkach fermentowanych przy udziale szczepu *Lb. helveticus* 80.
3. Spośród analizowanych bakterii najwyższą przydatność technologiczną pod względem zdolności do tworzenia najtwardszych, jednorodnych skrzepów kwasowych wykazuje szczep *Lb. helveticus* T104 oraz T105.

*Autorzy składają podziękowania prof. dr hab. Łucji Łaniewskiej-Trokenheim za udostępnienie szczepów *Lb. helveticus*, które były cennym materiałem biologicznym wykorzystanym w niniejszej pracy.*

Literatura

- [1] Barbaros O.: Destructive effects of classical viscosimeters on the microstructure of yoghurt gel. Turk. J. Agric. For., 2004, **28**, 19-23.
- [2] Ben Amor K., Breeuwer P., Verbaarschot P., Rombouts F.M., Akkermans A.D.L., De Vos W.M., Abee T.: Multiparametric flow cytometry and cell sorting for the assessment of viable, injured, and dead Bifidobacterium cells during bile salt stress. Appl. Environ. Microbiol., 2002, **68** (11), 5209-5216.
- [3] Bonczar G., Wszolek M., Siuta A.: The effect of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. Food Chem., 2002, **79**, 85-91.
- [4] Burns P., Vinderola G., Binetti A., Quiberoni, A., de los Reyes-Gavilán C.G., Reinheimer J.: Bile-resistant derivatives obtained from non-intestinal dairy lactobacilli. Int. Dairy J., 2008, **4** (18), 377-385.
- [5] Damin M.R., Minowa E., Alcantara M.R., Oliveira, M.N.: Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria J. Texture Stud., 2008, **39**, 40-55.
- [6] Fira M., Kojic A., Banina I., Spasojevic I., Strahinic L., Topisirovic D.: Characterization of cell envelope-associated proteinases of thermophilic lactobacilli. J. Appl. Microbiol., 2001, **90**, 123-130.
- [7] FitzGerald R.J.: Biofunctional peptides from milk proteins: Mineral binding and cytomodulatory effects. Curr. Pharm. Des., 2003, **9**, 1289-295.
- [8] Gobetti M., Minervini F., Rizzello C.G.: Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. Int. J. Dairy Technol., 2004, **57**, 173-188.

- [9] Gustaw W., Kordowska-Wiater M., Koziół J.: The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2011, **4 (10)**, 455-466.
- [10] Hang M., Zhao X.H.: Fermentation time and extraction solvents influenced *in vitro* antioxidant property of soluble extracts of Maotofu fermented with *Mucor* sp. *Biotechnology*, 2011, **1 (10)**, 60-69.
- [11] Koziół J., Skrzypczak K., Gustaw W., Waśko A.: Wpływ preparatów białek mleka na wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **3 (88)**, 83-98.
- [12] Lankaputhra W.E.V., Shah N. P.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in the presence of acid and bile salts. *Cult. Dairy Prod. J.*, 1995, **30**, 2-7.
- [13] Maryam A.S. Abubakr, Zaiton Hassan, Mohamed Muftah. A. Imdakim, Sharifah N.R.S.A.: Antioxidant activity of lactic acid bacteria (LAB) fermented skim milk as determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and ferrous chelating activity. (FCA) *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2012, **6 (34)**, 6358-6364.
- [14] Morishita T., Deguchi Y., Yajima M., Sakurai T., Yura S.: Multiple nutritional requirements of *Lactobacilli*: genetic lesions affecting amino acid biosynthetic pathways. *J. Bacteriol.*, 1981, **148**, 64-71.
- [15] Osuntoki A., Korie I.: Antioxidant activity of whey from milk fermented with *Lactobacillus* species isolated from Nigerian fermented foods. *Food Technol. Biotechnol.*, 2010, **4 (48)** 505-511.
- [16] Remeuf F., Mohammed S., Sodini I., Tissier J.P.: Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 773-782.
- [17] Rival S.G., Fornaroli S., Boeriu C.G., Wichers H.J.: Caseins and casein hydrolysates. 1. Lipoxigenase inhibitory properties. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **4**, 287-294.
- [18] Sołowiej B.: Textural, rheological and melting properties of acid casein reduced-fat processed cheese analogues. *Milchwissenschaft*, 2012, **1 (67)**, 9-13.
- [19] Tamime A.Y., Robinson R.K.: Fermented milks and their future trends. Part II. Technical aspects. *J Dairy Res.*, 1988, **55**, 281-307.
- [20] Ziarno M.: Znaczenie aktywności hydrolazy soli żółci u bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. *Biotechnologia*, 2005, **2 (69)**, 183-195.

SELECTED TECHNOLOGICAL AND PROBIOTIC CHARACTERISTICS OF STRAINS OF *LACTOBACILLUS HELVETICUS* SPECIES

S u m m a r y

There are continually sought strains of bacteria that exhibit desirable technological features and are able to help improve physical-chemical and rheological characteristics of food products, and which, at the same time, can have health-promoting effects. The objectives of the research study were: to characterize acid curds produced as a result of the milk fermentation process conducted with the participation of *Lactobacillus helveticus*, to compare the sensitivity of the bacteria analyzed to bile salts present in the growth medium, and to determine the effect of fermentation process run with the participation of the microbes studied on the antiradical properties of the selected milk protein preparation. Based on the analyses performed, it was shown that the bacterial strains analyzed differed in terms of their sensitivity to bile salts present in the growth medium. That component added to the culture medium in an amount of 0.25% caused the growth dynamics of all the tested microorganisms to be inhibited. The *Lb. helveticus* T80 and T15 strains were the most sensitive to this component; the T105 strain showed the highest resistance. The

antiradical activity of α -lactalbumin at a level of 15.4% increased significantly after the fermentation process. Depending on the bacterial strain used, that level ranged between 45.1 and 75.3%. In the samples fermented with the use of bacteria from the Polish collection, the *Lb. helveticus* 80 strain showed the highest antiradical activity (63.4%). The T104 and T105 strains exhibited the highest technological suitability in terms of the ability to produce the hardest homogeneous acid curds. The hardness of the gels produced with the participation of those strains was 0.275 N and 0.316 N, respectively.

Key words: lactic acid bacteria (LAB), *Lactobacillus helveticus*, texture, antiradical activity ☒