

ANNA BZDUCHA, MIECZYSLAW W. OBIEDZIŃSKI

WPLYW BIFIDOBACTERIUM LACTIS NA UDZIAŁ KWASU LINOLOWEGO O WIĄZANIACH SPRZĘŻONYCH W TŁUSZCZU MODELOWYCH SERÓW DOJRZEWAJĄCYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu probiotycznych pałeczek *Bifidobacterium lactis* Bb-12 na zawartość kwasu linolowego o wiązaniach sprzężonych (CLA) w tłuszczu modelowych serów dojrzewających.

Wyniki badań wskazują, że w odpowiednich warunkach dojrzewania bakterie *Bifidobacterium lactis* mogą pozytywnie wpływać na zawartość CLA w tłuszczu badanych serów modelowych. W czasie dojrzewania w temperaturze 14°C zaobserwowano statystycznie istotny wzrost zawartości CLA w serach z dodatkiem szczepu Bb-12 po ósmym tygodniu dojrzewania. Wyniósł on ok. 60 mg CLA/100 g tłuszczu. W ostatnim tygodniu dojrzewania sery modelowe spełniały wymóg minimum terapeutycznego odnoszącego się do produktów probiotycznych i zawierały w 1 g produktu ok. 10⁶ żywych komórek bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*.

Słowa kluczowe: *Bifidobacterium*, CLA, modelowe sery dojrzewające

Wprowadzenie

Tłuszcz produktów mleczarskich zawiera składniki o potencjalnym działaniu prozdrowotnym m.in. przeciwnowotworowym, przeciwmiażdżycowym, zapobiegającym otyłości, jak również cukrzycy [7, 8, 17, 24]. Takie właściwości przypisuje się grupie izomerów pozycyjnych i geometrycznych kwasu linolowego o wiązaniach sprzężonych (z ang. conjugated linoleic acid - CLA). W produktach mleczarskich izomerem stanowiącym ponad 80% izomerów CLA w sumie kwasów tłuszczowych jest kwas 18:2 cis-9, trans-11. CLA jest produktem pośrednim biohydrogenacji kwasu linolowego do stearynowego, przeprowadzanej przez mikroflorę żwacza zwierząt przeżuwających. Dodatkowo CLA może powstawać w wyniku desaturacji kwasu walcenowego (18:1, trans11) w gruczołach mlecznych tych zwierząt [2, 7, 21]. Badania wska-

Mgr inż. A. Bzducha, prof. dr hab. M. W. Obiedziński, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02- 776 Warszawa

zują, że zdolność konwersji kwasu linolowego do CLA mogą wykazywać również niektóre szczepy z rodzaju *Bifidobacterium*. Izomer *cis-9, trans-11* CLA produkowany był przez badane bakterie w największej ilości [1, 4, 10, 12, 19, 22]. Bifidobakteriom przypisuje się wiele pozytywnych właściwości, m.in. produkcję kwasu mlekowego i octowego, co skutkuje pozytywnym obniżaniem pH w przewodzie pokarmowym człowieka. Wsuwa się hipotezę, że dobroczynne oddziaływanie tych bakterii może być również związane ze zdolnością biosyntezy CLA [4, 14, 19]. Badania nad zdolnością probiotycznych bifidobakterii do biosyntezy CLA mogą stworzyć nowe możliwości polepszania funkcjonalnych właściwości żywności, poprzez mikrobiologiczne zwiększanie ilości składników prozdrowotnych, tj. CLA [4].

Celem pracy było określenie wpływu probiotycznych pałeczek *Bifidobacterium lactis* Bb-12 na zawartość CLA w tłuszczu modelowych serów dojrzewających.

Material i metody badań

Do wytworzenia serów modelowych użyto głęboko mrożonej szczepionki bakterii starterowych *Lactococcus lactis subsp. lactis* R-603 (Chr. Hansen) oraz liofilizowanej monokultury probiotycznych pałeczek *Bifidobacterium lactis* Bb-12 (Chr. Hansen). Przed zaszczepieniem serów modelowych bakterie Bb-12 namnażano w bulionowym podłożu MRS przez 24 h w temp. 37°C. Kultury *Lactococcus lactis subsp. lactis* R-603 namnażano w bulionowym podłożu M17 przez 24 h w temp. 30°C.

Material do badań stanowiły sery modelowe, do których wraz z kulturami starterowymi procesu fermentacji (*Lactococcus lactis subsp. lactis*) dodawano bakterie probiotyczne Bb-12, przy czym ser kontrolny zawierał tylko bakterie starterowe R-603. Sery modelowe wytwarzano z zachowaniem warunków sterylnych. Do szklanych butelek Shotta o pojemności 1l odważano śmietankę UHT (30% tłuszczu), odtłuszczony proszek mleczny, dodawano 250 ml uprzednio wysterylizowanej wody oraz NaCl (2% m/m) i cytrynian sodu (0,3% m/m). Zarówno śmietankę, jak i mleko w proszku dodawano w ilości ok. 28% wagowych. Końcowa masa sera modelowego stanowiła ok. 600 g. Masę ogrzewano do temp. 31°C, zaszczepiano kulturami bakterii na poziomie ok. 10^7 jtk/g sera modelowego (*Lactococcus lactis subsp. lactis* i *Bifidobacterium lactis*). W temp. 31°C termostatowano masę przez dodatkowe 30 min, po czym dodawano podpuszczkę (1:13000, Marzyme, Chr. Hansen). Krzepnięcie mleka prowadzono przez 45 min w temp. 31°C. Sery modelowe wykonywano według zmodyfikowanej procedury Crespo i wsp. [5]. Po wytworzeniu się skrzepu serowego masę cięto, dogrzewano do ok. 41°C i termostatowano w tej temperaturze ok. 40 min. Tak przygotowane sery modelowe poddawano dojrzewaniu przez 8 tygodni w temp. 6 i 14°C. Próbkę do analiz mikrobiologicznych oraz fizykochemicznych pobierano bezpośrednio po wytworzeniu serów (próba 0) oraz w 2., 4., 6. i 8. tygodniu dojrzewania. Próbkę przeznaczoną do

analizy estrów metylowych kwasów tłuszczowych przechowywano w temp. -21°C do czasu analizy.

Analizy składu estrów metylowych kwasów tłuszczowych wykonywano w trzech powtórzeniach w serach modelowych z kolejnych okresów dojrzewania. Tłuszcz ekstrahowano z próbek za pomocą mieszaniny chloroform : metanol (2:1 v/v) oraz dodawano nasycony KCl. Przed ekstrakcją dodawano 500 μg standardu wewnętrznego (triacyloglicerol kwasu heneicosanowego - TAG C21:0, Nu-Chek Prep, Inc., T-175). Stosowano transestryfikację kwasów tłuszczowych za pomocą 0,5 M KOH w metanolu ($37^{\circ}\text{C}/30$ min). Estrы metylowe kwasów tłuszczowych (w tym CLA - 18:2 *cis*9, *trans*11) oznaczano metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC/MS-QP2010, Shimadzu) w kolumnie polarnej SP-2560 (100 x 0,2 μm x 0,25 mm) firmy Supelco. Próbkę nastrzykiwano w trybie bezdzielnikowym w temp. dozownika 240°C . Rozdział chromatograficzny przebiegał w warunkach chromatografowania: temp. początkowa kolumny - 40°C , izoterma 12 min, wzrost temp. o $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 160°C , izoterma 20 min, następnie wzrost temp. pieca o $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 180°C - izoterma 20 min, po czym zastosowano wzrost temp. o $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 230°C (izoterma 15 min). Gazem nośnym był hel o przepływie 1,10 cm^3/min . Stosowano następujące warunki pracy spektrometru masowego: temp. źródła jonów 200°C , temp. linii łączącej GC z MS 200°C , jonizacja elektronami o energii 70eV, napięcie detektora 1,13 kV, zakres przemieszczenia filtru kwadropolowego 50 - 500 m/z. Identyfikację CLA (18:2 *cis*-9, *trans*-11) prowadzono porównując spektrum masowe oraz czas retencji ze standardem tego izomeru. Obliczeń ilościowych dokonywano względem standardu wewnętrznego z zastosowaniem współczynników korekcyjnych.

Oznaczenie azotu ogółem (metoda Kjeldahla), zawartości tłuszczu ogółem (metoda butyrometryczna) oraz obliczenie zawartości tłuszczu w suchej masie, analizę zawartości wody i suchej masy (suszenie w temp. 102°C) oraz pomiary pH (metoda potencjometryczna) prowadzono zgodnie z PN-73/A-86232 [16].

Liczbę tlenowych paciorkowców mlekowych oznaczano metodą płytkową, prowadząc hodowlę na pożywce agarowej M17 o pH 7,2 (Merck); inkubacja tlenowa w temp. $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}/72$ h. Oznaczenie liczby beztlenowych pałeczek mlekowych prowadzono metodą płytkową (posiew metodą kropelkową). Hodowla beztlenowa z wkładkami do wytwarzania atmosfery beztlenowej w słoju do hodowli beztlenowej (Anaeroculr, Merck) na pożywce MRS-Agar o pH 5,4 (Biomerioux). Inkubacja w temp. $42^{\circ}\text{C}/72$ h. Analizy mikrobiologiczne wykonywano w dwóch powtórzeniach. Wyniki podawano jako \log jtk/1 g sera modelowego.

Statystyczną istotność różnic między zawartością CLA w serach po określonym czasie dojrzewania określano przeprowadzając analizę wariancji przy poziomie istotności $\alpha=0,05$ w programie Statgraphics 4.1.

Wyniki i dyskusja

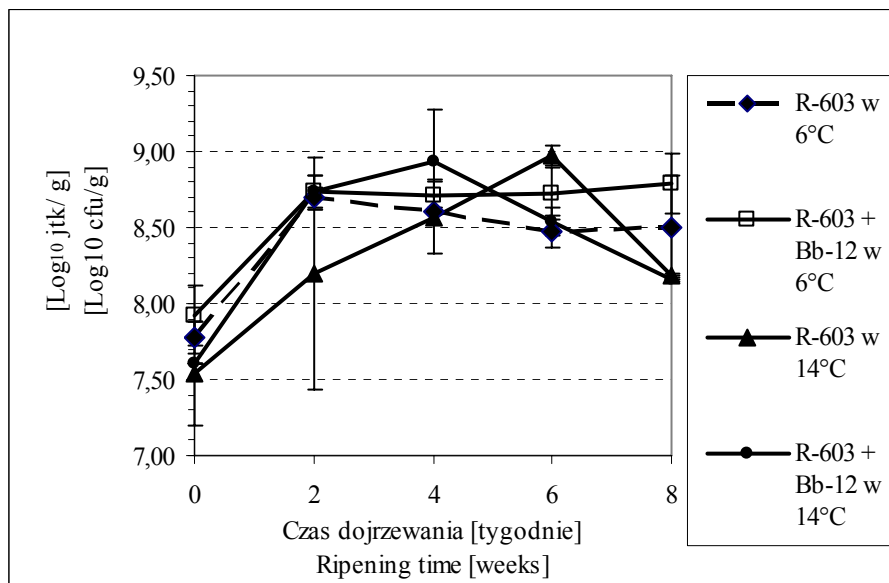
Analiza fizykochemiczna wytworzonych serów modelowych pozwoliła na ich sklasyfikowanie jako sery półtłuste miękkie. Charakteryzowały się one 23% zawartością tłuszczu w suchej masie (ok. 42%) i 11% zawartością białka ogółem (danych nie przedstawiono). Analizując zmiany pH serów modelowych w temp. 6 i 14°C zauważono istotny wpływ warunków dojrzewania na aktywność metaboliczną zastosowanych kultur bakterii, a tym samym na intensywność produkcji kwasów organicznych (głównie mlekowego i octowego). W temp. 14°C odnotowano wyraźny wpływ dodatku bifidobakterii na zmiany pH. W modelu z dodatkiem probiotyków kwasowość potencjometryczna w ósmym tygodniu dojrzewania serów wynosiła ok. 4,9 przy wartości pH ok. 6,4 zaraz po wytworzeniu serów. W serach kontrolnych dojrzewających w tej samej temp. pH uległo obniżeniu z 6,4 do 5,2 w końcowym okresie dojrzewania. W temp. 6°C zmiany pH były mniej intensywne, kwasowość uległa podwyższeniu o ok. 1 jednostkę pH (z 6,4 do ok. 5,5) we wszystkich modelach serów. Podobne rezultaty otrzymali w swych badaniach Mc Brearty i wsp. [11]. Autorzy ci podają, że przyspieszona produkcja kwasów może być korzystna podczas dojrzewania serów, skracając czas formowania się skrzepu, jednak może również przyczynić się do obniżenia poziomu cech sensorycznych serów.

Po wytworzeniu serów modelowych liczba żywych komórek mezofilnych paciorkowców tlenowych z rodzaju *Lactococcus lactis* była na podobnym poziomie we wszystkich modelach i wynosiła średnio 7,7 log jtk/g (rys. 1). W przypadku serów dojrzewających w temp. 6°C, zarówno w przypadku serów kontrolnych bez dodatku *Bifidobacterium lactis*, jak i z dodatkiem szczepu Bb-12 obserwowano wzrost liczby żywych paciorkowców mlekowych o ok. 1 cykl logarytmiczny do 2. tygodnia, po czym następowało ustabilizowanie się liczby tych bakterii na poziomie ok. 8,6 log jtk/g. Sery modelowe dojrzewające w temp. 14°C charakteryzowały się wzrastającą liczbą paciorkowców tlenowych w dłuższym okresie czasu, bowiem do 4. tygodnia w przypadku modelu z dodatkiem szczepu Bb-12 oraz do 6. tygodnia w próbie kontrolnej. Zmiana liczby bakterii starterowych wynosiła z ok. $4 \cdot 10^7$ jtk/g do ok. $1,5 \cdot 10^8$ jtk/g. Podobny przyrost obserwowali również inni autorzy [11, 13].

Podczas dojrzewania serów w temp. 6 i 14°C nie stwierdzono hamującego wpływu bifidobakterii na rozwój bakterii starterowych *Lactococcus lactis*. Brak negatywnych interakcji między szczepami *Bifidobacterium* Bb-12 oraz *Lactococcus* odnotowali również Vinderola i wsp. [20], co jest zjawiskiem pożądanym pod względem technologicznym.

Inoculum pałeczek mlekowych z rodzaju *Bifidobacterium* wynosiło ok. 10^7 jtk/g. W całym okresie dojrzewania serów modelowych z dodatkiem *Bifidobacterium lactis* w temp. 6°C wykazano powolne zmniejszanie się liczby żywych komórek z początkowej $1 \cdot 10^7$ do ok. $1,85 \cdot 10^6$ jtk/g (rys. 2). Jak podają Boylston i wsp. [3], zdolność prze-

żywania bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w serach jest zależna od szczepu, aktywności bakterii kwasu mlekowego użytych podczas produkcji sera, składu chemicznego matrycy serowej oraz warunków procesu technologicznego i dojrzewania. Należy również pamiętać, że mleko nie jest podłożem dostarczającym wszystkich niezbędnych składników do rozwoju bifidobakterii. Model sera z dodatkiem pałeczek *Bifidobacterium* poddany dojrzewaniu w temp. 14°C charakteryzował się inną dynamiką rozwoju tych pałeczek.



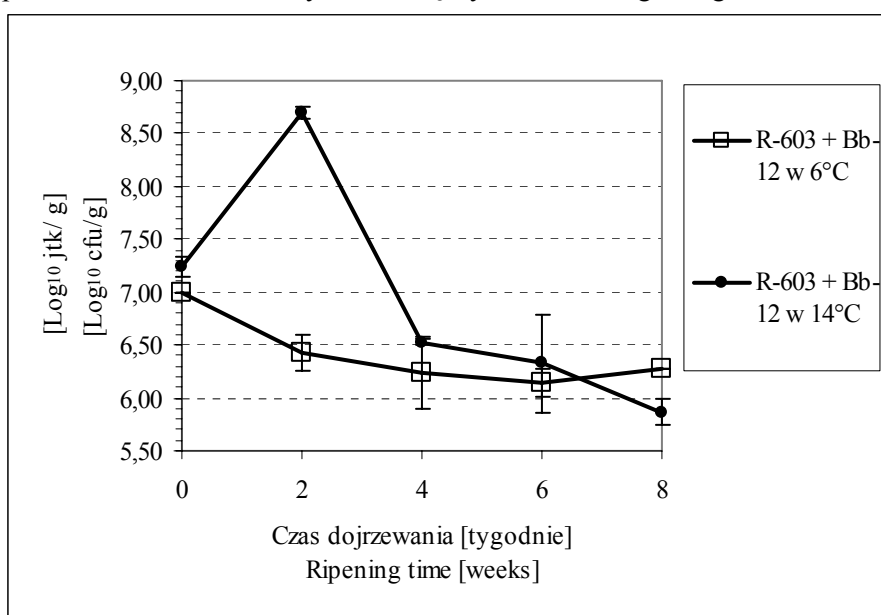
Rys. 1. Zmiany liczby mezofilnych paciorkowców tlenowych w czasie dojrzewania serów modelowych w temperaturze 6 i 14°C.

Fig. 1. Changes in the count of mesophilic aerobic lactic coccus bacteria during the period of the model cheeses ripening at a 6°C and 14°C temperature.

Do drugiego tygodnia dojrzewania stwierdzono wyraźny wzrost liczby żywych bakterii z rodzaju *Bifidobacterium lactis* o ok. 1,5 cyklu logarytmicznego, tj. z $1,8 \times 10^7$ do ok. 5×10^8 jtk/g. Następnie występowało obumieranie żywych komórek, tak że w ostatnim tygodniu dojrzewania ich liczba wynosiła $7,5 \times 10^5$ jtk/g, co nie jest korzystne pod względem zapewnienia funkcjonalności produktu w zakresie probiotyczności. Wyniki badań m.in. Phillipsa i wsp. [15] wskazują na dobrą przeżywalność bakterii probiotycznych, w tym *Bifidobacterium*, na poziomie $10^6 - 10^7$ jtk/g sera po 32 tygodniach dojrzewania, co pozwala zakwalifikować je do grupy produktów probiotycznych. Wymagane minimum terapeutyczne zawartości żywych probiotyków w produktach z dodatkiem tych bakterii wynosi minimum 10^6 żywych komórek pałeczek probiotycznych w 1 g produktu [6]. Na poziomie powyżej 10^7 jtkl/g przeżywalność *Bifidobacterium* w serach dojrzewających obserwowali również Ong i wsp. [12], aczkolwiek

Mc Brearty i wsp. [11] wykazali odmienne zdolności przeżywania *Bifidobacterium* podczas dojrzewania serów w zależności od konkretnego szczepu bakterii.

Zawartość CLA (18:2 cis-9, trans-11) w próbie 0 (po wytworzeniu serów) wynosiła od ok. 620 mg/100g tłuszczu do ok. 750 mg/100g tłuszczu (rys. 3), odpowiednio w serach modelowych dojrzewających w temp. 14 i 6°C. Zlatanov i wsp. [23] porównywali zawartość CLA w różnych serach dojrzewających i ustalili, że wynosi ona w przedziale od ok. 450 do 950 mg CLA/100g tłuszczu. Jiang i wsp. podają [9], że zawartość CLA w serach typu cheddar produkowanych z wykorzystaniem różnych szczepów *Lactococcus lactis* wynosiła między 500 a 700 mg/100 g tłuszczu.

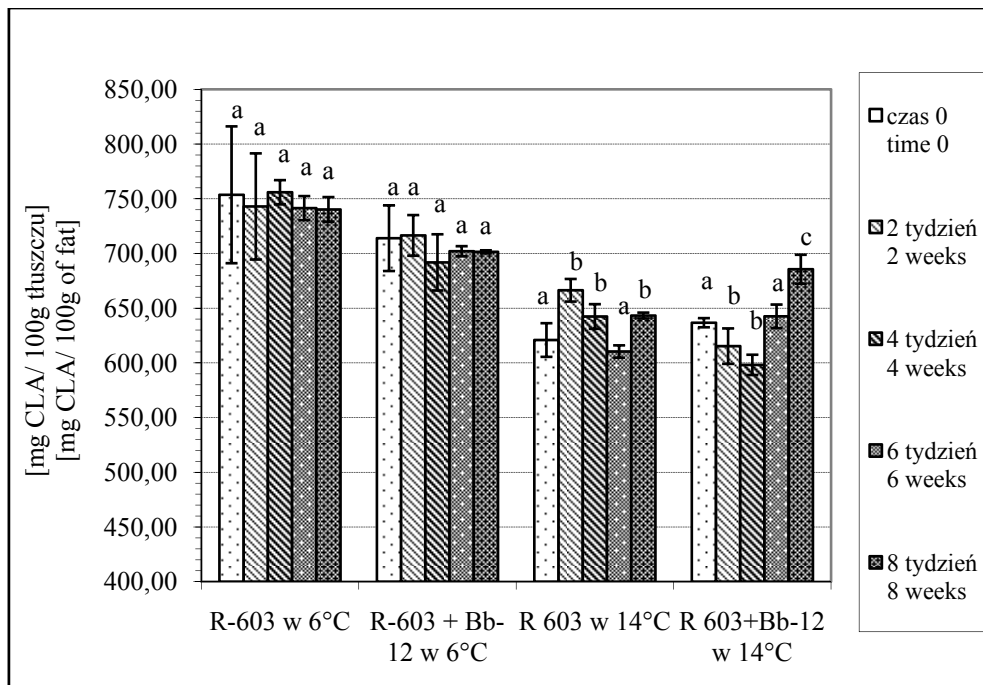


Rys. 2. Zmiany liczby bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w czasie dojrzewania serów modelowych w temperaturze 6 i 14°C.

Fig. 2. Changes in the count of *Bifidobacterium* bacteria during the period of the model cheeses ripening at a 6°C and 14°C temperature.

Różnice ilościowe zawartości izomerów mogły wynikać z różnic zawartości CLA w mleku stosowanym do wyrobu serów, odmiennych warunków produkcji, zastosowanych kultur starterowych, a także warunków oraz czasu dojrzewania serów. Zwiększone stężenie kwasu C18:2 cis-9, trans-11 stwierdzili w serach dojrzewających Shantha i wsp. [18], którzy podają, że zawartość tych izomerów prawdopodobnie ulega podwyższeniu pod wpływem różnych czynników procesu technologicznego. Wyższe stężenie kwasów o wiązaniach skoniugowanych zaobserwowano w serach dojrzewających (ok. 8,8 mg CLA/g tłuszczu) w porównaniu z nieprzetworzonym mlekiem - poniżej 1 mg CLA/g tłuszczu [9]. Fritsche i wsp. [7] podają, że w wytworzonym przez nich

serze Emmenthal, z dodatkiem szczepów probiotycznych, zawartość CLA nieznacznie wzrosła. W badaniach wykonanych przez van Nieuwenhove i wsp. [12] w serach z dodatkiem bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* uzyskano wzrost zawartości CLA w czasie dojrzewania. W badanych serach modelowych dojrzewających przez osiem tygodni w temp. 6°C nie stwierdzono istotnych zmian zawartości CLA. Analizując zmiany stężenia izomeru CLA w modelach serów dojrzewających w temp. 14°C stwierdzono statystycznie istotny wzrost zawartości kwasu 18:2 cis-9, trans-11 w modelu z dodatkiem *Bifidobacterium lactis* Bb-12 w ósmym tygodniu dojrzewania. W porównaniu z próbą 0 (ponad 620 mg CLA/100 g tłuszczu) wzrost zawartości analizowanego kwasu o wiązaniach sprzężonych wyniósł ok. 60 mg/100 g tłuszczu serów



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c, d - te same litery przy wartościach średnich w modelu sera oznaczają brak statystycznie istotnych różnic ($p > 0,05$) / the same letters at mean values of a model cheese mean that there are no statistically significant differences ($p > 0.05$).

Rys. 3. Zmiany zawartości CLA (18:2 cis-9, trans-11) w tłuszczu serów modelowych dojrzewających w temperaturze 6 i 14°C.

Fig. 3. Changes in the CLA (18:2 cis-9, trans-11) content in the fat of model cheeses ripening at 6°C and 14°C.

modelowych, osiągając wartość blisko 690 mg CLA/100 g tłuszczu. Zmiany zawartości CLA w tłuszczu serów modelowych wystąpiły również w serze modelowym kontrolnym, jednak nie były one statystycznie istotne. Uzyskane wyniki sugerują, że w odpowiednich warunkach dojrzewania bakterie *Bifidobacterium lactis* mogą pozytywnie wpływać na zawartość CLA w badanych serach modelowych. Wskazane jest przeprowadzenie dodatkowych badań w kierunku zmian lipolitycznych oraz poznania mechanizmu konwersji tłuszczu mlekowego do CLA przez badane mikroorganizmy.

Wnioski

1. W czasie dojrzewania serów modelowych w temp. 6 i 14°C liczba żywych komórek tlenowych paciorkowców mlekowych utrzymywała się na poziomie powyżej 8 cykli log, wzrastając o ok. 1 cykl log w porównaniu z oznaczeniem przeprowadzonym bezpośrednio po wytworzeniu serów.
2. W serach modelowych z dodatkiem *Bifidobacterium lactis*, w całym okresie dojrzewania w temp. 6°C, oznaczano stałe zmniejszanie się liczby żywych komórek pałeczek beztlenowych. W ciągu dwóch pierwszych tygodni dojrzewania w serach modelowych dojrzewających w temp. 14°C liczba bifidobakterii wzrosła o ok. 1 cykl log, po czym stwierdzono zmniejszenie się liczby żywych pałeczek beztlenowych do ok. 6 cykli log w ostatnim tygodniu dojrzewania.
3. Sery z dodatkiem *Bifidobacterium lactis* w ostatnim dniu dojrzewania spełniały minimum terapeutyczne odnoszące się do produktów probiotycznych.
4. Zawartość CLA (18:2 cis-9, trans-11) bezpośrednio po wytworzeniu serów wynosiła od ok. 620 mg/100 g tłuszczu do ponad 750 mg/100 g tłuszczu, odpowiednio w serach modelowych dojrzewających w temp. 14 i 6°C.
5. Analizując zmiany stężenia izomeru CLA w modelach serów dojrzewających w temperaturze 14°C stwierdzono statystycznie istotny wzrost zawartości kwasu 18:2 cis-9, trans-11 w modelu z dodatkiem *Bifidobacterium lactis* Bb-12 w ósmym tygodniu dojrzewania. W porównaniu z czasem zerowym (ponad 620 mg CLA/100 g tłuszczu) zawartość analizowanego kwasu o wiązaniach sprzężonych wynosiła blisko 690 mg CLA/100 g tłuszczu.
6. Wyniki badań dowodzą, że w odpowiednich warunkach dojrzewania bakterie *Bifidobacterium lactis* mogą pozytywnie wpływać na zawartość CLA w serach dojrzewających.

Praca była prezentowana podczas VIII Konferencji Naukowej nt. „Żywność XXI wieku – Żywność a choroby cywilizacyjne”, Kraków, 21–22 czerwca 2007 r.

Literatura

- [1] Alonso L., Cuesta E.P., Gilliland S.E.: Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 1941-1946.
- [2] Bauman D.E., Baumgard L.H., Corl B.A., Griinari J.M.: Biosynthesis of conjugated linoleic acid In ruminants. *Proc. American Society of Animal Science*, 1999, pp. 1-8.
- [3] Boylston T.D., Vinderola C.G., Ghoddusi H.B., Reinheimer J.A.: Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 375-387.
- [4] Coakley R.P., Ross R.P., Nordgren M., Fitzgerald G., Devery R., Stanton C.: Conjugated linoleic acid biosynthesis by human- derived *Bifidobacterium* species. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **94**, 138-145.
- [5] Crespo P., Kneubühler H., Bisig W., Schindler M., Fröhlich-Wyder M.T., Bachmann H.P.: Method for the characterisation and evaluation of cultures for the use in semi-hard cheese. *Proc. IDF Symposium on cheese: ripening, characterization and technology*, March 21-25, 2004, p. 104.
- [6] Defecińska A., Libudzisz Z.: Bakterie fermentacji mlekowej – wpływ na funkcje życiowe człowieka. *Przegl. Mlecz.*, 2000, **8**, 247-251.
- [7] Fritsche J., Rickert R., Steinhart H., Yurawecz M.P., Mossoba M.M., Sehat N., Roach J.A.G., Kramer J.K.G., Ku Y.: Conjugated linoleic acid (CLA) isomers: formation, analysis, amounts in foods and dietary intake. *Fett/ Lipid*, 1999, **101 (8)**, 272-276.
- [8] Gnädig S., Rickert R., Sébédio J.L., Steinhart H.: Conjugated linoleic acid (CLA): physiological effects and production. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2001, **103**, 56-61.
- [9] Jiang J., Björck L., Fondén R.: Conjugated linoleic acid in Swedish dairy products with special reference to the manufacture of hard cheeses. *Int Dairy J.*, 1997, **7**, 863-867.
- [10] Lin T.Y.: Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. *Food Chem.*, 2000, **69**, 27-31.
- [11] Mc Brearty S., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Collins J.K., Wallace J.M., Stanton C.: Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on cheddar cheese quality. *Int Dairy J.*, 2001, **11**, 599-610.
- [12] Van Nieuwenhove C.P., Oliszewski R., González S.N., Pérez Chaia A.B.: Influence of bacteria used as adjunct culture and sunflower oil addition on conjugated linoleic acid content in buffalo cheese. *Food Research Int.*, 2007, **40**, 559-564.
- [13] Ong L., Henriksson A., Shah N.P.: Development of probiotic cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium spp.* and the influence of these bacteria on proteolytic pattern and production of organic acid. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 446-456.
- [14] Oh D-K., Hong G-H., Lee Y., Min S., Sin H-S., Cho S. K.: Production of conjugated linoleic acid by isolated *Bifidobacterium* strains. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2003, **19**, 907-912.
- [15] Phillips M., Kailasapathy K., Tran L.: Viability of commercial probiotic cultures (*Lb. acidophilus*, *Bifidobacterium sp.*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Lb. rhamnosus* in cheddar cheese. *Int J. Food Microbiol.* 2006, **108**, 276-280.
- [16] PN-73/A-86232: Mleko. Przetwory mleczarskie. Sery. Metody badań.
- [17] Przybojewska B., Rafalski H.: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy CLA (cz.2). *Przegl. Mlecz.*, 2003, **5**, 173-175.
- [18] Shantha N.C., Decker E.A., Ustunol Z.: Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese. *JAOCS*, 1992, **69 (5)**, 425-428.
- [19] Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P., Eyer H.: Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products - a review. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 1-15.
- [20] Vinderola C.G., Mocchiutti P., Reinheimer J.A.: Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 721-729.

- [21] Wahle K.W.J., Heys S.D., Rotondo D.: Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research*, 2004, **43**, 553-587.
- [22] Xu S., Boylston T.D., Glatz B.A.: Effect of lipid source on probiotic bacteria and conjugated linoleic acid formation in milk model systems. *JAOCs*, 2004, **81 (6)**, 590-595.
- [23] Zlatanov S., Lascaridis K., Feist C., Sagredos A.: CLA content and fatty acid composition of Greek Feta and hard cheeses. *Food Chem.*, 2002, **78**, 471-477.
- [24] Żegarska Z.: Składniki tłuszczu mlekowego o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. *Przegl. Mlecz.*, 2005, **6**, 4-6.

THE IMPACT OF *BIFIDOBACTERIUM LACTIS* ON THE CONJUGATED LINOLEIC ACID CONTENT IN THE FAT OF MODEL RIPENING CHEESES

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the impact of a probiotic *Bifidobacterium lactis* Bb-12 strain on the content of CLA in the fat of model ripening cheeses. The results suggest that under the encouraging ripening conditions, the *Bifidobacterium lactis* bacteria can favourably impact the CLA content in the fat of the model cheeses investigated. During ripening at a temperature of 14°C, a statistically important increase in the CLA content was found in the cheeses with a Bb-12 strain added, after the eighth week of ripening. This increase was about 60mg CLA/100g of fat. In the last week of ripening, the model cheeses met a requirement of the therapeutic minimum referring to probiotic products, and they contained ca. 10⁶ of live cells of *Bifidobacterium bacteria* per 1 gram of product.

Key words: *Bifidobacterium*, CLA, model ripening cheeses ☒