

MAŁGORZATA JAŁOSIŃSKA

PRZEŻYWALNOŚĆ SZCZEPU PROBIOTYCZNEGO W NAPOJU BANANOWO-MLECZNYM W ZALEŻNOŚCI OD DODATKU RÓŻNYCH PREBIOTYKÓW

Streszczenie

Celem pracy było określenie przeżywalności szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* KNE-1 w napoju bananowo-mlecznym (3:2) przechowywanym w temp. 10°C przez 32 dni, w zależności od dodatku prebiotyków: oligofruktozy (0,5%) oraz inuliny z sacharozą (łącznie 0,5%). Badano także zmiany pH napoju podczas przechowywania. Zakres pracy obejmował: przygotowanie napoju, zaszczepienie szczepem probiotycznym, przeprowadzenie 12-godzinnej fermentacji w temp. 37°C, badanie przeżywalności zastosowanego szczepu oraz oznaczanie pH napoju podczas przechowywania. Badania mikrobiologiczne przeprowadzono metodą płytkową wgłębną na agarze MRS firmy Biocar Diagnostics (warunki inkubacji: temp. 37°C; 48 godz.).

Stwierdzono, że podczas fermentacji napoju bananowo-mlecznego nastąpił wzrost liczby bakterii *L. casei* KNE-1 w napoju z dodatkiem oligofruktozy o 3 rzędy logarytmiczne oraz o 7 rzędów logarytmicznych w napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy. Natomiast podczas przechowywania liczba komórek badanego szczepu w napoju z dodatkiem oligofruktozy wzrosła o 4 rzędy logarytmiczne, a z dodatkiem inuliny zmniejszyła się o 1 rząd logarytmiczny. Wartość pH obu napojów uległa znacznemu obniżeniu podczas przechowywania (z wartości 5,41 do 3,93 w przypadku napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy oraz z wartości 5,43 do 3,83 w napoju z dodatkiem oligofruktozy), co wpłynęło na obniżenie ich jakości sensorycznej.

Słowa kluczowe: fermentowany napój mleczny, probiotyki, przeżywalność, prebiotyki, inulina, oligofruktoza

Wprowadzenie

Żywność probiotyczna to produkty zawierające żywe komórki drobnoustrojów (bakterii lub drożdży) o udowodnionych naukowo właściwościach, poprawiająca stan zdrowia człowieka, wywierająca korzystne działanie w przewodzie pokarmowym [1, 12]. Stanowi ona rodzaj żywności funkcjonalnej (ang. functional food), o działaniu

korzystnym dla zdrowia człowieka, stworzonej na podstawie wiedzy o zależnościach między pokarmem, jego składnikami a zdrowiem; żywności, po spożyciu której można oczekiwać uzyskania efektu zdrowotnego [10]. Żywność ta musi mieć postać podobną do tradycyjnych jej odpowiedników. Ma wywierać pożądane efekty w ilościach, które są zwyczajowo spożywane z dietą (nie może mieć formy pigułek, kapsułek) [21].

Pojęcie probiotyku pochodzi od greckich słów pro-, czyli dla i bios- oznaczającego życie. Aktualnie obowiązującą definicję probiotyków przedstawiły w 2002 r. FAO i WHO. Terminem tym określa się wyselekcjonowane żywe organizmy, które spożyte w stanie żywym, w odpowiednio dużej liczbie, mają zdolność przeżycia pasażu jelitowego i wywierają korzystny wpływ na zdrowie człowieka [18]. Według Fullera [5]: „Probiotyki to żywe, bakteryjne dodatki do żywności, stymulujące i poprawiające funkcjonowanie przewodu pokarmowego”.

Niektóre sacharydy (prebiotyki) przez stymulację wzrostu bakterii probiotycznych mogą odgrywać istotną rolę w funkcjonowaniu przewodu pokarmowego, a szczególnie jelita grubego. Spożywanie żywności zawierającej pro- i prebiotyki może uchronić człowieka, przynajmniej częściowo, przed wieloma chorobami cywilizacyjnymi, a także poprawić kondycję ludzi w podeszłym wieku [14].

Według Gibsona i Roberfroida [7] prebiotyki to nietrawione przez człowieka dodatki do żywności, które mają korzystny wpływ na konsumenta poprzez selektywną stymulację wzrostu i/lub aktywności jednego lub ograniczonej liczby gatunków bakterii w okrężnicy, co prowadzi do poprawy zdrowia gospodarza. Do związków prebiotycznych zalicza się niektóre białka, peptydy, tłuszcze oraz oligo- i polisacharydy. Najlepiej poznaną grupą substancji prebiotycznych są sacharydy otrzymywane na drodze hydrolizy polisacharydów lub syntezy enzymatycznej. Najlepiej udokumentowane prebiotyki to: fruktooligosacharydy (FOS), z których najpowszechniejszymi są inulina i oligofruktoza, galaktooligosacharydy, glukozylosacharoza, izomaltooligosacharydy, palatinoooligosacharydy, oligosacharydy sojowe, ksyloooligosacharydy i laktozosacharoza [14].

Inulina i oligofruktoza są to polimery D-glukozy połączone wiązaniami β -1,2-glikozydowymi do reszty fruktozowej w cząsteczce sacharozy [14]. Stosowane są jako składniki żywnościowe z wielu powodów: zastępują tłuszcz i cukier, są wypełniaczem o niskiej wartości energetycznej, środkiem teksturotwórczym i żelującym. Stosuje się je także ze względu na ich właściwości fizjologiczne: są rozpuszczalnym błonikiem pokarmowym i prebiotykiem – korzystnie wpływają na proces trawienia. Dzięki tak wielu pożądanym właściwościom inulina i oligofruktoza stosowane są w coraz szerszej gamie produktów. Są to: wyroby mleczarskie (napoje jogurtowe, desery, lody, produkty na bazie sera), wyroby piekarnicze (pieczywo, ciastka), produkty do smarowania pieczywa, napoje, produkty mączne, wyroby cukiernicze oraz preparaty odchudzające [15].

Fermentowane napoje mleczne znane są od dawna i mają szczególne znaczenie żywieniowe. Obok produkcji tradycyjnych fermentowanych napojów mlecznych na-

stąpił szybki rozwój nowych fermentowanych napojów mlecznych, tzw. napojów mlecznych nowej generacji, o określonych właściwościach prozdrowotnych. Są one produkowane z mleka pasteryzowanego w dwojaki sposób: z wykorzystaniem wyłącznie bakterii wyizolowanych z przewodu pokarmowego zdrowych ludzi lub łączonych ze szczepionkami tradycyjnymi, zawierającymi mezofilne i termofilne bakterie kwasu mlekowego. Napoje produkowane z udziałem mikroflory jelitowej łącznie ze szczepionkami tradycyjnymi, otrzymywane w wyniku fermentacji, zalicza się do napojów II generacji. Coraz powszechniejsze stają się obecnie napoje mleczne fermentowane wyłącznie przez mikroflorę jelitową, tzw. napoje III generacji. W porównaniu z napojami mlecznymi tradycyjnymi, produkty fermentowane przy udziale bakterii jelitowych mają nieco inny smak, zazwyczaj łagodnie kwaśny oraz inny aromat. Rosnąca wiedza konsumentów na temat znaczenia diety w zapewnieniu zdrowia powoduje wyraźny wzrost spożycia produktów wytworzonych z udziałem bakterii jelitowych o właściwościach probiotycznych [14].

Celem pracy była ocena przeżywalności szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* KNE-1 w napoju bananowo-mlecznym, przechowywanym w temp. 10°C przez 32 dni, w zależności od dodatku prebiotyków: oligofruktozy (0,5%) oraz inuliny z sacharozą (łącznie 0,5%).

Material i metody badań

Materiałem do badań był fermentowany szczepem probiotycznym *Lactobacillus casei* KNE-1, napój bananowo-mleczny (stosunek nektaru bananowego do mleka 3:2) z dodatkiem prebiotyku oligofruktozy (0,5%) lub mieszanki inuliny z sacharozą (łącznie 0,5%), przygotowany w warunkach laboratoryjnych. Receptura napoju ustalona została we wcześniejszych badaniach, tj. wybór odpowiedniego nektaru/soku oraz proporcje nektaru i mleka. We wcześniejszych badaniach przeprowadzono także dobór odpowiedniego szczepu probiotycznego oraz warunków fermentacji [11]. Dodatek sacharozy do napoju z inuliną miał na celu poprawę smakowitości, gdyż badania wstępne wskazały na wyższą akceptację tego napoju z dodatkiem mieszanki inuliny z sacharozą niż samej inuliny.

Surowcami do sporządzenia napoju były: mleko UHT 0,5% tłuszczu; nektar bananowy (pasteryzowany, przygotowany na bazie koncentratu, słodzony); szczep probiotyczny *Lactobacillus casei* KNE-1 pochodzący z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej; prebiotyk oligofruktoza (o nazwie handlowej Raftilose P95 firmy Orafit); prebiotyk inulina (o nazwie handlowej Frutafit firmy Sensus); cukier sacharozą.

Po przeprowadzeniu fermentacji w temp. 37°C przez 12 godz., produkt był przechowywany w temp. 10°C przez 32 dni. Przez cały okres przechowywania badano przeżywalność szczepu probiotycznego oraz oceniano pH napoju.

Posiew mikrobiologiczny wykonywano metodą płytkową wgłębną, z trzech kolejnych rozcieńczeń, w dwóch powtórzeniach, a płytki zalewano podłożem MRS Agar firmy Biocar Diagnostics. Płytki inkubowano w temp. 37°C przez 48 godz. Oznaczenia wykonywano przed fermentacją - w napoju bezpośrednio zaszczerpionym szczepem probiotycznym, w napoju bezpośrednio po fermentacji oraz w napoju fermentowanym przechowywanym 32 dni w temp. 10°C (badania co 4 dni).

Pomiar pH wykonywano za pomocą aparatu Elmetron CP 551, po jego wcześniejszym wyskalowaniu z uwzględnieniem temperatury napoju. W celu wykonania pomiaru pH, z losowo wybranych prób każdego rodzaju napoju pobierano po 25 ml. Mierzono pH napoju przed fermentacją, bezpośrednio po fermentacji oraz podczas przechowywania przez 32 dni w temp. 10°C (badania co 4 dni).

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu Microsoft Excel oraz Statgraphics Plus. Narzędziami statystycznymi była analiza korelacji i regresji oraz jednoczynnikowa analiza wariancji.

Wyniki i dyskusja

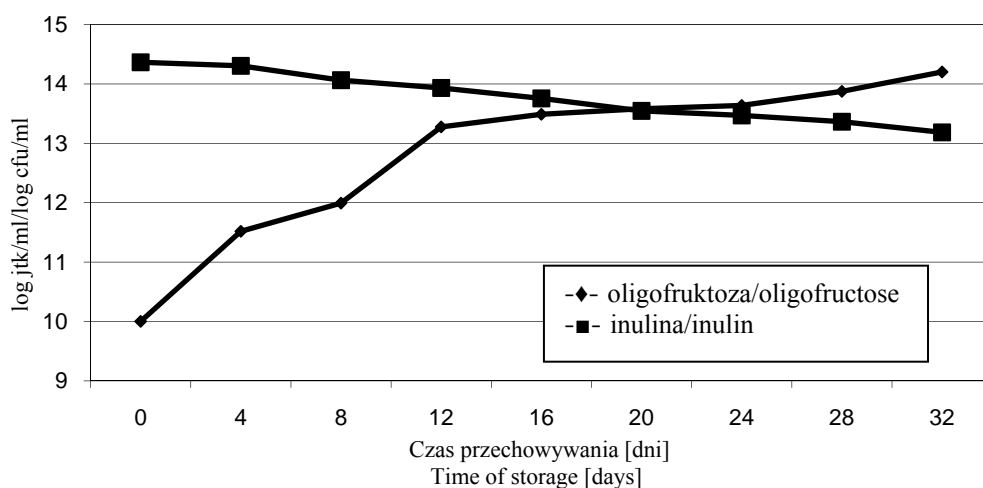
Głównym celem pracy było zbadanie przeżywalności szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* KNE-1 w dwóch napojach bananowo-mlecznych, różniących się rodzajem dodanego prebiotyku, który stymulować miał wzrost badanego szczepu bakterii. Liczne badania nad prawidłowym żywieniem wskazują, że spożycie prebiotyków zmienia mikroflorę jelitową i jej aktywność metaboliczną [13, 17]. Wykazano, że przyjmowanie umiarkowanych ilości Raftiline® (preparatu zawierającego inulinę) lub Raftilose® (oligofruktozę) powoduje znaczny wzrost (5 -10 krotny) liczby bakterii typu bifidobakterii w przewodzie pokarmowym [2].

Oprócz stymulowania wzrostu bakterii probiotycznych w przewodzie pokarmowym, prebiotyki korzystnie wpływają także na wzrost tych bakterii w produktach żywnościowych. Produkty probiotyczne z dodatkiem prebiotyków powinny cechować się lepszą przeżywalnością szczepów jelitowych, w porównaniu z produktami bez prebiotyków. Potwierdzają to m.in. badania Goderskiej i wsp. [8], w których analizowano przeżywalność bakterii *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 oraz *Lactobacillus acidophilus* DSM 20242 w soku z marchwi bez dodatku prebiotyków. Liczba żywych bakterii *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i *Lactobacillus acidophilus* DSM 20242 utrzymywała się na poziomie 10^7 jtk/ml, odpowiednio przez dwa i trzy dni od zaszczerpienia, później gwałtownie zmniejszała się.

Przy rozpatrywaniu potencjalnie prozdrowotnych właściwości preparatów probiotycznych i produktów fermentowanych z udziałem mikroflory jelitowej należy uwzględnić, że produkt musi zawierać dostateczną liczbę żywych i aktywnych komórek w chwili spożycia, minimalnie 10^6 komórek/ml produktu [12, 16].

W niniejszych badaniach liczba bakterii *Lactobacillus casei* KNE-1 w napoju z dodatkiem prebiotyku inuliny z sacharozą (łącznie 0,5%) podczas procesu fermentacji wzrosła o siedem rzędów logarytmicznych z $2,2 \times 10^7$ do $2,31 \times 10^{14}$ jtk/ml. Natomiast w przypadku napoju z dodatkiem oligofruktozy liczba bakterii badanego szczepu wzrosła z $2,2 \times 10^7$ do $1,01 \times 10^{10}$ jtk/ml. Można więc wnioskować, że poszczególne cukry wykazują bardzo zróżnicowaną podatność na procesy fermentacji. Badany szczep bakterii *Lactobacillus casei* KNE-1 o wiele lepiej wykorzystał mieszaną inuliny z sacharozą podczas fermentacji. Mieszanka ta jest zatem lepszym źródłem węgla niż oligofruktoza i lepiej wpływa na wzrost badanego szczepu podczas fermentacji. Badania Gałązki i wsp. [6] potwierdzają, że szczepy *Lactobacillus* spp. mają różnorodną zdolność do fermentowania oligosacharydów i oligopolioli. Przyrost biomasy w obecności β -fruktooligosacharydów jest o około 50% większy niż w pożywkach z β -galaktozylolami. Bielecka [3] stwierdziła, że większość badanych szczepów *Bifidobacterium*, należących do 9 gatunków, wykorzystywała fruktooligosacharydy (FOS, oligofruktozę i niskopolimeryzowaną inulinę) jako substraty fermentacji, a wzrost tych szczepów był przez nie stymulowany [6].

Przeżywalność szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* KNE-1 w napoju bananowo-mlecznym z dodatkiem prebiotyku oligofruktozy była dobra. Z przeprowadzonych badań wynika, że liczba bakterii badanego szczepu *Lactobacillus casei* KNE-1 w napoju bananowo-mlecznym z dodatkiem tego prebiotyku wzrosła o 4 rzędy logarytmiczne przez 32 dni przechowywania. Liczba początkowa, bezpośrednio po fermentacji, wynosiła $1,01 \times 10^{10}$ jtk/ml, a w 32. dniu przechowywania $1,59 \times 10^{14}$ jtk/ml (rys. 1).



Rys. 1. Krzywe wzrostu bakterii *Lactobacillus casei* KNE-1 w napojach bananowo-mlecznych, przechowywanych przez 32 dni w temp. 10°C, w zależności od rodzaju prebiotyku (n = 10).

Fig. 1. Growth curves of *Lactobacillus casei* KNE-1 bacteria in the banana-milk drinks stored at a temperature of 10°C for 32 days, depending on the prebiotics added (n = 10)

W napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy (łącznie 0,5%) w trakcie przechowywania w warunkach chłodniczych (10°C) przez 32 dni, liczba bakterii probiotycznych zmniejszyła się o jeden rząd logarytmiczny. Liczba początkowa, bezpośrednio po fermentacji wynosiła $2,31 \times 10^{14}$ jtk/ml, a w 32. dniu przechowywania $1,54 \times 10^{13}$ jtk/ml (rys. 1).

Badania Trząskowskiej [19] potwierdzają, że dodatek inuliny do soku z marchwi nie wpływa istotnie na wzrost badanego szczepu bakterii *Lactobacillus acidophilus* CH-2. Liczba bakterii przez cały okres badawczy (także w temp. 10°C) utrzymywała się na podobnym poziomie, w pierwszym dniu badawczym wynosiła 9,02 log jtk/ml, a w ostatnim zmniejszyła się do 9,09 log jtk/ml.

Badania własne wskazują na różną przeżywalność badanego szczepu w zależności od rodzaju prebiotyku, ale ze względu na fakt, że mieszanka inuliny z sacharozą powodowała znaczny wzrost liczby bakterii podczas procesu fermentacji, liczba bakterii pod koniec okresu przechowywania w obu napojach była bardzo zbliżona i odpowiadała wymaganiom dot. liczby bakterii szczepu probiotycznego w produktach probiotycznych.

Tabela 1

Wyniki jednoczynnikowej analizy wariancji dotyczącej liczby bakterii *Lactobacillus casei* KNE-1 w napoju bananowo-mlecznym przechowywanym przez 32 dni w temp. 10°C; czynnik zmienności – rodzaj prebiotyku.

One-way analysis of variance of microbiological researches for *Lactobacillus casei* KNE-1 strain in the fruit-milk drinks, during storage at temperature 10°C for 32 days, depending on prebiotics.

Źródło zmienności / Source of changeability	SS	Df	Współczynnik F / F-Ratio	Wartość-P / P-Value	Test F / F Test
Napój z dodatkiem oligofruktozy / Drink with oligofructose added					
Pomiędzy grupami / Among the groups	448,829	1	8,122	0,004	3,894
W obrębie grup / Within the groups	9836,5	178	-	-	-
Razem / Totally	10285,33	179	-	-	-
Napój z dodatkiem inuliny z sacharozą / Drink with inulin and saccharose added					
Pomiędzy grupami / Among the groups	222,541	1	4,101	0,044	3,894
W obrębie grup / Within the groups	9659,255	178	-	-	-
Razem / Totally	9881,797	179	-	-	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

SS – Suma kwadratów / Sum of Squares

Df – Liczba stopni swobody / Degree of Freedom

Z testu jednoczynnikowej analizy wariancji wynika (tab. 1), że czas przechowywania istotnie wpłynął na liczbę bakterii badanego szczepu w przypadku obu napojów (z dodatkiem oligofruktozy oraz inuliny z sacharozą) ($P < 0,05$).

Na podstawie analizy korelacji i regresji wnioskować można o statystycznie wysokiej zależności pomiędzy liczbą bakterii a czasem przechowywania, zarówno w napoju z dodatkiem inuliny z sacharozą, jak i oligofruktozy (tab. 2). Potwierdzają to współczynniki korelacji, które wynoszą odpowiednio: $R = -0,48$ (inulina z sacharozą) i $R = 0,72$ (oligofruktoza). W napoju zawierającym dodatek oligofruktozy współczynnik jest dodatni, co oznacza, że im dłuższy jest czas przechowywania tym liczba bakterii wyższa. Odwrotnie jest natomiast w przypadku napoju z dodatkiem inuliny. Współczynnik jest ujemny, zatem czas przechowywania wpływa na zmniejszenie liczby bakterii badanego szczepu probiotycznego.

Tabela 2

Wyniki analizy korelacji i regresji pomiędzy liczbą bakterii *Lactobacillus casei* KNE-1 w napoju bananowo-mlecznym a czasem przechowywania napoju (z dodatkiem różnych prebiotyków) w temp. 10°C przez 32 dni.

Analysis results of the correlation and regression between the count of *Lactobacillus casei* KNE-1 bacteria in the banana-milk drink and the time of storing the drink (with various prebiotics added) at a temperature of 10°C for 32 days.

Wyszczególnienie Specification	SS	Df	Współczynnik F F-Ratio	Wartość-P P-Value
Napój z dodatkiem oligofruktozy / Drink with oligofractose added				
Model 1 / Model 1	125,656	1	99,76	0,000
Reszty / Residuals	110,844	88	-	-
Współczynnik korelacji / Correlation coefficient $R = 0,729$				
Współczynnik determinacji / Determination coefficient $R^2 = 53,13\%$				
Błąd standardowy / Standard error = 1,122				
Napój z dodatkiem inuliny z sacharozą / Drink with inulin and sacharose added				
Model 1 / Model 1	13,846	1	26,83	0,000
Reszty / Residuals	45,409	88	-	-
Współczynnik korelacji / Correlation coefficient $R = -0,483$				
Współczynnik determinacji / Determination coefficient $R^2 = 23,37\%$				
Błąd standardowy / Standard error = 0,718				

Oznaczenia jak w tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

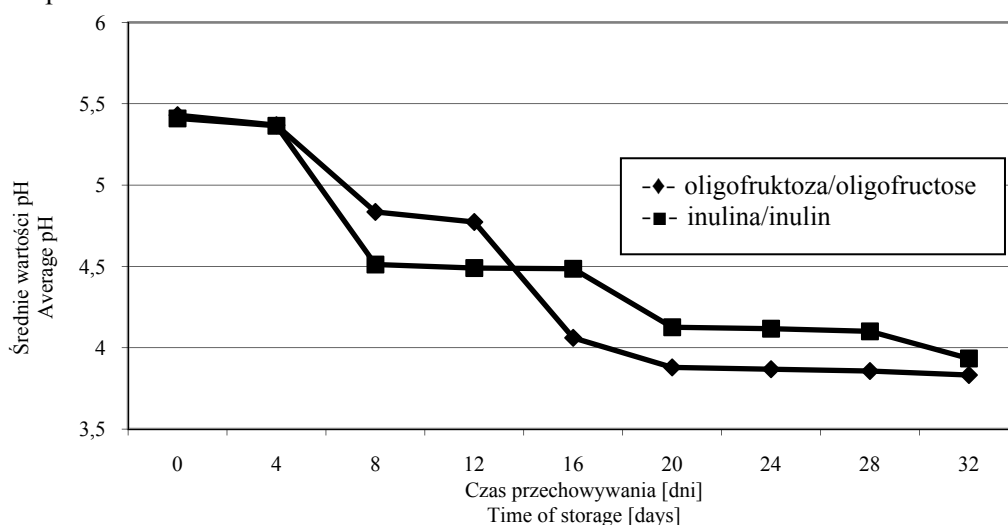
Utrwalanie biologiczne jest jedną z najstarszych metod konserwowania żywności. Jest to metoda prosta, tania i nadająca produktowi atrakcyjne cechy sensoryczne. Jedną z głównych funkcji w naturalnym konserwowaniu żywności odgrywają bakterie mle-

kowe, które mają zdolność fermentacji cukrów do kwasów organicznych, redukując jednocześnie pH produktu [9]. Obecność kwasu mlekowego w wielu produktach spożywczych, takich jak: kiszona kapusta, kwaśne mleko, jogurt czy kefir jest wynikiem działalności życiowej bakterii kwasu mlekowego [4].

Homofermentatywne gatunki bakterii mlekowych, do których zalicza się *Lactobacillus casei* KNE-1, w wyniku fermentacji produkują głównie kwas mlekowy (od 0,6 do 3%), natomiast heterofermentatywne, oprócz kwasu mlekowego, produkują dodatkowo kwas octowy, mrówkowy, benzoesowy i inne [9].

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono obniżenie pH napojów bananowo-mlecznych, przechowywanych w temp. 10°C (rys. 2). W okresie 32 dni przechowywania pH obniżyło się z 5,41 do 3,83 w napoju zawierającym oligofruktozę, natomiast w napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy pH w zerowym dniu badawczym wynosiło 5,43, a w 32. dniu 3,93, co może oznaczać, że przez cały okres badawczy bakterie badanego szczepu probiotycznego produkowały kwas mlekowy.

Wartości pH obu napojów po fermentacji były zbliżone, mimo że wzrost bakterii podczas fermentacji różnił się znacznie. Zatem prebiotyki były prawdopodobnie wykorzystane głównie jako źródło węgla do wzrostu biomasy, a nie jako cukier do metabolizmu fermentacyjnego, któremu towarzyszy wytworzenie kwasu mlekowego i obniżenie pH.



Rys. 2. Krzywe zmian pH fermentowanych napojów bananowo-mlecznych, przechowywanych w temp. 10°C przez 32 dni, w zależności od rodzaju prebiotyku.

Fig. 2. Curves of changes in pH values of the fermented banana-milk drinks during their storage at a temperature of 10°C for 32 days, depending on the type of prebiotic added.

W napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy nastąpiło wprawdzie zmniejszenie liczby bakterii, jednak pH końcowe było zbliżone do pH końcowego napoju z oligofruktozą. Stosunkowo niższą aktywność kwaszącą wykazał badany szczep probiotyczny w napoju z dodatkiem oligofruktozy. W pierwszym dniu badawczym liczba bakterii wynosiła $1,01 \times 10^{10}$ jtk/ml, a pH napoju 5,43, natomiast w 32. dniu przechowywania liczba bakterii wzrosła o cztery cykle logarytmiczne do $1,59 \times 10^{14}$ jtk/ml, natomiast pH napoju obniżyło się do wartości 3,83. W przypadku napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy przy początkowej liczbie bakterii $2,31 \times 10^{14}$ jtk/ml, pH napoju było równe 5,41 i po 32 dniach przechowywania obniżyło się do wartości 3,93, czyli niższej niż w napoju z oligofruktozą przy zmniejszeniu liczby bakterii o jeden rząd logarytmiczny, do wartości $1,54 \times 10^{13}$ jtk/ml. Wynika z tego, że prawdopodobnie oligofruktoza nie wpływa na metabolizm fermentacyjny i produkcję kwasu mlekowego tylko na inne procesy sprzyjające wzrostowi oraz przeżywalności szczepu *Lactobacillus casei* KNE-1. Kwas mlekowy mógł zostać wytworzony z innych cukrów zawartych w napoju, głównie z laktozy mleka i sacharydów nektaru bananowego.

Wartość pH fermentowanego napoju bananowo-mlecznego z dodatkiem inuliny i sacharozy w 32. dniu badań ustaliła się na poziomie 3,98, a z dodatkiem oligofruktozy wyniosła 3,83. Kwas mlekowy dzięki obniżaniu pH środowiska zwiększa trwałość surowców, półproduktów i produktów żywnościowych, spełniając tym samym rolę bardzo dobrego naturalnego konserwanta żywności [20].

Z przeprowadzonej jednoczynnikowej analizy wariancji wynika, że wystąpiły statystycznie istotne różnice ($P < 0,05$) pomiędzy średnimi wartościami pH w poszczególnych dniach przechowywania, zarówno w napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy, jak i oligofruktozy.

Zależność pH od czasu przechowywania została także potwierdzona współczynnikiem korelacji. Współczynnik korelacji napoju z inuliną wyniósł $r = -0,92$, natomiast napoju z oligofruktozą $r = -0,94$. W obu przypadkach współczynnik jest ujemny, a zależność jest statystycznie wysoko istotna.

Wnioski

1. Rodzaj prebiotyku determinuje wzrost i przeżywalność bakterii probiotycznych szczepu *Lactobacillus casei* KNE-1. Znacznie lepszą przeżywalność stwierdzono w napoju z dodatkiem oligofruktozy (stały wzrost liczby bakterii, o cztery cykle logarytmiczne), jednak w napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy, pomimo że nastąpiło zmniejszenie liczby bakterii podczas przechowywania (o jeden cykl logarytmiczny), to ogólna liczba bakterii badanego szczepu pod koniec okresu badawczego utrzymała się na podobnym poziomie i odpowiadała liczbie bakterii szczepu probiotycznego wymaganej w produktach probiotycznych.

2. Wzrost liczby bakterii *L. casei* KNE-1 przez cały okres przechowywania napoju z dodatkiem oligofruktozy świadczyć może o niezakończonym burzliwej fazie fermentacji produktu (bakterie w fazie logarytmicznej wzrostu), co może być wskazówką, aby wprowadzić fazę dojrzewania produktu w obniżonej temperaturze lub przechowywać produkt w niższej temperaturze (np. 5°C).
3. Obniżenie liczby bakterii *L. casei* KNE-1 podczas przechowywania napoju z dodatkiem inuliny i sacharozy (bakterie w fazie zamierania) sugerować może zastosowanie większego stężenia mieszanki tego prebiotyku z sacharozą.

Badania wykonano w ramach badań własnych SGGW (Projekt Badawczy nr 504-10050019). Praca była prezentowana podczas VIII Konferencji Naukowej nt. „Żywność XXI wieku – Żywność a choroby cywilizacyjne”, Kraków, 21–22 czerwca 2007 r.

Literatura

- [1] Achremowicz B., Łukaszewicz M.: Probiotyki w profilaktyce zdrowia. *Zdrowa Żywność - Zdrowy Styl Życia*, 2006, **1 (71)**, 4-6.
- [2] Anonim: Dowody na korzyści zdrowotne płynące ze stosowania probiotyków. *Przegl. Mlecz.*, 2003, **3**, 104-107.
- [3] Bielecka M.: Żywność probiotyczna. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia. Hepatologia i Żywnienie Dziecka*, 2002, **1 (4)**, 27-32.
- [4] Bogaczek R., Napierała W.: Kwas mlekowy jakość, właściwości i kierunki zastosowań. *Przem. Spoż.*, 1998, **6 (52)**, 43-47.
- [5] Fuller R.: Probiotic in human medicine. *Gut*, 1991, **32**, 439-443.
- [6] Gałązka I., Klewicki R., Ślizewska K.: Zdolność wybranych szczepów *Lactobacillus* spp. do fermentowania oligosacharydów i oligopoliooli o zróżnicowanym stopniu polimeryzacji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **2 (35)** Supl., 28-32.
- [7] Gibson G. R., Roberfroid M. B.: Dietary modulation of the colonic microbiots: introducing the concept of probiotics. *J. Nutr.*, 1995, **125**, 1401-1406.
- [8] Goderska K., Matuszewska M., Czarnecki Z.: Charakterystyka wybranych szczepów *Lactobacillus acidophilus* i ich przeżywalność w soku marchwiowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **3 (32)** (Supl.), 63-67.
- [9] Grajek W., Sip A.: Biologiczne utrwalanie żywności z wykorzystaniem metabolitów bakterii mlekowych. W: *Bakterie fermentacji mlekowej – Klasyfikacja, Metabolizm, Genetyka, Wykorzystanie – pod red. Z. Libudzisz, P. Walczaka i J. Bardowskiego*, Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 1998, s. 175-180.
- [10] Heasman M.: The regulation of functional food and beverages in Japan. *Proc. Vitafood International Conference, Copenhagen 1997*, 88-92.
- [11] Jałosińska-Pieńkowska M.: Prognozowanie wzrostu i przeżywalności wybranego szczepu bakterii probiotycznych w napoju owocowo-mlecznym. *Żywność – aspekty technologiczne i prozdrowotne, Materiały XXXV Sesji Naukowej KNoŻ PAN, Łódź 2004*, s. 149-149.
- [12] Kołożyn-Krajewska D.: Żywność probiotyczna w aspekcie bezpieczeństwa zdrowotnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **4 (29)**, 93-98.
- [13] Kruse H. P., Kleessen B., Blaut M.: Effects of inulin on faecal bifidobacteria in human subject. *Br. J. Nutr.*, 1999, **5 (82)**, 375-380.

- [14] Libudzisz Z.: Probiotyki i prebiotyki w fermentowanych napojach mlecznych. *Pediatrica Współczesna*, 2002, **1** (4), 19-25.
- [15] Meyer D.: Nietrawione oligosacharydy i polisacharydy – ich efekt fizjologiczny i implikacje zdrowotne oraz zastosowanie. W: *Sacharydy i substancje słodzące – pod red. A. Rutkowskiego*, Wyd. PTTŻ, 2002, **57** (65), 67-72.
- [16] Motyl I., Libudzisz Z.: Właściwości probiotyczne bakterii mlekowych i ich wykorzystanie w przetwórstwie mleczarskim. *Przegl. Mlecz.*, 1996, **3**, 72-77.
- [17] Roberfroid M., van Loo J., Gibson G.: The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J. Nutr.*, 1998, **1** (128), 11-17.
- [18] Schrezenmeier J., Vrese M.: Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **73**, 361-367.
- [19] Trzaskowska M.: Prognostyczne modele wzrostu i przeżywalności bakterii probiotycznych w wybranych produktach żywnościowych. Praca doktorska, SGGW, Warszawa 2006.
- [20] Warchalewski J. R.: Kwas mlekowy w przemianach biochemicznych i ich praktyczne zastosowanie w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 1998, **7** (52), 43-48.
- [21] Włodarek D.: Żywność funkcjonalna i wzbogacona. *Żywność dla Zdrowia*, 2006, **4**, 22-25.

THE SURVIVABILITY OF PROBIOTIC STRAIN IN A BANANA-MILK DRINK DEPENDING ON THE VARIOUS PREBIOTICS ADDED

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the survivability of an *Lactobacillus casei* KNE-1 probiotic strain in the banana-milk drink (3:2), stored at a temperature of 10°C for 32 days, depending on the added prebiotics: oligofructose (0.5%) and inulin with sucrose (totally 0.5%). For the purpose of this study, during of the period of storing the drink, changes in its pH value were also measured. The scope of the study included: preparing the drink; inoculating it by the *L. casei* KNE-1 probiotic strain; accomplishing a fermentation process at a temperature of 37°C for 12 hours; examining the survivability of the strain used; and determining the pH-value of the drink during its storing. Microbiological examinations were conducted using a pour plate method on an MRS agar manufactured by a 'BIOCAR DIAGNOSTICS' Company (the incubation conditions: temperature: 37°C; duration: 48 hrs).

It was found that while the banana-milk drink fermented, the count of *Lactobacillus casei* KNE-1 bacteria in the drink increased by 3 logarithmic orders in the drink with oligofructose added, and by 7 logarithmic orders in the drink with inulin and sucrose added. And during storing, the cell count of the examined strain increased by 4 logarithmic orders in the drink with oligofructose added, whereas the cell count of this strain decreased by 1 logarithmic order in the drink with the addition of inulin. During the period when two fermented drinks were stored, their pH-values significantly decreased (from 5.41 to 3.93 in the drink with inulin and sucrose, and from 5.43 to 3.83 in the drink with oligofructose), and this decrease resulted in the decrease of their sensory quality.

Key words: fermented milk drink, probiotics, survivability, prebiotics, inulin, oligofructose 