

WALDEMAR GUSTAW, JUSTYNA KOZIOŁ, ADAM WAŚKO,
KATARZYNA SKRZYPCZAK, MONIKA MICHALAK-MAJEWSKA,
MACIEJ NASTAJ

**WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I PRZEŻYWALNOŚĆ
LACTOBACILLUS CASEI W MLECZNYCH NAPOJACH
FERMENTOWANYCH OTRZYMANYCH Z DODATKIEM
WYBRANYCH PREPARATÓW BIAŁEK MLEKA**

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu wyselekcjonowanych preparatów białek mleka na właściwości fizykochemiczne i reologiczne mlecznych napojów fermentowanych, otrzymanych przy użyciu potencjalnie probiotycznych bakterii *Lb. casei*. Preparaty białek mleka zastosowane do produkcji mlecznych napojów fermentowanych wpływały stymulująco na wzrost szczepu *Lb. casei* L26. Po 3-tygodniowym przechowywaniu w warunkach chłodniczych mlecznych napojów fermentowanych, otrzymanych z pełnego mleka w proszku, najwyższą liczbę komórek bakterii szczepu *Lb. casei* L26 ($3,50 \times 10^8$ jtk/ml) stwierdzono w produktach wzbogaconych 1 % koncentratu białek serwatkowych (WPC). Dodatek preparatów białek serwatkowych miał wyraźny wpływ na właściwości reologiczne mlecznych napojów fermentowanych. Skrzepy mlecznych napojów fermentowanych otrzymane z mleka odtłuszczonego charakteryzowały się wyższymi wartościami takich parametrów, jak twardość czy współczynnik konsystencji. Twardość skrzepów mlecznych napojów fermentowanych otrzymanych z odtłuszczonego mleka w proszku (OMP) wynosiła 0,51 N. Skrzepy napojów z dodatkiem 2 % izolatu białek serwatkowych (WPI) cechowały się twardością – 1,65 N. Produkty otrzymane przy użyciu szczepu *Lb. casei* L26 charakteryzowały się dużą synerezą, niezależnie od zawartości tłuszczu w mleku. Wzrost stężenia WPI od 0,5 do 2 % w napojach fermentowanych otrzymanych z OMP powodował stopniowe zmniejszenie ilości wydzielonej serwatki z 11,98 do 1,03 %. Oprócz poprawy właściwości fizykochemicznych mlecznych napojów fermentowanych, wzbogacanie ich preparatami białek mleka wpływało na zwiększenie walorów prozdrowotnych oraz nadawało produktom cechy żywności funkcjonalnej.

Słowa kluczowe: *Lactobacillus*, mleczne napoje fermentowane, preparaty białek serwatkowych, reologia, synereza

Prof. dr hab. W. Gustaw, dr J. Kozioł, mgr inż. K. Skrzypczak, dr inż. M. Michalak-Majewska, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, dr A. Waśko, dr inż. M. Nastaj, Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: waldemar.gustaw@up.lublin.pl

Wprowadzenie

Bakterie fermentacji mlekowej (LAB) stosowane są powszechnie do produkcji żywności fermentowanej. Najczęściej są to bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, a wśród nich *Lb. casei*. Do najbardziej znanych szczepów *Lb. casei* należy Shirota, który jest szczepem o właściwościach probiotycznych. Szczep ten został zastosowany do produkcji fermentowanego napoju mlekowego Yakult, wprowadzonego na rynek japoński w 1935 r. [17]. Probiotyczne szczepy *Lb. casei* wykazują właściwości prozdrowotne, udokumentowane klinicznie. Metabolity wytwarzane przez ten szczep wykazują m.in. działanie antybakteryjne i antywirusowe [8, 24]. Probiotyczne szczepy *Lb. casei* stosowane są zarówno w mlecznych, jak i w mięsnych produktach fermentowanych [3, 25, 26].

Mleko zawiera niezbędne składniki odżywcze potrzebne do wzrostu bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, jednak nie występują one w odpowiedniej ilości i w formie dostępnej dla komórek bakteryjnych, co ogranicza ich namnażanie [19]. Dodatkowe źródło aminokwasów może stymulować wzrost bakterii probiotycznych, szczególnie w przypadku zastosowania kultur starterowych niezawierających w swoim składzie *Lb. bulgaricus* [27]. Białka mleka zawierają wszystkie niezbędne aminokwasy, które są źródłem azotu organicznego dla bakterii [10]. W celu uzyskania odpowiedniej tekstury mlecznych napojów fermentowanych najczęściej stosowany jest dodatek hydrokolidów polisacharydowych lub preparatów białkowych [9, 21-23]. W literaturze jest stosunkowo niewiele prac naukowych poświęconych badaniom wpływu białek mleka na stymulowanie wzrostu bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. Preparaty białek serwatkowych czy hydrolizaty kazeiny dodawane są w celu skrócenia czasu fermentacji *Lb. acidophilus*, gdyż są źródłem aminokwasów i węglowodanów potrzebnych do wzrostu komórek bakteryjnych [5]. Laktoferyna stymulowała wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*, ale również szczepów *Lb. acidophilus* [12]. Wybrane preparaty białek mleka stymulowały wzrost bakterii *Lb. acidophilus* zastosowanych do otrzymania mlecznych napojów fermentowanych [14].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu wyselekcjonowanych preparatów białek mleka na właściwości fizykochemiczne i reologiczne mlecznych napojów fermentowanych, otrzymanych metodą termostatową przy użyciu potencjalnie probiotycznych bakterii *Lb. casei*, oraz określenie wpływu wybranych preparatów białek mleka na przeżywalność bakterii *Lb. casei* podczas chłodniczego przechowywania tych napojów.

Material i metody badań

Material biologiczny użyty w badaniach stanowił szczep *Lactobacillus casei* LAFTI L26 ((DSM, Polska)

Do przeprowadzenia badań zastosowano: podłoże podstawowe MRS (BTL, Łódź), mleko pełne w proszku (PMP) (OSM, Krasnystaw), odłuszczone mleko w proszku (OMP) (Biomlek, Chełm); koncentrat białek serwatkowych (WPC 65) (Milei GmbH, Allgau, Niemcy), izolat białek serwatkowych (WPI) (Milei GmbH, Allgau, Niemcy), serwatkę w proszku demineralizowaną (SPD) (Euroserum, Port-Sur-Saone, Francja) oraz kazeinoglikomakropeptyd (CGMP), (Arla Food, Dania) i α -laktoalbuminę (α -la) (Arla Food, Dania).

Określenie wpływu preparatów białek mleka na wzrost bakterii w płynnym podłożu hodowlanym

W celu określenia wpływu wybranych preparatów białek mleka na wzrost badanych szczepów bakterii dokonano pomiaru gęstości optycznej hodowli bakteryjnych (OD), prowadzonych przez 48 h w temp. 37 °C, przy wykorzystaniu automatycznego czytnika wzrostu drobnoustrojów - Bioscreen C (OY Growth Curves, Finlandia) [15]. Hodowlę prowadzono na zmodyfikowanym podłożu MRS, w którym źródłem azotu były wybrane preparaty białek mleka w stężeniu 0,25 %.

Otrzymanie mlecznych napojów fermentowanych

Sterylnie, 10-procentowe regenerowane OMP zaszczepiano 100 μ l zawiesiny komórek bakterii *Lb. casei* L26 i inkubowano w temp. 37 °C do czasu uzyskania liczby komórek bakterii na poziomie $10^7 \div 10^8$ jtk/ml [6]. Przygotowane w ten sposób inokulum posłużyło do szczepienia 13-procentowych roztworów mleka w proszku. Mleczne napoje fermentowane z dodatkiem monokultury bakterii *Lb. casei* L26 i wybranych preparatów białek mleka w ilości [%]: 0,5, 1 i 2 otrzymano metodą termostatową [14].

Określenie wielkości synerезy w mlecznych napojach fermentowanych

Wielkość synerезy oznaczano po 12 h od zakończenia procesu fermentacji według metody Kozioł i wsp. [14] oraz Amatayakula i wsp. [1].

*Wpływ preparatów białek mleka na wzrost *Lb. casei* L26 w mlecznych napojach fermentowanych*

Liczba komórek bakteryjnych *Lb. casei* L26 w mlecznych napojach fermentowanych oznaczano metodą płytkową. Posiewy płytkowe wykonywano po 12 h od zakończenia fermentacji na podłożu MRS-agar z dodatkiem 0,2 % chlorku litu i 0,3 % propionianu sodu. Każdy posiew wykonywano w dwóch powtórzeniach. Po zakończeniu hodowli bakteryjnych obliczano ogólną liczbę bakterii zgodnie z wcześniej stosowaną metodą [13].

*Wpływ preparatów białek mleka na przeżywalność *Lb. casei* L26 w mlecznych napojach fermentowanych podczas ich chłodniczego przechowywania*

Liczbę komórek bakterii *Lb. casei* L26 oznaczano metodą płytkową. Posiewy płytkowe wykonywano po 1, 7, 14 oraz 21 dniach chłodniczego przechowywania skrzepów kwasowych w temp. 4 °C, na podłożu MRS-agar z dodatkiem 0,2 % chlorku litu i 0,3 % propionianu sodu. Każdy posiew wykonywano w dwóch powtórzeniach.

Reologiczne właściwości mlecznych napojów fermentowanych

Twardość skrzepów mlecznych napojów fermentowanych oznaczano za pomocą analizatora tekstury TA-xT2i (Stable Micro Systems, Godalming, UK) po 12 h przechowywania w temp. 4 °C. Próbki badano, stosując zmodyfikowany test TPA [14, 15]. Średnica trzpienia wynosiła 15 mm, głębokość penetracji 20 mm, natomiast prędkość przesuwu głowicy analizatora – 1 mm/s. Pomiary wykonywano w dwóch seriach po pięć powtórzeń.

Wyznaczano krzywe płynięcia w zakresie gradientu szybkości ścinania $0 \div 150 \text{ s}^{-1}$, w temp. 20 °C, w ciągu 120 s. Oznaczeń dokonywano przy użyciu układu stożek – płytka (C60/2°Ti) i reometru RS 300 (Haake, Karlsruhe, Niemcy). Wyznaczony przebieg krzywych płynięcia analizowano z wykorzystaniem modelu Herschela-Bulkleya (RheoWin 3, Haake, Karlsruhe, Niemcy).

Analiza statystyczna

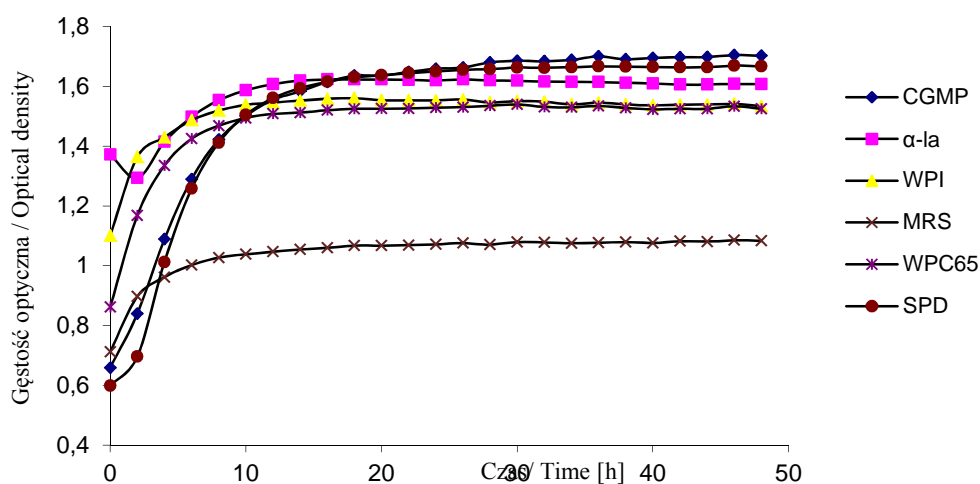
Analizę statystyczną wykonano stosując program Statistica 8.0 (StatSoft, Polska). Zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji (ANOVA) przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Do oceny różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya.

Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie badań określono wpływ wybranych preparatów białek mleka na wzrost *Lb. casei* L26 w zmodyfikowanym podłożu MRS. Zmiany gęstości optycznej (OD) podczas hodowli szczepu L26 w płynnych pożywkach MRS z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka przedstawiono na rys. 1. Na podłożach z dodatkiem preparatów białek mleka wartości OD wzrastały systematycznie od pierwszych godzin hodowli i były zdecydowanie wyższe w porównaniu z hodowlą w podstawowym podłożu MRS. Na tej podstawie można stwierdzić, że preparaty białkowe stymulowały wzrost szczepu *Lb. casei* L26. Najlepszy wzrost bakterii obserwowano w przypadku hodowli na podłożach z dodatkiem CGMP i SPD (rys. 1). Podobne wyniki uzyskano podczas wzrostu *Lb. casei* Lc-1 na regenerowanej serwatce [7].

W następnym etapie badań otrzymywano mleczne napoje fermentowane przez *Lb. casei* L26 z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka. Wzbogacenie miało wpływ na liczbę komórek bakterii w uzyskanych napojach zarówno z OMP, jak i PMP

(tab. 1). Największą liczbą komórek bakterii *Lb. casei* L26 charakteryzowały się produkty otrzymane z dodatkiem CGMP i WPI. Znaczny wpływ na stymulację wzrostu szczepu L26 wywierały również dodatki WPC65 i SPD. Najśłabszym stymulatorem wzrostu badanego szczepu była α -la. W mlecznych napojach fermentowanych z α -la, liczba komórek bakteryjnych utrzymywała się na poziomie 10^8 . Jednak liczba komórek L26 w produktach z dodatkiem α -la nadal przewyższała ich ilość w mlecznych napojach fermentowanych wyprodukowanych z samego OMP lub PMP. Podobne wyniki uzyskano w badaniu wzrostu bakterii kwasu mlekowego na regenerowanej serwatce w przypadku szczepów *Lb. acidophilus* oraz *Lb. casei*. Liczba komórek bakteryjnych w tych hodowlach wynosiła przeciętnie 10^9 jtk/ml [7, 18].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

CGMP – kazeinoglikomakropeptyd / casein glycomacropeptide; α -la – α -laktoalbumina / α -lactalbumin; WPI – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate; MRS – podłoże podstawowe MRS / basic growth medium; WPC 65 – koncentrat białek serwatkowych / whey protein concentrate; SPD – serwatka w proszku demineralizowana / demineralised whey powder

Rys. 1. Wpływ dodatku preparatów białek mleka na wzrost *Lb. casei* L26.

Fig 1. Effect of milk protein preparations added on growth of *Lb. casei* L26.

W tab. 2. przedstawiono wartości twardości skrzepów mlecznych produktów z PMP i OMP modyfikowanych przez dodatek preparatów białek mleka, otrzymanych po fermentacji przez szczep *Lb. casei* L26. Dodatek preparatów białek mleka nie powodował statystycznie istotnego ($p < 0,05$) wzrostu twardości skrzepów wszystkich produktów otrzymanych z OMP, poza próbką z 2-procentowym dodatkiem WPI. Po-

dobne zależności obserwowano podczas analizy pomiaru twardości skrzepów napojów otrzymanych z PMP. Największą twardością charakteryzowały się skrzepy z WPI.

Tabela 1. Liczba komórek szczepu *Lb. casei* L26 w mlecznych napojach fermentowanych, otrzymanych z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka [jtk/ml]

Table 1. Count of bacterial cells of *Lb. casei* L26 strain in fermented milk beverages produced with addition of milk protein preparations [cfu/ml]

Dodatek preparatu Preparation added [%]	OMP					PMP				
	CGMP	α -la	WPC65	WPI	SPD	CGMP	α -la	WPC65	WPI	SPD
0	$2,7 \times 10^8$					$2,8 \times 10^8$				
0,5	$3,2 \times 10^9$	$3,7 \times 10^8$	$1,6 \times 10^9$	$3,4 \times 10^9$	$2,1 \times 10^9$	$2,5 \times 10^9$	$3,7 \times 10^8$	$2,9 \times 10^9$	$2,3 \times 10^9$	$3,2 \times 10^9$
1	$3,5 \times 10^9$	$3,7 \times 10^8$	$2,4 \times 10^9$	$3,4 \times 10^9$	$2,4 \times 10^9$	$2,9 \times 10^9$	$4,3 \times 10^8$	$2,2 \times 10^9$	$2,2 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$
2	$3,8 \times 10^9$	$4,1 \times 10^8$	$2,5 \times 10^9$	$3,6 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$	$3,2 \times 10^9$	$3,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^9$	$2,6 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$

Objaśnienia: Explanatory notes:

OMP – odtłuszczone mleko w proszku /skimmed milk powder; PMP – pełne mleko w proszku/full fat milk powder. Pozostałe objaśnienia jak pod rys. 1. / Other explanatory notes as in Fig. 1.

Tabela 2. Twardość skrzepów mlecznych napojów fermentowanych z udziałem *Lb. casei* L26 [N]

Table 2. Hardness of curds of fermented milk beverages with *Lb. casei* L26 [N] strain

Dodatek preparatu Preparation added [%]	OMP					PMP				
	CGMP	α -la	WPC65	WPI	SPD	CGMP	α -la	WPC65	WPI	SPD
0	$0,51^a \pm 0,08$					$0,34^{ab} \pm 0,03$				
0,5	$1,14^{abc} \pm 0,28$	$0,79^{ab} \pm 0,04$	$0,75^{ab} \pm 0,08$	$0,68^a \pm 0,07$	$0,97^{ab} \pm 0,07$	$0,46^{ab} \pm 0,04$	$0,54^{abc} \pm 0,05$	$0,38^{ab} \pm 0,06$	$0,65^{abcd} \pm 0,08$	$0,37^{ab} \pm 0,02$
1	$1,04^{abc} \pm 0,13$	$0,90^{ab} \pm 0,05$	$0,57^a \pm 0,05$	$0,84^{ab} \pm 0,06$	$0,88^{ab} \pm 0,03$	$0,47^{ab} \pm 0,07$	$0,65^{abcd} \pm 0,10$	$0,50^{ab} \pm 0,05$	$0,67^{abcd} \pm 0,02$	$0,52^{abc} \pm 0,05$
2	$1,09^{abc} \pm 0,39$	$0,99^{ab} \pm 0,05$	$0,57^a \pm 0,03$	$1,65^{bcd} \pm 0,09$	$0,62^a \pm 0,07$	$0,41^{ab} \pm 0,06$	$0,76^{bcde} \pm 0,03$	$0,34^{ab} \pm 0,03$	$1,04^{cdef} \pm 0,12$	$0,38^{ab} \pm 0,03$

Objaśnienia: Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations. Różnice między wartościami średnimi w kolumnach (dla OMP lub PMP) oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$) / Differences among means in columns (for OMP or PMP) denoted by different letters are statistically significant ($p < 0,05$)

W tab. 3. przedstawiono wartości współczynnika konsystencji (K) uzyskane podczas badania skrzepów kwasowych otrzymanych z mleka odtłuszczonego i pełnego z dodatkiem preparatów białek mleka w wyniku fermentacji monokulturą *Lb. casei*

L26. Wszystkie badane napoje fermentowane wykazywały właściwości pseudopalstyczne. Wartości K napojów mlecznych otrzymanych z OMP były wyższe w porównaniu z próbkami otrzymanymi z PMP. Dodatek do obu rodzajów mleka preparatów białkowych powodował, w większości przypadków, wzrost wartości K. Wysokimi wartościami K charakteryzowały się napoje mleczne otrzymane z OMP z dodatkiem SPD i α -la.

Tabela 3. Wartości współczynnika konsystencji (K) mlecznych napojów fermentowanych przez szczep *Lb. casei* L26 [Pa·sⁿ]

Table 3. Values of consistency index (K) of milk beverages fermented using *Lb. casei* L26 strain [Pa·sⁿ]

Dodatek preparatu Preparation added [%]	OMP					PMP				
	CGMP	α -la	WPC65	WPI	SPD	CGMP	α -la	WPC65	WPI	SPD
0	105,6 ^{cd} ±12,9					16,8 ^a ±4,4				
0,5	226,5 ^{ef} ±1,9	263,8 ^e ±15,3	170,9 ^c ±14,1	106,3 ^{cd} ±11,5	271,2 ^g ±9,7	37,4 ^{ab} ±8,2	58,5 ^{ab} ±15,9	20,8 ^{ab} ±6,8	70,0 ^{abc} ±6,1	36,9 ^{ab} ±11,8
1	215,4 ^{ef} ±7,1	348,5 ^{hi} ±4,7	42,6 ^{ab} ±1,7	100,0 ^{cd} ±11,7	373,3 ^h ±6,8	23,7 ^{ab} ±7,8	62,4 ^{ab} ±23,4	22,9 ^{ab} ±7,5	78,1 ^{abc} ±18,7	44,2 ^{ab} ±20,1
2	232,3 ^{ef} ±5,2	665,5 ^j ±7,3	28,3 ^a ±2,4	84,0 ^{bc} ±9,1	670,8 ^j ±10,1	13,6 ^a ±5,1	83,9 ^{abc} ±32,8	23,4 ^{ab} ±5,4	135,5 ^c ±36,3	28,3 ^{ab} ±6,9

Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 4. Poziom synerazy mlecznych napojów fermentowanych, z dodatkiem preparatów białek mleka otrzymanych w wyniku fermentacji przez szczep *Lb. casei* L26 [%]

Table 4. Syneresis volume of fermented milk beverages with milk protein preparations added, produced by fermentation using *Lb. casei* L26 strain [%]

Dodatek preparatu Preparation added [%]	OMP					PMP				
	CGMP	α -la	WPC65	WPI	SPD	CGMP	α -la	WPC65	WPI	SPD
0	24,24 ⁱ ±0,99					26,77 ⁱ ±1,34				
0,5	22,72 ^h ±1,17	18,46 ^e ±0,87	15,38 ^{ef} ±0,98	11,98 ^d ±0,76	22,87 ^h ±0,87	24,54 ⁱ ±0,77	19,83 ^e ±1,07	17,82 ^f ±0,88	14,35 ^{cd} ±0,95	24,30 ⁱ ±0,65
1	21,92 ^h ±2,02	18,05 ^e ±0,59	9,72 ^c ±0,75	1,09 ^a ±0,03	22,27 ^h ±0,82	22,29 ^h ±2,04	17,18 ^{ef} ±0,34	14,21 ^{cd} ±0,10	11,94 ^{bc} ±0,59	22,36 ^h ±1,17
2	19,14 ^f ±0,96	10,09 ^c ±1,03	4,39 ^{ab} ±0,23	1,03 ^a ±0,04	12,30 ^d ±0,44	16,60 ^{ef} ±0,89	10,56 ^b ±0,76	10,74 ^{bc} ±0,88	6,08 ^a ±1,03	11,31 ^{bc} ±1,00

Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Wyznaczenie poziomu synerazy mlecznych napojów fermentowanych pozwoliło określić wpływ zastosowanych preparatów białek mleka oraz szczepów bakteryjnych

na zwięzłość i stabilność skrzepu kazeinowego otrzymanych napojów fermentowanych. Zastosowanie szczepu *Lb. casei* L26 do fermentacji mleka regenerowanego skutkowało otrzymaniem żeli kwasowych o dużym poziomie synerезy (tab. 4). W przypadku napojów kontrolnych otrzymanych z 13-procentowego OMP lub PMP oznaczono zbliżony poziom synerезy. Dodatek preparatów białek mleka w ilości 0,5 i 1% nie wpłynął lub wpływał w niewielkim stopniu na zmniejszenie synerезy. Tylko po dodaniu WPI zaobserwowano najmniejsze wydzielanie serwatki zarówno w przypadku napojów z OMP, jak i PMP. Najwięcej serwatki wydzielały produkty otrzymane z OMP z 0,5-procentowym dodatkiem CGMP. Wielkość synerезy wszystkich produktów z dodatkiem szczepu *Lb. casei* L26 wyraźnie zmniejszyła się po dodaniu 2 % preparatów białek mleka. Podobną prawidłowość zaobserwowano we wcześniejszych badaniach nad wpływem dodatku preparatów białek serwatkowych na wielkość synerезy mlecznych napojów fermentowanych [14, 16]. Mniejszą synerезę po dodaniu większych stężeń białek mleka można wytłumaczyć, gęściejszym usieciowaniem tych skrzepów w porównaniu z jogurtami kontrolnymi [20].

Tabela 5. Przeżywalność szczepu *Lb. casei* L26 w mlecznych napojach fermentowanych z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka, podczas chłodniczego przechowywania

Table 5. Survival of *Lb. casei* L26 strain in cold-stored fermented milk beverages with selected milk proteins preparations added

Czas przechowywania [dni] Storage time [days]	<i>Lb. casei</i> L26 [jtk/ml]		
	PMP	PMP+1 % CGMP	PMP+1 % WPC65
1	$4,24 \times 10^8$	$2,48 \times 10^9$	$1,94 \times 10^9$
7	$1,03 \times 10^8$	$1,55 \times 10^9$	$5,0 \times 10^8$
14	$6,18 \times 10^7$	$5,77 \times 10^8$	$4,90 \times 10^8$
21	$5,22 \times 10^7$	$8,64 \times 10^7$	$3,50 \times 10^8$

Liczba komórek szczepu *Lb. casei* L26 w napojach mlecznych z PMP z dodatkiem 1 % CGMP lub WPC65 po 1 dniu od zakończenia fermentacji była większa o jeden rząd wielkości w porównaniu z próbą kontrolną (tab. 5). Prawdopodobnie zastosowane preparaty białek mleka wpływały na poprawę wzrostu *Lb. casei* L26 w czasie inkubacji próbek. Następne dni chłodniczego przechowywania napojów fermentowanych powodowały zmniejszenie liczby komórek bakteryjnych w próbce o jeden rząd wielkości – w przypadku dodatku WPC65 lub o dwa rzędy wielkości (z dodatkiem CGMP oraz próba kontrolna). Po 21 dniach chłodniczego przechowywania najwięcej żywych komórek bakteryjnych *Lb. casei* L26 stwierdzono w napojach fermentowanych, otrzymanych z PMP z dodatkiem 1 % WPC 65 ($3,50 \times 10^8$). Większą przeżywalność bakterii z rodzaju *Lactobacillus* podczas chłodniczego przechowywania jogurtów z dodatkiem koncentratu białek serwatkowych obserwowali również Kailasapathy

i Supriadi [11]. Podobną tendencję stwierdzili Antunes i wsp. [2], którzy w jogurtach z mleka odtłuszczonego z dodatkiem WPC stwierdzili zwiększenie liczby żywych komórek *L. acidophilus* o 1,8 cyklu logarytmicznego, po 21 dniach przechowywania w temp. 5 °C, w porównaniu z próbą kontrolną. Mniejszą przeżywalność komórek bakterii po zastosowaniu CGMP potwierdzają wcześniejsze wyniki badań uzyskane przez Cicvárek i wsp. [4], którzy stosowali dodatek tego preparatu w celu zwiększenia przeżywalności bakterii fermentacji mlekowej.

Wnioski

1. Wybrane preparaty białek mleka (CGMP, α -la, SPD, WPI i WPC65) wykorzystane do produkcji mlecznych napojów fermentowanych stymulowały wzrost potencjalnie probiotycznego szczepu bakterii *Lb. casei* L26.
2. Dodatki preparatów białek serwatkowych miały korzystny wpływ na właściwości reologiczne mlecznych napojów fermentowanych. Skrzepy mlecznych napojów fermentowanych otrzymane z mleka odtłuszczonego charakteryzowały się wyższymi wartościami takich parametrów, jak twardość skrzepów czy współczynnik konsystencji.
3. Wzrost stężenia preparatów białek mleka nie powodował w większości przypadków istotnych różnic ($p < 0,05$) twardości skrzepów kwasowych otrzymanych przy użyciu szczepu *Lb. casei* L26.
4. Produkty otrzymane przy użyciu szczepu *Lb. casei* L26 charakteryzowały się dużą synerżą, niezależnie od zawartości tłuszczu w mleku. Wzrost stężenia preparatów białek mleka w napojach fermentowanych powodował stopniowe zmniejszanie ilości wydzielonej serwatki.
5. Po trzytygodniowym okresie przechowywania produktów uzyskanych z pełnego mleka w proszku w warunkach chłodniczych, najwyższą przeżywalność komórek bakterii szczepu *Lb. casei* L26 zaobserwowano w próbkach wzbogaconych 1-procentowym dodatkiem WPC.

Literatura

- [1] Amatayakul T., Sherkat F., Shah N.P.: Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20**, 314-32.
- [2] Antunes A.E.C, Cazetto T.F, Abolini H.M.: Viability of probiotic microorganisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. *Int. J. Dairy Technol.*, 2005, **3**, 169-173.
- [3] Aryana K.J., McGrew P.: Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2007, **10 (40)**, 1808-1814.

- [4] Cicvárek J, Čurda L., Elich O., Dvorakova E., Dvorak M.: Effect of caseinomacropptide concentrate addition on the growth of bifidobacteria. Czech J. Food Sci., 2010, **6 (28)**, 485-494.
- [5] Dave R.I., Shah N.P.: Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. J. Dairy Sci., 1998, **81**, 2804-2816.
- [6] Donkor O.N., Nilmini S., Stolic P., Vasiljevic T., Shah N.: Survival and activity of selected probiotic lactic acid bacteria and probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. Int. Dairy J., 2007, **17**, 657-665.
- [7] Drgalic I., Tratnik L., Bozanic R.: Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey. Lait, 2005, **85**, 1-9.
- [8] Guillemard E., Tanguy J., Flavigny A., de la Motte S., Schrezenmeir J.: Effects of consumption of a fermented dairy product containing the probiotic *Lactobacillus casei* DN-114 001 on common respiratory and gastrointestinal infections in shift workers in a randomized controlled trial. J. Am. Coll. Nutr., 2010, **5 (295)**, 455-468.
- [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] Hajirostamloo B.: Comparison of nutritional and chemical parameters of soymilk and cow milk. World Academy of Science, Eng. Technol., 2009, **57**, 436-438.
- [11] Kailasapathy K., Supriadi D.: Effect of whey protein concentrate on the survival of *Lactobacillus acidophilus* in lactose hydrolyzed yogurt during refrigerated storage. Milchwissenschaft, 1996, **51 (10)**, 566-569.
- [12] Kim W.S., Ohashi M., Tanaka T., Kumura H., Kim G.Y., Kwon I.K., Goh J.S., Shimazaki K.: Growth-promoting effects of lactoferrin on *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Biometals, 2004, **3 (17)**, 279-83.
- [13] Kisielewska E., Kordowska-Wiater M.: Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i mikrobiologii żywności. UP w Lublinie, Lublin 2004.
- [14] Koziół J., Gustaw W., Waško A., Skrzypczak K., Sławińska A., Sołowiej B.: Wpływ wybranych preparatów białek mleka na wzrost i przeżywalność *Lactobacillus acidophilus* oraz właściwości reologiczne mlecznych napojów fermentowanych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2014, **3 (94)**, 41-55.
- [15] Koziół J., Skrzypczak K., Gustaw W., Waško A.: Wpływ preparatów białek mleka na wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2013, **3 (88)**, 83-98.
- [16] Kuecukcetin, A. Effect of heat treatment of skim milk and final fermentation pH on graininess and roughness of stirred yogurt. Int. J. Dairy Technol., 2008, **4 (61)**, 385-390.
- [17] Nowak A., Ślizewska K., Libudzisz Z.: Probiotyki – historia i mechanizmy działania. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, **4 (71)**, 5-19.
- [18] Pescuma M., Hébert E.M., Mozzi F., Font de Valdez G.: Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: evolution of carbohydrates and protein content. Food Microbiol. 2008, **3 (25)**, 442-451.
- [19] Poch M., Bezkorovainy A.: Bovine milk κ -casein trypsin digest is a growth enhancer for the genus *Bifidobacterium*. J. Agric. Food Chem., 1991, **39**, 73-77.
- [20] Puvanenthiran A., Williams R.P.W., Augustin M.A.: Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey proteins ratios. Int. Dairy J., 2002, **12**, 383-391.
- [21] Sołowiej B.: Wpływ preparatów serwatkowych na przylegalność analogów serów topionych do różnych materiałów opakowaniowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2013, **2 (87)**, 80-91.
- [22] Sołowiej B., Gustaw W., Nastaj M.: Wpływ dodatku koncentratów białek serwatkowych na właściwości reologiczne analogów serów topionych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **5 (60)**, 226-234.

- [23] Solowiej B., Mleko S., Gustaw W., Udeh K.O.: Effect of whey protein concentrates on texture, meltability and microstructure of acid casein processed cheese analogs. *Milchwissenschaft*, 2010, **2** (65), 169-173.
- [24] Śmietanka K., Minta Z., Tomczyk G., Domańska-Blicharz K., Bartnicka B., Szewczyk B., Grzywaczewski G.: Prevalence of avian influenza virus infections in poultry and wild birds. *Medycyna Weter*, 2005, **6** (61), 676-679.
- [25] Wójciak K., Dolatowski Z.J., Okoń A.: The effect of probiotic strains on oxidative stability of cured pork meat products. *Fleischwirtschaft*, 2012, **1**, 100-104.
- [26] Wójciak K.M., Dolatowski Z.J., Kołożyn-Krajewska D., Trząskowska M.: The effect of the *Lactobacillus casei* Lock 0900 Probiotic Strain on the Quality of Dry - Fermented Sausage During Chilling Storage. *J. Food Quality*, 2012, **5** (35), 353-365.
- [27] Zaręba D., Ziarno M., Obiedziński M.: Przeżywalność bakterii jogurtowych i probiotycznych w układach modelowych mleka niefermentowanego i fermentowanego. *Med. Weter.* 2008, **8** (64), 1007-1011.

**PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND SURVIVAL OF *LACTOBACILLUS CASEI*
IN FERMENTED MILK BEVERAGES PRODUCED WITH ADDITION OF SELECTED MILK
PROTEIN PREPARATIONS**

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of selected milk protein preparations on physicochemical and rheological properties of the fermented milk beverages produced using potentially probiotic *Lb. casei* bacteria. Milk protein preparations used, in the production of fermented milk beverages, stimulate the growth of the *Lb. casei* L26 strain. After three weeks of cold storage, the highest survival rate of the *Lb. casei* L26 strain ($3,50 \times 10^8$ (cfu/ml) was reported in the products enriched by adding 1% of WPC (whey protein concentrate). The addition of whey protein preparations had an apparent effect on the rheological properties of fermented milk beverages. The curds of fermented milk products produced from skimmed milk were characterized by higher values of the parameters such as hardness or consistency index. The hardness of the curds of fermented milk beverages produced of the skimmed milk powder (OMP) was 0.51 N. The curds of the beverages produced with the addition of 2% of WPI (whey protein isolate) were characterized by a hardness value of 1.65 N. The products produced using the *Lb. casei* L26 strain were characterized by a high syneresis regardless of the content of fat in milk. The increase of WPI concentration from 0.5 to 2% in the fermented milk beverages made of SMP caused the amount of whey secreted to decrease from 11.98 to 1.03%. In addition to the improved physicochemical properties of the fermented milk beverages, supplementing them with milk protein preparation enhanced the pro-healthy values thereof and gave them the characteristics of functional foods.

Key words: *Lactobacillus*, fermented milk drinks, whey protein preparations, rheology, syneresis ☒