

ANNA BZDUCHA-WRÓBEL, MIECZYSLAW OBIEDZIŃSKI

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

## WPLYW DODATKU WOLNEGO KWASU LINOLOWEGO NA ZAWARTOŚĆ CLA ORAZ ROZWÓJ BAKTERII MLEKOWYCH W UKŁADACH SERÓW MODELOWYCH Z *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*\*

**Streszczenie.** W pracy określano wpływ dodatku wolnego kwasu linolowego na powstawanie kwasu linolowego o wiązaniach skoniugowanych (CLA) w tłuszczu modelowych serów dojrzewających pod wpływem aktywności metabolicznej pałeczek mlekowych *Lactobacillus acidophilus* La-5. Badano również zmiany liczby bakterii mlekowych w czasie dojrzewania modeli serów. Zawartość CLA w układach probiotycznych z dodatkiem kwasu linolowego była istotnie statystycznie większa ( $\alpha = 0,05$ ) w porównaniu z układami kontrolnymi. Obserwowano ponad siedmiokrotne zwiększenie udziału CLA w puli wolnych kwasów tłuszczowych w układach zawierających bakterie *Lb. acidophilus* La-5, co potwierdza zdolność badanych bakterii mlekowych do izomeryzacji kwasu linolowego do CLA. Kwas linolowy nie wpływał hamująco na rozwój badanych bakterii mlekowych – wykazywały one podobny wzrost w modelach z dodatkiem oraz bez dodatku tego kwasu.

**Słowa kluczowe:** *Lactobacillus acidophilus*, kwas linolowy, CLA, modele serów dojrzewających

### Wstęp

Kwas żwaczowy (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) jest jednym z izomerów kwasu linolowego o wiązaniach skoniugowanych, który w badaniach na zwierzętach wykazuje działanie prozdrowotne, tj. przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe, immunomodulacyjne, przeciwcukrzycowe i inne (PRZYBOJEWSKA i RAFALSKI 2003).

W badaniach nad biosyntezą kwasu żwaczowego (CLA) wykazano, że niektóre szczepy bakterii kwasu mlekowego mają zdolność przeprowadzania transformacji kwa-

---

\*Praca została sfinansowana ze środków na naukę Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2008-2009 w ramach grantu promotorskiego nr N N312 150 634.

sów nienasyconych do CLA na drodze izomeryzacji, uwodornienia i dehydratacji (SIEBER i IN. 2004). Najczęściej przemianom tym podlegają kwas linolowy oraz linolenowy. Uważa się, że konwersja kwasu linolowego do CLA jest mechanizmem detoksykacji stosowanym przez komórki bakterii. Szczepy zdolne do przeżywania w warunkach silniejszych stężeń nienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy osiemnastowęglowych mają zazwyczaj większą zdolność produkcji CLA (JIANG i IN. 1998 b, COAKLEY i IN. 2003).

Izomeraza kwasu linolowego (EC 5.2.1.5) jest zlokalizowana w błonach komórkowych bakterii i wykazuje specyficzność substratową do systemu wiązań podwójnych o konfiguracji *cis*-9, *cis*-12. Prawdopodobnie enzym ten wymaga obecności wolnych grup karboksylowych, aczkolwiek wyniki badań potwierdzają, że również zestryfikowane formy kwasu linolowego stanowią substrat przemian omawianej biosyntezy (BAUMAN i IN. 1999, KIM i LIU 2002). Przykładowo, w pracy LINA i IN. (1999) badano wpływ m.in. *Lb. acidophilus* CCRC14079, *Lb. delbrücki* subsp. *bulgaricus* CCRC 14009, *Lb. delbrücki* subsp. *lactis* CCRC 14078, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCRC 12586 oraz *Lc. lactis* subsp. *lactis* CCRC 10791 na syntezę CLA w pożywce z mleka z dodatkiem 0 mg/cm<sup>3</sup>, 1 mg/cm<sup>3</sup> i 5 mg/cm<sup>3</sup> kwasu linolowego. Wydajność syntezy CLA była zależna od szczepu, którym zaszczepiano podłoże, oraz ilości dodanego substratu, tj. kwasu linolowego. Dodatek C18:2 *cis*-9, *cis*-12 w ilości 1 mg/cm<sup>3</sup> okazał się optymalny. Po 24 h fermentacji z *Lb. acidophilus* uzyskano prawie czterokrotny wzrost zawartości CLA.

ALONSO i IN. (2003) określali zdolność szczepów *Lb. acidophilus* (L1, O16) i *Lb. casei* (E5, E10), wyizolowanych z przewodu pokarmowego człowieka, do produkcji wolnego kwasu linolowego w podłożu bulionowym MRS oraz mleku. Wszystkie analizowane szczepy wykorzystywały wolny kwas linolowy dodawany do podłoża wzrostowego. Po 24 h fermentacji w badanym supernatancie ponad 90% izomerów CLA stanowił kwas żwaczowy.

W badaniach KIM i LIU (2002) substratem przemian był olej słonecznikowy. Autorzy kierowali się doniesieniami m.in. NOBLE'A i IN. (1974), którzy wykazali, że kwas linolowy w postaci zestryfikowanej również był efektywnym substratem biohydrogenacji prowadzonej przez bakterie rumenowe. W hodowli z *Lc. lactis* IO-1 odnotowano ponad dwukrotny wzrost ilości CLA w porównaniu z próbą kontrolną, tj. mlekiem bez dodatku oleju słonecznikowego. Bakterie wykazywały dużą tolerancję w stosunku do dodanego oleju słonecznikowego, co świadczyło o efektywności systemu detoksykacji.

OGAWA i IN. (2001) oraz DEVILLARD i IN. (2007) zaobserwowali, że przekształcaniu kwasu linolowego do CLA towarzyszyło powstawanie produktów pośrednich, tj. hydroksykwasów, jak np. kwasu 10-hydroksy-*trans*-12-oktadekenowego, czy kwasu 10-hydroksy-*cis*-12-oktadekenowego. OGAWA i IN. (2001) postawili tezę, że izomeryzacja dienu niesprężonego do układu wiązań skoniugowanych zachodzi poprzez produkcję wspomnianych pochodnych hydroksylowych. W hodowli z *Lb. acidophilus* autorzy odnotowywali zmniejszenie zawartości hydroksykwasów, które korelowało ze wzrostem ilości CLA. Zjawisko to tłumaczono konwersją tych pierwszych do CLA.

W literaturze mało jest informacji odnoszących się do biosyntezy CLA przez bakterie mlekowe w próbkach żywności, zatem celem prezentowanej pracy było określenie, czy dodatek wolnego kwasu linolowego (C18:2 *cis*-9, *cis*-12) wpływa na zwiększenie zawartości wolnego kwasu linolowego o wiązaniach skoniugowanych (C18:2 *cis*-9,

*trans*-11; CLA) w tłuszczu modeli serów dojrzewających zawierających bakterie *Lb. acidophilus* La-5. Izomer C18:2 *cis*-9, *trans*-11 jest głównym produktem izomeryzacji kwasów nienasyconych do dienów sprzężonych, dlatego był on przedmiotem niniejszych badań.

W danych źródłowych najczęściej są przedstawiane wyniki określające zmiany wartości CLA bez rozróżnienia na frakcje kwasów zestryfikowanych w postaci acylogliceroli oraz wolnych kwasów tłuszczowych. Wynika to z procedur przygotowywania prób do analiz chromatograficznych. Przykładowo, stosowanie estryfikacji kwasów tłuszczowych w środowisku kwaśnym, np. z trójfluorkiem boru (BF<sub>3</sub>), wymusza przeprowadzenie uprzedniej hydrolizy acylogliceroli tłuszczu mlecznego. Na wynik końcowy składa się zatem suma kwasów uwolnionych z estrów glicerolu oraz kwasów tłuszczowych występujących w tłuszczu mlecznym w postaci wolnej. Zastosowanie takiego podejścia nie ułatwia zrozumienia procesów powstawania CLA w badanej matrycy. W badaniach wstępnych do przedstawianej pracy stwierdzono, że dodatek wolnego kwasu linolowego, jako substratu przemian biosyntezy CLA, nie wpływał na wzrost zawartości CLA w postaci zestryfikowanej. Ze względu na powyższy fakt przedstawiono wyniki dotyczące zmian zachodzących tylko we frakcji wolnych kwasów tłuszczowych.

## Material i metody

Material badawczy stanowiły modele serów dojrzewających wytwarzanych z wykorzystaniem szczepionki starterowej z rodzaju *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R-603, którą zestawiano z monokulturą *Lactobacillus acidophilus* La-5 w przypadku układów probiotycznych. Szczepionki bakterii zakupiono w firmie Ch. Hansen. Wytwarzano modele z naturalną oraz zwiększoną zawartością wolnego kwasu linolowego. Do układów o zwiększonej zawartości kwasu C18:2 *cis*-9, *cis*-12 składnik ten dodawano w ilości ok. 1 mg/g modelu (czystość  $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich, Niemcy). Dawkę kwasu linolowego wyznaczono w ramach badań wstępnych. Szczepionki kultur bakteryjnych przygotowywano w sterylnym w mleku UHT (3,2% tłuszczu), tak aby uzyskać około  $10^7$ - $10^8$  komórek bakterii w gramie modelu. Modele serów wytwarzano z zachowaniem warunków sterylnych. Wykorzystano zmodyfikowaną procedurę CRESPO i IN. (2004). Do jałowych butelek Schotta zawierających 250 cm<sup>3</sup> sterylnej wody destylowanej naważano 158 g śmietanki UHT (30% tłuszczu) i 157 g odtłuszczonego proszku mlecznego. Następnie dodawano NaCl (4 g) i cytrynian sodu (1,75 g). Butelki z wymieszanymi składnikami umieszczano w łaźni wodnej (Cabrolab Electronic, Polska) i poddawano ogrzewaniu do temperatury 31°C, by następnie zaszczerpić bakteriami. Zaszczepioną gęstwą serową termostatowano w temperaturze 30°C przez 30 min. Po tym czasie dodawano preparat koagulujący (1:13 000, Marzyme, Ch. Hansen) w ilości 1 cm<sup>3</sup> i dokładnie mieszano. Po wytworzeniu skrzepu serowego (po upływie około 40 min od dodania podpuszczki) gęstwą cięto i dogrzewano (36°C, 25 min). Kolejne dogrzewanie prowadzono w temperaturze 41°C przez 20 min, po czym modele serów termostatowano w tej temperaturze dodatkowe 30 min. Tak przygotowane sery modelowe poddawano dojrzewaniu przez 8 tygodni w temperaturze 14°C w chłodziarce z kontrolowaną temperaturą (Electrolux). Modele wykonywano w dwóch seriach badań.

Próbki do analiz mikrobiologicznych pobierano w czasie 0 (bezpośrednio po wytworzeniu modeli) oraz po 2., 4., 6. i 8. tygodniu dojrzewania. Do oznaczeń estrów metylo- wych kwasów tłuszczowych wykorzystywano próbki z czasu 0, po 4 i 8 tygodniach dojrzewania, przechowywane w temperaturze  $-21^{\circ}\text{C}$  do czasu analizy.

W celu oznaczenia liczby komórek pałeczek beztlenowych (*Lb. acidophilus*) inkubację prowadzono w podłożu MRS-agar w warunkach beztlenowych ( $42^{\circ}\text{C}$ , 72 h). Warunki beztlenowe uzyskiwano, stosując słoje do hodowli beztlenowych oraz wkłady Anaerocult A (Merck, Niemcy). Oznaczenie liczby komórek paciorkowców mlekowych prowadzono w podłożu M17-agar, a płytki inkubowano z posiewami w warunkach tlenowych ( $30^{\circ}\text{C}$ , 72 h). Wynik końcowy (średnia z czterech powtórzeń) podawano jako logarytm jednostek tworzących kolonie w przeliczeniu na 1 g modelu sera (log jtk/g modelu sera).

Frację wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) ekstrahowano z tłuszczu modeli serów (1,5 g), wykorzystując ekstrakcję do fazy stałej na kolumnkach SPE wypełnionych jonowymienną fazą aminopropylową (SPE Strata-NH2, 513  $\text{m}^2/\text{g}$ , Phenomenex) zgodnie z procedurą, jaką zaproponowali w swoich pracach DE JONG i BADINGS (1990) oraz CHAVARRI i IN. (1997). Wolne kwasy tłuszczowe estryfikowano z wykorzystaniem 1-procentowego roztworu  $\text{H}_2\text{SO}_4$  w metanolu, zgodnie z tym, co podaje CHRISTIE (1993). Estry metylo- we kwasów tłuszczowych (FAME, ang. *fatty acid methyl ester*) oznaczano metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS-QP2010, Shimadzu). Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie BPX 90 (60 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$ ), SGE Incorporated. Próbkę nastrzykiwano w trybie dzielnikowym przy stosunku podziału 1:50 w temperaturze dozownika  $260^{\circ}\text{C}$ . Rozdział chromatograficzny przebiegał w następujących warunkach chromatografowania: temperatura początkowa kolumny –  $-50^{\circ}\text{C}$ , izoterma – 5 min, wzrost temperatury – o  $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$  do  $150^{\circ}\text{C}$ , izoterma – 0,5 min, następnie temperatura pieca wzrosła o  $1,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$  do  $200^{\circ}\text{C}$  – izoterma 0,5 min, po czym zastosowano wzrost temperatury o  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  do  $220^{\circ}\text{C}$  (izoterma 20 min). Gazem nośnym był hel o przepływie  $0,87 \text{ cm}^3/\text{min}$ . Stosowano następujące warunki pracy spektrometru masowego: temperatura źródła jonów –  $200^{\circ}\text{C}$ , temperatura linii łączącej GC z MS –  $200^{\circ}\text{C}$ , jonizacja – elektronami o energii 70 eV, napięcie detektora – 1,27 kV, zakres przemiatania filtra kwadrupolowego – 50-500 m/z.

Jako standardy zewnętrzne stosowane do wyznaczania współczynników korekcyjnych dla estrów metylo- wych kwasów tłuszczowych względem standardu wewnętrznego (C21:0) oraz wyznaczania czasów retencji poszczególnych estrów metylo- wych kwasów tłuszczowych celem identyfikacji wykorzystywano standard estrów metylo- wych kwasów tłuszczowych od C4:0 do C22:5n6 (GLC-67,  $\geq 99\%$ , Nu-Chek Prep., USA), standard mieszaniny izomerów estrów metylo- wych kwasu linolowego o wiązaniach skoniugowanych (18:2 *cis*-9, *trans*-11; 18:2 *trans*-10, *cis*-12) o czystości  $\geq 99\%$  (UC-59-M, Nu-Chek Prep., USA). Obliczeń ilościowych CLA (jako kwasu C18:2 *cis*-9, *trans*-11) dokonywano względem standardu wewnętrznego (kwas heneikozanowy – C21:0, czystość  $\geq 99\%$ ; N-21-A, Nu-Chek-Prep., USA) z zastosowaniem współczynników korekcyjnych oraz przeliczeniowych FAME na wolne kwasy tłuszczowe. Wynik końcowy wyrażano w miligramach CLA na 100 g tłuszczu. Analizy wykonywano w trzech powtórzeniach w każdej z dwóch serii badań. W przypadku kwasów hydroksylo- wych identyfikacji dokonywano na podstawie porównania widm masowych analizowanych związków z widmami masowymi przedstawianymi w literaturze (DEVILLARD i IN.

2007), natomiast obliczeń ilościowych dokonywano, wykorzystując standard zewnętrzny estru metylowego kwasu rycynowego (U-50-M, Nu-Chek Prep., USA).

Wyniki badań poddawano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu statystycznego Statistica V.8, przeprowadzając jednoczynnikową analizę wariancji. Do porównań posłużono się testem HSD Tukeya.

## Wyniki i dyskusja

W ramach charakterystyki mikrobiologicznej modeli serów badano zmiany liczby komórek paciorkowców i pałeczek mlekowych w czasie dojrzewania. Zgodnie z procedurą wytwarzania modeli do wszystkich układów dodawano bakterie starterowe *Lc. lactis* R-603. Inokulum kultury starterowej było na poziomie średnio około 7,5 log jtk/g sera modelowego, zarówno w modelach bez dodatku kwasu linolowego, jak i z dodatkiem tego składnika lipidowego (tab. 1).

Tabela 1. Zmiany liczby komórek bakterii mlekowych: paciorkowców mlekowych w układach kontrolnych i probiotycznych (R-603 oraz R-603 + La-5) oraz pałeczek mlekowych *Lactobacillus acidophilus* La-5. Układy z dodatkiem kwasu linolowego oznaczono dodatkowym skrótem + C18:2 (log jtk/g modelu)

Table 1. Changes in lactic acid bacteria count: lactic coccus in control models and in probiotic models (R-603 and R-603 + La-5); as also count of lactic acid rods *Lactobacillus acidophilus* La-5. Models with the addition of linoleic acid were marked with + C18:2 (log cfu/g of model)

Model	Czas dojrzewania (tygodnie)				
	0	2	4	6	8
Paciorkowce mlekowe w układach kontrolnych (R-603)	7,56±0,21 a, A, B	8,51±0,51 b, D, E	8,62±0,16 b, D, E	8,56±0,43 b, D, E	8,14±0,08 a, b, A, B, C, D
Paciorkowce mlekowe w układach kontrolnych z dodatkiem kwasu linolowego (R-603 + C18:2)	7,50±0,20 a, A	8,76±0,36 b, D, E	8,41±0,17 b, C, D, E	8,55±0,15 b, D, E	8,25±0,05 b, B, C, D, E
Paciorkowce mlekowe w układach probiotycznych (R-603 + La-5)	7,41±0,26 a, A	8,56±0,30 b, D, E	8,45±0,33 b, D, E	8,57±0,30 b, D, E	8,24±0,07 b, B, C, D, E
Paciorkowce mlekowe w układach probiotycznych z dodatkiem kwasu linolowego (R-603 + La-5 + C18:2)	7,70±0,23 a, A, B, C	8,52±0,22 b, D, E	8,88±0,10 b, D, E	8,63±0,15 b, D, E	8,42±0,23 b, D, E
Pałeczki mlekowe w układach probiotycznych bez kwasu linolowego (La-5)	7,39±0,16 a, A	7,05±0,26 a, b, A	7,11±0,20 a, A	7,05±0,07 a, b, A	6,60±0,15 b, B, C
Pałeczki mlekowe w układach probiotycznych z dodatkiem kwasu linolowego (La-5 + C18:2)	6,98±0,14 a, A, B	7,20±0,20 a, A	7,28±0,12 a, A	6,85±0,08 a, b, A, B	6,39±0,21 b, C

Wartości średnie oznaczone tymi samymi małymi literami w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ). Wartości średnie oznaczone tymi samymi dużymi literami w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie ( $\alpha = 0,05$ ).

W ciągu dwóch pierwszych tygodni dojrzewania w 14°C w modelach bez dodatku kwasu linolowego następowało istotnie statystycznie namnażanie się komórek ziarniaków mlekowych, zarówno w układach kontrolnych, jak i w modelach z dodatkiem probiotycznych pałeczek La-5. Liczba komórek bakterii starterowych, przypadająca na 1 g modeli serów intensywniej się zwiększała obecności *Lb. acidophilus* (R-603 + La-5) (wzrost mniej więcej o 1,1 cyklu log). W tym samym czasie wzrost *Lc. lactis* w modelach kontrolnych (R-603) bez dodatku wolnego kwasu linolowego wyniósł około 0,9 cyklu logarytmicznego. Następnie obserwowano powolne zmniejszanie się liczebności żywych komórek kultury starterowej, aczkolwiek poziom zmian okazał się nieistotny statystycznie.

W modelach kontrolnych z dodatkiem kwasu linolowego (R-603 + C18:2) w ciągu dwóch pierwszych tygodni dojrzewania wzrost liczby komórek paciorkowców mlekowych osiągnął poziom około 1,3 cyklu logarytmicznego, w układach zaś z *Lb. acidophilus* liczba komórek R-603 wzrosła w przybliżeniu o 0,8 cyklu logarytmicznego. Po tym okresie w modelach kontrolnych odnotowywano stałą, powolną tendencję do zmniejszania się liczebności populacji ziarniaków mlekowych, jednakże zakres zmian nie był istotny statystycznie. W modelach probiotycznych przyrost liczby komórek ziarniaków mlekowych następował do 4. tygodnia dojrzewania, po czym odnotowywano tendencję do obumierania komórek tych bakterii w zakresie nieistotnym statystycznie.

Inokulum pałeczek mlekowych w gęstwach serowych modeli bez dodatku oraz z dodatkiem kwasu linolowego wynosiło powyżej 7,5 log jtk/g. W czasie wytwarzania modeli zawierających wolny kwas tłuszczowy obserwowano istotne statystycznie zmniejszenie się liczby komórek La-5 do około 7,0 cyklu log. Jak już wspomniano, należy przypuszczać, że w początkowej fazie wytwarzania modeli serów obecność kwasu linolowego działała na komórki bakterii toksycznie, stąd wymagały one dłuższego okresu przystosowania swego systemu enzymatycznego i metabolizmu do zastanych warunków wzrostu.

W całym okresie dojrzewania modeli probiotycznych z *Lb. acidophilus* bez dodatku kwasu linolowego nie obserwowano wzrostu liczby pałeczek beztlenowych, tylko powolne, istotne statystycznie zmniejszanie się liczby żywych komórek tych bakterii. Po dwóch pierwszych tygodniach populacja *Lb. acidophilus* zmniejszyła się w tych układach mniej więcej o 0,3 log w odniesieniu do czasu zerowego i utrzymywała się na tym poziomie do 6. tygodnia dojrzewania. Następnie liczba komórek pałeczek *Lactobacillus* zmniejszała się o kolejne 0,5 jednostki w ostatnim okresie dojrzewania. W modelach z dodatkiem kwasu linolowego pałeczki acidofilne La-5 wykazywały odmienny charakter wzrostu, ale nie były to różnice istotne statystycznie w porównaniu z modelami bez dodatku kwasu. Do 4. tygodnia dojrzewania obserwowano powolny rozwój probiotyków, a dopiero po tym czasie następowało obumieranie *Lb. acidophilus* z poziomu około 7,3 log jtk/g w 4. tygodniu dojrzewania do 6,4 cyklu log w ostatnim tygodniu.

Badane przez PHILLIPSA i IN. (2006) szczepy *Lb. acidophilus* L-10 i La-5 również wykazywały tendencję do zmniejszania liczby żywych komórek w czasie dojrzewania serów. Szczep L-10 przez 8 tygodni dojrzewania serów utrzymywał liczebność komórek na poziomie około  $10^7$  jtk w 1 g sera, po czym liczba komórek gwałtownie się zmniejszała do około  $4,9 \times 10^3$  jtk/g. Szczep La-5 z początkowej wartości  $10^8$  jtk/g zmniejszał liczbę komórek do około  $3,6 \times 10^3$  jtk/g. Autorzy nie znaleźli przyczyn ta-

kiego przebiegu wzrostu badanych pałeczek mlekowych. Mimo że w dyskutowanych modelach zmiany liczby komórek *Lb. acidophilus* La-5 nie były aż tak gwałtowne (przypuszczalnie ze względu na większą zawartość wody oraz laktozy), to tendencja do zmniejszania się liczby żywych pałeczek La-5 była podobna do przedstawionych w literaturze przedmiotu.

Przeżywalność komórek *Lb. acidophilus* w serach cheddar dojrzewających w temperaturach 4, 8 lub 12°C zależała od temperatury, czasu dojrzewania oraz kombinacji wspomnianych czynników. Komórki *Lb. acidophilus* wykazywały lepszą przeżywalność w temperaturach niższych (4 i 8°C). Liczebność *Lactobacillus* w tych warunkach pozostawała na poziomie powyżej  $10^7$  jtk/g, w temperaturze zaś 12°C – poniżej  $10^6$  jtk/g (ONG i SHAH 2008). Zgodnie z wynikami badań przedstawionymi przez DARUKARADHYĘ i IN. (2006) liczba *Lb. acidophilus* w pierwszym miesiącu dojrzewania serów cheddar wynosiła około  $6 \times 10^8$  jtk/g, zmniejszając się prawie 300-krotnie w okresie drugiego miesiąca dojrzewania ( $2 \times 10^6$  jtk/g). W serach probiotycznych z dodatkiem *Lb. acidophilus* dojrzewających w temperaturze 12°C BERGAMINI i IN. (2005) obserwowali wzrost liczby pałeczek do 30. dnia dojrzewania z poziomu 6,9 do 8,4 cyklu logarytmicznego, po czym następowało zmniejszenie liczby tych bakterii do 7,8 cyklu logarytmicznego w 60. dniu dojrzewania.

Niektóre kwasy tłuszczowe mogą stymulować lub hamować wzrost bakterii, w zależności od dawki, aczkolwiek uważa się, że kwasy takie jak linolowy i linolenowy wykazują bardziej inhibitory wpływ na rozwój mikroorganizmów. Nie wszystkie badania potwierdzają powyższą tezę. Przykładowo, AWAISHEH i IN. (2005) określali efekt wybranych nutraceutyków, stosowanych do wzbogacania żywności, na przeżywalność kultur bakteryjnych rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Dodatek kwasów z grupy  $\omega$ -3 przyczyniał się do wzrostu liczby pałeczek *Lactobacillus* (maksymalny wzrost przy dodatku 0,1%). Jak stwierdzili KANKAANPÄÄ i IN. (2004), wolne kwasy tłuszczowe (linolowy, linolenowy i inne) nie powodowały śmierci komórek bakterii mlekowych, ale wstrzymywały ich cykl komórkowy oraz wpływały modyfikująco na skład błon lipidowych tych mikroorganizmów. W badaniach WILLIAMSA i IN. (1947) kwasy linolowy i linolenowy działały stymulująco tylko w wąskim zakresie stężeń i pH, w większych zaś dawkach były dla bakterii toksyczne. Zakres pH i stężeń działania aktywującego wzrost komórek zwiększano poprzez dodanie do podłoża związków emulgujących. WILLIAMS i IN. (1947), powołując się na pracę KODICKA i WORDENA (1945), podają, że aktywność inhibitory kwasów oleinowego, linolowego i linolenowego w stosunku do bakterii *Lb. casei* niwelował dodatek lecytyny, cholesterolu, kalcyferolu,  $\alpha$ -tokoferolu, albumin serum krwi, jak i jonów wapnia ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Autorzy stwierdzali, że aktywność stymulująca kwasu linolowego była rzędu 80% w odniesieniu do aktywności kwasu oleinowego.

Omawiane układy modelowe stanowiły matrycę skoncentrowanych składników mleka, przede wszystkim białek i tłuszczu, które mogły również działać ochronnie na komórki bakterii. LIN i IN. (1999) nie obserwowali inhibicji wzrostu bakterii kwasu mlekowego w podłożu przygotowanym z odtłuszczonego mleka w proszku (120 g/l) z dodatkiem 0, 1000  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  i 5000  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  kwasu linolowego, w podłożu zaś zawierającym 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  stwierdzali prawie trzy-czterokrotne zwiększenie zawartości CLA, podczas gdy większa dawka kwasu nie wpływała na zwiększenie produkcji CLA. Przeżywalność bakterii w takich warunkach tłumaczono ochronnym działaniem białek mleka.

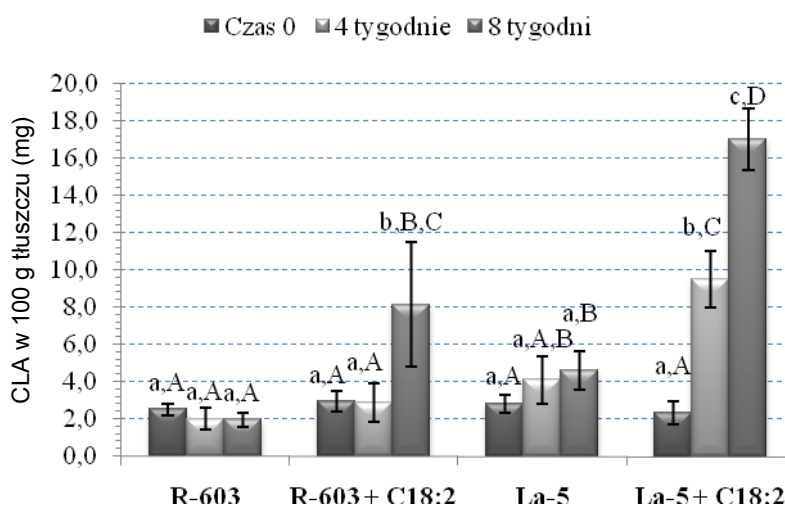
W pracy VAN NIEUWENHOVE i IN. (2007) wszystkie badane szczepy *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Streptococcus* tolerowały stężenie kwasu linolowego 200 µg/ml. Bakterie rodzaju *Bifidobacterium* wykazywały rozwój intensywniejszy w obecności C18:2 *cis*-9, *cis*-12 w porównaniu z układem kontrolnym bez dodatku kwasu. XU i IN. (2004) obserwowali wzrost badanych mikroorganizmów mniej więcej o 1-2 cykle logarytmiczne w ciągu 48-godzinnego eksperymentu, niezależnie od źródła kwasów tłuszczowych (zhydrolizowany olej sojowy, niezhydrolizowany olej sojowy i tłuszcz mleczny). Bakterie *Lb. rhamnosus*, wykazujące przyrost mniej więcej o 1,9 cyklu logarytmicznego, przyczyniały się jednocześnie do znacznego wzrostu zawartości CLA. W zależności od szczepu występowały zatem różnice w tolerancji wolnych kwasów tłuszczowych.

W przypadku modeli, gdzie stosowano dodatek wolnego kwasu linolowego, średnia zawartość tego składnika wynosiła około 756 mg na 100 g tłuszczu. Podobne zawartości wolnego kwasu linolowego stwierdza się w serach pleśniowych, co wynika z aktywności metabolicznej mikroorganizmów obecnych w tych produktach (COLLINS i IN. 2003). Zatem zakres stężenia wolnego kwasu linolowego otrzymany w układach z jego dodatkiem można uzyskać w produktach rzeczywistych, wykorzystując w produkcji drobnoustroje o właściwościach lipolitycznych, w tym o selektywnej aktywności enzymów hydrolitycznych.

Procedura zwiększenia dostępności kwasu C18:2 *cis*-9, *cis*-12 istotnie wpłynęła na przemiany CLA oraz powstawanie produktów pośrednich. Początkowa zawartość wolnego kwasu linolowego o wiązaniach skoniugowanych w tłuszczu modeli wynosiła około 3-4 mg na 100 g tłuszczu serów modelowych (rys. 1). DAS i IN. (2005) stwierdzali zawartość izomeru CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) w postaci niezestryfikowanej w ilości około 3,1 mg w 100 g tłuszczu (0,5% wolnych kwasów tłuszczowych) w serach kontrolnych, tj. zawierających bakterie rodzajów *Lactococcus* i *Propionibacterium*. PARTIDÁRIO i IN. (1998) oznaczali wolny kwas CLA w ilości około 1,6 mg w 100 g tłuszczu serów bezpośrednio po wytworzeniu.

We wszystkich modelach badanych w ramach przedstawianej pracy obserwowano wzrost zawartości wolnego CLA w tłuszczu modeli serów w całym okresie dojrzewania, co pokrywa się z zależnościami stwierdzanymi w literaturze. W badaniach PARTIDÁRIO i IN. (1998) w ciągu sześciu tygodni dojrzewania serów następowało zwiększenie ilości omawianego kwasu z około 1,6 do około 6 mg w 100 g tłuszczu. Źródłem tych zmian mogła być zarówno hydroliza glicerydów mleka, jak i konwersja odpowiednich kwasów nienasyconych (DAS i IN. 2005). Po ośmiu tygodniach dojrzewania modelowych serów kontrolnych z dodatkiem wolnego kwasu linolowego stwierdzano przyrost zawartości kwasu C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (CLA) mniej więcej o 5 mg w 100 g tłuszczu, podczas gdy w układach kontrolnych z naturalną zawartością kwasu linolowego obserwowano nieistotnie statystycznie zmniejszanie się zawartości CLA. W serach modelowych z monokulturą *Lb. acidophilus* La-5 po 8. tygodniu dojrzewania ilość CLA była około 7,2 raza większa w odniesieniu do zawartości początkowej (wzrost mniej więcej o 15 mg na 100 g tłuszczu). W modelach probiotycznych niefortyfikowanych wolnym kwasem linolowym przyrost zawartości CLA był rzędu 1,8 mg na 100 g tłuszczu, tj. ponad ośmiokrotnie mniejszy w porównaniu z pierwszym wariantem modeli. Należy zauważyć, że w przypadku modeli z *Lb. acidophilus* wzbogaconych w wolny kwas linolowy wzrost zawartości CLA odnosił się do sumarycznej zawartości dwóch izomerów, tj. kwasu C18:2 *cis*-9, *trans*-11 oraz izomeru C18:2 *trans*-9, *cis*-11.





Rys. 1. Zmiany zawartości wolnego kwasu linolowego w modelach kontrolnych (R-603 oraz R-603 + C18:2) oraz zawierających pałeczki *Lactobacillus acidophilus* La-5 (La-5 oraz La-5 + C18:2)

Fig. 1. Changes in free conjugated linoleic acid content in control models (R-603 and R-603 + C18:2) and in models with *Lactobacillus acidophilus* La-5 (La-5 and La-5 + C18:2)

Jak podają XU i IN. (2005) za LINEM i IN. (1999), pałeczki *Lb. acidophilus* w mleku z dodatkiem wolnego kwasu linolowego powodowały wzrost CLA o 10,5 mg na 100 cm<sup>3</sup>. W układach modelowych mleka fermentowanego z dodatkiem zhydrolizowanego oleju sojowego (do zawartości 1% tłuszczu) pałeczki *Lb. acidophilus* 74- 2 i *Lb. casei* 163 wytwarzały 45-48 mg CLA na 100 g tłuszczu. OGAWA i IN. (2005) podają, że bakterie *Lb. acidophilus* wytwarzały z wolnego kwasu linolowego około 13,1 mg CLA na 100 cm<sup>3</sup> podłoża. Różnice ilościowe produkcji CLA między omawianymi modelami i danymi źródłowymi mogą wynikać z innych szczepów bakterii wykorzystywanych w badaniach, jednocześnie zmiany opisane w cytowanej literaturze dotyczyły podłoża syntetycznego. Jak już wspomniano, składniki modeli serów mogły ochraniać komórki bakterii przed działaniem wolnego kwasu linolowego. Zależność wydajności biosyntezy CLA od rodzaju medium, w którym prowadzono hodowlę, potwierdzają JIANG i IN. (1998 a, b). SIEBER i IN. (2004) przedstawili uporządkowane informacje odnośnie do wpływu podłoża hodowlanego na syntezę CLA. Wszystkie badane szczepy *Lb. acidophilus* prowadziły biohydrogenację kwasu linolowego z mniejszą intensywnością w mleku niż na pożywce MRS-bulion. Różnica wynosiła 11-15%. W pracy ALONSY i IN. (2003) w hodowli prowadzonej w mleku z dodatkiem wolnego kwasu linolowego (0,02%) otrzymywano około 11,6 mg CLA w przeliczeniu na 100 cm<sup>3</sup> mleka odtłuszczonego. Zdolność syntezy CLA z kwasu linolowego wykazywały szczepy *Lb. acidophilus* (L1, O16) i *Lb. casei* (E5, E10).

Podczas dojrzewania modeli serów w układach z dodatkiem wolnego kwasu linolowego obserwowano powstawanie hydroksykwasów. Stwierdzono obecność kwasu 10-

-hydroksy-oktadekanowego, 10-hydroksy-*trans*-12-oktadekenowego oraz 10-hydroksy-*cis*-12-oktadekenowego. W ostatnim tygodniu dojrzewania modeli bez dodatku wolnego kwasu tłuszczowego oznaczano jedynie kwas 10-hydroksy-oktadekanowy na poziomie około 5-12 mg w 100 g tłuszczu. W układach kontrolnych z dodatkiem wolnego kwasu linolowego sumaryczna zawartość hydroksykwasów wynosiła około 19,5 mg w 100 g tłuszczu, przy czym zawartość izomerów *cis* i *trans* była na podobnym poziomie: powyżej 7 mg w 100 g tłuszczu. Większe zawartości hydroksykwasów stwierdzano w modelach z *Lb. acidophilus*. W tłuszczu tych modeli przeważał kwas 10-hydroksy-*trans*-12-oktadekenowy (około 40 mg w 100 g tłuszczu), przy mniejszej zawartości izomeru 10-hydroksy-*cis*-12-oktadekenowego (około 11 mg w 100 g tłuszczu). KISHINO i IN. (2002) również obserwowali podobne zależności. Pałeczki *Lb. acidophilus* IAM 10074 wytwarzały większe ilości kwasu 10-hydroksy-*trans*-12-oktadekenowego (około 60 mg w 100 cm<sup>3</sup> podłoża) w stosunku do kwasu 10-hydroksy-*cis*-12-oktadekenowego (18 mg w 100 cm<sup>3</sup> podłoża). W przypadku *Lb. acidophilus* AKU 1137 były to ilości odpowiednio: 11 mg w 100 cm<sup>3</sup> podłoża hodowlanego i 7 mg w 100 cm<sup>3</sup> podłoża, jednocześnie pałeczki te wytwarzały CLA.

Analiza statystyczna wyników oznaczeń zawartości hydroksykwasów wskazała na wysoce istotne współzależności między stężeniem CLA a zawartością hydroksykwasów w tłuszczu modeli. W modelach z *Lb. acidophilus* współczynnik korelacji między wolnym CLA i kwasem 10-hydroksy-*cis*-12-oktadekenowym  $r = 0,988$ , a między CLA i izomerem 10-hydroksy-*trans*-12-oktadekenowym  $r = 0,881$ . Wysoce istotne zależności między zawartością CLA i hydroksykwasów mogą wskazywać na podobny mechanizm powstawania omawianych związków w tłuszczu modeli. Wraz ze wzrostem CLA wzrastała bowiem liczba pochodnych hydroksylowych. Jak już wspomniano, OGAWA i IN. (2001) jako pierwsi zaobserwowali akumulację hydroksykwasów, a następnie ich przekształcanie się do CLA. Głównymi produktami tych przemian były kwasy o wiązaniach skoniugowanych: C18:2 *cis*-9, *trans*-11, C18:2 *trans*-9, *cis*-11 oraz C18:2 *trans*-9, *trans*-11. Prawdopodobnie wydłużenie czasu dojrzewania serów modelowych pozwoliłoby zaobserwować dalsze zwiększanie się ilości CLA w wyniku metabolizmu hydroksykwasów przez bakterie mlekowe, co będzie przedmiotem dalszych prac. W doświadczeniu, które przeprowadzili DEVILLARD i IN. (2007), badano metabolizm kwasu linolowego w obecności bakterii jelitowych. Naukowcy potwierdzali wpływ szczepów rodzajów *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus* na powstawanie hydroksykwasów podczas bioprodukcji CLA. Zatem rezultaty uzyskane w ramach przedstawianej pracy potwierdzają przypuszczenia, że hydroksykwasy stanowią produkty pośrednie biosyntezy CLA.

## Wnioski

Bakterie *Lb. acidophilus* La-5 wykazują zdolność izomeryzacji kwasu linolowego do CLA. Zwiększenie dostępności substratu, tj. kwasu linolowego, wpływało istotnie na wzrost zawartości CLA w puli wolnych kwasów tłuszczowych w modelach serów dojrzewających zawierających bakterie *Lb. acidophilus* La-5, przy braku różnic istotnych statystycznie w układach bez dodatku kwasu linolowego. Zawartość CLA w układach probiotycznych była istotnie statystycznie większa w porównaniu z układami kontrol-

nymi. Obecność hydroksykwasów przemawia za faktem, iż są one pośrednimi produktami biokonwersji kwasu linolowego do izomerów o wiązaniach skoniugowanych. Zróżnicowanie zawartości pochodnych hydroksylowych w konfiguracji *cis* i *trans*, w zależności od składu mikroflory w badanych układach, dodatkowo potwierdza wpływ mikroorganizmów na powstawanie tych kwasów. Dodatek kwasu linolowego nie wpływał hamująco na rozwój badanych bakterii mlekowych, które wykazywały podobny rozwój w modelach z dodatkiem kwasu linolowego oraz bez dodatku tego kwasu tłuszczowego, co może wskazywać na sprawny mechanizm detoksykacji przeprowadzanej przez badane mikroorganizmy.

## Literatura

- ALONSO L., CUESTA E.P., GILLILAND S.E., 2003. Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. J. Dairy Sci. 86: 1941-1946.
- AWAISHEH S.S., HADDADIN M.S.Y., ROBINSON R.K., 2005. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. Int. Dairy J. 15: 1184-1190.
- BAUMAN D.E., BAUMGARD L.H., CORL B.A., GRINARI J.M., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proc. Am. Soc. Anim. Sci. 3: 1-15.
- BERGAMINI C.V., HYNES E.R., QUIBERONI A., SUÁREZ V.B., ZALAZAR C.A., 2005. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in semi-hard Argentinean cheese. Food Res. Int. 38: 597-604.
- CHAVARRI F., VIRTO M., MARTIN C., NÁJERA A.I., SANTISTEBAN A., BARRÓN L.J.R., DE RENOBALLES M., 1997. Determination of free fatty acids in cheese: comparison of two analytical methods. J. Dairy Res. 64: 445-452.
- CHRISTIE W.W., 1993. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. W: Advances in lipid methodology – Two. The Oily Press, Dundee, UK: 69-111.
- COAKLEY R.P., ROSS R.P., NORDGREN M., FITZGERALD G., DEVERY R., STANTON C., 2003. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived *Bifidobacterium* species. J. Appl. Microbiol. 94: 138-145.
- COLLINS Y.F., MCSWEENEY P.L.H., WILKINSON M.G., 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. Int. Dairy J. 13: 841-866.
- CRESPO P., KNEUBÜHLER H., BISING W., SCHINDLER M., FRÖHLICH-WYDER M.-T., BACHMANN H.P., 2004. Method for the characterization and evaluation of cultures for the use in semi-hard cheese. W: IDF Symposium on Cheese: Ripening, Characterization and Technology, March 21-25. 115.
- DARUKARADHYA J., PHILLIPS M., KAILASAPATHY K., 2006. Selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp., starter lactic acid bacteria and non-starter lactic acid bacteria from Cheddar cheese. Int. Dairy J. 16: 439-445.
- DAS S., HOLLAND R., CROW V.L., BENNETT R.J., MANDERSON G.J., 2005. Effect of yeast bacterial adjuncts on the CLA content and flavour of washed-curd, dry-salted cheese. Int. Dairy J. 15: 807-815.
- DE JONG C., BADINGS H.T., 1990. Determination of free fatty acids in milk and cheese. Procedures for extraction, clean up and capillary gas chromatographic analysis. J. High Resolut. Chromatogr. 13: 94-98.
- DEVILLARD E., MCINTOSH F., DUNCAN S.H., WALLACE R.J., 2007. Metabolism of linoleic acid by human gut bacteria: different routes for biosynthesis of conjugated linoleic acid. J. Bacteriol. 189, 6: 2566-2570.

- JÄRVENPÄÄ S., TAHVONEN R.L., OUWENHAND A.C., SANDELL M., JÄRVENPÄÄ E., SALMINENT S., 2007. A probiotic *Lactobacillus fermentum* ME-3 has antioxidative capacity in soft cheese spreads with different fats. *J. Dairy Sci.* 90: 3171-3177.
- JIANG J., BJÖRK L., FONDÉN R., 1998 a. Conjugated linoleic acid in Swedish dairy products with special reference to the manufacture of hard cheeses. *Int. Dairy J.* 7: 863-867.
- JIANG J., BJÖRK L., FONDÉN R., 1998 b. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J. Appl. Microbiol.* 85: 95-102.
- KANKAANPÄÄ P.E., YANG B., KALLIO H., ISOLAURI E., SALMINEN S., 2004. Effects of polyunsaturated fatty acids in growth medium on lipid composition and on physicochemical surface properties of *Lactobacilli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 1: 129-136.
- KIM Y.J., LIU R.H., 2002. Influence of conjugated linoleic content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* 67, 5: 1731-1737.
- KISHINO S., OGAWA J., ANDO A., OMURA Y., SHIMIZU S., 2002. Ricinoleic acid and castor oil as substrates for conjugated linoleic acid production by washed cells of *Lactobacillus plantarum*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66, 10: 2283-2286.
- KODICEK E., WORDEN A.N., 1945. The effect of unsaturated fatty acids on *Lactobacillus helveticus* and other Gram-positive microorganisms. *Biochem. J.* 39: 78.
- LIN T.Y., LIN CH.-W., LEE CH.-H., 1999. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. *Food Chem.* 67: 1-5.
- MARTIN-DIANA A. B., JANER C., PELÁEZ C., REQUENA T., 2004. Effect of milk fat replacement by polyunsaturated fatty acids on the microbiological, rheological and sensorial properties of fermented milks. *J. Sci. Food Agric.* 84, 12, 1599-1605.
- OGAWA J., KISHINO S., ANDO A., SUGIMONTO S., MIHARA K., SHIMIZU S., 2005. Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *J. Biosci. Bioeng.* 100, 4: 355-364.
- OGAWA J., MATSUMURA K., KISHINO S., OMURA Y., SHIMIZU S., 2001. Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroksy-12-oktadecaenoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3: 1246-1252.
- ONG L., SHAH N.P., 2008. Influence of probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *L. helveticus* on proteolysis, organic acid profiles, and ACE-inhibitory activity of cheddar cheeses ripened at 4, 8 and 12°C. *J. Food Sci.* 73, 3: M111-M120(1).
- PARTIDÁRIO A.M., BARBOSA M., BOAS L.V., 1998. Free fatty acids, triglycerides and volatile compounds in Serra da Estrela Cheese – changes throughout ripening. *Int. Dairy J.* 8: 873-881.
- PHILLIPS M., KAILASAPATHY K., TRAN L., 2006. Viability of commercial probiotic cultures (*Lb. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Lb. rhamnosus*) in cheddar cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 108: 276-280.
- PRZYBOJEWSKA B., RAFALSKI H., 2003. Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy CLA (cz. 2). *Przeegl. Mlecz.* 5: 173-175.
- SIEBER R., COLLOMB M., AESCHLIMANN A., JELEN P., EYER H., 2004. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review. *Int. Dairy J.* 14: 1-15.
- VAN NIEUWENHOVE C.P., OLISZEWSKI R., GONZÁLEZ S.N., PÉREZ CHAIA A.B., 2007. Influence of bacteria used as adjunct culture and sunflower oil addition on conjugated linoleic acid content in buffalo cheese. *Food Res. Int.* 40: 559-564.
- WILLIAMS W.L., BROQUIST H.P., SNELL E.E., 1947. Oleic acid and related compounds as growth factors for lactic acid bacteria. *J. Biol. Chem.* 170, 2: 619-630.
- XU S., BOYLSTON T.D., GLATZ B.A., 2004. Effect of lipid source on probiotic bacteria and conjugated linoleic acid formation in milk model systems. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 81, 6: 589-595.
- XU S., BOYLSTON T.D., GLATZ B.A., 2005. CLA content and organoleptic attributes of fermented milk products produced with probiotic bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 53: 9064-9072.

THE INFLUENCE OF FREE LINOLEIC ACID ADDITION ON CLA CONTENT AND GROWTH OF LACTIC ACID BACTERIA IN MODELS OF RIPENING CHEESES WITH *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

**Summary.** The study presents the results of the investigations on the influence of free linoleic acid addition on conjugated linoleic acid formation (CLA) in fat of model of ripening cheeses under the influence of metabolic activity of *Lactobacillus acidophilus* La-5. Change of number of the lactic acid bacteria was studied in time of maturation of cheese models too. In probiotic models with the addition of linoleic acid the CLA content was statistically higher ( $\alpha = 0.05$ ) in comparison with control models. The free CLA content in the mentioned models was over seven times higher after 8 weeks of ripening comparing with the CLA concentration in models after manufacturing. It confirms the ability of studied lactic acid bacteria to isomerize linoleic acid to CLA. Linoleic acid did not inhibit the growth of studied lactic acid bacteria – they showed similar growth in models with addition, as well as without addition of the mentioned acid.

**Key words:** *Lactobacillus acidophilus*, linoleic acid, CLA, models of ripening cheeses

*Adres do korespondencji – Corresponding address:*

Anna Bzducha-Wróbel, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, Poland, e-mail: [anna\\_bzducha\\_wrobel@sggw.pl](mailto:anna_bzducha_wrobel@sggw.pl)

*Zaakceptowano do druku – Accepted for print:*

4.11.2009

*Do cytowania – For citation:*

Bzducha-Wróbel A., Obiedziński M., 2009. Wpływ dodatku wolnego kwasu linolowego na zawartość CLA oraz rozwój bakterii mlekowych w układach serów modelowych z *Lactobacillus acidophilus*. *Nauka Przyr. Technol.* 3, 4, #137.