

Mgr inż. Dorota ZARĘBA
 Mgr inż. Anna OSTASIEWICZ
 Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności
 Wydział Nauk o Żywności, SGGW w Warszawie

FUNKCJONALNOŚĆ PROZDROWOTNA I TECHNOLOGICZNA PROCESU FERMENTACJI CIASTA – TRADYCJA I POSTĘP NAUKOWY®

W procesie produkcji pieczywa wyróżniamy dwie fermentacje: alkoholową, z udziałem drożdży oraz fermentację mlekową (homo- i heterofermentację), za którą odpowiedzialne są bakterie kwasu mlekowego. Proces fermentacji niesie ze sobą wiele korzyści technologicznych i prozdrowotnych. Dytlenek węgla (CO_2), powstający w fermentacji alkoholowej, umożliwia rozrost ciasta i warunkuje porowatość miększa. Natomiast produkty metabolizmu bakterii fermentacji mlekowej, głównie: kwas mlekowy i kwas octowy, wpływają na cechy smakowo-zapachowe gotowego wyrobu, a także przedłużają trwałość pieczywa. Zastosowanie w produkcji piekarskiej probiotycznych kultur starterowych bakterii mlekowych i drożdży podwyższa wartość odżywczą produktu oraz wywiera pozytywny wpływ na organizm człowieka.

WSTĘP

Zgodnie z zaleceniami piramidy zdrowego żywienia produkty zbożowe powinny być podstawowym źródłem energetycznym i odżywczym diety człowieka, ponieważ są źródłem cukrów, białek, oraz wielu witamin i mikroelementów. Wartość odżywcza tych produktów zależy od surowca i stopnia jego przetworzenia. Im jest on większy, tym większe powoduje ubytki w zawartości białek, witamin i składników mineralnych. Zarówno wyciąg mąki, jak i proces fermentacji mają istotny wpływ na wartość odżywczą pieczywa. W produkcji piekarskiej wykorzystywane są dwie fermentacje: alkoholowa, z udziałem drożdży oraz mlekowa – prowadzona przez bakterie fermentacji mlekowej. Obecność bakterii kwasu mlekowego przyczynia się do przemian na drodze homo- lub heterofermentacji i przynosi wiele korzyści technologicznych oraz żywieniowych, jak również wpływa na jakość pieczywa [2, 4, 28].

Celem artykułu jest przybliżenie wiedzy w zakresie zastosowania kultur probiotycznych w przemyśle piekarskim.

CHARAKTERYSTYKA AUTOCHTONICZNEJ MIKROFLORY ZIAREN ZBÓŻ I ZAKWASU

Ziarna zbóż, ze względu na swój skład są dobrą pożywką mikrobiologiczną. Są bogate w wielocukry, które mogą być wykorzystane przez mikroorganizmy jako źródło węgla i energii w procesie fermentacji. Głównym wielocukrem w ziarnach zbóż jest skrobia, która po hydrolizie staje się dostępna dla mikroorganizmów. Poziom wolnych cukrów w pełni dojrzałym ziarnie może stanowić tylko 1-3%, co wystarcza do zapoczątkowania procesu fermentacji [28].

Ziarna zbóż są naturalnym nośnikiem mikroflory złożonej z różnego rodzaju mikroorganizmów, które współzawodniczą o substancje odżywcze. Źródłem bakterii jest także powierzchnia urządzeń piekarskich i otoczenie. Całe ziarno zbóż i wytworzona z niego mąka może zawierać od 10^2 do 10^5 jtk/g bakterii, w tym od 10^2 do 10^3 jtk/g bakterii kwasu mlekowego.

Zaszczepienie zakwasu przez dodatek 1-5% startera zwiększa liczbę bakterii mlekowych do 10^7 jtk/g i więcej, dlatego mikroflora zanieczyszczająca i ta obecna w mące mają niewielkie możliwości wzrostu. W pełnej dojrzałości fermentowanego ciasta żytniego może być ponad 10^9 jtk pałeczek mlekowych w 1 g, zaś liczba komórek drożdży może być nawet 50-100 razy niższa.

Wśród mikroflory ziaren zbóż zidentyfikowano wiele gatunków drożdży, m.in.: *Geotrichum candidum*, *Torulopsis holmii*, *Torulopsis candida* i *Trichosporon pullulans*, a także rodzaju *Saccharomyces*. Spośród pleśni wykryto przedstawicieli rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium* i *Trichothecium*, które mogą spowodować niekorzystne zmiany podczas przechowywania ziarna ogólnie określane jako „stęchlizna”. Zanieczyszczenie mąki pleśniami zwykle mieści się w granicach 10^3 - 10^4 jtk/g. Czyszczenie ziarna zmniejsza poziom zanieczyszczenia o jeden rząd logarytmiczny, co istotnie poprawia trwałość pieczywa [4, 28].

Wśród fermentujących mikroorganizmów pochodzących z powierzchni ziaren i z innych źródeł (np. powierzchni urządzeń i naczyń) zidentyfikowano bakterie rodziny *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli* i *Enterococcus faecalis*), przetrwalnikujące pałeczki gatunków *Bacillus cereus* i *Bacillus subtilis*, a także homofermentatywne i heterofermentatywne bakterie kwasu mlekowego. Zastosowanie jakiegokolwiek obróbki termicznej w celu eliminacji mikroflory niepożądaną przed procesem fermentacji nie jest możliwe ze względu na zmiany własności technologicznych skrobi i białek mąki. Dlatego skuteczny proces fermentacji mlekowej w podłożu zbożowym ma na celu zdominowanie niepożądaną mikroflory przez drożdże i bakterie mlekowe. Cel ten można osiągnąć przez stosowanie prawidłowych parametrów procesu fermentacji lub zastosowanie aktywnej kultury starterowej bakterii kwasu mlekowego [28].

Z uwagi na wielorodzajowość i wielogatunkowość mikroflory zakwasów piekarskich można stwierdzić, że wzajemne oddziaływanie pomiędzy bakteriami i drożdżami polegają na: współzawodnictwie o dostęp do składników pokarmowych, zdolności do fermentacji określonych cukrów, ale również

i symbiozie. Bakteriami prowadzącymi fermentację (niekoniecznie mlekową) są: *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Micrococcus* i *Bacillus*. Wspólnie z nimi w symbiozie żyją drożdże rodzaju *Saccharomyces*, które uczestniczą w fermentacji alkoholowej. W mikroflorze zakwasu żytniego obecnych jest wiele gatunków pałeczek mlekowych, ale tylko jeden do trzech z nich są dominujące. Pałeczki mlekowe, których obecność w zakwasach jest najczęściej stwierdzana, należą do obligatoryjnie homofermentatywnych gatunków takich jak: *Lb. acidophilus*, *Lb. farciminis*, *Lb. amylovorus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lb. amylovorus*, *Pediococcus acidilactici* i *Pediococcus pentosaceus*. Do grupy fakultatywnie heterofermentujących zaliczane są pałeczki gatunków *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. casei* subsp. *lactis* i *Lb. rhamnosus*, zaś do obligatoryjnie heterofermentujących należą pałeczki z gatunków: *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. brevis* var. *lindneri*, *Lb. fermentum*, *Lb. pontis*, *Lb. reuteri*, *Lb. johnsonii*, *Lb. fructivorans*, *Lb. alimentarius*, *Lb. frumenti*, *Leuconostoc mesenteroides* i *Leuc. fermenti* [8, 11, 12, 28].

CHARAKTERYSTYKA SKŁADU KULTUR STARTEROWYCH STOSOWANYCH W PRZEMYSŁE PIEKARSKIM

Mikroorganizmami odpowiedzialnymi za przebieg fermentacji może być mikroflora naturalnie obecna w surowcu lub wyselekcjonowana i świadomie dodana jako kultura starterowa [4, 11]. Kultura starterowa wprowadzana jest do ciasta w celu zapoczątkowania w krótkim czasie fermentacji mlekowej przeprowadzanej przez bakterie kwasu mlekowego i fermentacji alkoholowej, za którą odpowiedzialne są drożdże [29].

Początkowo dodatek drożdży miał wspomagać proces naturalnego zakwaszania ciasta, a potem zaczął go wypierać. W XIX wieku naturalnego zakwaszania używano jedynie do wypieku chleba żytniego, zaś w produkcji chleba pszennego i mieszanego fermentacja opierała się głównie na drożdżach. Wykorzystanie w fermentacji tylko drożdży piekarskich (*Saccharomyces cerevisiae*) powoduje zdominowanie przez nie procesu, przy jednoczesnym ograniczeniu pracy bakterii mlekowych, a w konsekwencji zubożenie produktu w substancje cenne technologicznie i sensorycznie [33].

Drożdże piekarskie *Saccharomyces cerevisiae* są to drożdże tzw. górnej fermentacji o optymalnej temperaturze wzrostu 28-32°C przy pH 4-5. Ciasto przygotowuje się zwykle z dodatkiem drożdży w ilości 1-6%, zależnie od ilości nastawu. Drożdże są najczęściej stosowane w postaci sprasowanej biomasy (kostki) o 28-32% zawartości suchej substancji. Mogą być przechowywane w temperaturze 4°C przez 6-8 dni. Przed dodaniem do mąki są rozpuszczone w wodzie. Drożdże mogą też mieć formę płynną (po odwirowaniu biomasy i przemyciu z płynu pohodowlanego) zawierającą ok. 18% s.s. W tej formie drożdże są dostarczane codziennie do piekarni i powinny być wykorzystane w ciągu doby. Z logistycznych powodów, największe zastosowanie powinny mieć drożdże suszone ADY (Active Dry Yeasts), będące odwodnioną formą o zawartości suchej substancji ok. 92-96%. Mogą one być przechowywane przez rok. Drożdże suszone przed użyciem muszą być moczone w celu ich regeneracji poprzez rehydratację.

Wykorzystanie wyłącznie drożdży w procesie fermentacji ciasta jest możliwe tylko w przypadku ciasta pszennego, które

ze względu na odpowiednią ilość glutenu potrzebuje jedynie czynnika spulchniającego, którym jest CO₂ wytwarzany z ich udziałem. W przypadku mąki żytniej, której zawartość glutenu jest mniejsza i dodatkowo obecność śluzów uniemożliwia pęcznienie glutenu, same drożdże nie wystarczają. Śluzy nie ulegają przemianom w obecności drożdży, a do ograniczenia ich wpływu na lepkość ciasta wymagana jest fermentacja mlekowa. W obecności kwasu mlekowego śluzy są hydrolizowane i dopiero wtedy stanowią odpowiednie lepiszcze ciasta z mąki żytniej. Z tego powodu stosowane są bakterie fermentacji mlekowej (LAB, *lactic acid bacteria*), najczęściej pałeczki mlekowe, niekiedy także paciorkowce. Maksymalna temperatura fermentacji nie może jednak przekraczać 26-32°C, gdyż wyższa temperatura hamuje wzrost drożdży [2, 28].

Typowe kultury starterowe zakwasów zawierają 2x10⁷ do 9x10¹¹ LAB w 1 g (dominującymi są bakterie rodzaju *Lactobacillus*) i 1, 7x10⁵ do 8x10⁶ drożdży w 1 g. Najczęściej w skład starterów wchodzi czyste kultury bakterii mlekowych takich jak: *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. sanfranciscensis* i drożdże *S. cerevisiae*. Kultury starterowe występują w formie różnych typów hodowli: jednogatunkowej (*single-species starter culture*) i wielogatunkowej (*multiple-species starter culture*). Startery jednogatunkowe zawierają jeden gatunek bakterii mlekowych (na przykład *Lb. sanfranciscensis*) lub jeden gatunek drożdży. Wielogatunkowa kultura starterowa zawiera w swoim składzie kilka gatunków bakterii kwasu mlekowego i/lub drożdży, jak na przykład: *Lb. sanfranciscensis* i *S. cerevisiae*. W ofercie jest także wiele kultur starterowych jednoszczepowych (*single-strain starter culture*), które stanowią najczęściej mikroflorę dodatkową probiotyczną [4, 26, 36].

Drożdże obecne w starterach tolerują niskie pH i zwykle tworzą symbiotyczne zależności z bakteriami mlekowymi. Drożdże, rozkładając białka, zwiększają zawartość aminokwasów stymulujących wzrost LAB, które z kolei produkują kwasy organiczne hamują wzrost niekorzystnej mikroflory konkurującej z drożdżami. Typowymi gatunkami drożdży wykorzystywanymi w zakwasach są *S. cerevisiae* i *Candida milleri*. Wiele szczepów drożdży zakwasu obecnie klasyfikowanych jako *C. milleri* wcześniej było klasyfikowanych jako *Torulopsis holmii*, niezarodnikująca forma *Saccharomyces exiguus*.

Wielogatunkowość mikroflory ciasta fermentowanego jest możliwa dzięki naturalnej tolerancji i symbiozie międzygatunkowej lub międzyrodzajowej. Konkurencyjność heterofermentatywnych pałeczek mlekowych w zakwasie jest wspierana przez ich charakterystyczną zdolność do użycia zarówno maltozy jak i akceptorów elektronu. Pałeczki mlekowe stwierdzane w tych systemach wytwarzają enzym fosforylazę maltozy, dzięki której mają zdolność fosforylacji maltozy do glukozy-1-fosforanu i glukozy bez wydatku ATP. Duża zawartość maltozy w zakwasie sprawia, że pałeczki mogą uwolnić glukozę do środowiska i użyć energicznie bardziej korzystnego szlaku do glukozy-1-fosforanu i dalej do glukozy-6-fosforanu. Istnieje symbioza między *C. milleri* i pałeczkami mlekowymi gatunku *Lb. sanfranciscensis* (poprzednio klasyfikowanych jako *Lb. sanfrancisco*) [2, 14, 28, 31]. *Lb. sanfranciscensis* wykorzystują tylko maltozę podczas fermentacji i uwalniają glukozę, która jest zużywana przez drożdże niezdolne do asymilowania maltozy. Z kolei drożdże *C. milleri* nie są zdolne do degradacji glukofruktozanów obecnych w mące i uwalniania fruktozy, która może być wykorzystana przez *Lb. sanfranciscensis*. W przypadku, gdy cała maltoza

zostanie zużyta, *Lb. sanfranciscensis* mogą wykorzystać glukozę, którą wcześniej uwolniły. Mechanizm poprawia konkurencyjność *Lb. sanfranciscensis* w symbiotycznym mikrobiologicznym systemie, gdyż glukoza uwolniona przez pałeczki mlekowe powoduje represję maltozy u konkurentów *Lb. sanfranciscensis* sprawiając, że *Lb. sanfranciscensis* są jedynymi użytkownikami maltozy w systemie [4, 28].

ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW W WYPIEKU PIECZYWA NA ZAKWASIE

Wytworzenie chleba na zakwasie nie jest możliwe bez udziału mikroorganizmów, których zadaniem jest przemiana składników ciasta. W wyniku procesów fermentacyjnych bakterie fermentacji mlekowej oraz drożdże (naturalnie bytujące w mące lub celowo dodane w formie kultur starterowych) rozkładają wybrane składniki mąki (zachodzi np. hydroliza białek i wielocukrów). W efekcie następuje spulchnianie struktury ciasta, co skutkuje łatwiejszym jego pieczeniem i uzyskaniem miękkiego i smacznego mięksiszu chleba. Fermentacja mlekowa przyczynia się do zwiększenia wartości odżywczej, bezpieczeństwa i trwałości oraz do szerszego wykorzystania zbóż w produkcji żywności.

Wartość odżywcza pieczywa wzrasta poprzez aktywność fermentacyjną LAB, dzięki której zwiększona jest biodostępność mikroelementów związanych z kwasem fitynowym, w wyniku zwiększonej aktywności w niskim pH endogennej fitazy mąki. Użycie zakwasu opóźnia odpowiedź glikemiczną, czyli niższy poposiłkowy poziom glukozy i odpowiedź insuliny w organizmie człowieka. Zjawisko zmniejszenia biodostępności skrobi tłumaczone jest interakcją między skrobią i glutenem w warunkach obniżonego pH ciasta wywołanego produkcją kwasu mlekowego podczas fermentacji [28]. Inną korzyścią prowadzenia fermentacji mlekowej przez LAB jest uzyskanie efektów wirusobójczych i przeciwnowotworowych. Produkcja ciasta na zakwasie przedłuża trwałość pieczywa bez konieczności stosowania substancji przeciwpieśniowych i przeciwbakteryjnych lub przeciwczerstwieniowych [4]. Metabolity bakterii, oprócz właściwości tworzenia smaku i zapachu, hamują wzrost mikroorganizmów chorobotwórczych i gnilnych. Zjawisko hamowania tłumaczone jest kilkoma mechanizmami: produkcją kwasów organicznych, produkcją nadtlenu wodoru i innych substancji przeciwdrobnoustrojowych, obniżaniem wartości pH oraz potencjału oksydo-redukcyjnego. Produkcja kwasów organicznych obniża wartość pH poniżej 4,0, utrudniając wzrost mikroflory zanieczyszczającej. Kultury starterowe LAB są badane pod względem antagonistycznego działania wobec niepożądanego mikroflory [8, 28, 34].

Ważnym środkiem przeciwdrobnoustrojowym obecnym w cieście na zakwasie jest kwas octowy, który produkowany jest w wyniku heterofermentacji [4, 28]. Działanie kwasu octowego wspomagane jest kwasem mlekowym, który obniża pH i zwiększa procent niezdysonowanego kwasu octowego. Jak wiadomo, kwas octowy wykazuje działanie pleśniobójcze aktywniej niż jego sole (octany). W pełni dojrzałym razowym żytnim zakwasie z mąki żytniej zawartość kwasu mlekowego może wynosić ponad 1%, zaś kwasu octowego – 0,05-0,2%. Także kwas kapronowy, produkowany przez LAB, przyczynia się do hamowania rozwoju grzybów w cieście [28, 35].

Antybakteryjne działanie kwasów opiera się na mechanizmie destabilizacji membrany cytoplazmatycznej i zahamowaniu aktywnego transportu. Z kolei produkowane bakteriocyny przez liczne szczepy bakterii kwasu mlekowego jak np.: *Lb. plantarum*, *Lb. reuteri*, wykazują aktywność wobec bakterii niepożądanych, w tym *Bacillus subtilis* [10, 28].

Technologiczne korzyści wynikające ze stosowania zakwasu w produkcji pieczywa obejmują hamowanie aktywności endogennej alfa-amylazy i innych enzymów oraz wzrost pęcznienia pentozanów, które z kolei polepszają zdolność zatrzymywania gazów, co umożliwia otrzymanie odpowiedniej struktury ciasta z mąki żytniej. W osiągnięciu tego celu sprzyja stosowanie amylopolitycznych szczepów pałeczek rodzaju *Lactobacillus*. Powodują one enzymatyczną modyfikację skrobi i zmniejszanie jej retrogradacji, a tym samym przedłużenie świeżości pieczywa. Dodatkowo, podczas fermentacji metabolity bakteryjno-drożdżowe takie jak kwas octowy, diacetyl i kwas masłowy tworzą odpowiedni bukiet smakowo-zapachowy produktu końcowego, poprawiając jego smakowość [18, 28].

FUNKCJONALNE ASPEKTY WYKORZYSTANIA KULTUR STARTEROWYCH W PIEKARSTWIE

Wykorzystanie kultur starterowych (starterów) umożliwia zaprojektowanie i kontrolowanie procesu fermentacji w taki sposób, aby produkt posiadał oczekiwane cechy sensoryczne i technologiczne. Zastosowanie starterów gwarantuje nie tylko powtarzalność technologiczną produktu, ale także możliwość poprawy jego cech funkcjonalnych. Moda i zapotrzebowanie na produkty o cechach funkcjonalnych są coraz większe, a uwzględniając chleb, jako produkt podstawowy w diecie człowieka, warto uczynić go produktem funkcjonalnym. Aby zwiększyć funkcjonalność pieczywa można stosować kultury starterowe zawierające probiotyczne szczepy bakterii lub drożdży [5, 21, 26, 37]. Głównym celem zastosowania szczepów probiotycznych jest wykorzystanie ich pozytywnego wpływu na organizm człowieka. Aby produkt mógł być uznany za probiotyczny, do jego produkcji musi być użyty szczep o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych, takich jak stymulacja układu odpornościowego, którą wywołują między innymi szczepy: *Lb. casei* Shiota, *Lb. casei* DN 114001, *Lb. Johnsonie*, lub wiązanie cholesterolu przez *Lb. acidophilus* i *Bif. bifidum* [21, 26, 37]. Kryteria oceny tych właściwości określone zostały przez FAO/WHO. Dotyczą one zarówno badań klinicznych jak i technologicznych. Do wymagań, jakie muszą spełniać probiotyki, zalicza się ich pełną identyfikację fenotypową, szczególnie profil biochemiczny. Ważnym kryterium jest również działanie antagonistyczne wobec mikroflory patogennej, a także brak genów antybiotykooporności ulokowanych na niestabilnej cząsteczce DNA, jaką jest plazmid [3]. Poza tym ważne jest, by szczepy probiotyczne spełniały wymagania technologiczne, takie jak: przeżywalność podczas utrwalania kultur starterowych (zamrażanie, liofilizacja) i przeżywalność podczas produkcji. Wielu badaczy uważa jednak, że obecność żywych komórek probiotyków nie jest konieczna, gdyż inaktywowane formy również wykazują pewne działanie prozdrowotne, np. stymulują układ odpornościowy [22, 25, 27]. Dlatego wykorzystanie bakterii probiotycznych jako czynnika funkcjonalnego w procesie fermentacji ciasta przed wypiekiem, może polegać na kumulacji w produkcie prozdro-

wotnych metabolitów bakterii oraz obecności komórek bakteryjnych, które przetrwały termiczną obróbkę i mogą nadal wykazywać probiotyczną cechę stymulacji układu odpornościowego, jakie przypisuje się zarówno martwym jak i żywym komórkom probiotycznym. Dla przemysłu piekarskiego można zaproponować następujące szczepy probiotyczne: *Bif. animalis* subsp. *lactis* (szczepy: BB12, FK120, LKM512, DR10, BB536, SBT29-28), *Lb. rhamnosus* (szczepy: GG, 271, 1091), *Lb. acidophilus* (szczepy: La5, NCFM, CK120), *Lb. casei* (szczepy: Shirota, BL23, DN114), *Lb. paracasei* (szczep F19), *Lb. plantarum* (szczepy: 299v i ATCC8014) *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicus* (szczep M7 25-1), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (szczep L1A), *Pediococcus acidilactici* (szczep CNCM), *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* (szczep JS) [6, 9, 13, 19].

Oprócz bakterii probiotycznych, dostępne są także probiotyczne szczepy drożdży gatunków *S. boulardii* i *S. cerevisiae*. Szczepy probiotyczne tych gatunków podwyższają wartość odżywczą poprzez syntezę witamin z grupy B. Poza tym Roy i wsp. [23, 24] wykazali, że nie tylko żywe *S. cerevisiae*, ale także inaktywowane (ekstrakt drożdżowy) wykazują właściwości stymulacji układu immunologicznego i apoptozy komórek rakowych limfoblastów.

Zastosowanie kultur probiotycznych zarówno bakteryjnych jak i drożdżowych w przemyśle piekarskim może przyczynić się do podwyższenia wartości odżywczych produktu, ale także może wpływać pozytywnie na jego cechy sensoryczne i teksturalne, co niewątpliwie powinno być sprawdzone w próbach technologicznych. Jak wykazał Tiekling i wsp. [30] wytwarzanie egzopolisacharydów (EPS) przez LAB podczas fermentacji ciasta może zastępować hydrokoloidy stosowane do nadawania tekstury, a ponadto są to substancje o charakterze prebiotycznym. Sześć spośród badanych przez nich szczepów wytwarzało EPS w granicach 0,5-2 g/kg mąki.

Piekarskie kultury starterowe mogą zawierać szczepy bakterii z rodzaju *Propionibacterium* sp., które pozwalają nie tylko naturalnie utrwalić lub ochronić produkt, poprzez opóźnienie kiełkowania zarodników pleśni, ale także korzystnie modyfikują jego cechy sensoryczne i teksturalne poprzez produkcję CO₂. Poza tym, bakterie te uczestniczą w naturalnej biosyntezie witaminy B₁₂. [16, 17]. Najczęściej jest to szczep podgatunku *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* o właściwościach probiotycznych. Bakterie gatunku *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* są zdolne do wytwarzania czynnika bifidogenego, który wzmacnia rozwój bifidobakterii, co predestynuje ten szczep do potencjalnego koegzystencjalnego połączenia z rodzajem *Bifidobacterium* [2, 15, 32].

Profilowanie składu funkcjonalnej kultury starterowej może być także realizowane na podstawie składu komórkowego mikroflory. Oprócz możliwości uwalniania mikroelementów z trwałych kompleksów chemicznych na skutek obniżenia kwasowości w procesie fermentacji, można wprowadzać wraz z komórką niezbędne dla życia człowieka pierwiastki. Wykazano, że *Lactobacillus*, *Lactococcus* i drożdże piekarskie wykazują zdolność akumulacji seleno nieorganicznego z podłoża. Pierwiastek ten ulega biotransformacji do białek w formie selenocysteiny i selenometioniny. Selenocysteina jest aminokwasem występującym w świecie zwierzęcym, zaś selenometionina w świecie roślinnym. Z czego selenocysteina jest wymieniana wśród 21 naturalnych aminokwasów białkowych. Wykorzy-

stując ten naturalny mechanizm przenoszenia cennego pierwiastka, można tworzyć kultury starterowe „nasycone” na etapie hodowania selenem w postaci selenoaminokwasów [1, 20].

Funkcjonalność pieczywa może być podwyższona nie tylko przez użycie bakterii lub drożdży, ale także przez wprowadzanie odpowiednich oligosacharydów lub wielocukrów o charakterze prebiotyków. Tego rodzaju wielocukry nie ulegają rozkładowi w górnej części układu pokarmowego człowieka, mogą być jednak rozkładane przez odpowiednie enzymy mikroflory jelita grubego. Substancje te są stymulatorami wzrostu bakterii pożytecznych bytujących w jelitach, w tym probiotycznych szczepów LAB. Substancjami takimi są m.in. rozpuszczalne substancje balastowe, oporna skrobia i niemetalizowane przez organizm ludzki cukry, oligo- i wielocukry. Potencjalne prebiotyczne składniki w zbożach to arabinoksyłan żyta i pszenicy oraz prawdopodobnie beta-glukan owsa i jęczmienia. Oprócz naturalnie występujących prebiotyków w ziarnach zbóż można je celowo dodawać przed wypiekiem. Do takich substancji należą m.in. inulina, oligofruktoza, galaktooligosacharydy i laktuloza [7, 28].

PODSUMOWANIE

Skład kultury starterowej stosowany podczas wypieku pieczywa powinien gwarantować powtarzalną jakość, ale jednocześnie oryginalność regionalną i rodzajową pieczywa. Technologiczne korzyści stosowania kultur starterowych mogą być potęgowane przez funkcjonalne i prozdrowotne walory pieczywa na zakwasie.

LITERATURA

- [1] Ambroziak W.: O możliwości suplementacji pieczywa na rzecz podniesienia jego wartości dietetycznej i odżywczej, Materiały szkoleniowe dla piekarzy, 2008, 24-37.
- [2] Bamforth C.W.: Food, Fermentation and Micro-organisms, Blackwell Science, 2005, 172-181.
- [3] Bardowski J.: Biologia molekularna w poznawaniu i ulepszaniu bakterii fermentacji mlekowej, W: Libudzisz Z., Walczak P., Bardowski J. red: Bakterie fermentacji mlekowej, Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie, Politechnika Łódzka, 1998, 26-52.
- [4] Blandinob A., Al-Aseeria M.E., Pandiellaa S.S., Canterob D., Webba C.: Cereal-based fermented foods and beverages, Food Res. Int., 2003, 36, 527-543.
- [5] Czerucka D., Rampal P.: Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens, Microb. Infect., 2002, 4, 733-739.
- [6] Czerwionka-Szaflarska M., Romańczuk B.: Probiotyki – jakie, komu, kiedy? Przewodnik Lekarza, 2008, 11 (1), 214-221.
- [7] De Vrese M., Marteau P.R.: Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea, J. Nutr., 2007, 137 (3 Suppl 2), 803S-811S.
- [8] Diowksz A.: Biokonserwacja pieczywa dzięki zastosowaniu zakwasu, Przegl. Piek. Cuk., 2004, 4, 6-8.
- [9] Enckevort F.H.J., Liu M., Siezen R.J.: Genome update: lactic acid bacteria genome sequencing is booming, Microbiol., 2005, 151 (12), 3811-3814.

- [10] Falek A., Zaręba D., Ziarno M.: Zastosowanie bakteriocyn bakterii mlekowych w mleczarstwie, *Ogólnopol. Inf. Mlecz.*, 2008, 1, 3-12.
- [11] Farnworth E.R.: *Handbook of Fermented Functional Foods*, CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington 2003, 10-18.
- [12] Gawęcki J., Libudzisz Z.: *Mikroorganizmy w żywności i żywieniu*, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, 2006, 61-62.
- [13] Isolauri E., Ouwehand A., Salminen S.: The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood, *Eur. J. Nutr.*, 2002, 41 (1), 132-137.
- [14] Jay J.M.: *Modern Food Microbiology*, Aspen Publishers, 2000, 29-32.
- [15] Kaneko T.: A novel bifidogenic growth stimulator produced by *Propionibacterium freudenreichii*, *Biosci. Micr.*, 1999, 18, 73-80.
- [16] Kujawski M., Rymaszewski J., Łaniewska-Moroz Ł., Cichosz G.: Możliwości zastosowania bakterii fermentacji propionowej w przemyśle spożywczym, *Przem. Spoż.*, 1996, 50 (6), 35-37.
- [17] Kujawski M., Rymaszewski J., Łaniewska-Moroz Ł., Cichosz G., Fetliński A.: Wpływ fermentacji propionowej na tworzenie cech smakowo-zapachowych sera i twarogów, *Przegl. Mlecz.*, 1994, 10, 263-265.
- [18] Leroy F., De Vuyst L.: Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Tr. Food Sci. Technol.*, 2004, 15, 67-78.
- [19] Libudzisz Z.: Żywność probiotyczna. W: *Mikroorganizmy w żywności i żywieniu*, red. Gawęcki J., Libudzisz Z.: Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, 2006, 93-103.
- [20] Libudzisz Z., Walczak P., Bardowski J.: Bakterie fermentacji mlekowej, Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie, Politechnika Łódzka, 1998, 203-213.
- [21] Libudzisz Z., Walczak P., Bardowski J.: Bakterie fermentacji mlekowej, Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie, Politechnika Łódzka, 2004, 75-83.
- [22] Ouwehand A.C., Salminen S., Isolauri E.: Probiotics: an overview of beneficial effects, *Ant. Leeuwenhoek*, 2002, 82, 279-289.
- [23] Roy M.K., Watanabe Y., Tamai Y.: Induction of apoptosis in HL-60 cells by skimmed milk digested with a proteolytic enzyme from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biosci. Bioeng.*, 1999, 88 (4), 426-432.
- [24] Roy M.K., Watanabe Y., Tamai Y.: Induction of apoptosis in human leukemia (HL-60) cells by skimmed milk digested with a proteolytic enzyme purified from *Saccharomyces cerevisiae*, *Biotechnol. Techn.*, 1999, 13, 727-734.
- [25] Saarela M., Gunnar M.: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties, *Biotechnol. Lett.*, 2000, 84, 197-215.
- [26] Saarela M., Magensen G., Fonden R., Mätto J., Mattila-Sandholm T.: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties, *J. Biotechnol.*, 2000, 84, 197-215.
- [27] Salminen S., Ouwehand A., Benno Y., Lee Y.K.: Probiotics: how should they be defined? *Tr. Food Sci. Technol.*, 1999, 10, 107-110.
- [28] Salminen S., Wright A., Ouwehand A., Dekker M.: *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects*. Inc., New York, Basel, 2004, 431-453.
- [29] Staszewska E., Ambroziak Z., Janik M.: Kultury starterowe – ich funkcje i zastosowanie w produkcji chleba, *Przegl. Piek. Cuk.*, 1995, 7, 4-6.
- [30] Tiekking M., Korakli M., Ehrmann M.A., Gänzle M.G., Vogel R.F.: In situ production of exopolysaccharides during sourdough fermentation by cereal and intestinal isolates of lactic acid bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69 (2), 945-952.
- [31] Truper H.G., De' Clari L.: Taxonomic note: Necessary correction of specific epithets formed as substantives (nouns) "in apposition", *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1997, 47, 908-909.
- [32] Warmińska-Radyko I., Łaniewska-Moroz Ł., Babuchowski A.: Possibilities for stimulation of *Bifidobacterium* growth by propionibacteria, *Lait*, 2002, 82 (1), 113-121.
- [33] Włodarczyk M.: Biologiczne metody produkcji pieczywa – szanse zdrowotne i ekonomiczne, *Materiały szkoleniowe dla piekarzy*, 2008, 9-18.
- [34] Wojtatowicz, Chrzanowska J.: Antydrobnoustrojowa aktywność bakterii kwasu mlekowego, *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu*, 1998, 328, 39-59.
- [35] Zaręba D., Obiedziński M., Ziarno M.: Porównanie profilu lotnych związków mleka fermentowanego i niefermentowanego przez bakterie jogurtowe i szczepy probiotyczne, *Żywność*, 2008, 15 (3), 18-32.
- [36] Ziarno M.: Kultury starterowe w przetwórstwie żywności pochodzenia zwierzęcego, *Przem. Spoż.*, 2005, 4, 24-27, 52.
- [37] Ziarno M.: The influence of cholesterol and biomass concentration on the uptake of cholesterol by *Lactobacillus* from MRS broth, *Acta Sci. Pol. Technol. Alim.*, 2007, 6 (2), 29-40.

THE TECHNOLOGICAL AND HEALTH-PROMOTING FUNCTIONALITY OF DOUGH FERMENTATION PROCESS – TRADITION AND SCIENTIFIC PROGRESS

SUMMARY

During breadmaking process there are two fermentations: ethanol fermentation, which is leaded by yeast, and lactic acid fermentation (homo- and heterofermentation) leaded by lactic acid bacteria. The fermentation process brings many technological and health benefits. Carbon dioxide, produced in alcohol fermentation, makes possible growth of the dough and conditions porosity of bread crumb. However methabolites of lactic acid bacteria like lactic acid and acetic acid, influence on taste and flavour of bread and make its shelf live longer. Using probiotic starter cultures of lactic acid bacteria and yeast in breadmaking process makes higher the nutrition facts and influences positively on human organism.