

DOROTA ZARĘBA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI, MAŁGORZATA ZIARNO

## **PORÓWNANIE PROFILU LOTNYCH ZWIĄZKÓW MLEKA FERMENTOWANEGO I NIEFERMENTOWANEGO PRZEZ BAKTERIE JOGURTOWE I SZCZEPY PROBIOTYCZNE**

### Streszczenie

Zaspokojenie potrzeb konsumentów wymaga od producentów podejmowania prac nad udoskonalaniem cech funkcjonalnych mlecznych napojów fermentowanych m.in. poprzez dodatek bakterii probiotycznych. Jednak bakterie te nie mają typowych zdolności fermentacji mleka, a właśnie podczas tego procesu wykształcają się związki decydujące o walorach sensorycznych, przede wszystkim zapachowych i smakowych napojów mlecznych.

Celem podjętych badań było określenie różnic między profilem lotnych związków zapachowych mlecznych napojów fermentowanych bakteriami probiotycznymi a profilem napojów fermentowanych i niefermentowanych przez typową kulturę jogurtową.

Największe różnice w profilu lotnych związków badanych napojów wynikały z rodzaju użytych kultur bakterii. Bakterie rodzaju *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* i *Lactobacillus casei* sprzyjały znacznej zawartości w produkcie kwasu octowego, zwiększającego różnicę cech sensorycznych między jogurtem i biojogurem. W następnej kolejności stwierdzono znaczne różnice w produkcji lotnych związków między próbkami fermentowanymi i niefermentowanymi przez użyte bakterie. Bakterie *Lactobacillus casei* wykazały znaczną aktywność biochemiczną, powodując najintensywniejszy wzrost zawartości takich związków, jak: 2-heptanon, 2-pentanon i etanol w mleku fermentowanym, a także etanol i kwasy organiczne w mleku niefermentowanym, w czwartym tygodniu przechowywania.

**Słowa kluczowe:** związki lotne, SPME, jogurt, biojogurt

### **Wprowadzenie**

W ostatnich latach obserwuje się zwiększoną świadomość zdrowotną konsumentów i związane z tym zwiększone zainteresowanie produktami spożywczymi zawierającymi prozdrowotne dodatki. Mleczne napoje fermentowane, takie jak jogurt, najczęściej wykorzystywane są jako nośniki probiotycznych i prebiotycznych dodatków

---

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

o korzystnych cechach zdrowotnych. Jednak mało jest badań dotyczących cech smakowych produktów zawierających aktywne komórki probiotyczne, które nie mają typowych zdolności fermentacji mleka. Wielu badaczy potwierdza, że w opinii konsumentów, napoje mleczne zawierające probiotyki wzbudzają mniejszą pożądalność w porównaniu z typowym jogurtem [14, 15, 24]. Dlatego w niniejszych badaniach podjęto próbę porównania ww. produktów pod względem składników zapachowych, co może być pomocne w monitorowaniu procesu fermentacji i planowania okresu przydatności do spożycia, a tym samym w projektowaniu produktu o odpowiednich i stałych cechach smakowo-zapachowych, poświadczonych przez konsumentów.

Celem pracy było wykazanie różnic w profilu lotnych związków mleka fermentowanego i niefermentowanego przez bakterie jogurtowe i szczepy probiotyczne.

### Material i metody badań

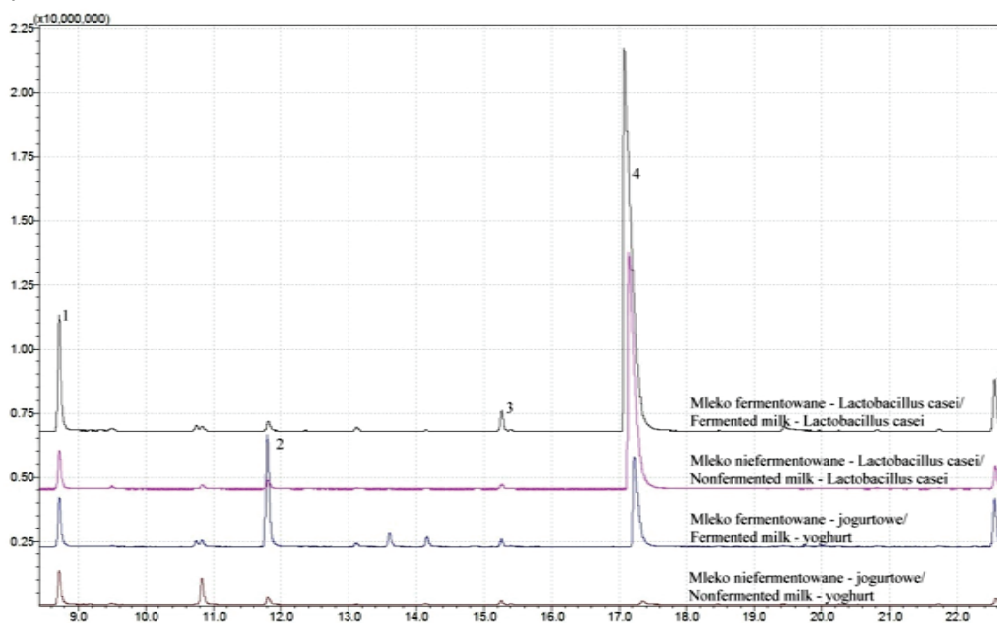
W badaniach użyto: liofilizowanej kultury zawierającej typowo jogurtowe szczepy bakterii *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Str. thermophilus* (Chr. Hansen), liofilizowanych kultur probiotycznych *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* i *Lactobacillus acidophilus* (Chr. Hansen) oraz probiotycznego szczepu *Lb. casei* wyizolowanego z produktu rynkowego. Naważkę 2 g liofilizatu (biomasy) rozpuszczano w 50 cm<sup>3</sup> jałowego mleka, następnie tak przygotowaną kulturą zaszczerpiano, w ilości 1 cm<sup>3</sup>, 150 cm<sup>3</sup> mleka UHT. Pierwszą próbką było mleko UHT o zawartości 3,2% tłuszczu (próbka kontrolna). Kolejne próbki tworzyły podwójne modele mleka fermentowanego i niefermentowanego określoną kulturą starterową. Pierwszą próbkę z podwójnego układu zaszczerpiano kulturą starterową i poddawano fermentacji w temp. 37 °C/18 h (model mleka fermentowanego). Drugą próbkę po zaszczerpieniu kulturą starterową wstawiano do chłodziarki (6 °C) (model mleka niefermentowanego). Próbki poddawane fermentacji, po jej zakończeniu także schładzano do 6 °C i przechowywano w tej temperaturze przez cały okres trwania doświadczenia (4 tygodnie).

Wszystkie próbki poddawano analizie chromatograficznej (SPME) i mikrobiologicznej, a także kontrolowano zmianę pH w dniu zerowym oraz po 2 i 4 tygodniach. Próbki do analizy chromatograficznej przygotowywano analogicznie, jak we wcześniejszej pracy [27].

Oznaczenie liczby żywych komórek użytych kultur bakteryjnych wykonywano metodą płytkową kropelkową, z wykorzystaniem podłoży agarowych M17 i MRS (Merck) [20]. Płytki z posiewami *Str. thermophilus* inkubowano tlenowo w temp. 37 °C przez 48 h. Płytki z posiewami bakterii beztlenowych (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Bif. animalis* subsp. *lactis*) inkubowano w anaerostatach zapewniających warunki beztlenowe, w temp. 37 °C przez 48 h [19, 20]. Pomiaru pH dokonywano przy użyciu pehametru typu LPH330T (TOCUSSEL, Francja).

## Wyniki i dyskusja

Cechy prozdrowotne fermentowanych produktów zawierających probiotyczne szczepy bakteryjne zależą od przeżywalności drobnoustrojów. Zgodnie z wytycznymi FAO/WHO minimum prozdrowotne wynosi  $10^6$  jtk/cm<sup>3</sup>. Wybór właściwego szczepu na podstawie pożądaných cech jest zasadniczy, aby sprostać tym wymaganiom. Uzyskanie odpowiedniej żywotności bakterii przez cały okres przechowywania może być zagwarantowane przez namnożenie biomasy w czasie procesu fermentacji lub poprzez dodatek odpowiednio wysokiej dawki początkowej, gwarantującej utrzymanie wymaganego poziomu. Aktywność kataboliczna probiotyków jest odmienna od aktywności oczekiwanej od typowej kultury jogurtowej. Obserwowane różnice aktywności tych bakterii są przyczyną powstawania niepożądanych zmian sensorycznych w mlecznych napojach fermentowanych. Ocena profilu lotnych związków, tworzących smak i zapach gotowego produktu, przy zastosowaniu niskotemperaturowej ekstrakcji do fazy stałej SPME, może być zatem wykorzystana do skutecznej kontroli zmian zachodzących pod wpływem aktywności komórek bakteryjnych w czasie fermentacji i przechowywania.



1) 2-heptanon / 2-heptanone; 2) acetoina / acetoin; 3) 2-nonanon / 2-nonanone; 4) kwas octowy / acetic acid; 5) kwas masłowy / butyric acid.

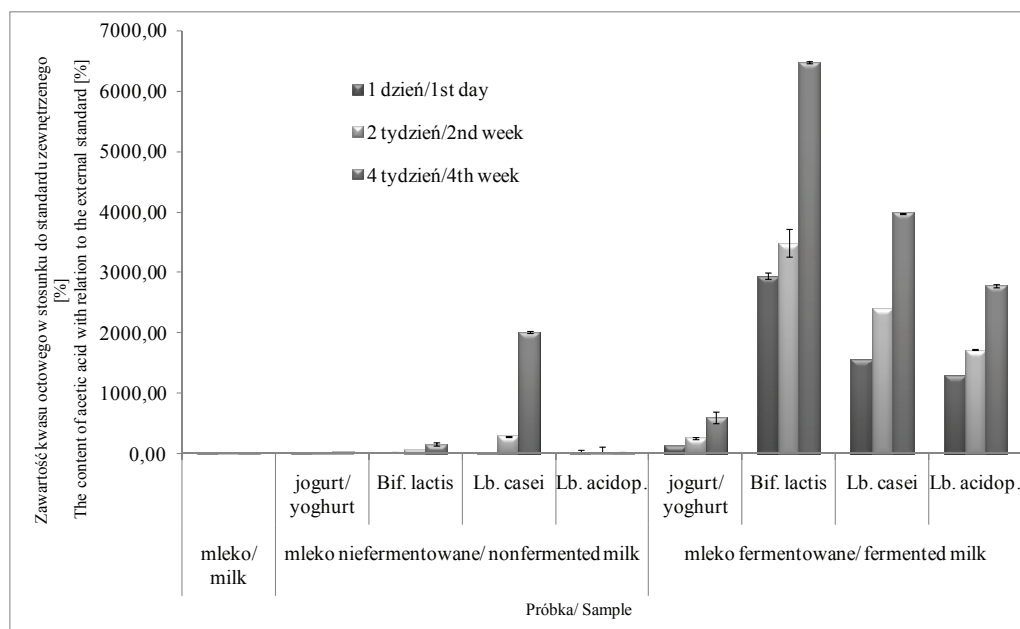
Rys. 1. Fragment chromatogramu obrazującego różnice zawartości lotnych związków w modelowych próbkach mleka, w czwartym tygodniu przechowywania.

Fig. 1. A fragment of the chromatogram showing differences between the content of volatile compounds in the model samples of milk in the fourth week of storage.

Typowy handlowy jogurt jest wynikiem symbiotycznej aktywności dwugatunkowej kultury starterowej, w skład której wchodzi *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Str. thermophilus*. Współistnienie obu gatunków zapewnia pożądany smak, zapach i konsystencję jogurtu. Powszechnie przyjmuje się, że kwas mlekowy, octowy, aldehyd octowy i diacetyl to najważniejsze metabolity kształtujące smak jogurtu. Odpowiedni udział obu gatunków jogurtowych zapewnia oczekiwany profil zapachowy i kwasową równowagę produktu. Jednak pozostałe metabolity mają także znaczący wpływ na nutę zapachową i smakową naturalnego jogurtu [26, 16].

W niniejszej pracy wykorzystano trzy szczepy bakterii probiotycznych oraz kulturę jogurtową. Spośród nich, według danych literaturowych, tylko *Bif. animalis* subsp. *lactis* jest zaliczane do heterofermentatywnych. Bakterie tego gatunku rozkładają glukozę do kwasu mlekowego i octowego w stosunku 3:2 [22, 23, 28]. Jednak, jak przedstawiono na rys. 2, kwas octowy jest obecny we wszystkich próbkach fermentowanych oraz w próbce niefermentowanej z udziałem *Lb. casei*. Spośród próbek fermentowanych tylko mleko fermentowane przez kulturę jogurtową zawierało najmniej kwasu octowego, co jest typowe dla homofermentacji. Porównując pozostałe próbki fermentowane do modelowego jogurtu, można wnioskować, że wszystkie użyte szczepy probiotyczne wykazały cechy heterofermentacji, ale w największym stopniu *Bifidobacterium*.

Wzrost zawartości kwasu octowego w pierwszym dniu był efektem aktywności mikroorganizmów w procesie fermentacji, na co wskazuje różnica między zawartością tego kwasu w próbkach niefermentowanych i fermentowanych (rys. 2). Różnice zawartości tego kwasu w czasie chłodniczego przechowywania wskazują na największy jego przyrost między drugim i czwartym tygodniem przechowywania (rys. 1). Wpływ na to miał prawdopodobnie spadek przeżywalności bakterii, jak to miało miejsce w przypadku *Bif. animalis* subsp. *lactis*. Zmniejszenie liczby bakterii o jeden cykl logarytmiczny, widoczny między drugim i czwartym tygodniem przechowywania, mógł przyczynić się do uwolnienia wewnątrzkomórkowej  $\beta$ -galaktozydazy ułatwiającej rozkład laktozy, a pozostające przy życiu komórki przeprowadziły przemianę cukrów prostych do kwasu octowego. Podobnie można tłumaczyć systematyczny wzrost zawartości kwasu octowego w próbkach fermentowanych przez inne bakterie, przede wszystkim przez *Lb. acidophilus*, ze względu na najniższą przeżywalność tego szczepu, potwierdzoną także przez innych badaczy [6]. Jak wykazano, liczba *Lb. acidophilus* osiągnęła minimalny wzrost w czasie procesu fermentacji oraz systematyczny spadek liczby żywych komórek przez cały okres przechowywania (tab. 1). Wzrost aktywności  $\beta$ -galaktozydazy w uszkodzonych komórkach bakterii *Lb. acidophilus* wykazali Fernandez-Murga i wsp. [9].



Rys. 2. Zawartość kwasu octowego w modelowych próbkach mleka, podczas czterotygodniowego przechowywania.

Fig. 2. Content of acetic acid in model samples of milk stored for four weeks.

Tabela 1

Liczba bakterii fermentacji mlekowej w modelowych próbkach mleka, podczas czterotygodniowego przechowywania [ $\log \text{ jtk/cm}^3$ ].

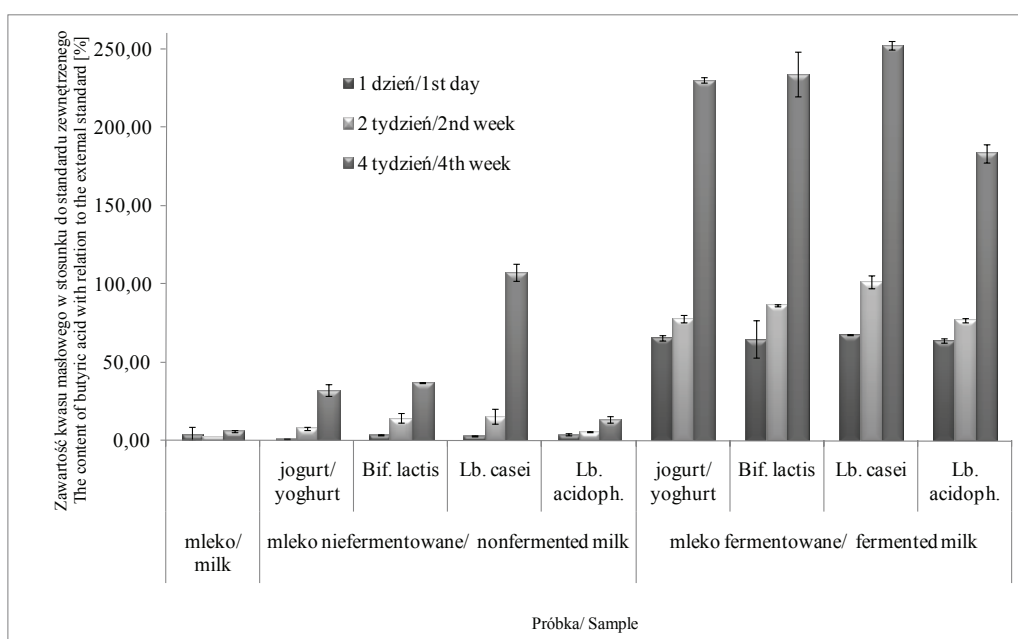
Milk fermentation bacteria count in the model samples of milk stored for four weeks [ $\log \text{ CFU/mL}$ ].

Gatunek bakterii Species of Bacteria	Fermentacja Fermentation	1 dzień 1st day	2 tydzień 2nd week	4 tydzień 4th week
Jogurtowe / Yoghurt	mleko	7,2	7,4	8,1
<i>Bif. lactis</i>	niefermentowane	9,1	8,7	8,4
<i>Lb. casei</i>	nonfermented	8,4	8,3	8,5
<i>Lb. acidophilus</i>	milk	8,3	5,0	0,0
Jogurtowe / Yoghurt	mleko	9,1	8,7	8,6
<i>Bif. lactis</i>	fermentowane/	8,8	9,4	8,2
<i>Lb. casei</i>	fermented	8,7	9,8	9,4
<i>Lb. acidophilus</i>	milk	8,7	8,5	3,6

Dodatkowy wpływ na wzrost zawartości kwasu octowego mogła mieć  $\beta$ -oksydacja wolnych kwasów tłuszczowych, w wyniku której łańcuch tłuszczowy skracany jest o dwie jednostki węglowe, tworząc kwas octowy [3, 13]. Nadmierny

wzrost zawartości kwasu octowego przyczynia się do powstawania wyczuwalnego i szczypiącego posmaku octowego [15, 16].

Poza opisanym już kwasem octowym zidentyfikowano wiele innych składników fazy nadpowierzchniowej, wpływających na cechy zapachowe mleka. Ze względu na porównawczy charakter niniejszego opisu wykorzystano tylko niektóre ze zidentyfikowanych związków, wykazujących największe różnice w omawianych modelach. Obok kwasu octowego stwierdzono między innymi obecność takich kwasów, jak masłowy i kapronowy (rys. 3, 4 i 5).

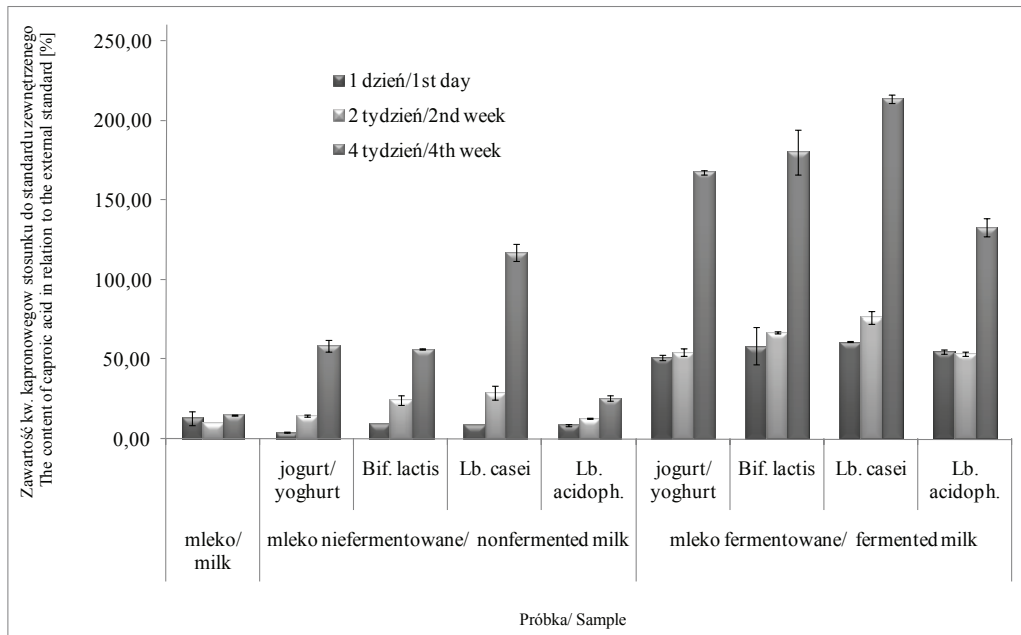


Rys. 3. Zawartość kwasu masłowego w modelowych próbkach mleka, podczas czterotygodniowego przechowywania.

Fig. 3. Content of butyric acid in model samples of milk stored for four weeks.

W pierwszym dniu analizy stwierdzono intensywny wzrost zawartości kwasu masłowego w próbkach poddanych procesowi fermentacji. Był to wzrost średnio 20-krotny w stosunku do jego zawartości w próbkach niefermentowanych i w próbie kontrolnej (rys. 1, 3 i 5). Warto zaznaczyć, że w próbkach niefermentowanych początkowa zawartość kwasu masłowego była na tym samym poziomie, co w mleku. Kwas masłowy jest produktem procesów autooksydacyjnych, które zachodzą między składnikami mleka w wyniku działania czynników zewnętrznych, takich jak temperatura, promieniowanie słoneczne oraz enzymatyczny rozkład kwasów tłuszczowych i aminokwasów [2, 4, 7, 8, 12]. Po dwóch tygodniach stwierdzono niewielki wzrost zawartości kwasu

masłowego w próbkach fermentowanych i niefermentowanych, jednak nadal próbki fermentowane zawierały więcej omawianego związku niż niefermentowane. Po kolejnych dwóch tygodniach przechowywania, we wszystkich próbkach stwierdzono podwojenie zawartości tego kwasu. Największą zawartość omawianego kwasu wykazano w próbce fermentowanej i niefermentowanej z udziałem szczepu *Lb. casei*.



Rys. 4. Zawartość kwasu kapronowego w modelowych próbkach mleka, podczas czterotygodniowego przechowywania.

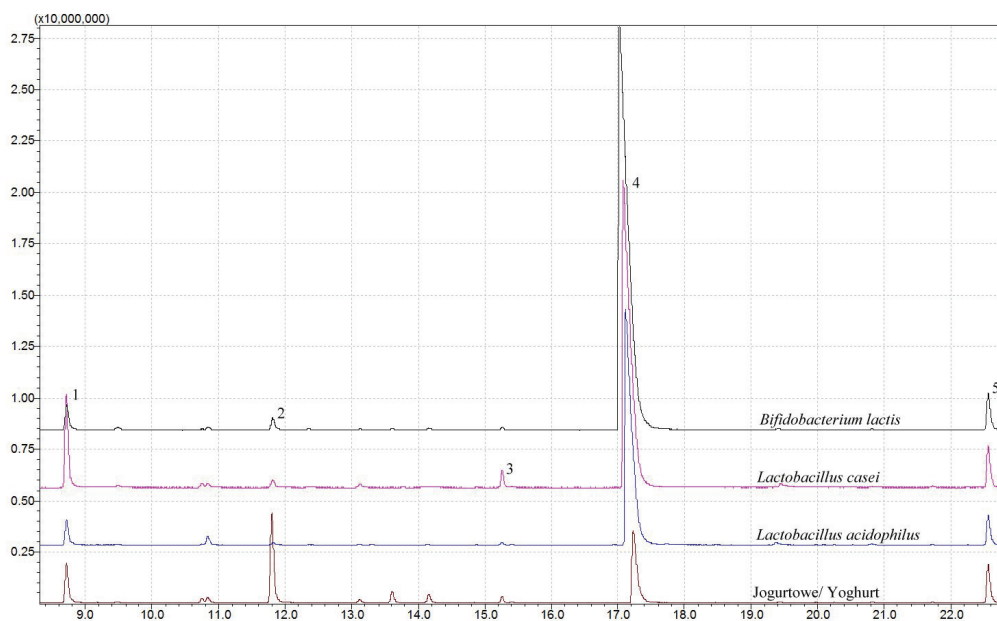
Fig. 4. Content of caproic acid content in model samples of milk stored for four weeks.

Podobny wpływ czasu i rodzaju kultury starterowej wykazano w przypadku kwasu kapronowego (rys. 4). Wysoka zawartość kwasu masłowego oraz kapronowego może wywoływać niepożądane zmiany smaku i zapachu, które są charakterystyczne dla produktów zjełczałych [16].

Wyniki dotyczące profilu wolnych kwasów tłuszczowych, opublikowane przez innych autorów, wykazują istotny wpływ tych związków na tworzenie zapachu i smaku końcowego produktu. Baranowska [4] stwierdziła, że największą zdolność do uwalniania i syntetyzowania wolnych lotnych kwasów tłuszczowych wykazują bakterie *Lb. acidophilus* (3,07 - 4,53 mg/100 g produktu), natomiast najmniejszą *Str. thermophilus* (1,96 - 3,62 mg/100 g produktu). W niniejszej pracy nie prowadzono badań nad monokulturą paciorkowca, jednak zawartość WLKT tworzonych w próbce fermentowanej przez *Lb. acidophilus* nie stanowi najwyższych stwierdzonych wartości. Pomimo



zmniejszenia liczby *Lb. acidophilus*, poziom lotnych kwasów tłuszczowych był wysoki, co ma odzwierciedlenie na wykresach lotnych związków. Można jednak przypuszczać, że w przypadku, gdyby bakterie te wykazywały wzrost liczby komórek, poziom WLKT mógłby być wyższy. Baranowska [4] wykazała także wpływ temperatury procesu fermentacji na zawartość WLKT, jednak wpływ ten był jednocześnie zależny od szczepu bakterii użytego w procesie. Temperatura miała istotne znaczenie w przypadku bakterii *Lb. acidophilus*, natomiast nie miała wpływu na bifidobakterie. Cytowana badaczka nie wykazała wpływu czasu przechowywania na zawartość lotnych kwasów tłuszczowych. Jednak zauważyć należy, że w cytowanych badaniach próbki były przechowywane przez 14 dni, a w niniejszej pracy najintensywniejsze zmiany wykazano nie tylko po procesie fermentacji, ale także po dwóch tygodniach przechowywania. Wymienione wyżej kwasy były również zidentyfikowane w badaniach przeprowadzonych przez Beshkovą i wsp. [5], i analogicznie, jak w niniejszej pracy, oznaczono najwyższe zawartości kwasu octowego, następnie masłowego i kapronowego.

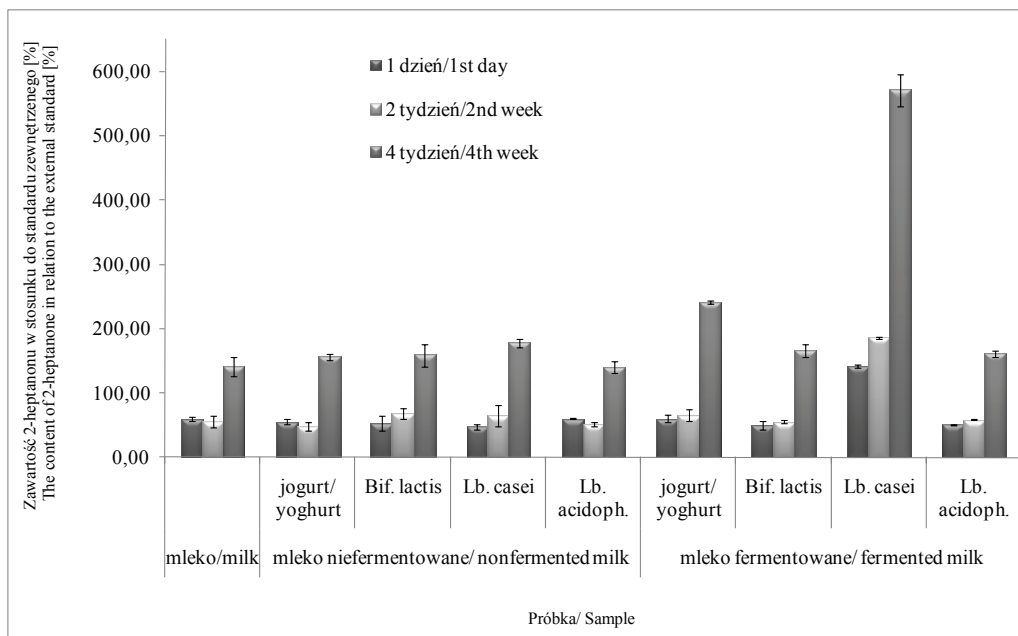


1) 2-heptanon / 2-heptanone; 2) acetoina / acetoin; 3) 2-nonanon / 2-nonanone; 4) kwas octowy / acetic acid; 5) kwas masłowy / butyric acid

Rys. 5. Fragment chromatogramu obrazującego różnice zawartości lotnych związków w modelowych próbkach mleka fermentowanego, w czwartym tygodniu przechowywania.

Fig. 5. A fragment of the chromatogram showing differences between the content of volatile compounds in model samples of fermented milk in the fourth week of storage.





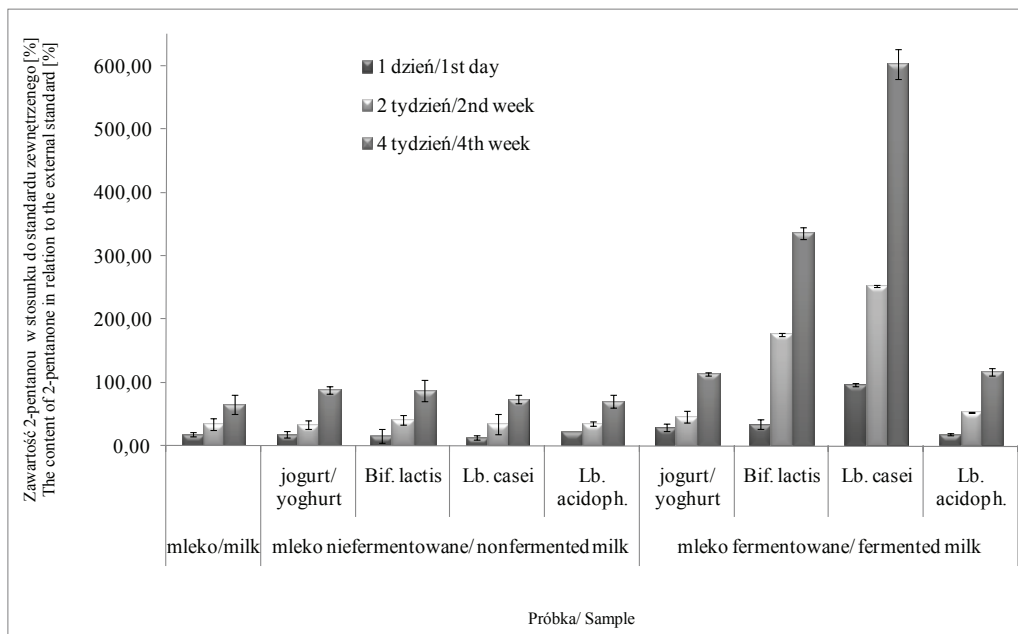
Rys. 6. Zawartość 2-heptanonu w modelowych próbkach mleka, podczas czterotygodniowego przechowywania.

Fig. 6. Content of 2-heptanone in model samples of milk stored for four weeks.

Kolejnymi związkami wpływającymi istotnie na cechy mlecznych napojów fermentowanych są ketony. Spośród zidentyfikowanych ketonów największe różnice między modelami stwierdzono pod względem zawartości 2-pentanonu i 2-heptanonu (rys. 6 i 7). Wyniki wskazują na ich obecność w mleku, mleku fermentowanym i niefermentowanym i stopniowy wzrost w czasie przechowywania. Przyczyną ich obecności mogą być nieenzymatyczne i enzymatyczne przemiany tłuszczów wywołane rodzimymi enzymami lipolitycznymi, przemianami autooksydacji katalizowanej przez energię promieniowania UV, jak i wielokrotną obróbką termiczną, której było poddawane badane mleko, a także rodzaj paszy podawanej bydłu mlecznemu [11, 18].

W tworzeniu obu tych związków w próbkach poddanych fermentacji dominują *Lb. casei*. Już w pierwszym dniu analizy zawartość tych związków była istotnie większa w porównaniu z mlekiem i pozostałymi próbkami. Podobnie, jak w przypadku innych związków, największy przyrost zawartości 2-pentanonu i 2-heptanonu stwierdzono między drugim a czwartym tygodniem przechowywania. Największy wzrost ilości 2-pentanonu stwierdzono przy tym w mleku fermentowanym przez bakterie rodzaju *Bifidobacterium*, a w przypadku 2-heptanonu w mleku fermentowanym przez kulturę jogurtową. W czasie przechowywania wszystkich próbek obserwowano stopniowy wzrost omawianych ketonów. Można wnioskować, że na obecność ketonów

istotny wpływ mają procesy autooksydacyjne, a tylko w nielicznych przypadkach, i w niewielkim stopniu, proces fermentacji.



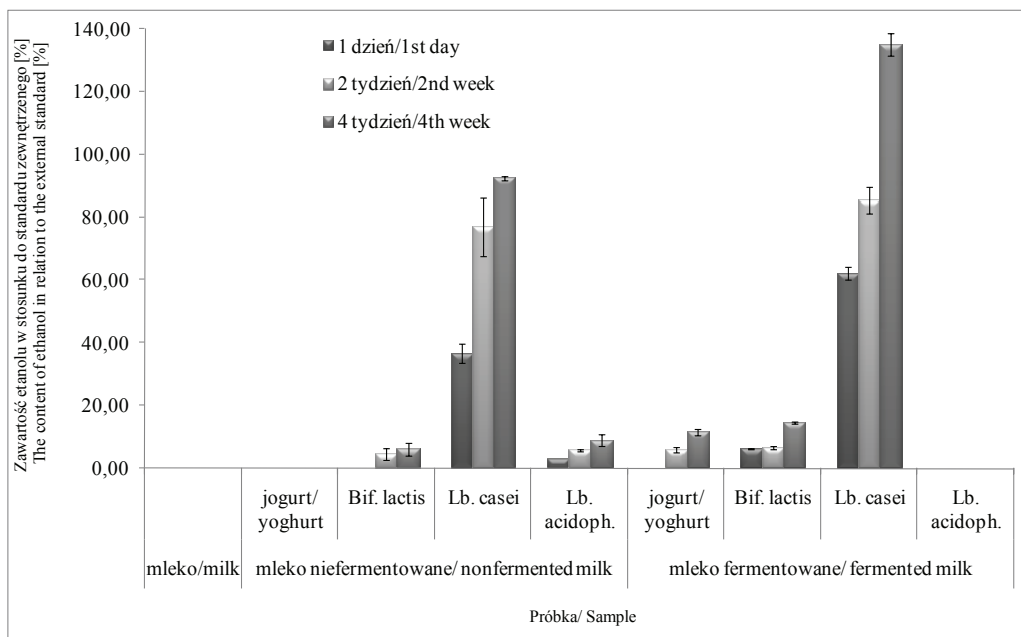
Rys. 7. Zawartość 2-pentanonu w modelowych próbkach mleka, podczas czterotygodniowego przechowywania.

Fig. 7. Content of 2-pentanone in model samples of milk stored for four weeks.

Typowym produktem procesu fermentacji, niewystępującym w mleku, jest alkohol etylowy. Jest on końcowym produktem rozkładu cukrów, kwasów tłuszczowych lub aminokwasów. Największy udział w tworzeniu etanolu wykazał szczep *Lb. casei*, zarówno w próbce fermentowanej, jak i niefermentowanej, chociaż w tym drugim przypadku zawartość alkoholu była nieznacznie mniejsza (rys. 8). We wszystkich próbkach, oprócz mleka (próbka kontrolna), stwierdzono wzrost zawartości etanolu w czasie przechowywania. Amartia i wsp. [1] wykazali aktywność aminotransferazy metioninowej 25% szczepów *Lb. casei*, co wskazuje na zdolności kataboliczne tego gatunku w stosunku do aminokwasów i może tłumaczyć intensywną produkcję alkoholi i kwasów.

W niniejszych badaniach wydłużony proces fermentacji i długi okres przechowywania sprzyjały przekształceniu acetaldehydu do alkoholu etylowego, co można wywnioskować na podstawie wzrastającej zawartości etanolu oraz wysokiej zawartości kwasu octowego, który konkuruje w szlaku metabolicznym z aldehydem. Także Georgala i wsp. [10] przebadali 20 szczepów bakterii jogurtowych i odnotowali zmniejszenie zawartości aldehydu octowego i diacetylu, i jednoczesny wzrost zawartości etano-

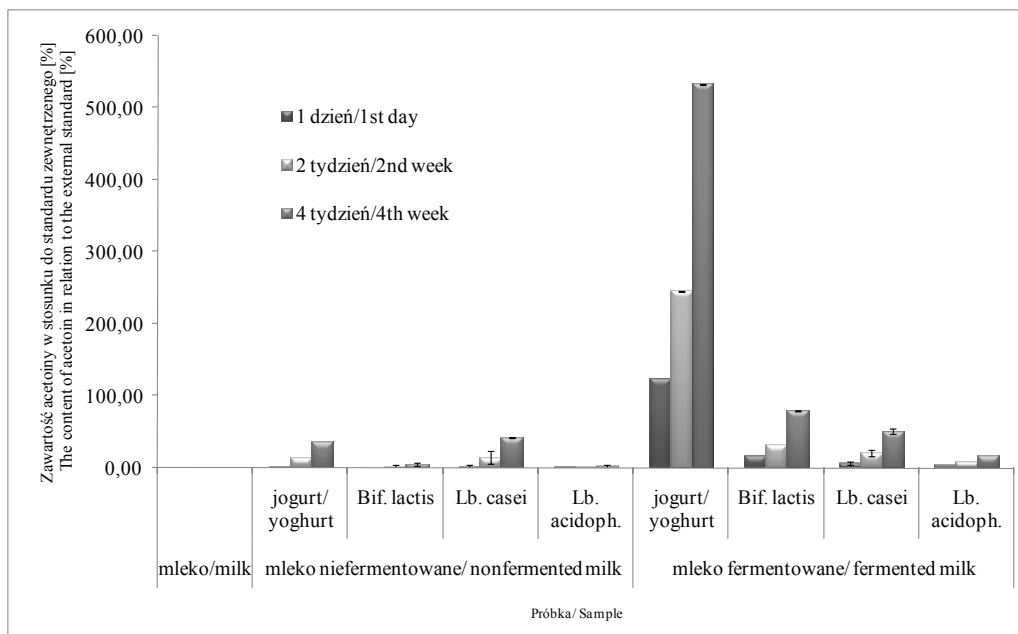
lu. Może to dowodzić, że do uzyskania właściwych cech jogurtu potrzebny jest także dobór odpowiednich szczepów typowych bakterii jogurtowych, a przy udziale bakterii probiotycznych zwiększa się ryzyko zmian typowych cech jogurtowych (rys. 1 i 5).



Rys. 8. Zawartość etanolu w modelowych próbkach mleka, podczas czterotygodniowego przechowywania.

Fig. 8. Content of ethanol in model samples of milk stored for four weeks.

Kolejnym związkiem wykazujących różnice w profilu lotnych substancji jest acetoina. Jest to substancja bezzapachowa powstająca z przekształcenia diacetylu. W badaniach stwierdzono znaczącą różnicę między zawartością acetoiny w mleku fermentowanym przez typowe bakterie jogurtowe i pozostałymi próbkami. Próbka ta jest najbogatsza w ten związek (rys. 9), co najprawdopodobniej wynika z faktu, że w mleku fermentowanym przez bakterie jogurtowe (*Str. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), charakteryzujące się produkcją substancji typowych dla jogurtu (acetaldehyd i diacetyl), dużo jest także produktów przemian tych związków. Bakterie produkujące acetoinę wytwarzają enzym, który przekształca diacetyl do acetoiny. Warunki, w jakich realizowany był proces fermentacji w badaniach własnych (18 h i 37 °C), sprzyjały aktywności reduktazy acetoiny, która swoje optimum wykazuje w temp. wyższej od 30 °C. Wynikiem tych przemian była wyróżniająca się zawartość acetoiny w próbce mleka fermentowanego przez bakterie jogurtowe [15, 21, 29].



Rys. 9. Zawartość acetoiny w modelowych próbkach mleka, podczas czterotygodniowego przechowywania.

Fig. 9. Content of acetoin in model samples of milk stored for four weeks.

Wyniki uzyskane w niniejszych badaniach wskazują na intensyfikację przemian w czasie procesu fermentacji oraz po dwóch tygodniach przechowywania. Poziom takich związków, jak kwas masłowy, kapronowy, octowy może być przydatny do oceny świeżości jogurtów i procesów biochemicznych. Aby zagwarantować utrzymanie pożądanych cech sensorycznych mlecznych napojów fermentowanych, przechowywanych w temp. od 5 do 7 °C, należy ograniczyć czas ich przydatności do spożycia do 14 dni lub do 17 dni, w przypadku produktów fermentowanych i niefermentowanych przez *Bifidobacterium*, jak twierdzą Motyl i wsp. [17]. Po tym czasie zmiany biochemiczne wywołane aktywnością enzymatyczną pogarszają jakość napoju, przede wszystkim jego cechy sensoryczne, wpływając na brak akceptacji produktu przez konsumenta. Potwierdzają to także Urbach [25] i Żbikowski [29], wykazując ujemną korelację między oczekiwanym zapachem a koncentracją etanolu i kwasu octowego. Na podstawie uzyskanych i cytowanych wyników badań można stwierdzić, że wykorzystanie bakterii probiotycznych w procesie fermentacji, niecharakteryzujących się typową fermentacją mleka, wiąże się ze zmianami typowych cech smakowo-zapachowych jogurtu, które minimalizowane są przez użycie dodatków smakowych lub także przez ominięcie etapu fermentacji z udziałem bakterii probiotycznych.

## Wnioski

1. Wydłużenie procesu fermentacji z 5 do 18 h wpływa niekorzystnie na zawartość acetaldehydu i diacetylu powodując ich przekształcenie w wyniku aktywności mikrobiologicznej do etanolu i bezzapachowej acetoiny.
2. Wykorzystanie w procesie fermentacji bakterii rodzaju *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* i *Lactobacillus casei* wiąże się ze znaczną zawartością w produkcie kwasu octowego, zwiększającego różnicę cech sensorycznych między jogurtem i biojoguretm.
3. Bakterie *Lactobacillus casei* wykazały znaczną aktywność biochemiczną, powodując najintensywniejszy wzrost zawartości takich związków, jak: 2-heptanon, 2-pentanon i etanol w mleku fermentowanym, a także etanol i kwasy organiczne w mleku niefermentowanym, w czwartym tygodniu składowania.
4. Chłodnicze warunki skutecznie hamowały aktywność biochemiczną bakterii do drugiego tygodnia przechowywania, co dowodzi konieczności skrócenia okresu przydatności do spożycia mlecznych napojów fermentowanych do 14 - 21 dni lub dodawania bakterii probiotycznych po procesie fermentacji.

Praca była prezentowana podczas VI Konferencji Naukowej nt. „Nowoczesne metody analityczne w zapewnieniu jakości i bezpieczeństwa żywności”, Warszawa, 6 - 7 grudnia 2007 r.

## Literatura

- [1] Amarita F., Requenai T., Tabordaz G., Amigo L., Pelaez C.: *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* initiate catabolism of methionine by transamination. J. Appl. Microbiol., 2001, **90**, 971-978.
- [2] Ardo Y.: Flavour formation by amino acid catabolism. Biotechnol. Adv., 2006, **24**, 238-242.
- [3] Baj J., Markiewicz Z.: Biologia molekularna bakterii. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2006, s. 153-154, 170-173.
- [4] Baranowska M.: The content of volatile free fatty acids in milk cultured with yoghurt bacteria. Pol. J. Natur. Sci., 2004, **2**, 13-21.
- [5] Beshkova D., Simova E., Frengova G., Simov Z.: Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 1998, **20**, 180-186.
- [6] Bolin Z., Libudzisz Z., Moneta J.: Viability of *Lactobacillus acidophilus* in fermented milk products during refrigerated storage. Pol. J. Food. Nutr. Sci., 1998, **3**, 466-471.
- [7] Cichosz G.: Czynniki determinujące cechy sensoryczne serów dojrzewających. Proteoliza. Przegl. Mlecz., 1997, **9**, 270-276
- [8] Cichosz G.: Czynniki determinujące cechy sensoryczne serów dojrzewających. Lipoliza. Przegl. Mlecz., 1997, **10**, 325-329.
- [9] Fernandez Murga M., de Ruiz Holgado A.P., de Valdez G.F.: Survival rate and enzyme activities of *Lactobacillus acidophilus* following frozen storage. Cryobiology, 1998, **36**, 315-319.

- [10] Georgala A., Tsakalidou E., Kandarakis I., Kalantzopoulos G.: Flavour production in ewe's milk and ewe's milk yoghurt, by single strains and combinations of *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, isolated from traditional Greek yoghurt. *Lait*, 1995, **75**, 271-283.
- [11] Jurczak M.E.: Mleko produkcja, badanie, przerób. Wyd. SGGW, Warszawa 2005, s. 129-134.
- [12] Kuncewicz A., Panfil-Kuncewicz H.: Przemiany sacharydów pod wpływem bakterii fermentacji mlekowej. W: Libudzisz Z., Walczak P., Bardowski J.: Bakterie fermentacji mlekowej. Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 1998, s. 98-109.
- [13] Kunicki-Goldfinger W.J.: Życie bakterii. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2006, s. 177-178.
- [14] Libudzisz Z.: Fermentowane napoje mleczne. W: Libudzisz Z., Walczak P., Bardowski J.: Bakterie fermentacji mlekowej. Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 1998, s. 138-148.
- [15] Libudzisz Z.: Tworzenie związków aromatu przez bakterie fermentacji mlekowej. W: Libudzisz Z., Walczak P., Bardowski J.: Bakterie fermentacji mlekowej. Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 1998, s. 110-121.
- [16] Marsili R.: Flavours and off-flavours in dairy foods. In: Encyclopedia of dairy science Roginski H. (red.), Academic Press, London 2003, pp. 1069-1073.
- [17] Motyl I., Libudzisz Z.: Zmiany wybranych cech jakościowych podczas przechowywania nieukwaszonego i ukwaszonego mleka bifidusowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **3**, (28) Supl., 107-117.
- [18] Mouchili A., Wichtela J.J., Bosseth J.O., Dohoo I.R., Imhof M., Altierib D., Malliab S., Stryhna H.: HS-SPME gas chromatographic characterization of volatile compounds in milk tainted with off-flavour. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 1203-1215
- [19] PN-A-93/86034/03. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Przygotowanie próbek i rozcieńczeń.
- [20] PN-A-86034/15:1998. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Ogólne zasady badań. Jogurt; oznaczenie liczby charakterystycznych drobnoustrojów.
- [21] Robinson R. K.: Yoghurt, role of starter cultures. In: Encyclopedia of dairy science. Roginski H. (red.), Academic Press, London 2003, pp. 1059-1062.
- [22] Samona A., Robinson R.K., Marakis S.: Acid production by bifidobacteria and yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. *Food Microbiol.*, 1996, **13**, 275-280.
- [23] Schlegel H. G.: Mikrobiologia ogólna. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2003, s. 344-351.
- [24] Sharareh H., Gregor R.: Sensory properties of probiotic yogurt are comparable to standard yogurt. *Nutrition Research* 2006, **26**, 163-166.
- [25] Urbach G.: Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in Dairy Products. *Int. Dairy J.*, 1995, **5**, 877-903.
- [26] Varnam H. A.: Milk and milk products. Aspen Publication, 2001, pp. 372-374.
- [27] Zaręba D., Ziarno M., Obiedziński M, Bzducha A.: Profil lotnych związków modeli mleka niefermentowanego i fermentowanego przez bakterie jogurtowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2008, **2** (57),
- [28] Ziajka S.: Bifidobakterie - charakterystyka morfologiczna i fizjologiczna. W: Libudzisz Z., Walczak P., Bardowski J.: Bakterie fermentacji mlekowej. Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2004, s. 45-72.
- [29] Żbikowski Z.: Nowoczesne trendy w technologii produkcji jogurtu. *Przegl. Mlecz.*, 1997, **46**, (2), 66-69.

## COMPARING THE PROFILE OF VOLATILE COMPOUNDS IN MILK FERMENTED AND NON-FERMENTED BY YOGHURT BACTERIA AND PRO-BIOTIC STRAINS

### S u m m a r y

In order to meet the needs of consumers, manufacturers of milk drinks should undertake improvement work on improving functional properties of those drinks, among other things, by adding pro-biotic bacteria. Those bacteria do not possess any typical ability to ferment milk, but milk fermentation is the process when compounds are formed that decide on sensory qualities of milk drinks, and, first of all, on their smell and taste.

The objective of this paper was to determine differences between the profile of volatile compounds in milk drinks fermented by using pro-biotic bacteria and the profile of milk drinks fermented and non-fermented by applying a typical yoghurt culture.

The biggest differences in the profile of volatile compounds in the drinks investigated arose due to various types of bacteria cultures applied. The *bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and *Lactobacillus casei* created favourable conditions for acetic acid to form in a significant amount in the product, and this acid increased the differences among sensory properties of the yoghurt and bio-yoghurt studied. Next, significant differences were found in the production volume of volatile compounds in samples fermented using the above bacteria, as well as in non-fermented samples. The *Lactobacillus casei* bacteria showed a significant biochemical activity. In the fermented milk, these bacteria caused the most intense increase in the content of such compounds as 2-heptanone, 2-pentanone, and ethanol, whereas in the non-fermented milk: ethanol and organic acids, in the fourth week of storing the samples.

**Key words:** volatile compounds, SPME, yoghurt, bio-yoghurt ☒