

ILONA MOTYL, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ

ZMIANY WYBRANYCH CECH JAKOŚCIOWYCH PODCZAS PRZECHOWYWANIA NIEUKWASZONEGO I UKWASZONEGO MLEKA BIFIDUSOWEGO

Streszczenie

Celem badań była ocena wybranych cech jakościowych takich, jak: wartość sensoryczna, zawartość kwasu L(+) mlekowego, kwasowość miareczkowa oraz przeżywalność 10 szczepów bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w ciągu 21 dni przechowywania w nieukwaszonym i ukwaszonym mleku bifidusowym.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że jedynie chłodnicze warunki przechowywania mleka bifidusowego zapewniają utrzymanie prawidłowej jakości produktu. Wszystkie badane szczepy produkują prawie wyłącznie izomer L(+) kwasu mlekowego. Udział procentowy tego kwasu w całej puli kwasu mlekowego wynosi po 21 dniach niezależnie od warunków przechowywania powyżej 90%.

Wstęp

Żywność powinna nie tylko zaspokajać potrzeby człowieka w zakresie energii i składników pokarmowych, ale również oferować szersze i bardziej wielostronne funkcje profilaktyczno-zdrowotne, zapobiegając powstawaniu wielu schorzeń przede wszystkim chorób tzw. cywilizacyjnych. Tego rodzaju produkty nie pełnią roli preparatów farmaceutycznych, lecz mogą być stosowane jako żywność ogólnego spożycia, tzw. „żywność funkcjonalna”. Jedną z grup żywności funkcjonalnej są produkty probiotyczne, zawierające bakterie kwasu mlekowego, których działanie jest korzystne zarówno ze względu na bezpieczeństwo mikrobiologiczne żywności, jak i poprawy stanu zdrowia człowieka.

Mleczne napoje fermentowane zostały zdefiniowane przez Międzynarodową Federację Mleczarską jako produkty mleczne otrzymane z mleka pełnego, częściowo odtłuszczonego, całkowicie odtłuszczonego, zagęszczonego lub regenerowanego z proszku, poddane fermentacji przez specyficzne drobnoustroje [5].

Wg Codex Alimentarius, w jogurcie drobnoustroje te muszą być żywe w momencie konsumpcji [4], natomiast Według Światowej Organizacji Zdrowia powinny spełniać, co najmniej dwa warunki:

- kwasowość miareczkowa produktów, wyrażona jako % kwasu mlekowego, nie może być niższa niż 0,6%,
- liczba żywych komórek bakterii w końcowym okresie trwałości produktu nie może być niższa niż 10^7 jtk/ml [11].

Poza walorami smakowymi i odżywczymi mlecznych napojów fermentowanych ważne jest również ich znaczenie terapeutyczne. Przy rozpatrywaniu produktów fermentowanych z udziałem mikroflory probiotycznej należy pamiętać, że liczba żywych i aktywnych bifidobakterii w chwili spożycia, w przypadku mleka bifidusowego, musi wynosić minimum 10^7 jtk/ml, zaś w przypadku biojogurtu bifidusowego 10^6 komórek/ml produktu [6, 9].

Bifidobakterie są typową mikroflorą, jaką stwierdza się już w drugim dniu życia u niemowląt karmionych piersią. W 7. dniu życia niemowląt bifidobakterie stanowią 99% populacji, przy pH stolca 4,5–5,5 [1, 8].

Natomiast w stolcu dziecka odłączonego od piersi i karmionego odżywkami, skład mikroflory przewodu pokarmowego ulega zmianie. Chociaż bifidobakterie, jak i pałeczki mlekowe mogą dominować, pH stolca wzrasta do 7, co świadczy o występowaniu mikroflory potencjalnie patogennej [1, 8]. Uważa się, że przewaga *E.coli*, *Bacteroides* sp. i streptokoków w stolcu niemowląt karmionych odżywkami może powodować ich większą podatność na infekcje [10].

Zmiany w mikroflorze jelitowej człowieka dorosłego są nie tylko zależne od wieku (w miarę starzenia się zmniejsza się liczba bifidobakterii w jelicie grubym), ale również od wielu czynników takich jak: zakłócenia w trawieniu, brak perystaltyki jelit, zastój treści pokarmowej spowodowany złym wydzielaniem żółci, miejscowe zapalenie jelita, przewężenie jelit, przetoki jelitowe, marskość wątroby, zakłócenie systemu immunologicznego, a nawet stres [1].

W wyniku fermentacji mlekowej, pod wpływem enzymów proteolitycznych i lipolitycznych, następuje nadtrawienie białek mleka i hydroliza tłuszczów do kwasów tłuszczowych, dzięki czemu zwiększa się strawność i przyswajalność mleka w przewodzie pokarmowym. U osób starszych, u których wydzielanie soku żołądkowego jest znacznie zmniejszone, spożywanie mlecznych napojów fermentowanych może przyczynić się do zwiększonej rozpuszczalności wapnia i żelaza w wyniku obniżenia pH treści pokarmowej w żołądku [2].

Tworzony przez bakterie fermentacji mlekowej kwas mlekowy, będący podstawowym produktem końcowym metabolizmu węglowodanów pobudza wydzielanie śliny oraz soków trawiennych w żołądku i trzustce, przyspiesza perystaltykę jelit, przyspiesza trawienie białek, zwiększa wchłanianie: wapnia, żelaza fosforu i innych

pierwiastków. Występuje w formie izomerów D(-), L(+) [3]. Organizm człowieka wykorzystuje ponadto formę kwasu L(-) mlekowego jako źródło energii; jego wartość energetyczna wynosi 15 kJ/g, podczas gdy laktozy 16 kJ/g. Forma kwasu D(-)mlekowego wydalana jest przez nerki, a tylko niewielka ilość jest metabolizowana przez specyficzne enzymy wątrobowe [5, 7].

Celem badań było sprawdzenie wybranych cech jakościowych nieukwaszonego i ukwaszonego mleka bifidusowego, takich jak: ocena sensoryczna, zawartość kwasu L(+) mlekowego, kwasowość miareczkowa oraz przeżywalność 10 szczepów bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*, w ciągu 21 dni przechowywania.

Material i metody badań

Materiałem badawczym było 10 szczepów z rodzaju *Bifidobacterium*, pochodzących z kolekcji Instytutu Rozrodu Zwierząt i Nauki o Żywności PAN (Olsztyn), Instytutu Biotechnologii Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, Wyższej Szkoły Chemiczno-Technologicznej w Pradze oraz z kolekcji Collegium Medicum UJ w Krakowie.

Mleko UHT o 2% zawartości tłuszczu zaszczepiano zawiesiną bakterii (inokulum 10%), a następnie wstawiano do warunków chłodniczych, 4–5°C (mleko bifidusowe nieukwaszone), równolegle mleko zaszczepione zawiesiną bakterii inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C, do momentu ukwaszenia (mleko ukwaszone). Przeżywalność bifidobakterii sprawdzano dodatkowo w temperaturze 18°C i 30°C w mleku ukwaszonym. Wybór tego wariantu doświadczenia miał na celu wskazanie jak dalece niewłaściwe warunki przechowalnicze (stres przechowalniczy) redukują liczbę żywych bakterii. Kinetykę przeżycia bakterii kontrolowano na pożywce Garche'a metodą wysiewów na płytki bezpośrednio po ukwaszeniu (mleko ukwaszone) lub bezpośrednio po zaszczepieniu (mleko nieukwaszone) i następnie po 7, 12, 17, 19 i 21 dniach przechowywania. Równocześnie sprawdzano zawartość kwasu L(+) i D(-) mlekowego przy użyciu testów firmy Boehringer Mannheim, kwasowość ogólną określano metodą miareczkową oraz oceniano własności sensoryczne mleka bifidusowego. Oceny sensorycznej dokonywano na podstawie normy zakładowej Łódzkiej Spółdzielni Mleczarskiej ZN-96/ŁSM-14 [12]. Analizę sensoryczną badanych próbek przeprowadzono metodą skalowania, stosując skalę 5-punktową, w której za najwyższy poziom jakości danej cechy sensorycznej przyjęto 5 punktów, a za najniższy 0 punktów (tab. 1). Po dokonaniu oceny danej cechy sensorycznej, punkty sumowano i oceniano jakość sensoryczną danego produktu. Wszystkie analizowane próbki charakteryzowały się pożądaną barwą i wyróżnik ten nie miał istotnego wpływu na końcową klasyfikację produktu, dlatego też ze względu na czytelność przedstawionych wykresów został pominięty, a maksymalna ilość punktów, którą mógł uzyskać produkt obniżyła się z 20 do 15. Przy kwalifikacji produktu do jednej z klas po zsumowaniu punktów otrzymano:

Jakość bardzo dobra	15 pkt.
Jakość dobra	11–14 pkt.
Jakość dostateczna	8–10 pkt.
Produkt zdyskwalifikowany za złą jakość	0–7 pkt.

Tabela 1

Punktowa ocena wyróżników i cech krytycznych.

Point estimation of distinctive features and critical quality factors.

Wyróżnik jakościowy / Quality factor	Jakość bardzo dobra / Very good quality	Jakość dobra / Good quality	Jakość dostateczna / Acceptable quality	Produkt zdyskwalifikowany za złą jakość / Disqualification due to inferior quality
	5 pkt	4 pkt	3 pkt	0 pkt
Wygląd / Appearance	Skrzep zwarty	Skrzep nieznacznie niejednorodny	Widoczna niejednorodność skrzepu, lekki opływ serwatki	Skrzep niejednorodny, widoczna synerеза
Barwa / Colour	Biała, lekko kremowa	Biała, lekko kremowa	Nieznacznie odbiegająca od pożądanej	Inna niż pożądana
Smak i zapach / Taste and smell	Czysty, orzeźwiający, lekko kwaśny	Czysty, niezdecydowany lekko kwaśny	Lekki posmak krwi, lekko kwaśny	Nieczysty posmak
Konsystencja / Consistency	Jednolita, gęsta	Jednolita, gęsta	Jednolita, lekko rozrzedzona	Niejednolita, rozrzedzona

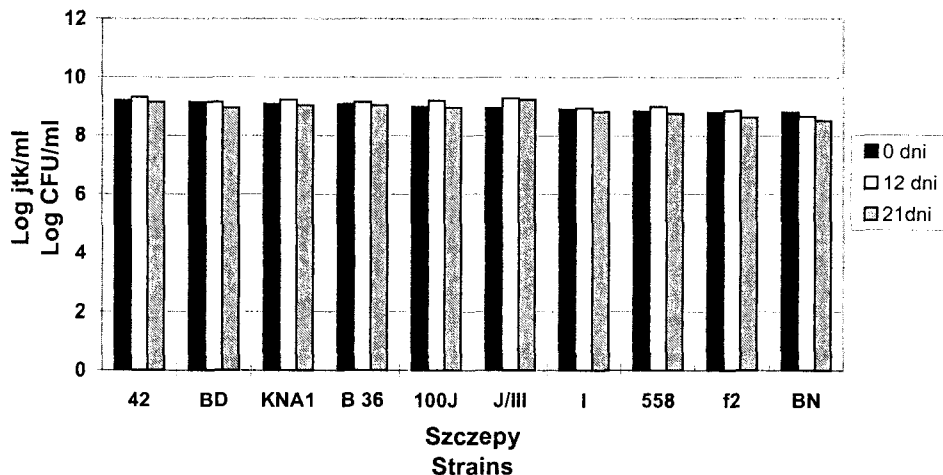
Wyniki i omówienie

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że wszystkie badane szczepy bakterii w mleku ukwaszonym cechowały się wysoką przeżywalnością w warunkach chłodniczych. Liczba bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* po 21 dniach przechowywania wynosiła od $1,7 \times 10^9$ (J/III) do $3,4 \times 10^8$ (BN), co stanowiło od 96,4% do 99,8% wartości początkowej (rys. 1). Kwasowość miareczkowa mleka ukwaszonego i przechowywanego w temperaturze 4–5°C, po 21 dniach, zależnie od szczepu, osiągnęła poziom od 32,4 do 44,8°SH (tab. 3) i w porównaniu z kwasowością próbek bezpośrednio po fermentacji wzrosła o 4,1%.

W mleku nieukwaszonym przeżywalność bifidobakterii po 21 dniach przetrzymywania w warunkach chłodniczych (4–5°C), wynosiła zależnie od szczepu od 40,0% do 87,6% (rys. 2), a kwasowość miareczkowa wzrosła od 1,6 do 4,0°SH, (tab. 2). Przy wyższych temperaturach przechowywania (18°C lub 30°C) obserwowano postępujący proces fermentacyjny, na co wskazuje liczba żywych komórek bifidobakterii oraz bar-

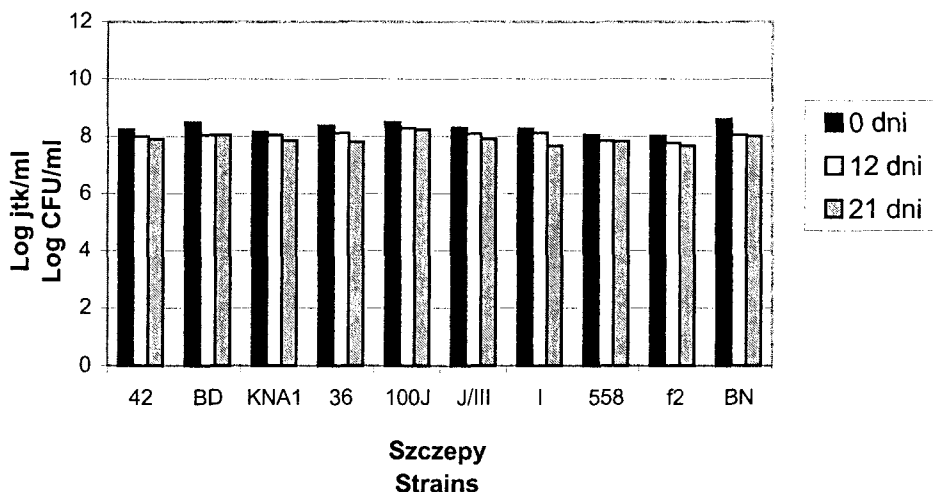
dzo wyraźny wzrost kwasowości miareczkowej mleka, po 21 dniach przechowywania w temperaturze 18°C od 54,4 do 70,4°SH (tab. 3), i w temperaturze 30°C od 80,0 do 96,8°SH (tab. 2), (rys. 3, 4),

Wszystkie badane szczepy produkują prawie wyłącznie izomer L(+) kwasu mlekowego. Udział procentowy tego kwasu w całej puli kwasu mlekowego wyniósł po 21 dniach, niezależnie od warunków przechowywania, powyżej 90% (tab. 4).



Rys. 1. Liczba bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w mleku ukwaszonym przechowywanym w temperaturze 4-5°C.

Fig. 1. Number of viable *Bifidobacterium* strains in fermented milk stored at 4-5°C.



Rys. 2. Liczba bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w nieukwaszonym mleku, przechowywanym w temperaturze 4-5°C.

Fig. 2. Number of viable *Bifidobacterium* strains in non-fermented milk stored at 4-5°C.

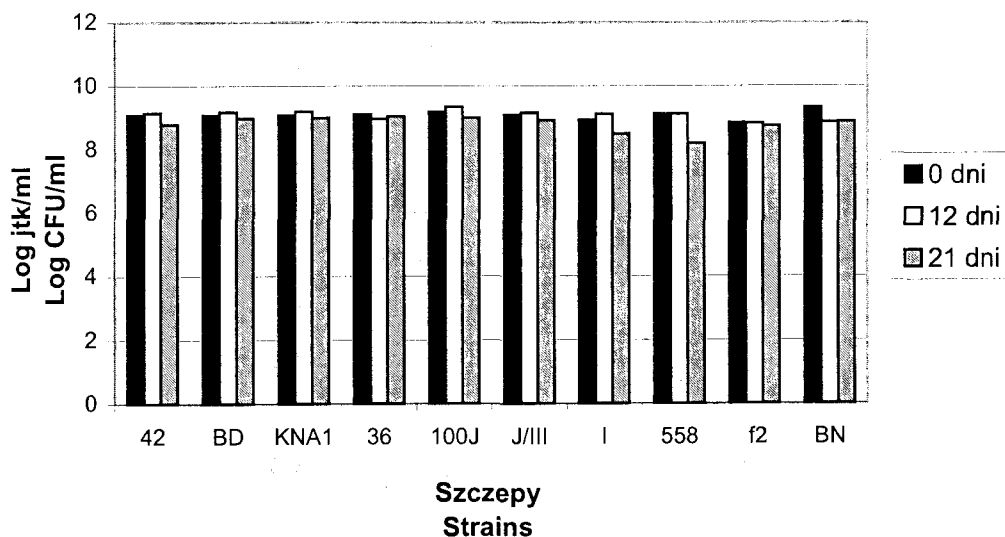
Tabela 2

Zmiany kwasowości mleka bifidusowego podczas 21-dniowego przechowywania.
Changes in the acidity of bifidus milk during 21 days' storage.

Czas przechowywania (dni) / Time of storing (days)	Szczep Strain	Kwasowość miareczkowa °SH / Titratable acidity °SH			
		mleko nieukwaszone / non-fermented milk / przechowywane 4-5°C stored at 4-5°C	mleko ukwaszone / fermented milk		
			przechowywane / stored at 4-5°C	przechowywane / stored at 18°C	przechowywane / stored at 30°C
0	KNA1	5,6	28,3	28,3	28,3
	42	6,0	30,0	30,0	30,0
	558	6,4	36,8	36,8	36,8
	100J	6,0	40,7	40,7	40,7
	BN	6,0	32,5	32,5	32,5
	BD	6,0	39,9	39,9	39,9
	f2	6,0	32,9	32,9	32,9
	J/III	5,6	40,1	40,1	40,1
	36	5,6	38,7	38,7	38,7
	I	5,6	33,9	33,9	33,9
7	KNA1	6,4	31,6	37,6	62,8
	42	7,2	33,2	35,6	61,6
	558	6,4	42,4	41,6	64,8
	100J	6,8	45,2	51,6	64,8
	BN	6,4	32,8	50,4	60,8
	BD	7,2	49,2	47,6	63,2
	f2	7,2	37,2	40,4	56,8
	J/III	6,4	42,8	48,8	61,6
	36	7,2	46,4	49,6	60,0
	I	8,4	42,4	47,6	57,2
12	KNA1	7,2	32,0	45,2	72,0
	42	8,0	36,8	41,6	76,0
	558	6,4	41,6	53,6	76,0
	100J	8,0	45,6	58,0	80,8
	BN	8,0	33,6	57,2	68,8
	BD	8,8	50,0	54,8	78,4
	f2	10,0	40,8	48,8	62,4
	J/III	6,8	43,2	52,8	71,2
	36	8,8	43,2	56,4	72,0
	I	10,4	43,2	50,8	69,6
17	KNA1	7,2	32,0	52,0	81,2
	42	8,0	38,8	46,4	83,6
	558	7,2	41,2	56,0	76,0
	100J	8,4	45,6	64,0	88,8
	BN	9,2	34,0	59,6	75,2
	BD	10,0	50,0	60,8	81,6
	f2	11,2	42,0	50,8	74,4
	J/III	7,2	43,2	58,4	76,4
	36	8,8	43,2	61,2	85,2
	I	12,0	43,2	57,2	74,4

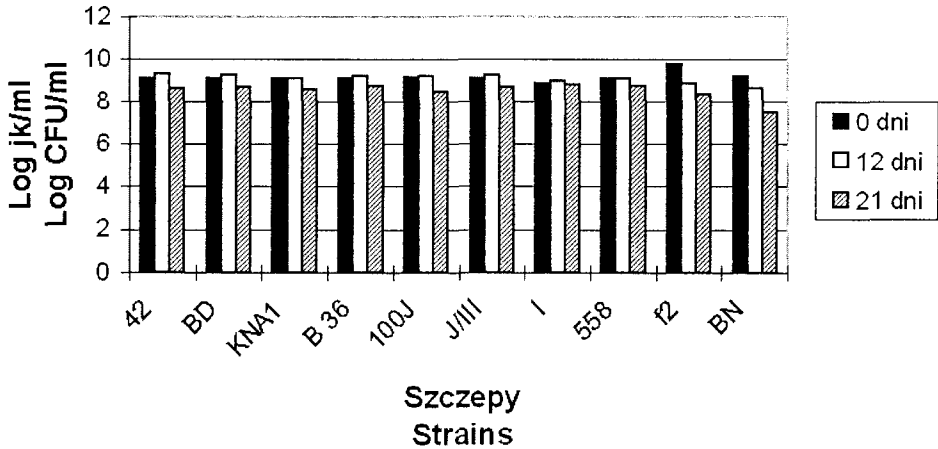
c.d. Tab. 2

19	KNA1	8,0	33,6	54,8	80,0
	42	8,0	34,0	50,4	80,8
	558	7,6	41,2	56,0	81,6
	100J	9,6	41,2	68,8	86,4
	BN	10,4	31,2	64,8	73,6
	BD	10,8	44,0	60,8	81,6
	f2	11,2	35,2	53,6	71,2
	J/III	8,4	38,0	70,4	76,8
	36	8,8	40,4	64,0	82,8
	I	12,0	39,2	60,0	72,8
21	KNA1	8,8	32,4	56,0	86,4
	42	8,4	35,2	54,4	94,4
	558	8,0	42,4	62,4	82,4
	100J	9,6	43,6	68,8	94,4
	BN	9,2	34,4	70,4	80,8
	BD	10,0	44,8	63,2	91,2
	f2	10,0	40,4	60,8	80,0
	J/III	8,0	41,6	66,4	91,2
	36	8,0	44,0	68,0	96,8
	I	11,6	41,2	58,4	82,4



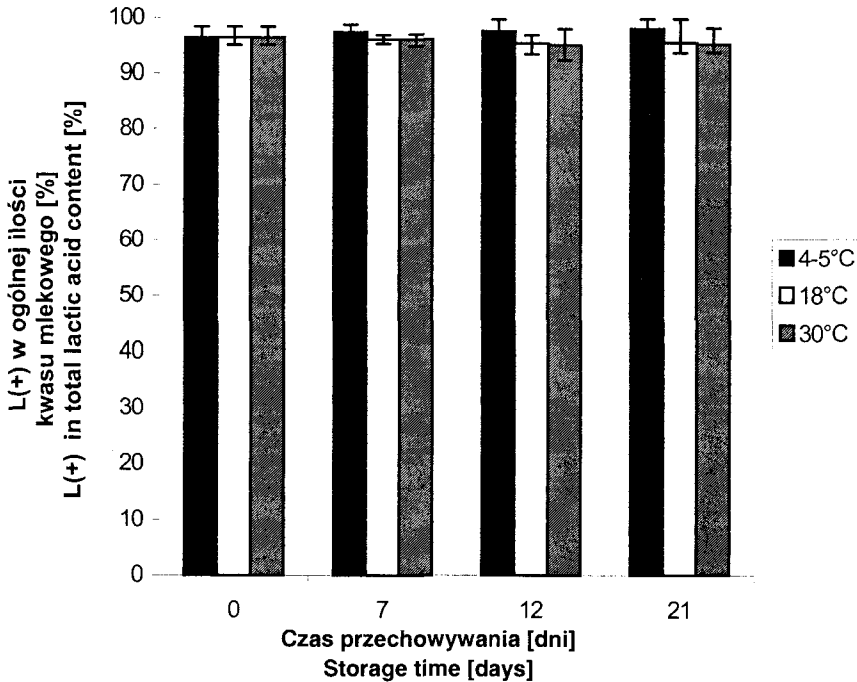
Rys. 3. Liczba bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w mleku ukwaszonym przechowywanym w temperaturze 18°C.

Fig. 3. Number of viable *Bifidobacterium* strains in fermented milk stored at 18°C.



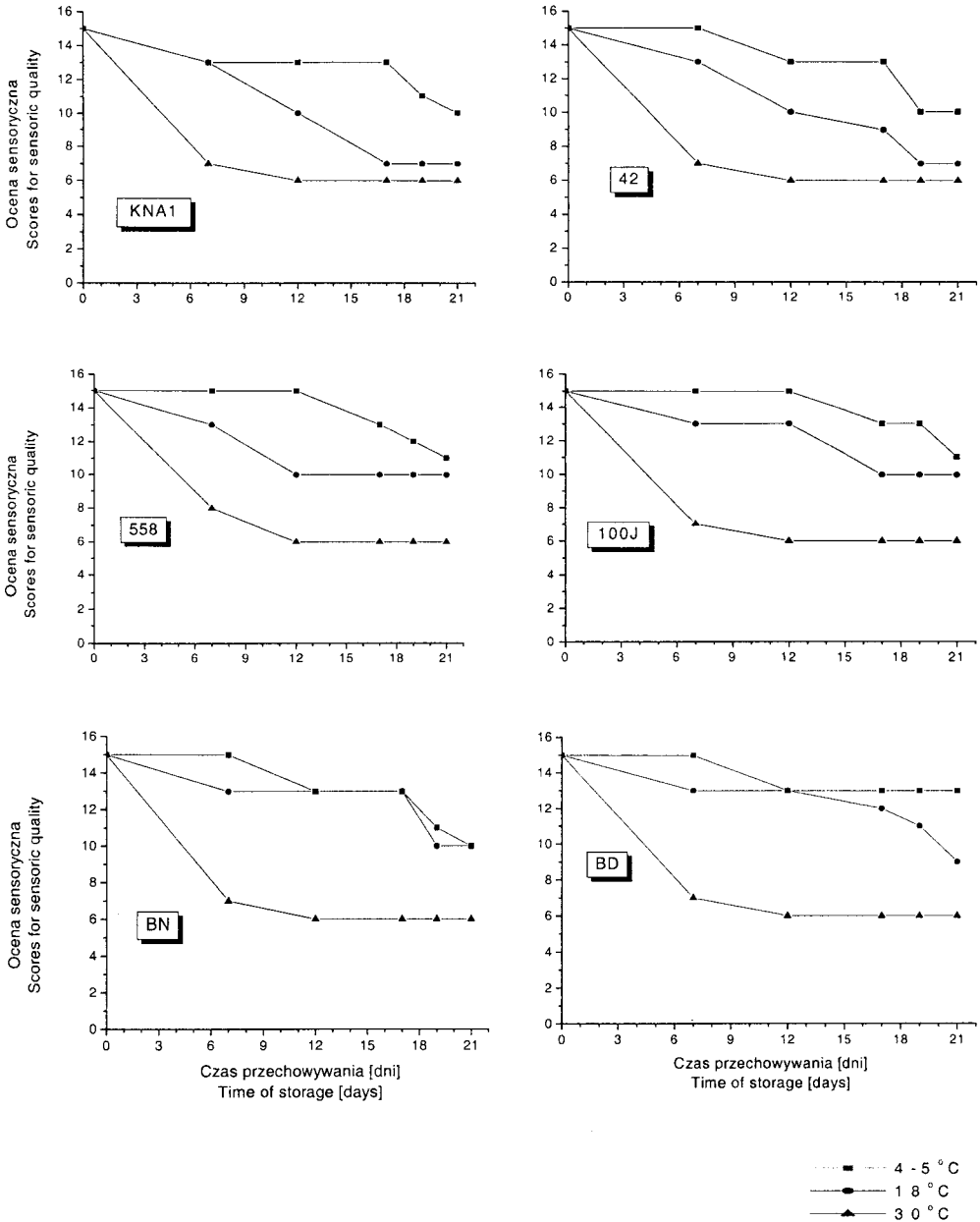
Rys. 4. Liczba bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w mleku ukwaszonym przechowywanym w temperaturze 30°C.

Fig. 4. Number of viable *Bifidobacterium* strains in fermented milk stored at 30°C.

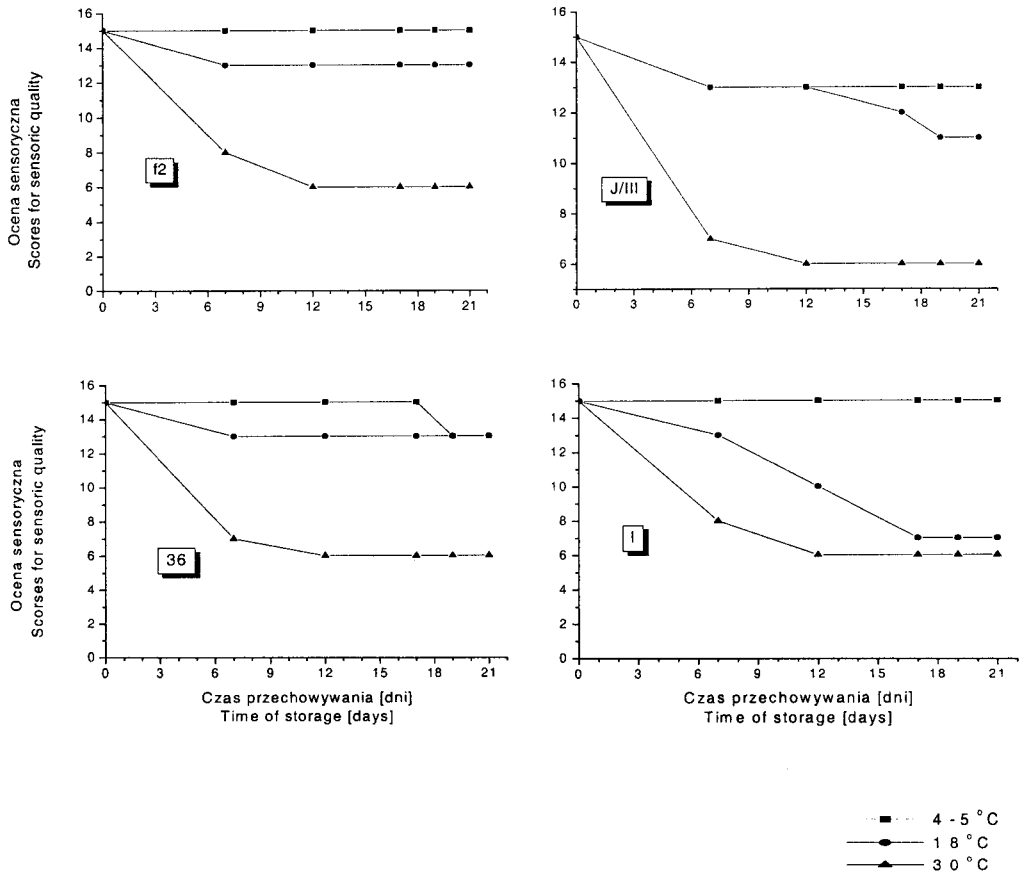


Rys. 5. Zmiany zawartości kwasu L(+) mlekowego podczas 21-dniowego przechowywania mleka fermentowanego przez bakterie z rodzaju *Bifidobacterium*.

Fig. 5. Changes in L(+) lactic acid content during 21 days' storage of milk fermented by various *Bifidobacterium* strains.



Rys. 6a. Ocena sensoryczna bifidusowego mleka fermentowanego przechowywanego przez 21 dni.
 Fig. 6a. Sensory assessment of bifidus fermented milk stored for 21 days.



Rys. 6b. Ocena sensoryczna bifidusowego mleka fermentowanego przechowywanego przez 21 dni.
 Fig. 6a. Sensory assessment of bifidus fermented milk stored for 21 days.

Wysoka przeżywalność komórek bifidobakterii w mleku nieukwaszonym oraz ukwaszonym w różnych warunkach przechowalniczych wskazuje, na co najmniej 21 dniową stabilność produktów mlecznych wyprodukowanych z udziałem badanych bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. Warunkiem jest jednak zabezpieczenie chłodniczych warunków przechowywania (4–5°C), tak, aby nie dopuścić do nadmiernego wzrostu kwasowości mleka.

Po każdym okresie przechowywania dokonywano oceny sensorycznej mleka fermentowanego. Obok kwasowości, ocena sensoryczna jest najważniejszym kryterium jakościowym napojów fermentowanych. Wyróżnikami jakościowymi były: wygląd, barwa, smak i konsystencja. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że bardzo dobrą jakością charakteryzowały się wszystkie próbki bezpośrednio po ukwa-

szczeniu. W mleku fermentowanym, przechowywanym przez 21 dni w temperaturze 4–5°C utrzymywała się wysoka przeżywalność bifidobakterii, wzrost kwasowości był niewielki, a ocena sensoryczna prób wysoka. W początkowym okresie przechowywania próby cechowały się skrzepem zwartym i jednolitą gęstą konsystencją (tab. 5). Z upływem czasu, w próbach przechowywanych w temperaturach 18 i 30°C, stwierdzono widoczną niejednorodność skrzepu, a konsystencja przybrała formę rozrzedzoną. Ocena prób przechowywanych w temperaturze 18°C i 30°C była także niższa ze względu na znaczne pogorszenie walorów smakowo-zapachowych (tab. 6, 7). Z tego powodu wszystkie próby przechowywane w temperaturze 30°C zostały zdyskwalifikowane już po 12 dniach przechowywania.

W mleku fermentowanym, przechowywanym przez 21 dni w temperaturze 4–5°C, utrzymywała się wysoka przeżywalność bifidobakterii, wzrost kwasowości był niewielki, a ocena sensoryczna prób bardzo wysoka. Dlatego należy przyjąć, że temperatura 4–5°C w pełni zabezpiecza wartość zarówno nieukwaszonego jak i ukwaszonego mleka bifidusowego.

Wnioski

1. W mleku ukwaszonym badanymi szczepami bifidobakterii, liczba żywych bakterii była wysoka i wynosiła około 10^8 jtk/ml. Liczba ta nie ulega istotnej zmianie podczas 21 dni przechowywania produktu, niezależnie od warunków przechowywania.
2. Przeżywalność bifidobakterii, w nieukwaszonym mleku bifidusowym, przechowywanym przez 21 dni w temperaturze 4–5°C, wynosiła od 89,2% (f2) do 97,3% (558) i kształtowała się na poziomie 10^7 jtk/ml. Produkt spełniał więc wymagania stawiane przez Światową Organizację Zdrowia.
3. Wszystkie badane szczepy produkują prawie wyłącznie izomer L(+) kwasu mlekowego. Udział procentowy tego kwasu w całej puli kwasu mlekowego wynosił po 21 dniach, niezależnie od warunków przechowywania, powyżej 90%.
4. Przechowywanie fermentowanego mleka bifidusowego w temperaturze pokojowej niekorzystnie wpłynęło na jego walory smakowo-zapachowe i zdyskwalifikowało produkt.
5. Fermentowane mleko bifidusowe, przechowywane w temperaturze 4–5°C charakteryzowało się bardzo dobrymi i dobrymi cechami sensorycznymi do 17 dnia przechowywania. Po tym okresie występowały istotne wady, przede wszystkim smaku i konsystencji. Czas trwałości fermentowanego mleka bifidusowego należy zatem ograniczyć do 17 dni. Najwyższą ocenę sensoryczną uzyskało mleko fermentowane przez szczep f2 i I.

6. Chłodnicze przechowywanie bifidusowego mleka ukwaszonego zapewniało kwasowość miareczkową mieszczącą się w granicach 30-46°SH, co zagwarantowało czysto kwaśny smak produktu. Przechowywanie w podwyższonej temperaturze, 18°C i 30°C, powodowało wzrost kwasowości miareczkowej odpowiednio do 54,4–70,4-SH (18°C) i do 80,0-94,4°SH (30°C) po 21 dniach przechowywania, co było przyczyną zbyt kwaśnego smaku i wad konsystencji.

Literatura

- [1] Alm. L.: Therapeutic properties of fermented milks, Wyd. Elsevier Applied Sci., Londyn, 1991, 45-64.
- [2] Biulletin FIL/IDF Doc 255/1991. Cultured dairy foods in human nutrition. Dietary calcium and health.
- [3] Biulletin FIL/IDF Doc 159/1983. Cultured dairy foods in human nutrition.
- [4] Codex Alimentarius FAO/WHO.: Standard No. A-11/a/, 1975.
- [5] Jakubczyk E., Kosikowska M.: Odżywcze i terapeutyczno-profilaktyczne wartości mlecznych napojów fermentowanych, *Przeg. Mlecz.*, 7, 1994, 159-164.
- [6] Klupsch H. J.: *Europen Dairy Magazine*, 1, 1989.
- [7] Kołożyn-Krajewska D, Libudziś Z.: Jakość mikrobiologiczna żywności funkcjonalnej w aspekcie jej zdrowotności, *Żywność. Nauka. Technologia., Jakość*, 4 (21) **Supl.**, 1999, 40-52.
- [8] Kurmann J. A.: Therapeutic properties of fermented milks, Wyd. Elsevier Applied Sci., Londyn, 1991, 117-159.
- [9] Kurmann J.A., Rasic J.L.: Technology of fermented special products. *Biulletin FIL/IDF*, 227, 1988, 101.
- [10] Lónnerdal B.: Milk and Health, *Proceedings of 25th International Dairy Federation 1998*, 36.
- [11] Questionnaire FIL/IDF No 2092/D, 1992, IX.
- [12] ZN-96/LSM-14: Mleko acidofilne.

CHANGES IN SELECTED QUALITY FACTORS OF NON-FERMENTED AND FERMENTED BIFIDUS MILK DURING STORAGE

S u m m a r y

The aim of the study was to evaluate selected quality factors, such as: sensory value, L(+)lactic acid content, titratable acidity and survival rate of 10 *Bifidobacterium* strains, during 21 days' storage, in non-fermented and fermented bifidus milk.

The results of the studies show that good quality of bifidus milk can be maintained only in cold storage.

All the studied strains produce nearly nothing but L(+) lactic acid. After 21 days the percentage of this acid in the total amount of lactic acid exceeds 90%, independently of storage conditions. ☒