

MARTA POPIELARCZYK, MARTA CZARNOWSKA-KUJAWSKA,  
BEATA PASZCZYK, MAŁGORZATA STAROWICZ

## WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE, PRZECIWIUTLENIAJĄCE I SENSORYCZNE NAPOJU SOJOWEGO TYPU KOMBUCHA

### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Fermentacja z użyciem kultury SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts) i powstałe w ten sposób napoje typu kombucha stale zyskują na popularności z uwagi na atrakcyjne cechy sensoryczne, a także potencjalnie wyższą zawartość składników bioaktywnych. W doświadczeniu poddano fermentacji z użyciem kombuchy napój sojowy. Celem badawczym była ocena wybranych właściwości prozdrowotnych otrzymanego napoju po fermentacji w oparciu o jego aktywność przeciwutleniającą, profil kwasów tłuszczowych, zawartość wybranych składników mineralnych, a także właściwości sensorycznych.

**Wyniki i wnioski.** Wykazano istotny statystycznie ( $p < 0,05$ ) wzrost właściwości przeciwutleniających mierzonych testami PCL i DPPH<sup>\*</sup>, porównując napój sojowy przed fermentacją i po niej. Zmiany po fermentacji zaobserwowano także w profilu kwasów tłuszczowych, do ich zbadania wykorzystano metody Folcha, IDF oraz GC-FID. Odnotowano istotne obniżenie ( $p < 0,05$ ) sumarycznej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) oraz istotny wzrost ( $p < 0,05$ ) zawartości monoenurowych kwasów tłuszczowych (MUFA). Składniki mineralne oznaczono techniką emisji płomieniowej acetylen-powietrze, przy użyciu płomieniowego spektrometru absorpcji atomowej oraz spektrofotometru VIS 6000. Napój sojowy po fermentacji charakteryzował się istotnie niższą ( $p < 0,05$ ) zawartością składników mineralnych, takich jak Cu, Fe, Zn, Mg, Ca, Na, P. Istotnie wyższa ( $p < 0,05$ ) była jedynie zawartość Mn. Analizę sensoryczną przeprowadził 10-osobowy zespół oceniających o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej metodą profilowania różnicowego z użyciem skali liniowej dwubiegunowej w porównaniu z próbką standardową (napoju niepoddanego fermentacji). Fermentowany napój sojowy zyskał bardziej intensywny smak oraz zapach, a także bardziej gęstą przypominającą jogurt konsystencję.

**Słowa kluczowe:** kombucha, napój sojowy, kwasy tłuszczowe, aktywność antyoksydacyjna, składniki mineralne

---

*Inż. M. Popielarczyk; dr inż. M. Czarnowska-Kujawska ORCID: 0000-0003-1547-2409, dr inż. B. Paszczyk ORCID: 0000-0003-1773-9357, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie, Plac Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn; dr M. Starowicz ORCID: 0000-0001-6053-2250, Zakład Chemii i Biodynamiki Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn. Kontakt: email: m.popielarczyk@student.uwm.edu.pl*

## Wprowadzenie

Kombucha to słodzona herbata, tradycyjnie czarna lub zielona, fermentowana przy użyciu kultury SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts). Napój wciąż zyskuje na popularności dzięki swoim potencjalnym właściwościom antyoksydacyjnym, antynowotworowym, przeciwdrobnoustrojowym, czy przeciwzapalnym, a także zdolności do obniżania poziomu cholesterolu i zmniejszenia ryzyka występowania chorób neurodegeneracyjnych [1, 10, 16, 30]. Napój kombucha został uznany w 2018 roku za najpopularniejszy niskoalkoholowy napój fermentowany na świecie [19], którego wartość sprzedaży na rynku w 2021 roku wynosiła aż 2,6 biliona dolarów [11]. Kultura SCOBY przyjmuje postać galaretowatej celulozowej struktury, unoszącej się na powierzchni napoju [18]. W skład kultury symbiotycznej wchodzi, między innymi, bakterie kwasu octowego, bakterie kwasu mlekowego oraz drożdże [13, 29]. Pozytywny wpływ na zdrowie człowieka wynika nie tylko z obecności w fermentowanych napojach mikroorganizmów, ale także z ich aktywności metabolicznej podczas fermentacji takich składników, jak związki fenolowe, witaminy (B, C) czy kwasy organiczne. Korzystna jest również aktywność probiotyczna mikroorganizmów oraz obecność enzymów mikrobiologicznych i białek [1, 10, 16, 22, 30].

Bardzo istotny jest sam proces fermentacji, który ma szczególny wpływ na zawartość w gotowym produkcie związków, które wykazują korzystne oddziaływanie na funkcjonowanie organizmu. Wykazano, że przebieg procesu fermentacji może wpływać na koncentrację kwasów fenolowych odpowiedzialnych za aktywność przeciwutleniającą. Udowodniono, że napój kombucha posiada wysoki potencjał antyoksydacyjny, zależny od czasu fermentacji oraz pochodzenia, co może mieć związek z cechami prozdrowotnymi napoju [6, 10, 16]. Dodatkowo stwierdzono, iż w herbatach zielonych po fermentacji zwiększyła się zawartość kwasów fenolowych, natomiast zmniejszyła – zawartość flawonoidów [10]. Ponadto udowodniono pozytywną korelację między całkowitą zawartością polifenoli, a aktywnością przeciwutleniającą wobec wolnych rodników DPPH dla czerwonych i zielonych herbat [16]. Generalnie stwierdza się, że parametry, takie jak: czas i warunki fermentacji, rodzaj i skład surowców użytych do produkcji napojów, skład mikrobiologiczny, a nawet lokalizacja, w której prowadzony jest eksperyment, mają wpływ na aktywność metaboliczną kultury SCOBY w fermentowanym napoju kombucha, a w związku z tym na różnorodność i bogactwo jego składu [18].

Dlatego prowadzone są badania nad nowymi napojami fermentowanymi z użyciem SCOBY, w których nie tylko herbata jest surowcem do ich produkcji [30]. W ostatnich latach badacze podejmowali próby fermentowania kulturą SCOBY, m.in., naparów ziołowych, soków owocowych, wina, kawy, serwatki, a nawet mleka krowiego, czy napoju typu *Coca-Cola*, otrzymując nowe napoje o zmienionych cechach sensorycznych, fizykochemicznych i prozdrowotnych [1, 24]. Ciekawym przykładem jest

wykorzystanie naparu kombucha do fermentacji mleka. Vitas i wsp. [27] wykazali, że rodzaj użytego starteru wpływał na zawartość przeciwutleniaczy w fermentowanym napoju mlecznym. Dodatkowo napój po fermentacji odznaczał się wyższą zawartością witaminy C, co wskazuje na zdolność kultury SCOBY do syntetyzowania tej witaminy [27].

W związku z powyższym, celem badań była ocena wybranych właściwości prozdrowotnych, w tym aktywności przeciwutleniającej, profilu kwasów tłuszczowych, zawartości składników mineralnych i jakości sensorycznej fermentowanego kulturą startową SCOBY napoju sojowego.

## **Materiał i metody badań**

### *Materiały i odczynniki*

Materiały potrzebne do wyprodukowania napoju sojowego typu kombucha (napój sojowy, zielona herbata liściasta, cukier) zostały zakupione w lokalnym sklepie w Olsztynie. Kulturę startową SCOBY pozyskano ze sklepu internetowego (z siedzibą w Łodzi), prowadzącego własną hodowlę i specjalizującego się sprzedażą starterów mikrobiologicznych.

Do wykonania metody fotochemiluminescencyjnej (ang. Photochemiluminescence, PCL) zakupiono zestawy do badania przeciwutleniaczy rozpuszczalnych w wodzie (water-soluble antioxidants, ACW) i rozpuszczalnych w lipidach (lipid-soluble antioxidants, ACL) z firmy Analytik Jena (Jena, Niemcy), natomiast 2,2'-difenylo-1-pikrylohydrazyl (DPPH) i Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) dostarczono z firmy Sigma Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Wzorce estrów metylowych kwasów tłuszczowych zakupiono od Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) i Supelco (Bellefonte, PA, USA). Uwodniony chlorek lantanu ( $\text{Cl}_3\text{La} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) do oznaczania zawartości składników mineralnych zakupiono w firmie Merck (Darmstadt, Niemcy), natomiast molibdenian amonu(VI), siarczan sodu(IV) i hydrochinon zakupiono w firmie „POCH” SA (Gliwice, Polska).

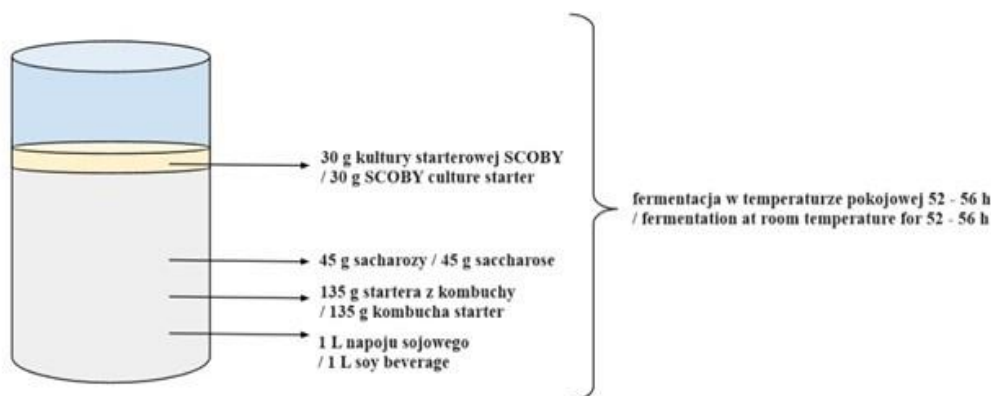
Pozostałe odczynniki użyte w doświadczeniach odznaczały się co najmniej czystością analityczną i zostały zakupione w firmie Merck (Darmstadt, Niemcy) oraz „POCH” S.A. (Gliwice, Polska).

### *Produkcja fermentowanego napoju sojowego typu kombucha*

W pierwszym etapie przygotowano napar kombucha z zielonej herbaty, który wykorzystano później jako starter przy fermentacji napoju sojowego. Do przygotowanego wcześniej naczynia odmierzone 10 g zielonej liściastej herbaty i zalano 1 dm<sup>3</sup> gorącej wody. Napar odcedzono po 5 minutach i dosłodzono 80 g sacharozy. Gdy napar osiągnął temperaturę pokojową, wprowadzono kulturę SCOBY i herbatę kombucha z innego nastawu. Naczynie przykryto materiałem przepuszczającym powietrze, chro-

niącym przed zanieczyszczeniami oraz owadami. Napój pozostawiono do fermentacji na 7 dni w temperaturze pokojowej. Po tym czasie barwa naparu zmieniła się na jaśniejszą, zauważalne były pęcherzyki powietrza. Na całej powierzchni styku płynu z powietrzem pojawiła się nowa struktura SCOBY.

W kolejnym etapie przeprowadzono fermentację napoju sojowego (Ryc. 1). Przygotowano naczynia, do których odmierzone po 1 dm<sup>3</sup> napoju sojowego, dodano 45 g sacharozy i 135 g naparu kombucha z wcześniejszego etapu i całość mieszano do rozpuszczenia cukru. Następnie dodano 30 g kultury SCOBY, używanej w poprzednim etapie do fermentacji zielonej herbaty. Naczynie przykryto materiałem przepuszczającym powietrze i pozostawiono w temperaturze pokojowej do osiągnięcia pH powyżej 4 – pomiaru dokonano przy pomocy pH-metru ręcznego (HI98100, Hanna Instruments; Woonsocket, USA). Gotowe produkty zostały poddane ocenie sensorycznej oraz analizie składu chemicznego.



Rycina 1. Sposób przygotowania napoju sojowego fermentowanego z użyciem kultury SCOBY i starteru w postaci naparu kombucha z zielonej herbaty

Figure 1. Preparation of soy-based fermented beverage using SCOBY culture and green tea kombucha as a starter

#### *Analiza aktywności antyoksydacyjnej*

Do określenia zdolności wychwytywania anionorodnika ponadtlenkowego ( $O_2^{\cdot-}$ ) przez napoje typu kombucha wykorzystano metodę fotochemiluminescencji (PCL). Analizę przeprowadzono przy użyciu aparatu Photochem® (Analytik Jena, Jena, Niemcy) na podstawie metodyki opracowanej przez Zielińskiego i wsp. [29]. Próbkę rozcieńczono metanolem w metodzie ACL lub buforem w przypadku ACW. Jako standard stosowano Troloks ( $R^2 = 0,9942$  w metodzie ACW;  $R^2 = 0,9899$  – ACL). Wyniki obliczono jako  $\mu\text{mol}$  równoważnika Troloks/cm<sup>3</sup> próbki.

Określono również zdolność napojów kombucha do wychwytywania stabilnego rodnika DPPH<sup>•</sup>, poprzez pomiar absorbancji za pomocą czytnika mikroplętek (Infinite

M1000 Pro Multimode Microplate Reader, Tecan, Austria). Procedurę DPPH<sup>\*</sup> zaczerpnięto z badań Horszwald i Andlauer [13]. W celu pomiaru 20  $\mu\text{L}$  odpowiednio rozcieńczonej próbki, próby ślepej lub standardu (Troloks) dodano do 300  $\mu\text{L}$  roztworu DPPH (absorbancja wynosi około 0,958 przy 517 nm). 80-procentowy metanolewy roztwór DPPH<sup>\*</sup> przygotowano świeżo przed analizą. Absorbancję mierzono przy długości fali 517 nm po uprzedniej inkubacji mieszaniny w temperaturze pokojowej i ciemności przez 30 minut. Wyznaczono krzywą kalibracyjną dla Troloksu ( $R^2 = 0,994$ ) a wyniki przeliczono na mg równoważnika Troloksu/100  $\text{cm}^3$  próbki.

#### *Oznaczanie profilu kwasów tłuszczowych*

W celu określenia składu kwasów tłuszczowych z badanych napojów wydzielono tłuszcz metodą Folcha [21]. Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowano zgodnie z metodą Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej (IDF) [14]. Zawartość kwasów tłuszczowych oznaczono metodą GC-FID. W tym celu wykorzystano chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym FID, kolumnę kapilarną 100 m, średnicą wewnętrzną 0,25 mm o grubości filmu 0,20  $\mu\text{m}$  (Chrompack, Middelburg, Holandia), z fazą stacjonarną CPSil 88. Warunki rozdzielania były następujące: temperatura kolumny od 60  $^{\circ}\text{C}$  (przez 1 min) do 180  $^{\circ}\text{C}$ , przyrost temperatury  $\Delta t = 5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ; temperatura detektora: 250  $^{\circ}\text{C}$ ; temperatura dozownika: 225  $^{\circ}\text{C}$ ; gaz nośny: hel, prędkość przepływu: 1,5 mL/min, split 50:1. Poszczególne kwasy tłuszczowe zidentyfikowano poprzez porównanie pików względnego czasu retencji ze znanymi standardami Sigma i Supelco oraz na podstawie danych literaturowych. Metodę szczegółowo opisano w pracy Czarnowskiej Kujawskiej i Paszczyk [7, 8].

#### *Oznaczanie zawartości składników mineralnych*

Zawartość poszczególnych składników mineralnych oznaczono metodą opisaną wcześniej przez Klepacką i wsp. [20] oraz Czarnowską-Kujawską i wsp. [8, 9]. Sód (Na) i potas (K) oznaczono techniką emisji płomieniowej acetylen-powietrze (spektrometr absorpcji atomowej Thermo iCE 3000 Series, Waltham, MA, USA., wyposażony w lampę deuterową jako korektę tła i odpowiednie lampy katodowe). Oznaczenia miedzi (Cu), manganu (Mn), żelaza (Fe), cynku (Zn), magnezu (Mg) i wapnia (Ca) wykonano przy użyciu płomieniowego spektrometru absorpcji atomowej (Thermo iCE 3000 Series; Madison, WI, USA). Parametry urządzeń (powietrze, acetylen, optyka i elektronika) zostały dostosowane do osiągnięcia maksymalnej absorpcji dla każdego pierwiastka. Pomiar przeprowadzono przy następujących długościach fal: Na (589,0 nm), K (766,5 nm), Cu (324,8 nm), Mn (279,5 nm), Fe (248,3 nm), Zn (213,9 nm), Mg (285,2 nm) i Ca (422,7 nm). Oznaczanie zawartości fosforu (P) przeprowadzono metodą kolorymetryczną z molibdenianem (VI) amonu, siarczanem (IV) sodu i hydrochinonem. Molibdenian (VI) amonu przekształcono w fosfomolibdeniany,

które następnie zredukowano do błękitu fosfomolibdenowego przy użyciu siarczanu (IV) sodu i hydrochinonu. Analizę przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru VIS 6000 (KRÜSS-OPTRONIC, Hamburg, Niemcy) ustawionego na 610 nm.

#### *Analiza sensoryczna*

Ocena sensoryczna napoju sojowego po fermentacji została przeprowadzona metodą profilowania różnicowego z użyciem skali liniowej dwubiegunowej w porównaniu z próbką standardową [2], czyli napojem niepoddanym fermentacji. Oceniano następujące wyróżniki jakości sensorycznej: barwę (jaśniejsza/ ciemniejsza w porównaniu ze standardem), konsystencję (mniej gęsta/ bardziej gęsta w porównaniu ze standardem), smak (mniej intensywny/ bardziej intensywny od standardu) oraz zapach (mniej intensywny/ bardziej intensywny od standardu). Ocenę sensoryczną przeprowadził 10-osobowy zespół oceniających o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej w pracowni analizy sensorycznej spełniającej wymagania normy – PN-EN ISO 8589:2010 [25]. Wyniki przedstawiono jako średnie arytmetyczne ocenianych cech sensorycznych na wykresie radarowym (Wykres 1).

#### *Analiza statystyczna*

Wszystkie wyniki przedstawiono jako średnią  $\pm$  odchylenie standardowe z trzech powtórzeń. Poziom istotności statystycznej różnic pomiędzy średnimi analizowano metodą jednoczynnikowej analizy ANOVA oraz testem Duncana przy użyciu oprogramowania Statistica w wersji 13.2 (StatSoft; Kraków, Polska).

### **Wyniki i dyskusja**

#### *Ocena pH i aktywności przeciwutleniającej*

Wartość pH napoju sojowego przed fermentacją była neutralna (6,5). Tak jak wykazano we wcześniejszych badaniach nad napojami mlecznymi oraz napojami pochodzenia roślinnego typu kombucha [24, 28], wraz z czasem fermentacji maleje wartość pH. Po upływie 56 h fermentacji napoju sojowego wartość pH wynosiła 4,11.

W celu pomiaru aktywności przeciwutleniającej napojów sojowych wykorzystano metodę fotochemiluminescencji (PCL) mierzącą zdolność hydrofilowych i lipofilowych przeciwutleniaczy do wychwytywania generowanych przez aparat PHOTOCHEM<sup>®</sup> anionorodników ponadtlenkowych ( $O_2^{\cdot-}$ ). Obliczono również wartości PCL, będącego sumą wyników dla pomiarów ACW i ACL (Tabela 1). W uzyskanych badaniach wyższe wartości zdolności do wychwytywania rodników  $O_2^{\cdot-}$  stwierdzono w napoju sojowym po procesie fermentacji. Odnotowano istotny statystycznie wzrost ( $p < 0,05$ ) wartości ACW (około 2,6-krotny). Porównywalny wzrost właściwości przeciwutleniających uzyskano dla napoju herbacianego przed fermentacją i po niej [15]. Z kolei dla testu ACL zaobserwowano 10-procentowy wzrost wartości przeciwutlenia-

jących ( $p < 0,05$ ). Sumaryczny PCL wzrósł z wartości 5,21 dla napoju przed fermentacją do  $9,37 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$  po fermentacji (wzrost o 55 %). Badany fermentowany napój sojowy wykazywał w testach ACW i ACL wyższą aktywność przeciwutleniającą niż napój kombucha przygotowywany na bazie herbaty zielonej czy też białej [16].

Tabela 1. Aktywność przeciwutleniająca mierzona metodami PCL i DPPH

Table 1. Antioxidant activity measured by PCL and DPPH methods

Próbki / Samples	Napój sojowy przed fermentacją / Soy beverage before fermentation	Napój sojowy po fermentacji / Soy beverage after fermentation
ACW [ $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ ]	$2,29^b \pm 0,15$	$6,09^a \pm 0,46$
ACL [ $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ ]	$2,92^a \pm 0,19$	$3,27^a \pm 0,14$
PCL (ACW+ACL) [ $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ ]	$5,21^b \pm 0,34$	$9,37^a \pm 0,60$
DPPH [ $\text{mg}/100 \text{ cm}^3$ ]	$5,36^b \pm 0,07$	$12,55^a \pm 0,40$

Objaśnienia / Explanatory notes:

ACW: przeciwutleniacze rozpuszczalne w wodzie / water-soluble antioxidants; ACL: przeciwutleniacze rozpuszczalne w tłuszczach / lipid-soluble antioxidants. Wyniki przedstawiono jako średnie z trzech powtórzeń  $\pm$  odchylenie standardowe. Średnie wartości dla napojów przed fermentacją i po niej z różnymi małymi literami w tym samym wierszu różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) zgodnie z testem Duncan'a / Results are presented as averages of three replicates  $\pm$  standard deviation. Mean values for pre- and post-fermentation beverages with different lowercase letters in the same row are statistically significantly different ( $p < 0.05$ ) according to Duncan's test.

Do pomiaru aktywności przeciwutleniającej napoju sojowego wykorzystano również test zdolności wychwytywania rodników DPPH (Tabela 1). Dla napoju sojowego przed fermentacją wartość DPPH wyniosła  $5,36 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ . Zaobserwowano istotny statystycznie wzrost ( $p < 0,05$ ) zdolności przeciwutleniających po procesie fermentacji. Według testu DPPH, aktywność przeciwutleniająca wzrosła ponad dwukrotnie. Wyniki te są zgodne z wynikami Tu i wsp. [26], którzy udowodnili, że fermentacja serwatki sojowej znacznie wpłynęła na wzrost aktywności przeciwutleniającej. Wzrost aktywności przeciwutleniającej związany jest zarówno z przeprowadzonym procesem fermentacji, jak również z zastosowaniem naparu zielonej herbaty, będącym jednocześnie bogatym źródłem związków bioaktywnych [16]. Uzyskane wyniki wskazują na otrzymanie fermentowanego napoju o podwyższonych właściwościach przeciwutleniających, co za tym idzie, o wysokim potencjale prozdrowotnym.

#### Analiza kwasów tłuszczowych

Zmiany zawartości kwasów tłuszczowych w napoju sojowym i napoju sojowym po fermentacji grzybkami herbacianymi przedstawiono w Tabeli 2. Przeprowadzone badania wykazały, że fermentacja spowodowała istotny ( $p < 0,05$ ) spadek sumarycznej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) z  $315,24 \text{ mg}/100 \text{ g}$  do

301,46 mg/100 g. W tej grupie kwasów istotny spadek zaobserwowano w przypadku kwasów C12:0, C14:0 oraz C16:0. Proces fermentacji spowodował istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost zawartości monoenowych kwasów tłuszczowych (MUFA). Sumaryczna zawartość tej grupy kwasów tłuszczowych w napoju sojowym wynosiła 327,89 mg/100 g, a w napoju sojowym po fermentacji – 340,01 mg/100 g. W tym przypadku największe zmiany zaobserwowano w zawartości kwasu oleinowego C18:1 *cis*9. Zawartość tego kwasu w napoju sojowym wynosiła 297,45 mg/100 g, w napoju sojowym po fermentacji była istotnie wyższa ( $p < 0,05$ ), 309,02 mg/100 g.

Tabela 2. Wpływ procesu fermentacji na zawartość kwasów tłuszczowych w analizowanych napojach  
Table 2. Effect of fermentation process on the content of fatty acids in tested beverages

Kwasy tłuszczowe / Fatty acids	Napój sojowy przed fermentacją / Soy beverage before fermentation	Napój sojowy po fermentacji / Soy beverage after fermentation
	[mg/100 g]	
C12:0	1,85 <sup>a</sup> ± 0,09	0,69 <sup>b</sup> ± 0,16
C14:0	3,04 <sup>a</sup> ± 0,13	1,59 <sup>b</sup> ± 0,03
C16:0	221,44 <sup>a</sup> ± 2,42	211,06 <sup>b</sup> ± 1,02
C16:1	1,26 <sup>a</sup> ± 0,03	1,31 <sup>a</sup> ± 0,06
C17:0	2,08 <sup>a</sup> ± 0,05	1,96 <sup>a</sup> ± 0,10
C17:1	0,66 <sup>a</sup> ± 0,01	0,84 <sup>a</sup> ± 0,13
C18:0	74,82 <sup>a</sup> ± 0,15	73,96 <sup>a</sup> ± 0,08
C18:1 <i>cis</i> 9	297,45 <sup>b</sup> ± 0,60	309,02 <sup>a</sup> ± 0,47
C18:1 <i>cis</i> 11	25,94 <sup>a</sup> ± 0,28	26,39 <sup>a</sup> ± 0,47
C18:1 <i>cis</i> 13	0,83 <sup>a</sup> ± 0,08	0,62 <sup>a</sup> ± 0,10
C18:2	967,22 <sup>a</sup> ± 0,80	968,20 <sup>a</sup> ± 0,98
C20:0	6,04 <sup>a</sup> ± 0,21	6,08 <sup>a</sup> ± 0,14
C20:1	1,74 <sup>a</sup> ± 0,03	1,83 <sup>a</sup> ± 0,10
C18:3	152,85 <sup>b</sup> ± 0,20	153,53 <sup>a</sup> ± 0,18
C22:0	5,98 <sup>a</sup> ± 0,35	6,12 <sup>a</sup> ± 0,05
Σ SFA	315,24 <sup>a</sup> ± 1,94	301,46 <sup>b</sup> ± 0,74
Σ MUFA	327,89 <sup>b</sup> ± 0,96	340,01 <sup>a</sup> ± 0,74
Σ PUFA	1120,07 <sup>a</sup> ± 0,99	1121,73 <sup>a</sup> ± 0,83

Objaśnienia/ Explanatory notes:

Σ SFA – sumaryczna zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych / total saturated fatty acid content; Σ MUFA – sumaryczna zawartość monoenowych kwasów tłuszczowych / total content of monoenic fatty acids; Σ PUFA – sumaryczna zawartość polienowych kwasów tłuszczowych / total polyene fatty acid content. Wyniki przedstawiono jako średnie z trzech powtórzeń ± odchylenie standardowe. Średnie wartości dla napojów przed fermentacją i po niej z różnymi małymi literami w tym samym wierszu różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) zgodnie z testem Duncana / Results are presented as averages of three replicates ± standard deviation. Mean values for pre- and post-fermentation beverages with different lowercase letters in the same row are statistically significantly different ( $p < 0.05$ ) according to Duncan's test.



Przeprowadzone badania wykazały, że proces fermentacji z użyciem grzybka herbacianego nie spowodował istotnych zmian w sumarycznej zawartości polienowych kwasów tłuszczowych (PUFA) (Tabela 2). Zmiany w składzie i zawartości niektórych kwasów tłuszczowych podczas fermentacji mleka krowiego inokulum kombucha z herbatami zielowymi w różnych temperaturach fermentacji wykazali Brezo i wsp. (2011) [5] oraz Malbaša i wsp. [23]. Autorzy podają, że temperatura fermentacji i sposób przygotowania kombuchy wpływają na profil kwasów tłuszczowych produktów fermentowanych. Zaobserwowane w badaniach zmiany w profilu kwasów tłuszczowych, utrzymanie zawartości kwasów PUFA na stałym poziomie, istotny wzrost zawartości kwasów MUFA oraz spadek zawartości kwasów SFA w napojach po fermentacji SCOBY, są korzystne z żywieniowego punktu widzenia. Dane na temat składu kwasów tłuszczowych napojów fermentowanych SCOBY są jeszcze ograniczone, co wskazuje na potrzebę dalszych badań w tym obszarze.

#### *Analiza zawartości składników mineralnych*

W badanych próbkach napoju sojowego przed fermentacją w największych ilościach występowały potas (263,9 mg/ 100 g) oraz wapń (151,8 mg/ 100 g), podczas gdy miedź i mangan występowały w najmniejszych ilościach, odpowiednio 110,2 µg/100 g i 113,1 µg/100 g (Tabela 3). Fermentacja z użyciem grzybka herbacianego spowodowała istotny ( $p < 0,05$ ) spadek zawartości wszystkich oznaczanych składników mineralnych za wyjątkiem manganu. W tym wypadku odnotowano blisko 10-procentowy wzrost zawartości tego pierwiastka, co może wynikać z jego wysokiej zawartości w naparze z zielonej herbaty używanym jako starter do fermentacji. Wcześniejsze badania [20] wykazały, że ten typ naparu zawiera 512 µg manganu w 100 cm<sup>3</sup>. Wzrost zawartości manganu podczas fermentacji kombuchy został również potwierdzony w innych badaniach [3, 4], w których dodatkowo zaobserwowano, że tempo zmian jego zawartości zależy od rodzaju kultury starterowej użytej do fermentacji, czasu i warunków jej aktywności.

Zawartość wszystkich pozostałych składników mineralnych zmniejszyła się istotnie ( $p < 0,05$ ) po fermentacji. Największe obniżenie, blisko 20-procentowe, zaobserwowano w przypadku zawartości wapnia i miedzi. Zawartość żelaza, magnezu i cynku zmniejszyła się o mniej niż 10 %. O zawartości składników mineralnych w gotowym produkcie decyduje wiele czynników, a spadek zawartości może wynikać z niskiej zawartości zarówno w liściach zielonej herbaty użytych do przygotowania starteru fermentacyjnego, jak i w wodzie użytej do uzyskania naparów. Wśród czynników wpływających na obniżenie poziomu składników mineralnych w produktach fermentowanych przy użyciu kultury SCOBY wskazuje się także na aktywność obecnych mikroorganizmów, które mogą działać jako biosorbenty i wiązać metale w swojej strukturze komórkowej [17]. Z drugiej strony ich aktywność może korzystnie wpływać

na biodostępność składników mineralnych, ponieważ podczas fermentacji degradacji ulegają składniki tworzące z nimi nierozpuszczalne kompleksy, takie jak szczawiany, taniny i fityniany [12, 15, 17].

Tabela 3. Wpływ procesu fermentacji na zawartość wybranych składników mineralnych w analizowanych napojach

Table 3. Effect of fermentation process on selected minerals contents in tested beverages

Próbki / Samples	Napój sojowy przed fermentacją / Soy beverage before fermentation	Napój sojowy po fermentacji / Soy beverage after fermentation
Mikroelementy/ Microelements [ $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ]		
Cu	110,2 <sup>a</sup> $\pm$ 0,157	92,9 <sup>b</sup> $\pm$ 0,527
Mn	113,1 <sup>b</sup> $\pm$ 0,171	123,4 <sup>a</sup> $\pm$ 0,467
Fe	296,8 <sup>a</sup> $\pm$ 0,772	280,7 <sup>b</sup> $\pm$ 0,597
Zn	263,7 <sup>a</sup> $\pm$ 0,348	240,5 <sup>b</sup> $\pm$ 0,500
Makroelementy/ Macroelements [mg/ 100 g]		
Mg	11,6 <sup>a</sup> $\pm$ 0,046	10,8 <sup>b</sup> $\pm$ 0,049
Ca	151,8 <sup>a</sup> $\pm$ 1,031	126,6 <sup>b</sup> $\pm$ 0,992
Na	13,8 <sup>a</sup> $\pm$ 0,096	12,5 <sup>b</sup> $\pm$ 0,079
K	263,9 <sup>a</sup> $\pm$ 3,723	233,9 <sup>b</sup> $\pm$ 4,317
P	116,1 <sup>a</sup> $\pm$ 0,124	101,7 <sup>b</sup> $\pm$ 0,034

Objaśnienia/ Explanatory notes:

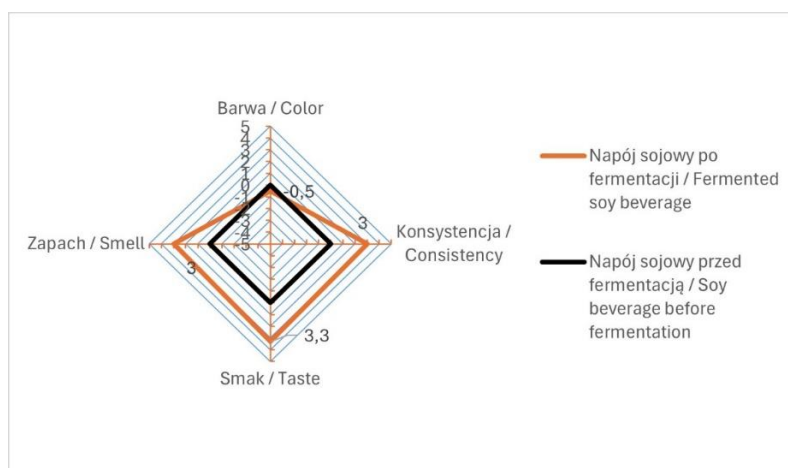
Wyniki przedstawiono jako średnie z trzech powtórzeń  $\pm$  odchylenie standardowe. Średnie wartości dla napojów przed fermentacją i po niej z różnymi małymi literami w tym samym wierszu różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) zgodnie z testem Duncana / Results are presented as averages of three replicates  $\pm$  standard deviation. Mean values for pre- and post-fermentation beverages with different lowercase letters in the same row are statistically significantly different ( $p < 0.05$ ) according to Duncan's test.

Uzyskane wyniki wskazują, że kierunek i zakres zmian zawartości składników mineralnych w napojach fermentowanych typu kombucha związany jest przede wszystkim z rodzajem połączeń, w jakich występują one ze składnikami organicznymi w produkcji. Należy również wziąć pod uwagę możliwe straty pierwiastków podczas prowadzenia procesu fermentacji. W przypadku analizowanego napoju sojowego po fermentacji z użyciem SCOBY korzystne zmiany zaobserwowano tylko w przypadku wzrostu zawartości manganu.

#### Analiza sensoryczna

Ocenę sensoryczną prowadzono z zastosowaniem metody profilowania różnicowego. Oceniano cechy sensoryczne (barwa, tekstura, smak, zapach) napoju sojowego po fermentacji w porównaniu z próbką standardową, czyli napoju niepoddanego fermentacji i przyjętego jako środek w skali dwukierunkowej. Wyniki przedstawiono na wykresie radarowym (Ryc. 1). Fermentacja z zastosowaniem grzybka herbacianego

spowodowała zmiany cech sensorycznych uzyskanego napoju. Oceniający stwierdzili, że barwa napoju po fermentacji jest zbliżona (-0,5), nieco tylko jaśniejsza do standardu. Napój po fermentacji miał beżową barwę o lekkim słomkowo żółtym odcieniu. Wyraźnie zmieniła się konsystencja napoju po fermentacji (+3), była bardziej gęsta, przypominająca jogurt z dużą zawartością pęcherzyków powietrza. Podobne zmiany w konsystencji zaobserwowali Malbaša i wsp. [24] przy fermentowaniu grzybkami herbacianym mleka krowiego. Zdecydowanie zmienił się także smak napoju sojowego po fermentacji na bardziej intensywny i wyrazisty (+3,3), prawdopodobnie ze względu na powstający kwas octowy [28], z wyczuwalnym posmakiem drożdżowym i lekko zbożowym. Podczas degustacji pojawiało się odczucie musowania na języku. W porównaniu ze standardem napój po fermentacji miał bardziej intensywny zapach (+3), podobnie jak w przypadku smaku z wyczuwalną nutą drożdżową i zbożową. W badaniach Vitas i wsp. [27], w których kulturą SCOBY fermentowano mleko krowie, zaobserwowano podobne zmiany, tj. jednolitą niezmienioną barwę, bardziej gęstą, typową dla jogurtu konsystencję, ale za to swoisty, łagodny zapach podobny do jogurtu.



Rycina 1. Analiza sensoryczna fermentowanego napoju sojowego typu kombucha

Figure 1. Sensory analysis of fermented kombucha soy beverage

## Wnioski

1. Wyniki przedstawione w pracy uzupełniają podstawową wiedzę na temat naturalnych alternatywnych metod zwiększania zawartości składników prozdrowotnych w spożywanej żywności. Jednocześnie potwierdzają konieczność analizowania właściwości chemicznych i sensorycznych nowych napojów fermentowanych z użyciem kultury SCOBY.

2. W pracy wykazano, że napój sojowy typu kombucha może odgrywać znaczącą rolę w neutralizowaniu wolnych rodników, a tym samym ma potencjał prozdrowotny przypisywany żywności funkcjonalnej.
3. W napoju sojowym po fermentacji zaobserwowano korzystne z żywieniowego punktu widzenia zmiany w profilu kwasów tłuszczowych, utrzymanie na stałym poziomie zawartości kwasów PUFA, istotny wzrost zawartości kwasów MUFA oraz obniżenie zawartości kwasów SFA.
4. Fermentacja z zastosowaniem SCOBY wpłynęła korzystnie na zawartość manganu podwyższając jego ilość o blisko 10 % w porównaniu z napojem przed fermentacją.
5. Fermentowany napój sojowy zyskał bardziej intensywny smak oraz zapach, a także bardziej gęstą konsystencję, przypominającą jogurt.

### Literatura

- [1] Antolak H., Piechota D., Kucharska A.: Kombucha Tea - A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *J. Antioxid. Act.*, 2021, 10, #1541.
- [2] Baryłko – Piekielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków, 2009, pp. 181-222, 313-32.
- [3] Bauer- Petrovska B., Petrushevska- Tozi L.: Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 2001, 35 (2), 201-205.
- [4] Bishop P., Pitts E.R., Budner D., Thompson-Witrick K. A.: Chemical composition of kombucha. *Beverages*, 2022, 8 (3), #45.
- [5] Brezo T.Ž., Kravi S., Suturovic Z.J., Karisik-Urovic A.D., Vitas J.S., Malbasa R.V., Milanovic S.D.: Influence of kombucha inoculum on the fatty acid composition of fermented milk products. *Food Ind.*, 2011, 1, 21-24.
- [6] Chu Sheng-Ch., Chen Ch.: Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chem.*, 2006, 98 (3), 502-507.
- [7] Czarnowska-Kujawska M., Paszczyk B.: Changes in the Folate Content and Fatty Acid Profile in Fermented Milk Produced with Different Starter Cultures during Storage. *Molecules*, 2021, 26, #6063.
- [8] Czarnowska-Kujawska M., Draszanowska A., Starowicz M.: Effect of different cooking methods on the folate content, organoleptic and functional properties of broccoli and spinach. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2022, 167, #113825.
- [9] Czarnowska-Kujawska M., Starowicz M., Barišić V., Kujawski W.: Health-Promoting Nutrients and Potential Bioaccessibility of Breads Enriched with Fresh Kale and Spinach. *Foods*, 2022, 11, #3414.
- [10] De Noronha M.C., Cardoso R.R., dos Santos D'Almeida C.T., do Carmo M.A.V., Azevedo L., Maltarollo V.G, Barros F.A.R.: Black tea kombucha: Physicochemical, microbiological and comprehensive phenolic profile changes during fermentation, and antimalarial activity. *Food Chem.*, 2022, 384, #132515.
- [11] Grand View Research: Kombucha market size, share & trends analysis by product (conventional hard) by distribution channel (on – trade, off – trade), by region, and segment forecasts 2022-2030.

- [on line]. Dostęp w Internecie [06.06.2024]: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/kombucha-market>.
- [12] Gupta R.K., Gangoliya S.S., Singh N.K.: Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *J. Food Sci. Tech.*, 2015, 52, 676-684.
- [13] Horszwald A., Andlauer W.: Characterization of bioactive compounds in berry juices by traditional photometric and modern microplate methods. *J. Berry Res.*, 2011, 1, 189-142.
- [14] IDF 182:2002 (ISO 15884:2002) Milk fat - Preparation of fatty acid methyl esters.
- [15] Ivanišová E., Meňhartová K., Terentjeva M., Harangozo E., Kántor A., Kačániová M.: The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *J. Food Sci. Tech.*, 2020, 57, 1840-1846.
- [16] Jakubczyk K., Kałduńska J., Kochman J., Janda K.: Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha Beverage Derived from White, Green, Black and Red Tea. *J. Antioxid. Act.*, 2020, 9, #447.
- [17] Jakubczyk K., Kupnicka P., Melkis K., Mielczarek O., Walczyńska J., Chlubek D., Janda-Milczarek K.: Effects of Fermentation Time and Type of Tea on the Content of Micronutrients in Kombucha Fermented Tea. *Nutrients*, 2022, 14, #22.
- [18] Jayabalan R., Malbaša R. V., Lončar E. S., Vitas J. S., Sathishkumar M.: A Review on Kombucha Tea – Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity and Tea Fungs. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2014, 538-550.
- [19] Kapp J. M., Sumner W.: Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Ann. Epidemiol.* 2018, 30, 66-70.
- [20] Klepacka J., Tońska E., Rafałowski R., Czarnowska-Kujawska M., Opara B.: Tea as a Source of Biologically Active Compounds in the Human Diet. *Molecules*, 2021, 26, #1487.
- [21] Krełowska-Kułas M.: Badanie jakości produktów spożywczych. Państwowe Wydawnictwo Ekonomiczne, Warszawa, 1993, 87-88.
- [22] LeBlanc J.G., Laiño J.E., Juarez del Valle M., Vannini V., van Sinderen D., Taranto M.P., Sesma F.: B- Group vitamin production by lactic acid bacteria – current knowledge and potential applications, *J. Appl. Microbiol.*, 2011, 111(6), 1297-1309.
- [23] Malbaša R.V., Vitas J.S., Lončar E.S., Kravić S.Ž.: Influence of fermentation temperature on the content of fatty acids in low energy milk-based kombucha products. *Acta Period. Technol.*, 2011, 42, 81-90.
- [24] Malbaša R.V., Milanović S.D., Lončar E.S., Djurić M.S., Carić M.D., Ilić M.D., Kolarov L.: Milk-based beverages obtained by Kombucha application. *Food Chem.*, 2009, 112 (1), 178-184.
- [25] PN-EN ISO 8589:2010 Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
- [26] Tu C., Tang S., Azi F., Hu W., Dong M.: Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. *J. Funct. Foods*, 2019, 52, 81-89.
- [27] Vitas J. S., Malbaša R. V., Grahovac J. A., Lončar E. S.: The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, 2013, 19, 129-139.
- [28] Xia X., Dai Y., Wu H., Liu X., Wang Y., Yin L.: Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *J. Funct. Foods*, 2019, 62, #103549.
- [29] Zieliński H., Zielińska D., Kostyra H.: Antioxidant capacity of a new crispy type food products determined by updated analytical strategies. *Food Chem.*, 2012, 130, 1098-1104.
- [30] Zou Ch., Li R., Chen J., Wang F., Gao Y., Fu Y., Yin J.: Zijuan tea- based kombucha: Physicochemical, sensorial, and antioxidant profile. *Food Chem.*, 2021, 363, #130322.

## THE CHEMICAL, ANTIOXIDANT AND SENSORY PROPERTIES OF KOMBUCHA SOY BEVERAGE

### S u m m a r y

**Background.** Fermentation using SCOBY culture and the resulting kombucha drinks are constantly gaining popularity due to their attractive sensory properties and potentially higher content of bioactive ingredients. During the experiment, a soy drink was fermented using kombucha. The research goal was to assess the selected health-promoting properties of the obtained drink after fermentation based on its antioxidant activity, fatty acid profile, content of selected minerals and sensory properties.

**Results and conclusion.** A statistically significant ( $p < 0.05$ ) increase in antioxidant properties measured by PCL and DPPH tests was demonstrated when comparing the soy drink before and after fermentation. Changes after fermentation were also observed in the fatty acid profile, and Folch, IDF and GC-FID methods were used to examine them. There was a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in the total content of saturated fatty acids (SFA) and a significant increase ( $p < 0.05$ ) in the content of monoenoic fatty acids (MUFA). Mineral components were determined using the acetylene-air flame emission technique, using a flame atomic absorption spectrometer and a VIS 6000 spectrophotometer. After fermentation, the soy drink was characterized by a significantly lower ( $p < 0.05$ ) content of minerals such as Cu, Fe, Zn, Mg, Ca, Na, P. Only the Mn content was significantly higher ( $p < 0.05$ ). The sensory analysis was carried out by a 10-person team of assessors with proven sensory sensitivity by means of the differential profiling method, using a bipolar linear scale, in comparison to the standard sample (the non-fermented drink). The fermented soy drink gained a more intense taste and smell, as well as a thicker, yogurt-like consistency.

**Key words:** kombucha, soy beverage, fatty acids, anti-oxidative activity, minerals 