

KATARZYNA PIASECKA-JÓŹWIAK, BEATA CHABŁOWSKA,
ELŻBIETA SŁOWIK, JOANNA ROZMIERSKA, KRYSZYNA M. STECKA

**ZASTOSOWANIE KULTUR STARTEROWYCH
(WYSELEKCJONOWANYCH SZCZEPÓW BAKTERII
MLEKOWYCH) DO POPRAWY JAKOŚCI PIECZYWA
MIESZANEGO I ŻYTNIEGO**

Streszczenie

Celem badań było opracowanie udoskonalonych kultur starterowych do pieczywa zakwasowego, z zastosowaniem szczepów bakterii mlekowych wyizolowanych z naturalnie fermentujących zakwasów piekarskich oraz przeprowadzenie oceny ich przydatności do produkcji pieczywa.

W pierwszym etapie wykonano analizę mikroflory spontanicznie fermentujących zakwasów pochodzących z piekarni rzemieślniczych. Wykazano, że takie zakwasy mogą zawierać znaczną liczbę drobnoustrojów wpływających negatywnie na jakość pieczywa, a także, że w około 40% z nich nie stwierdzono obecności bakterii mlekowych (LAB) – czyli tej grupy drobnoustrojów, która, obok drożdży, ma największy wpływ na walory smakowe i zdrowotne pieczywa. W celu poprawy jakości pieczywa mieszanego i żytniego, produkowanego przez piekarnie rzemieślnicze, przygotowano 4 bakteryjne kultury starterowe, zawierające szczepy LAB pochodzące z kolekcji IBPRS oraz wyizolowane z naturalnie fermentujących zakwasów. Otrzymane kultury starterowe oceniono w warunkach mikrotechnicznych pod względem przydatności do produkcji pieczywa mieszanego przy dwufazowym sposobie prowadzenia zakwasów. Oceniono właściwości ciast oraz jakość pieczywa wytwarzanego przy użyciu kultur starterowych. Najlepsze wyniki otrzymano w przypadku kultury zawierającej trzy szczepy LAB: dwa należące do gatunku *Lactobacillus brevis*, w tym jeden z kolekcji, a drugi wyizolowany z naturalnie fermentujących zakwasów i zdolny do wzrostu w temp. 15°C oraz szczep *Lactobacillus fermentum* z kolekcji. Pieczywo wyprodukowane z udziałem tej kultury starterowej charakteryzowało się największą objętością oraz dobrą smakowitością. Kultura ta została z dobrym efektem sprawdzona w warunkach produkcyjnych w piekarni. Wykazano również jej przydatność i łatwość do zastosowania w tygodniowym cyklu produkcyjnym. Pozostałe trzy kultury starterowe, wpływające w różny sposób na właściwości technologiczne ciast (np. stopień ukwaszenia), mogą znaleźć zastosowanie w produkcji zróżnicowanych, pod względem składu surowcowego i walorów sensorycznych, sortymentów pieczywa.

Słowa kluczowe: bakterie mlekowe, startery piekarskie, zakwasy, fermentacja ciasta, pieczywo

Wprowadzenie

W wielu krajach wzrasta zainteresowanie konsumentów i producentów pieczywem zakwasowym, otrzymywanym z udziałem mąki żytniej, przy zastosowaniu tradycyjnych metod fermentacji ciasta.

Ciasto zakwasowe, powstające w wyniku fermentacji mąki prowadzonej przez bakterie fermentacji mlekowej i drożdże, charakteryzuje się specyficznymi cechami sensorycznymi nadawanymi przez związki chemiczne, których synteza jest wynikiem metabolizmu obu grup mikroorganizmów. Wykazuje ono również walory zdrowotne, takie jak: większa strawność, zachowanie bioaktywnych składników mąki (kwas foliowy, sterole roślinne), zwiększona biodostępność makro- i mikroelementów [11].

Fermentacja ciasta może być prowadzona w sposób spontaniczny lub przy użyciu odpowiednich kultur starterowych. W procesie fermentacji spontanicznej, poza bakteriami fermentacji mlekowej, rozwija się również mikroflora niepożądana. Wprowadzenie kultury starterowej, zawierającej wyselekcjonowane bakterie fermentacji mlekowej, zapewnia ukierunkowanie przebiegu fermentacji i ogranicza rozwój niepożądanych drobnoustrojów.

Wśród czterdziestu gatunków bakterii występujących w ciastach zakwasowych większość należy do rodzaju *Lactobacillus* i reprezentowanych w mniejszej liczbie *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Weissella* i *Leuconostoc*. Niektóre gatunki z rodzaju *Lactobacillus* są charakterystyczne dla zakwasów, tak jak wyizolowane z ciast i opisane w ostatnich latach jako mikroflora autochtoniczna *L. pontis*, *L. panis*, *L. paralimentarius*, *L. frumenti*, *L. mindensis*. Inne, spośród bakterii spotykanych w ciastach, są szerzej rozpowszechnione w żywności; należą do tej grupy *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. amylovorus* [1, 2, 3, 4, 13].

Interesującym gatunkiem, charakterystycznym zwłaszcza dla ciast pszennych, jest *L. sanfranciscensis*. Decydują o tym unikalne cechy tego szczepu, wyrażające się wysoką efektywnością wykorzystywania sacharydów, dużymi uzdolnieniami proteolitycznymi i aktywnością kwaszącą, syntezą związków o charakterze antymikrobiologicznym, szeroką gamą wytwarzanych związków lotnych, a także fizjologicznym powinowactwem do drożdży obecnych w zakwasach. Na podstawie różnic w budowie genetycznej zidentyfikowano około 50 szczepów tego gatunku [7, 8, 10]. Produkty metabolizmu bakterii fermentacji mlekowej: kwas mlekowy, octowy i inne, o działaniu antymikrobiologicznym, hamujące rozwój innych mikroorganizmów, pozwalają LAB dominować w cieście.

Występowanie poszczególnych gatunków bakterii mlekowych (LAB) jest zróżnicowane w zależności od rodzaju ciast i sposobu ich prowadzenia [3, 13, 22]. Mikroflora ciast fermentowanych składa się często zarówno ze szczepów homofermentacyjnych, jak i heterofermentacyjnych, w ten sposób komponowane są również startery piekarskie. Spośród bakterii homofermentacyjnych gatunkiem najczęściej spotykanym w starterach jest *L. plantarum*, natomiast wśród heterofermentacyjnych *L. brevis* i *L. sanfranciscensis* [5, 6, 20, 21, 22, 23].

Celem pracy była poprawa jakości pieczywa mieszanego i żytniego poprzez opracowanie i zastosowanie bakteryjnych kultur starterowych.

Materiał i metody badań

W pierwszej fazie badań materiał stanowiły próby zakwasów piekarskich pobrane w różnych fazach fermentacji, z kilku piekarni rzemieślniczych. W zakwasach oznaczano: ogólną liczbę bakterii, liczbę bakterii kwaszących, przetrwalnikujących, proteolitycznych, tworzących śluz, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz liczbę pleśni i drożdży. W dalszych doświadczeniach zastosowano wyizolowane z badanych zakwasów, wybrane szczepy bakterii fermentacji mlekowej (LAB) należące do gatunków *L. plantarum* i *L. brevis* oraz wybrane z kolekcji Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego (IBPRS) szczepy LAB, należące do gatunków *L. brevis*, *L. fermentum* i *L. plantarum*.

W badaniach stosowano następujące podłoża mikrobiologiczne:

- PCA Merck, do oznaczania ogólnej liczby bakterii mezofilnych i przetrwalnikujących, [15],
- YGC Merck, (zawierające chloramfenikol) do oznaczania liczby drożdży,
- Blickfeldta (z aktidionem) do oznaczania liczby bakterii kwaszących,
- Smith-Lorentza (z purpurą bromokrezolową) do oznaczania liczby bakterii kwaszących [15],
- do oznaczania liczby bakterii tworzących śluz [16],
- do oznaczania proteolitów (agar wodny z dodatkiem mleka odtłuszczonego),
- do oznaczania pleśni (z dodatkiem kwasu cytrynowego),
- Agar Rambach Merck do oznaczania bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae* i różnicowania bakterii typu coli i rodzaju *Salmonella*,
- MRS Difco do namnażania bakterii mlekowych.

Z każdej próbki zakwasu izolowano kilkadziesiąt pojedynczych kolonii, których morfologia mogła wskazywać na przynależność do bakterii fermentacji mlekowej. Pierwszym etapem selekcji była ocena morfologii bakterii przy użyciu mikroskopu świetlnego Nikon Optiphot-2 i programu komputerowego Image Pro Plus. Z wybranych linii komórkowych wyprowadzano czyste kultury. Do określenia przynależności gatunkowej nowo wyizolowanych szczepów bakterii mlekowych stosowano testy API CH 50 firmy bioMérieux. Do dalszych badań wybrano szczepy należące do gatunków *L. plantarum* i *L. brevis*. W przypadku tych szczepów oznaczano ilość syntetyzowanego kwasu mlekowego (formy L+ i D-), przy użyciu testów enzymatycznych firmy Boehringer Mannheim, ilość syntetyzowanego kwasu octowego i innych kwasów lotnych, metodą destylacji z parą wodną według procedury zawartej w rozporządzeniu MRiRW [3], zdolność do wzrostu w podłożu płynnym MRS, aktywność antybakteryjną szczepów bakterii mlekowych wobec panelu 10 szczepów wskaźnikowych, należących do rodzajów *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Bacillus*, według metody Pilet [14], zmodyfikowanej w IBPRS. Metoda ta polega na

ocenie wielkości stref zahamowania wzrostu szczepów wskaźnikowych przez odciek po hodowli badanych szczepów.

Kultury starterowe skomponowane z wybranych szczepów LAB otrzymywano w wyniku hodowli prowadzonych w fermentorach firmy B. Braun o pojemności roboczej 10 l, z komputerowym sterowaniem parametrów procesu. Zastosowano podłoże zawierające glukozę i sacharozę (w stosunku 1:1) jako źródło węgla.

Przydatność otrzymanych starterów do produkcji chleba mieszanego oceniano na podstawie wypieków laboratoryjnych. Do wypieków używano mąki żytniej typu 720 i mąki pszennej typu 850 w proporcji 40:60. Produkowano chleb na zakwasie, w bochenkach fermentujących w formach. Zakwasy prowadzono dwufazowo. Do zapoczątkowania fermentacji stosowano kultury starterowe w ilości 10% masy mąki użytej do sporządzenia zakwasu (I faza). II fazę zakwasu nastawiano w ten sam sposób, wykorzystując jako zaczątek dojrzałą I fazę zakwasu. Zakwasy o wydajności 200 dojrzewały przez 24 godz. w temp. 30°C. Faza II po 24, 48 i 72 godz. fermentacji wykorzystywana była do sporządzania ciasta. Obie fazy badano po sporządzeniu i po fermentacji: I fazę – po 24 godz., II – po 24, 48 i 72 godz. Oceniano cechy sensoryczne (barwę, konsystencję i zapach), temperaturę, kwasowość ogólną i pH [16] oraz stan mikroflory zakwasów.

Zgodnie z przyjętą zasadą, w masie zakwasu używanego do sporządzania ciasta zawarta była mąka żytnia w ilości 30% w przeliczeniu na mąkę ogółem. Do ciasta dodawano 2% (w przeliczeniu na mąkę) drożdży prasowanych. Ciasto sporządzano w mieszarce spiralnej – czas mieszenia wynosił 6 min. Po mieszeniu ciasto poddawano fermentacji w masie, w temp. 28-29°C przez 30 min. Po tym czasie ciasto dzielono na kęsy o masie 750 g, które poddawano rozrostowi w formach, w komorze fermentacyjnej o temp. 35°C i wilgotności względnej powietrza 75%. Badania ciasta prowadzono: w zakresie zdolności fermentacyjnej w fermentografie SJA, natychmiast po sporządzeniu oraz w zakresie uzyskanego stopnia kwasowości ogólnej i pH – po fermentacji w masie [16]. Rejestrowano również czas rozrostu kęsów ciasta.

Bochenki wypiekano w piecu komorowym firmy Wachtel-Winkler w temp. 240°C, przez ok. 50 min. Chleb oceniano po 16 godz. od wypieku. Badano objętość, kwasowość ogólną i pH [17] oraz przeprowadzano komisijną ocenę sensoryczną. W ocenie brało udział 5 osób, które nie znały założeń doświadczenia. Ocenie podlegały następujące cechy pieczywa: wygląd zewnętrzny, cechy skórki, cechy miękiszu, smak i zapach. Wyniki przedstawiono w formie opisowej, porównując między sobą poszczególne próbki chleba. Wybór opisowej metody oceny wynikał z potrzeby dokonania szczegółowej charakterystyki cech sensorycznych pieczywa w zależności od rodzaju zastosowanych kultur starterowych.

Wyniki i dyskusja

W trakcie realizacji pracy scharakteryzowano skład mikroflory naturalnie fermentujących zakwasów pochodzących z kilku piekarni. Oceniano obecność i liczebność bakterii mlekowych, drożdży oraz drobnoustrojów niepożądanych, takich

jak: bakterie przetrwalnikujące (z rodzaju *Bacillus*), bakterie proteolityczne, bakterie wytwarzające śluz, bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, pleśnie. Wyniki przedstawiono w tab. 1.

Wykazano, że w wielu badanych zakwasach obecne były liczne grupy drobnoustrojów uznawanych za niepożądane, natomiast liczba bakterii mlekowych nie przekraczała wartości 10^6 jtk/g, a w niektórych przypadkach nie stwierdzono ich obecności.

Z badanych zakwasów wyizolowano 16 szczepów bakterii mlekowych należących do następujących gatunków: *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. lactis ssp. lactis*, *L. paracasei ssp. paracasei* w celu włączenia ich w skład kultur starterowych. Zbadano właściwości ważne technologicznie tj. zdolność do wzrostu w podłożach laboratoryjnych i tanich podłożach produkcyjnych (laktozowym i melasowym), opracowanych w IBPRS, oraz zdolność syntezy wybranych kwasów organicznych przez te szczepy. Na podstawie uzyskanych wyników wyselekcjonowano szczepy charakteryzujące się właściwościami odpowiednimi do zastosowania w starterach piekarskich (dane niepublikowane).

Sporządzono cztery kultury starterowe, zawierające zarówno szczepy kolekcyjne, jak i wyizolowane ze spontanicznie fermentujących zakwasów. Kultura I zawierała szczep *L. plantarum* Ł 03 oraz szczep *L. brevis* WSRO 37, kultura II szczepy: *L. plantarum* Ł 03, *L. brevis* WSRO 37 oraz szczep *L. fermentum* WSRO 54, kultura III szczepy: *L. brevis* Ł 06, *L. brevis* WSRO 37, *L. fermentum* WSRO 54, natomiast w skład kultury IV wchodziły szczepy *L. brevis* Ł 06 i *L. fermentum* WSRO 54.

Otrzymane kultury starterowe oceniono, w warunkach mikrotechnicznych, pod względem przydatności do produkcji pieczywa mieszanego. Przy zastosowaniu opracowanych kultur starterowych badano przebieg fermentacji zakwasów prowadzonych dwufazowo: analizowano stopień ukwaszania zakwasów oraz zmiany w składzie mikroflory tych zakwasów. Zakwas po 24 godz. fermentacji fazy I stanowił zaczątek fazy II. Wyniki tych badań przedstawiono w tab. 2. i 3.

Tabela 1

Mikroflora zakwasów pochodzących z różnych piekarni.

Micro-flora in the naturally fermenting sourdoughs taken from various bakeries.

Numer próbki Number of sample	Grupa oznaczanych drobnoustrojów, [jtk/g zakwasu] Group of micro-organisms being determined [cfu/g]							
	Ogólna liczba bakterii mezofilnych total mesophilic bacteria count	Bakterie kwaszące (b. kwasu mlekowego) Souring bacteria (lactic acid bacteria)	Bakterie przetrwalnikujące Spore-forming bacteria	Bakterie proteolityczne Proteolytic bacteria	Bakterie śluzowe Slime bacteria	Pleśnie Moulds	Enterobacteriaceae	Drożdże Yeast
1	$2,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$	b.w	$1,0 \times 10^1$	b.w	b.w	$7,7 \times 10^7$
2	$2,4 \times 10^6$	b.w	$8,0 \times 10^4$	b.w	$3,0 \times 10^1$	b.w	b.w	$3,2 \times 10^7$
3	$3,0 \times 10^5$	b.w	$1,6 \times 10^3$	b.w	$2,0 \times 10^1$	b.w	b.w	$2,6 \times 10^7$
4	$1,2 \times 10^6$	b.w	$6,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^5$	b.w	b.w	b.w	$8,3 \times 10^7$
5	$1,0 \times 10^6$	b.w	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	b.w	b.w	b.w	$6,6 \times 10^7$
6	$8,4 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$9,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^2$	$2,6 \times 10^1$	b.w	$4,2 \times 10^7$
7	$8,0 \times 10^6$	$8,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	$6,0 \times 10^2$	b.w	$3,7 \times 10^7$
8	$7,2 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^1$	$3,0 \times 10^2$	$3,8 \times 10^2$	b.w	$2,8 \times 10^7$
9	$2,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$	$8,0 \times 10^2$	b.w	b.w	$5,0 \times 10^3$	$1,7 \times 10^2$	$1,7 \times 10^7$
10	$5,0 \times 10^4$	b. w	$2,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$	b.w	$2,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^1$	$1,7 \times 10^7$
11	$5,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^5$	$5,0 \times 10^2$	b.w	$5,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^3$	$1,4 \times 10^8$
12	$2,4 \times 10^7$	$2,4 \times 10^6$	$1,0 \times 10^2$	b.w	$2,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$	$2,5 \times 10^3$	$1,4 \times 10^8$
13	$2,2 \times 10^8$	$3,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^5$	b.w	$2,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^2$	$6,9 \times 10^7$
14	$1,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^3$	$8,0 \times 10^1$	b.w	$1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^1$	b.w	$5,0 \times 10^7$
15	$2,0 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$5,0 \times 10^2$	b.w	$3,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	b.w	$1,2 \times 10^8$
16	$1,7 \times 10^5$	b.w	$3,0 \times 10^1$	b.w	$1,0 \times 10^2$	b.w	b. w	$3,0 \times 10^5$
17	$1,4 \times 10^5$	b.w	$1,6 \times 10^2$	b.w	b.w	b.w	b. w	$6,0 \times 10^4$
18	$2,6 \times 10^5$	b.w	$5,0 \times 10^2$	b.w	$1,0 \times 10^1$	b.w	b. w	$6,0 \times 10^4$
19	$3,0 \times 10^5$	$3,3 \times 10^5$	$1,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^2$	b.w	$3,0 \times 10^1$	b. w	$1,0 \times 10^6$
20	$3,6 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$	b.w	$1,5 \times 10^2$	b.w	$2,0 \times 10^1$	b.w	$9,6 \times 10^6$
21	$3,6 \times 10^6$	$4,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	b.w	$1,6 \times 10^2$	b. w	$4,0 \times 10^6$
22	$1,2 \times 10^6$	$2,2 \times 10^5$	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$	b. w	$4,7 \times 10^7$

b.w- brak wzrostu / no growth detected

Tabela 2

Wpływ kultur starterowych na zawartość bakterii mlekowych i drożdży w zakwasach.
The effect of starter cultures on the content of LAB and yeast in sourdoughs.

Kultura starterowa Starter culture	Czas fermentacji Fermentation time [godz] / [h]	I faza fermentacji Phase I of the fermentation		II faza fermentacji Phase II of the fermentation	
		drożdże yeast [jtk/g] [cfu/g]	bakterie mlekowe lactic acid bacteria [jtk/g] [cfu/g]	drożdże yeast [jtk/g] [cfu/g]	bakterie mlekowe lactic acid bacteria [jtk/g] [cfu/g]
I	0	$2,3 \times 10^3$	$8,0 \times 10^7$	$1,5 \times 10^5$	$3,2 \times 10^6$
	24	$3,2 \times 10^5$	$1,6 \times 10^8$	$2,5 \times 10^7$	$4,0 \times 10^8$
	48			$5,2 \times 10^7$	$1,5 \times 10^9$
	72			$7,0 \times 10^7$	$3,0 \times 10^9$
II	0	$1,1 \times 10^5$	$5,8 \times 10^7$	$2,8 \times 10^4$	$3,0 \times 10^6$
	24	$1,8 \times 10^6$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^5$	$4,4 \times 10^9$
	48			$6,7 \times 10^6$	$9,0 \times 10^9$
	72			$3,3 \times 10^7$	$8,7 \times 10^9$
III	0	$1,0 \times 10^3$	$7,8 \times 10^7$	$1,1 \times 10^5$	$7,1 \times 10^6$
	24	$2,0 \times 10^5$	$5,5 \times 10^8$	$1,5 \times 10^7$	$2,4 \times 10^9$
	48			$7,2 \times 10^7$	$5,0 \times 10^9$
	72			$8,2 \times 10^7$	$1,5 \times 10^9$
IV	0	$1,2 \times 10^2$	$3,2 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$
	24	$3,1 \times 10^4$	$1,0 \times 10^9$	$2,8 \times 10^7$	$2,8 \times 10^9$
	48			$6,8 \times 10^7$	$3,9 \times 10^9$
	72			$5,9 \times 10^7$	$3,1 \times 10^9$

Po zastosowaniu do prowadzenia zakwasów kultur starterowych wzrost liczby bakterii mlekowych i drożdży w stosunku do początkowej (po wymieszaniu składników) liczby drobnoustrojów był najwyższy po 24 godz. fermentacji zakwasu, zarówno pierwszej, jak i drugiej fazy. W II fazie fermentacji liczba bakterii utrzymywała się zwykle na podobnym poziomie (10^9), natomiast wzrastała liczba drożdży. Nieco mniejszy wzrost liczby bakterii zaobserwowano jedynie w przypadku zastosowania kultury starterowej nr I.

W przypadku kultur starterowych I i II zakwasy wyprowadzane na bazie startera (faza I) ukwasały się intensywniej niż odświeżane (faza II). Zakwasy odświeżane wykazywały kwasowość porównywalną z uzyskiwanymi z użyciem startera po 72 godz. fermentacji. Odświeżony zakwas otrzymany z udziałem III kultury starterowej wykazywał już po 48 godz. poziom kwasowości porównywalny do zakwasu

wyprowadzonego bezpośrednio z użyciem startera po 24 godz. fermentacji. Wskazuje to na aplikacyjną przydatność kultury III w tygodniowym schemacie produkcyjnym,

Tabela 3

Przebieg ukwaszania zakwasów prowadzonych dwufazowo przy zastosowaniu badanych kultur starterowych.

The course of a two-phase fermentation process in sourdoughs with the investigated starter cultures added.

Kultura starterowa Starter culture	Czas fermentacji Fermentation time [godz.] / [h]	I faza fermentacji Phase I of the fermentation			II faza fermentacji Phase II of the fermentation		
		Temperatura Temperature [°C]	Kwasowość ogólna [stopnie kwasowości] Titrable acidity [acidity degrees]	[pH]	Temperatura Temperature [°C]	Kwasowość ogólna [stopnie kwasowości] Titrable acidity [acidity degrees]	[pH]
I	0	30,0	2,7	5,96	31,0	2,2	5,03
	24	29,5	16,7	3,23	29,5	10,9	3,27
	48				30,5	14,5	3,25
	72				29,0	16,7	3,22
II	0	30,0	0,8	5,96	31,0	2,9	5,77
	24	29,0	21,1	4,00	29,0	14,7	3,50
	48		27,6	3,92	30,0	18,5	3,37
	72				29,0	16,7	3,22
III	0	30,0	4,3	4,57	31,0	3,0	5,44
	24	29,8	17,8	3,32	30,0	13,9	3,28
	48				29,9	18,2	3,28
	72					18,1	3,25
IV	0	27	1,88	5,71	30	1,3	5,6
	24	30	12,48	3,7	30	10,3	3,25
	48				30	12,9	3,15
	72				30	14,6	3,20

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* - w badaniach kultur I-III stosowano mąkę żytnią typu 720, w badaniach kultury IV mąkę żytnią typu 500;

* - whilst investigating the starter cultures I to III, a rye flour type 720 was used, and when the starter culture IV was investigated: a rye flour type 500.

obejmującym odświeżanie zakwasu. Najlepsze właściwości kwaszące wykazywała II kultura starterowa. W doświadczeniach z jej udziałem kwasowość ogólna zakwasu po 24 godz. fermentacji wynosiła 21,1 stopni kwasowości, podczas gdy w przypadku pozostałych kultur osiągała około 17 stopni kwasowości.

W kolejnym etapie pracy analizowano właściwości ciasta chlebowego i jakość chleba otrzymanego z udziałem badanych kultur starterowych, wyniki przedstawiono w tab. 4. i 5.

Najwyżej oceniono pieczywo otrzymane z udziałem kultur starterowych I i III. Charakteryzowało się ono wysoką jakością pod względem stopnia wyrośnięcia, elastyczności i porowatości mięksiszu, smaku, aromatu oraz wyglądu skórki.

Tabela 4

Wpływ rodzaju kultury starterowej i czasu dojrzewania zakwasu (zakwas prowadzony dwufazowo) na właściwości ciast.

The effect of the kind of a starter culture and of the sourdough maturation time (the sourdough was processed in two phases) on the properties of doughs.

Kultura starterowa Starter culture	Czas fermentacji Fermentation time [godz.] / [h]	Kwasowość ogólna [stopnie kwasowości] Titrable acidity [acidity degrees]	pH	Wydzielanie CO ₂ Release of CO ₂ [ml/90 min]	Czas rozrostu końcowego Final expansion/growth time [min]
I	24	5,7	3,96	1120	50
	48	7,0	3,87	1350	45
	72	7,5	3,80	1380	40
II	24	7,2	4,22	1025	55
	48	8,9	3,91	1140	40
	72	10,2	3,24	1245	-
III	24	7,0	4,02	1225	45
	48	8,6	3,87	1185	55
	72	9,6	3,45	1200	-
IV	24	4,6	4,25	1080	55
	48	6,9	4,02	1190	50
	72	8,1	3,62	1240	-

Tabela 5

Wpływ rodzaju kultury starterowej i czasu dojrzewania zakwasu na jakość chleba.

The effect of the kind of a starter culture and of the sourdough maturation time on the quality of bread.

Kultura starterowa Starter culture	Czas fermentacji Fermentation time [godz.] / [h]	Cechy chleba / Properties of bread			
		Objętość Volume [cm ³ /100g]	Kwasowość [stopnie kwasowości] Titrable acidity [acidity degrees]	pH	Ocena sensoryczna Sensory assessment
I	24	300	3,5	4,07	Chleb bardzo dobrze wyrośnięty, skórka rumiana, gładka, błyszcząca, miękisz elastyczny, porowatość dość równomierna, cienkościenna, smak lekko kwaśny, zapach właściwy, łagodny Bread with a very good structure of crumb (very well risen bread); golden brown, smooth and shiny crust; elastic crumb; proportional (even) porosity; slightly sour taste; mild, proper smell
	48	278	4,1	3,92	Chleb dobrze wyrośnięty, skórka rumiana, pofałdowana, miękisz elastyczny, porowatość nieco nierównomierna, grubościenna, smak dość kwaśny, zapach właściwy, łagodnie kwaśny Bread with a good structure of crumb (well risen bread); folded, golden brown crust; elastic crumb; semi- proportional (semi-even) porosity; rather sour taste; mildly sour, proper smell
	72	243	5,2	3,98	Chleb dostatecznie wyrośnięty, skórka rumiana, popękana, miękisz elastyczny, porowatość zbita, grubościenna, smak kwaśny, zapach właściwy, łagodnie kwaśny Bread with a sufficient structure of crumb (sufficiently risen bread); golden brown, cracked crust; elastic crumb; compact porosity with thick-walled pores; sour taste; proper, slightly sour smell
II	24	290	4,8	4,12	Chleb dobrze wyrośnięty, skórka rumiana, gładka, błyszcząca, miękisz elastyczny, porowatość dość równomierna, dość cienkościenna, smak dość kwaśny, zapach właściwy, łagodny Bread with a good structure of crumb; golden brown, smooth and shiny crust; elastic crumb; proportional (even) porosity with rather thin-walled pores; rather sour taste; proper, mild smell

c.d. Tab. 5

	48	240	-	-	Chleb dostatecznie wyrośnięty, skórka rumiana, popękana, miękisz elastyczny, porowatość dość równomierna, grubościenna, smak kwaśny, zapach właściwy, bogaty Bread with a sufficient structure of crumb (sufficiently risen bread); golden brown, cracked crust; elastic crumb; proportional (even) porosity with thick-walled pores; sour taste; rich, proper smell
III	24	320	4,4	4,11	Chleb bardzo dobrze wyrośnięty, skórka rumiana, gładka, błyszcząca, miękisz elastyczny, porowatość drobna, równomierna, cienkościenna, smak lekko kwaśny, zapach właściwy, łagodnie kwaśny Bread with a very good structure of crumb (very well risen bread); golden brown, smooth, and shiny crust; elastic crumb; proportional (even) porosity with thin-walled pores; slightly sour taste; mildly sour, proper smell
	48	260	-	-	Chleb dobrze wyrośnięty, skórka rumiana, lekko popękana, błyszcząca, miękisz elastyczny, porowatość dość równomierna, nieco grubościenna, smak kwaśny, zapach właściwy, łagodnie kwaśny, bogaty Bread with a good structure of crumb (well risen bread); golden brown, slightly cracked, and shiny crust; elastic crumb; proportional (even) porosity with slightly thick-walled pores; sour taste; mildly sour, proper smell
IV	24	359,7	2,5	4,36	Chleb bardzo dobrze wyrośnięty, skórka rumiana, gładka, błyszcząca, miękisz elastyczny, porowatość drobna, równomierna, cienkościenna, smak lekko kwaśny, zapach właściwy, łagodny Bread with a very good structure of crumb (very well risen bread); golden brown, smooth, and shiny crust; elastic crumb; proportional (even) porosity with thin-walled pores; slightly sour taste; mild, proper smell

W przypadku wszystkich badanych kultur starterowych zaobserwowano wzrost kwasowości ogólnej ciast wraz z upływem czasu prowadzenia fermentacji. Jednocześnie ze wzrostem kwasowości zmniejszeniu ulegała objętość pieczywa. Chleby o najwyższej jakości uzyskiwano z zastosowaniem zakwasów 24-godzinnych. Najlepszy jakościowo chleb otrzymano, stosując III kulturę starterową z wykorzystaniem zakwasu dojrzewającego 24 godz. Chleb ten charakteryzował się największą objętością, również najwyżej oceniono go pod względem cech sensorycznych (tab. 5). Sprawdzone również, że jednokrotnie wprowadzona kultura

starterowa III wystarcza do prowadzenia tygodniowego cyklu technologicznego w piekarni, przy odświeżaniu zakwasu co 24 godz. (wyniki niepublikowane).

Wnioski

1. Stwierdzono dużą przydatność opracowanych kultur starterowych do prowadzenia ciast zakwasowych z udziałem mąki żytniej.
2. Kultury różniły się pod względem stopnia ukwaszania ciasta oraz jakości otrzymanego pieczywa. Kultury I i IV charakteryzowały się np. mniejszą zdolnością ukwaszania ciasta niż II i III. Startery te mogą zatem być stosowane do ciast różniących się zawartością i rodzajem mąki żytniej, a więc mogą być przeznaczone do produkcji różnorodnych sortymentów pieczywa.
3. Otrzymane kultury starterowe wykazywały wysoką efektywność w kształtowaniu właściwości technologicznych zakwasów i ciast oraz w poprawie jakości pieczywa, ze względu na ich oddziaływanie na różne wyróżniki jakościowe pieczywa (objętość, kwasowość, cechy sensoryczne).

Literatura

- [1] Cossigani L., Gobbetti M., Damini P., Corsetti A., Siminetti M. S., Manfredi G.: The sourdough micro-flora. Microbiological, biochemical and bread-making characteristics of dough's fermented with freeze-dried mixed starters, freeze-dried wheat sourdough and mixed fresh-cell starters. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1996, **203**, 88-94.
- [2] Damiani P., Gobetti M., Cossigani L., Corsetti A., Simonetti M. S., Rossi J.: The sour dough micro-flora. Characterization of hetero- and homo-fermentative lactic acid bacteria, yeast and their interaction on the basis of the volatile compounds produced. *Lebensm. Wiss. u.-Technol.*, 1996, **29**, 63-70.
- [3] De Vuyst L., Neysens P.: The sourdough micro-flora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 43-56.
- [4] De Vuyst L., Schrijvers V., Paramithiotis S., Hoste B., Vancenneyt M., Swings J., Kalantzopoulos G., Tsakalidou E., Messens W.: The biodiversity of lactic acid bacteria in Greek traditional wheat sourdoughs is reflected in both composition and metabolite formation. *Applied Env. Microbiology*, 2002, **68**, 12, 6059-6069.
- [5] Diowksz, Ambroziak W., Włodarczyk M.: Biologiczne metody produkcji pieczywa o walorach żywności funkcjonalnej. *Przem. Piek. i Cukier.*, 2001, **9**, 4-9.
- [6] Ehrmann M. A., Kogel R. F.: Molecular taxonomy and genetics of sourdough lactic acid bacteria. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 31-42.
- [7] Gobbetti M., Corsetti A., Rossi J.: The sour dough micro-flora. Interaction between lactic acid bacteria and yeast metabolism of amino acids. *Wld. J. Microbiol. Biotechnol.*, 1994, **10**, 275-279.
- [8] Gobbetti M., Corsetti A.: *Lactobacillus sanfrancisco* a key sourdough lactic acid bacterium: A Review. *Food Microbiol.*, 1996, **12**, 78-90.
- [9] Gobbetti M., De Angelis M., Corsetti A., Di Cagno R.: Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 57-69.

- [10] Gobbetti M.: The sourdough micro-flora: interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 267-274.
- [11] Katina K., Arendt E., Liukkonen K., Autio K., Flander L., Poutanen K.: Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 104-112.
- [12] Paramithiotis S., Chouliaras Y., Tsakalidou E., Kalatzopoulos G.: Application of selected starter cultures for production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage procedure. *Process Biochemistry.*, 2005, **40**, 2813-2819.
- [13] Paramithiotis S., Muller M. A., Ehrmann E., Tsakalidou H., Seiler R., Vogel, Kalantzopoulos.: Poliphasic identification of wild yeast strains isolated from Greek sourdoughs. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2000, **23**, 156.
- [14] Pilet M., Dusset X., Barre R., Novel G., Desmazaud M., Pird J.: Evidence for two bacteriocins produced by *Corynebacterium piscicola* and *Corynebacterium divergens* isolated from fish and active against *Listeria monocytogenes*. *J. Food Protect.*, 1995, **58**, 256-262.
- [15] PN 90/A-75052/09. Oznaczanie liczby bakterii tworzących śluz.
- [16] PN 92/A-74100. Półprodukty piekarskie. Metody badań, oznaczanie kwasowości i pH.
- [17] PN –A-74108: 1996. Badanie pieczywa. Metody badań.
- [18] PN-ISO 4833: 2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów.
- [19] Rozporządzenie MRiRW nr 1173 z 12.05.2003, zał. nr 14. Dz. U. 2003 r. Nr 126: Oznaczanie kwasowości lotnej.
- [20] Stepaniak L.: Zakwasy do ciasta – mikrobiologia i biochemia. *Przem. Spoż.*, 2000, **3**, 44-46.
- [21] Vacheva R., Oheix N., Kabadjova P., Ivanova I., Onno B., Prevost H., Dousset X.: Lactic acid bacteria population of French sourdoughs monitored by RFLP analysis of 16-23S spacer region. *Second Int. Symp. on Sourdough from Fundamentals to Applications, Brussels 2003*, p. 16.
- [22] Vogel R., Knorr R., Mueller M., Steudel U., Gaentzle M., Ehrmann A.: Non-dairy lactic fermentations: the cereal world. *Proceeding of Sixth Symposium on Lactic Acid Bacteria. Veldhoven 1999*, 403-411.
- [23] Włodarczyk M.: Mikroflora zakwasów chlebowych; fizjologia i współbywanie skojarzonych populacji rodzaju *Lactobacillus* i *Saccharomyces cerevisiae*. *Rozprawy naukowe, Zesz. Nauk. PŁ, Łódź 1984*, s. 61.

THE APPLICATION OF STARTER CULTURES (CONTAINING SOME SELECTED STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA) TO IMPROVE THE QUALITY OF RYE AND WHEAT-RYE BREAD PRODUCTS

S u m m a r y

The objective of the investigations was to make innovative, improved bacterial starter cultures to be used in sourdough bread products, with the participation of strains of lactic acid bacteria (LAB) isolated from naturally fermenting sourdoughs, and to assess the usefulness of these new starter cultures for the production of bread.

In the first stage, there was analyzed the micro-flora in spontaneously fermenting sourdoughs originating from traditional artisan bakeries. It was established that such sourdoughs might contain micro-organisms in large numbers, which might negatively impact the bread quality. Furthermore, it was showed that approximately 40% of the analysed sourdoughs contained no lactic acid bacteria (LAB), i.e. the group

of micro-organisms that, like the yeast, contributed, to the highest extent, to the taste and healthful properties of bread products. In order to improve the quality of rye and wheat-rye bread products baked in artisan bakeries, four (4) starter bacterial cultures were prepared; they all contained the LAB strains originating from an IBPRS culture collection, and isolated from naturally fermenting sourdoughs. The starter cultures produced were investigated under the micro-technical conditions; their usefulness for manufacturing wheat-rye bread products was assessed using a two-stage method of processing the sourdoughs. There were assessed properties of doughs and a quality of bread products baked using starter bacterial cultures. The best results were obtained when a starter bacterial culture containing three strains of LAB was added; the two LAB strains belonged to a *Lactobacillus brevis* species (one strain was from the IBPRS collection, and the second one was isolated from the naturally fermenting sourdough capable of growing at 15 °C). The third strain was a *Lactobacillus fermentum* from the IBPRS collection. The bread products made using this particular starter culture were characterized by the highest volume and a good quality and flavour. This culture was successfully tested in a bakery, under real production conditions. Moreover, during a one-week production cycle, it was confirmed that this starter culture was both user-friendly and useful for the bread-baking purposes. The other three starter cultures impacting the technological properties of doughs (for example the degree of souring) could also be applied to bake numerous varieties of bread products that differ in the raw material content and in their sensory qualities.

Key words: lactic acid bacteria, starters for bakery, sourdoughs, fermentation of dough, bread products

