

JOANNA ROZMIERSKA, ANDRZEJ UZAR, KRYSZYNA M. STECKA,
BEATA CHABŁOWSKA, KATARZYNA PIASECKA-JÓŹWIAK,
ELŻBIETA SŁOWIK, EMILIA SZKUDZIŃSKA-RZESZOWIAK

ZASTOSOWANIE KULTUR STARTEROWYCH BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ DO PRODUKCJI PIECZYWA Z WYSOKIM UDZIAŁEM MĄKI OWSIANEJ

Streszczenie

Celem pracy badawczej było otrzymanie pieczywa owsianego o dużej zawartości mąki owsianej razowej i odpowiedniej jakości sensorycznej, poprzez zastosowanie wyselekcjonowanych kultur starterowych. Wyizolowano jedenaście szczepów bakterii fermentacji mlekowej (LAB) naturalnie występujących w ekologicznej mące owsianej. Sześć z wyizolowanych szczepów należało do gatunku *Lactobacillus plantarum*, po dwa do *Pediococcus acidilactici* i *Pediococcus pentosaceus* i jeden do *Leuconostoc mesenteroides*. Przydatność wyizolowanych LAB do komponowania piekarskich kultur starterowych określono na podstawie oceny: zdolności do wzrostu w różnej temperaturze, ilości syntetyzowanego kwasu mlekowego i octowego oraz indywidualnej zdolności każdego ze szczepów LAB do modyfikowania przebiegu fermentacji i pozytywnego wpływania na cechy sensoryczne zakwasu. Z wyselekcjonowanych szczepów LAB sporządzono trzy mieszane kultury starterowe, różniące się liczbą szczepów i składem gatunkowym. W próbnym wypieku stosowano mieszaną kulturę starterową, charakteryzującą się zdolnością hamowania rozwoju pleśni w zakwasie owsianym, w skład której wchodziły: *L. plantarum* KKP 1797, *L. plantarum* KKP 1803, *P. pentosaceus* KKP 1804, *P. acidilactici* KKP 1805, *L. mesenteroides* KKP 1807. Przygotowano cztery warianty doświadczalne chlebów pszenno-owsianych na zakwasie wyprowadzonym z otrzymaną kulturą starterową, różniące się udziałem razowej mąki owsianej. Pieczywo z 30-procentowym udziałem mąki owsianej w zakwasie piekarskim charakteryzowało się objętością i jakością sensoryczną pozwalającą na zakwalifikowanie go do I klasy jakościowej zgodnie z polską normą (PN-A-74108:1996).

Słowa kluczowe: bakterie fermentacji mlekowej, kultury starterowe, zakwasy piekarskie, pieczywo owsiane

Mgr inż. J. Rozmierska, dr hab. K. M. Stecka, prof. nadzw., mgr B. Chabłowska, dr inż. K. Piasecka-Jóźwiak, mgr inż. E. Słowik, mgr E. Szkudzińska-Rzeszowiak, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa, mgr inż. A. Uzar Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, Żąbkowska 41, 03-736 Warszawa

Wprowadzenie

Ziarno owsa zwyczajnego (*Avena sativa* L.) ze względu na korzystne właściwości odżywcze i funkcjonalne jest pożądanym składnikiem diety człowieka. Przetwory owsiane mogą stanowić bardzo cenne uzupełnienie diety zarówno w celach profilaktycznych, jak i z uwagi na możliwość korygowania istniejących zaburzeń metabolicznych, takich jak: hipercholesterolemia, nadwaga, zaburzenia czynności przewodu pokarmowego, obniżona sprawność psychofizyczna, niedobory białka, miażdżyca i nadciśnienie [1, 2, 3, 12]. Stosowanie przetworów owsianych do produkcji pieczywa sprawia trudności technologiczne z uwagi na specyficzny skład chemiczny ziaren owsa, mimo to przemysł piekarski i jednostki naukowe od wielu lat podejmują próby wykorzystania produktów owsianych zarówno w roli surowca podstawowego, jak i dodatku do pieczywa [16, 17, 18, 19, 21, 22, 32]. Jednym z najnowszych i najbardziej obiecujących kierunków badań w tej dziedzinie są doświadczenia nad wykorzystaniem zakwasów piekarskich do poprawy jakości wypieków owsianych [13, 15, 16, 17, 18].

Wykazano, że dzięki dużej zawartości β -glukanów owies charakteryzuje się zdolnością zatrzymywania wilgoci, która przyczynia się do utrzymania świeżości pieczywa przez dłuższy czas, a liczne badania potwierdzają, że dodatek owsa, skrobi lub lecytyny owsianej może znacznie wydłużyć termin jego przydatności do spożycia [9, 20, 33]. W przypadku pieczywa z zawartością min. 10 % mąki owsianej, w związku ze zwiększeniem stopnia zatrzymania wody w miększu chleba, obserwuje się również znaczące obniżenie stopnia retrogradacji skrobi. Przypuszcza się również, że pewne, nie do końca poznane, właściwości skrobi owsianej także przyczyniają się do ograniczenia procesu czerstwienia [8, 33].

Głównym problemem, który utrudnia stosowanie mąki owsianej w roli podstawowego surowca w produkcji pieczywa, jest obniżenie jakości wypieków, postępujące w miarę zwiększania udziału mąki owsianej w cieście. Dzieje się tak dlatego, że białkom zapasowym owsa (z racji małej zawartości prolaminy, gluteniny) brakuje strukturotwórczych właściwości glutenu, który odpowiada za elastyczną konsystencję ciasta pszennego, a tym samym umożliwia zatrzymywanie w nim pęcherzyków gazu [5, 8, 11, 32].

W krajach Europy Zachodniej przyjęto, że mianem „pieczywa owsianego” mogą być nazywane wypieki o zawartości min. 20 g przetworów owsianych na 100 g mąki ogółem [8]. W miarę zwiększania ilości produktów owsianych w cieście, powyżej tego poziomu, otrzymuje się produkty o coraz bardziej niekorzystnych cechach. Pieczywo takie charakteryzuje się znacznie mniejszą objętością i spoistością, dużą wilgotnością oraz lepką i gumowatą konsystencją [8, 13, 15, 16, 17, 18, 32]. Wykazano, że dodatek 20 g płatków owsianych do ciasta pszennego powodował zmniejszenie objętości wypieku o 10 % w stosunku do wypieku kontrolnego [5]. Wykazano również, że wypieki o cechach zbliżonych do wypieków kontrolnych można otrzymać, stosując

najwyżej 10 g produktów owsianych na 100 g mąki ogółem [6, 8, 32]. Niekorzystne właściwości wypiekowe mąki owsianej mogą być kompensowane dodatkiem glutenu witalnego [8, 16]. Dzięki swoim właściwościom gluten witalny wzmacnia szkielet proteinowy ciasta, co oddziałuje korzystnie na jego cechy lepkością i poprawia tym samym strukturę wypieku. Niewielkie zmiany objętości wypieków, które występują przy wprowadzeniu już do 15 g mąki owsianej na 100 g mąki ogółem mogą być również kompensowane poprzez znaczne zwiększenie udziału wody w cieście (68 - 92 g/100 g mąki ogółem) [8, 14, 23]. Flander i wsp. [8] wykazali, że przy jednoczesnym dodaniu do ciasta glutenu witalnego i zwiększeniu ilości wody można otrzymać dobrej jakości wypiek, pomimo zawartości nawet 51 g mąki owsianej na 100 g mąki ogółem.

W badaniach nad wykorzystaniem procesów fermentacyjnych do wzmocnienia prozdrowotnego oddziaływania przetworów owsianych udowodniono, że fermentacja mlekowa przyczynia się do znacznej redukcji zawartości fitynianów owsianych, przez co następuje zwiększenie przyswajalności pokarmowej mikro- i makroelementów (w szczególności żelaza) [4]. Wykazano także, że procesy fermentacyjne zachodzące w zakwasach owsianych skutkują zwiększeniem rozpuszczalności β -glukanów i białek owsianych w wodzie, z jednoczesnym brakiem wpływu na zawartość tych związków [6]. Ponadto, dochodzi do częściowej depolimeryzacji β -glukanów, która sprzyja poprawie właściwości reologicznych ciast poprzez obniżenie ich lepkości [4, 6, 8].

Hüttner i wsp. [15] dowiedli, że zastosowanie zakwasu owsianego w technologii wypieków owsianych intensyfikuje proces kleikowania i hydrolizy skrobi oraz wywiera bardzo korzystny wpływ na objętość uzyskanego pieczywa, strukturę jego miękkiszu i szybkość czerstwienia. Stwierdzono również, że mikroflora naturalnych zakwasów owsianych różni się od mikroflory typowej dla zakwasów pszennych i żytnich. Według Hüttnera i wsp. [15], gatunkami bakterii mlekowych, dominującymi w naturalnych zakwasach owsianych, otrzymanych w temperaturze 28 °C, są: *Leuconostoc argentinum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Weissella cibaria*, a w 37 °C *Lactobacillus coryniformis*.

W polskich ośrodkach naukowych prowadzi się badania dotyczące otrzymywania pieczywa z udziałem różnych rodzajów mąki owsianej i otrąb owsianych. Polegają one głównie na optymalizacji sposobu otrzymywania tego typu pieczywa. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem udziału pochodnych owsa w pieczywie zmniejsza się jego objętość, co niekorzystnie wpływa na ogólną ocenę pieczywa [13, 16, 17, 18, 32]. W badaniach Kawki i wsp. [16, 17, 18] surowce owsiane wprowadzano do pieczywa w formie zakwasów otrzymanych z zastosowaniem komercyjnych starterów bakteryjno-drożdżowych LV1 i LV2. Autorzy stwierdzili, że rodzaj kultury starterowej wpływa na jakość wypieków, przy czym lepsze wyniki uzyskano stosując kulturę starterową LV2, zawierającą większą liczbę bakterii w stosunku do liczby drożdży.

Ogólnie uznaje się, że stosowanie zakwasów w technologii pieczywa wpływa korzystnie na jego jakość, w tym cechy sensoryczne, a także wartość żywieniową. Podczas prowadzenia zakwasów z udziałem różnego rodzaju mąki ustala się w nich populacja mikroorganizmów zaadaptowanych do warunków panujących w cieście, utrzymującą się przez długi okres odświeżania danego zakwasu. Środowisko bytowania LAB wpływa na metabolizm szczepów bakterii, dlatego szczepy wyizolowane z ciasta przygotowanego z określonego rodzaju mąki powinny być dobrze przystosowane do tego środowiska. Korzystne jest więc komponowanie kultur starterowych składających się ze szczepów LAB najlepiej przystosowanych do danego rodzaju ciast (wyizolowanych z zakwasów uzyskanych z takiego rodzaju mąki, do której będą przeznaczone kultury starterowe) [7, 24, 31]. Ponadto fermentowanie różnych rodzajów mąki przy udziale takich samych kultur starterowych może prowadzić do ujednoczenia smaku produktów gotowych.

Celem pracy było otrzymanie pieczywa owsianego o dużej zawartości mąki owsianej razowej i odpowiedniej jakości sensorycznej poprzez zastosowanie wyselekcjonowanych i odpowiednio skomponowanych kultur starterowych, składających się z bakterii mlekowych wyizolowanych z ekologicznej mąki owsianej.

Material i metody badań

Surowiec główny stanowiła mąka owsiana razowa (typu 2000) wyprodukowana z ziaren owsa nagoziarnistego w „Wytwórni Makaronu Bio” A. i M. Babalscy z Pokrzydowa. Stosowano również mąkę pszenną typu 550 firmy Lubella o wilgotności 14,0 %, liczbie opadania 350 s i zawartości glutenu 25 %, charakteryzującą się ponadto parametrami farinograficznymi typowymi dla mąki o dobrej wartości wypiekowej. Zakwasy z mąki owsianej razowej przygotowano o wydajności 200 %. Spontaniczną fermentację wielostopniową zakwasów prowadzono w temp. 30 i 37 °C w celu uzyskania możliwie zróżnicowanej i stabilnej mikroflory. Odświeżanie zakwasów następowało co 24 h, z zastosowaniem 10 % dodatku dojrzałego zakwasu z I fazy. W celu izolacji bakterii fermentacji mlekowej wykonywano posiewy zakwasów po 48 i 72 h fermentacji spontanicznej na stałe podłoża MRS z glukozą i MRS z maltozą. Po 48 h wzrostu na podłożach stałych izolowano kilkadziesiąt pojedynczych kolonii LAB. Morfologię LAB oceniano przy użyciu mikroskopu świetlnego Nikon Optiphot-2 (z komputerowym systemem analizy obrazu Image Pro). Wyprowadzano czyste kultury szczepów LAB z wybranych linii komórkowych. Przynależność gatunkową bakterii fermentacji mlekowej potwierdzano w analizie sekwencji genu 16S rRNA. Zidentyfikowano 11 szczepów LAB, które następnie scharakteryzowano pod względem właściwości biotechnologicznych. Oceniano zdolność bakterii do wzrostu w temp. 25, 30 i 37 °C po 24 h hodowli. W optymalnej temperaturze wzrostu każdego szczepu oznaczano ilości syntetyzowanych kwasów: mlekowego i octowego. oznaczenia prowadzo-

no spektrofotometrycznie (Spektrofotometr UV-VIS, DU 800, BeckmanCoulter), przy użyciu testów enzymatycznych 'D-Lacticacid/L-lacticacid' i 'Aceticacid' firmy Boehringer Mannheim / R-Biopharm.

Przygotowano zakwasy modelowe z udziałem wszystkich wyizolowanych szczepów. Określano zdolność poszczególnych szczepów LAB do usprawniania i przyspieszania procesu fermentacji zakwasu oraz ich efektywność w poprawianiu jego jakości mikrobiologicznej (szczególnie ograniczania rozwoju pleśni) i cech sensorycznych. Biomasa bakterii, stosowanych do zakwasów, otrzymywano w wyniku trwającej 48 h hodowli prowadzonej w optymalnej temperaturze wzrostu szczepów, w podłożu, które zawierało glukozę i sacharozę (w stosunku 1 : 1) jako źródło węgla. Opracowano skład trzech mieszanych kultur starterowych. Podczas doboru szczepów kierowano się następującymi kryteriami: zdolność do wzrostu, ilość syntetyzowanego kwasu mlekowego i octowego oraz indywidualna zdolność każdego ze szczepów do modyfikowania przebiegu fermentacji i pozytywnego wpływania na zapach zakwasu. Uwzględniano również przynależność gatunkową szczepów, komponując kultury mieszane tak, aby były jak najbardziej różnorodne pod względem gatunków LAB i liczby szczepów. Oceniano zapach i wygląd zewnętrzny zakwasów oraz wpływ badanych kultur starterowych na rozwój bakterii kwaszących i pleśni.

Analiza mikrobiologiczna zakwasów owsianych polegała na oznaczeniu tradycyjnymi metodami mikrobiologicznymi według norm PN-EN ISO 7218:1998 [27] i PN-EN ISO 6887-1:2000 [29] liczby bakterii kwaszących na podłożu Smith-Lorenza według PN-ISO 15214:2002 [30] oraz liczby pleśni według PN-EN ISO 7954:1999 [28].

Do wyrobu ciast chlebowych stosowano zakwas piekarski o wydajności 200 %, który otrzymano z zastosowaniem najlepiej ocenionej mieszanej kultury starterowej KM1, dodawanej w ilości 1 % w stosunku do masy mąki owsianej. Fermentację zakwasu prowadzono w komorze fermentacyjnej IBIS KFK przez 24 h. Po zakończeniu fermentacji zakwasu wykonywano jego ocenę fizykochemiczną (oznaczano pH i kwasowość ogólną) według normy PN-A-74100:1992 [25] oraz wykonywano ocenę sensoryczną, oceniając jego wygląd zewnętrzny, barwę, strukturę, konsystencję i zapach według PN-A-74100:1992 [25].

Ciasta pszenno-owsiane do wypieków chleba przygotowywano w mieszarce spiralnej IBIS typu NS. Przygotowano cztery warianty ciasta chlebowego z uwzględnieniem ilości surowców według receptury zamieszczonej w tab. 1.

Ciasta poddawano fermentacji w komorze fermentacyjnej przez 30 min (temp. 30 °C, wilgotność względna 80 %). Następnie dzielono na kęsy o masie 250 g, umieszczano w foremkach i fermentowano przez kolejne kilkadziesiąt minut (temp. 35 °C, wilgotność względna 80 %) aż do uzyskania optymalnej dojrzałości biologicznej. Badania półproduktów piekarskich wykonywano zgodnie z PN-A-74100:1992 [25]. W ciastach oznaczano: pH, kwasowość ogólną oraz temperaturę,

przeprowadzono analizę sensoryczną (oceniono wygląd zewnętrzny, barwę, strukturę, konsystencję oraz zapach). Wypiek chleba prowadzono w piecu Piccolo firmy Winkler Ahtel, w komorze nagrzaną do 230 °C, z początkowym zaparowaniem, przez 40 min. W celu określenia straty piecowej uzyskane bochenki chleba ważono po wyjęciu z komory wypiekowej oraz po 24 h od wypieku. Wykonano analizę fizykochemiczną otrzymanego pieczywa, w ramach której oznaczano: objętość za pomocą aparatu Sa-Wy i przeliczano na V_{100} , wilgotność, pH i kwasowość ogólną miękiszu. Przeprowadzono również punktową ocenę sensoryczną wypieków według PN-A-74108:1996 [26].

Tabela 1

Ilość surowców i półproduktów w różnych wariantach ciasta.
Quantities of raw materials and semi-finished products in different dough variants.

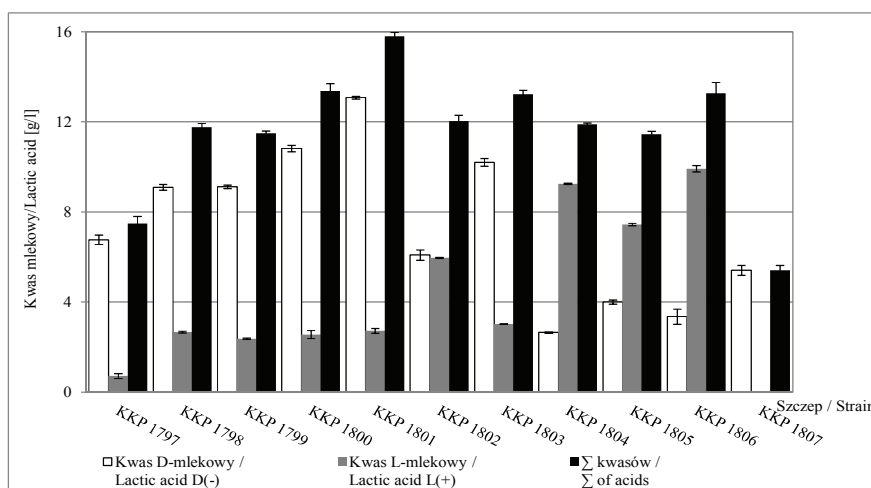
Skład recepturowy Recipe-based composition	Wariant ciasta / Variant of dough			
	A	B	C	D
Wydajność ciasta / Yield of dough [%]	163,3	161,7	161,7	165,0
Zakwas owsiany / Oat sourdough [g]	720	600	360	360
Mąka owsiana razowa / Wholemeal oat flour [g]	240	-	-	-
Mąka pszenna typu 550 / Wheat flour type 550 [g]	-	300	420	420
Drożdże piekarskie / Baker's yeast [g]	12	12	12	12
Sól spożywcza / Table salt [g]	12	12	12	12
Gluten witalny / Vital gluten [g]	-	-	-	30

Analizy statystycznej otrzymanych wyników dokonano w programie Statgraphics 5.1 Plus. Wyniki oznaczeń wyrażono w postaci średnich arytmetycznych i średnich błędów standardowych (SEM). Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi przeprowadzono z użyciem analizy wariancji (ANOVA). Najmniejsze istotne różnice wyznaczano testem post-hoc Tukeya. Różnice na poziomie istotności $p < 0,05$ uznano za statystycznie istotne.

Wyniki i dyskusja

Wyizolowano 11 szczepów bakterii fermentacji mlekowej: *Lactobacillus plantarum* KKP 1797, *Lactobacillus plantarum* KKP 1798, *Lactobacillus plantarum* KKP 1799, *Lactobacillus plantarum* KKP 1800, *Lactobacillus plantarum* KKP 1801, *Lactobacillus plantarum* 1803, *Pediococcus acidilactici* 1802, *Pediococcus acidilactici* KKP 1805, *Pediococcus pentosaceus* KKP 1804, *Pediococcus pentosaceus* KKP 1806, *Leu-*

conostoc mesenteroides KKP 1807. Gatunkiem dominującym liczebnie w wyizolowanej z zakwasów owsianych grupie szczepów był *L. plantarum*, często dominujący w mikroflorze zakwasów piekarskich [24]. Wyizolowano również szczepy *P. pentosaceus* (z zakwasów prowadzonych w temp. 30 °C) i *P. acidilactici* (z zakwasów prowadzonych w temp. 37 °C), które zazwyczaj nie należą do gatunków izolowanych z zakwasów piekarskich. Gänzle [10] oraz Hüttner i wsp. [15] w trakcie badań nad mikroflorą naturalnie występującą w pełnoziarnistej mące owsianej również wykazali, że mikroflora kwasząca mąki owsianej istotnie różni się od mikroflory kwaszącej innych rodzajów mąki. Jednym z najczęściej izolowanych przez zespół Hüttnera i wsp. [15] gatunków LAB, z zakwasów owsianych prowadzonych w temp. 28 °C (a więc w temperaturze zbliżonej do zastosowanej w niniejszej pracy – 30 °C), był *P. pentosaceus*. Z zakwasów owsianych prowadzonych w temp. 37 °C wyżej wymienieni badacze wyizolowali tylko *L. coryniformis*.



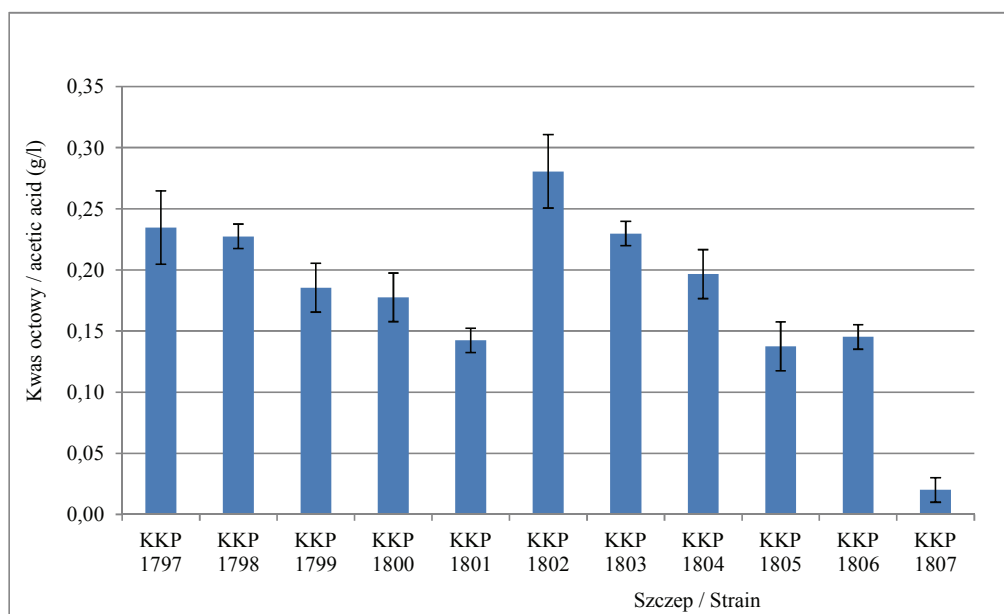
Rys. 1. Ilość zsyntetyzowanego kwasu mlekowego przez badane szczepy LAB w temp. 30 °C (średnia ± SEM; n = 2).

Fig. 1. Amount of lactic acid synthesized by LAB strains studied at a temperature of 30 °C (average ± SEM; n = 2).

Zdolność do wzrostu wyizolowanych szczepów LAB oceniono w temp. 25, 30 i 37 °C. Wzrost badanych szczepów charakteryzował się zbliżoną liczbą na poziomie 10^9 jtk/g zakwasu. W przypadku większości szczepów optymalną temperaturą wzrostu w bulionie MRS było 30 lub 25 i 30 °C (nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy wzrostem w tych temperaturach). Wyjątek stanowił szczep *L. plantarum*

KKP 1800, który lepiej rósł w temp. 30 i 37 °C. Na podstawie przeprowadzonego doświadczenia przyjęto, że temp. 30 °C jest optymalna do prowadzenia wspólnych hodowli testowanych szczepów. Ilość syntetyzowanego kwasu mlekowego i octowego oznaczono w optymalnej temperaturze wzrostu badanych szczepów (rys. 1 i 2).

Największą ogólną ilością wytwarzanego kwasu mlekowego charakteryzował się szczep *L. plantarum* KKP 1801, który syntetyzował jednocześnie najwięcej kwasu D-mlekowego. Wszystkie różnice pomiędzy poszczególnymi wartościami średnimi były statystycznie istotne. Biosynteza kwasu L-mlekowego najwydajniej przebiegała w przypadku szczepów: *P. pentosaceus* KKP 1804, *P. acidilactici* KKP 1805 i *P. pentosaceus* KKP 1806.



Rys. 2. Ilość zsyntetyzowanego kwasu octowego przez badane szczepy LAB w temp. 30 °C (średnia \pm SEM; n = 2).

Fig. 2. Amount of acetic acid synthesized by LAB strains studied at a temperature of 30 °C (average \pm SEM; n = 2).

Szczep *P. acidilactici* KKP 1802 syntetyzował największą ilość kwasu octowego w porównaniu z pozostałymi szczepami. Najmniejszą ilość kwasu octowego syntetyzował szczep *L. mesenteroides* KKP 1807.

W wyniku selekcji wyizolowanych szczepów LAB wybrano siedem szczepów, które posłużyły do sporządzenia trzech mieszanych kultur starterowych (tab. 2). Kryteria doboru szczepów do kultur starterowych opisano w metodyce.

Tabela 2

Skład skomponowanych mieszanych kultur starterowych.
Composition of mixed starter cultures produced.

Symbol starterowej kultury mieszanej Symbol of mixed starter culture	Skład Composition
KM1	<i>Lactobacillus plantarum</i> KKP 1797 <i>Lactobacillus plantarum</i> KKP 1803 <i>Pediococcus acidilactici</i> KKP 1805 <i>Pediococcus pentosaceus</i> KKP 1804 <i>Leuconostoc mesenteroides</i> KKP 1807
KM2	<i>Lactobacillus plantarum</i> KKP 1797 <i>Lactobacillus plantarum</i> KKP 1798 <i>Pediococcus acidilactici</i> KKP 1802
KM3	<i>Pediococcus acidilactici</i> KKP 1802, <i>Lactobacillus plantarum</i> KKP 1803, <i>Lactobacillus plantarum</i> KKP 1798, <i>Pediococcus acidilactici</i> KKP 1805

W trakcie fermentacji wszystkich zakwasów owsianych przygotowanych z udziałem poszczególnych mieszanych kultur starterowych następował statystycznie istotny przyrost liczby bakterii kwaszących. Największy przyrost liczby bakterii kwaszących miał miejsce podczas fermentacji zakwasu przygotowanego z zastosowaniem kultury KM1 (tab. 3).

Tabela 3

Zawartość bakterii kwaszących w zakwasach owsianych zależna od składu kultury starterowej.
Content of LAB in oat sourdough dependent on composition of starter cultures.

Mieszana kultura starterowa Mixed starter culture	Liczba bakterii kwaszących [log j.t.k. /g] Lactic acid bacteria count [log CFU/g]	
	0 h	24 h
KM1	9,00 ± 0,03	9,69 ± 0,02 ^a
KM2	9,04 ± 0,02	9,34 ± 0,02 ^b
KM3	9,17 ± 0,05	9,53 ± 0,03 ^c

Objaśnienia: / Explanatory notes:

średnia + SEM / average + SEM; n = 3;

a, b, c – wartości w kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie, $p < 0,05$ / values in the columns and denoted by different letters differ statistically significantly, $p < 0.05$.

Oceniono również wpływ kultur starterowych na obecność pleśni w zakwasach w trakcie fermentacji i stwierdzono, że zastosowanie kultury KM1 powodowało całkowite zahamowanie rozwoju pleśni. W przypadku zakwasów przygotowanych z zastosowaniem pozostałych kultur starterowych stwierdzono rozwój pleśni w liczbie $1 \cdot 10^1$ - $2,6 \cdot 10^2$ jtk/g zakwasu.

W ramach analizy fizykochemicznej zakwasów otrzymanych z użyciem mieszanych kultur starterowych oznaczono pH i kwasowość ogólną. Wyniki przedstawiono w tab. 4.

Tabela 4

Charakterystyka zakwasów owsianych otrzymanych z mieszanymi kulturami starterowymi.
Profiles of oat sourdoughs prepared with mixed starter cultures.

Mieszana kultura starterowa Mixed starter culture	pH	Kwasowość / Titratable acidity [°kwasowości] / [degrees of acidity]
Próbka kontrolna (0 h) / Control trial	5,96 ± 0,03 ^a	3,86 ± 0,06 ^a
KM1	3,94 ± 0,01 ^b	14,94 ± 0,04 ^b
KM2	3,99 ± 0,03 ^b	14,8 ± 0,07 ^b
KM3	3,96 ± 0,03 ^b	14,84 ± 0,04 ^b

Objaśnienia: / Explanatory notes:

średnia + SEM / average + SEM; n = 3;

a, b – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie, $p < 0,05$ / values in the columns and denoted by different letters differ statistical significantly, $p < 0.05$.

Stwierdzono statystycznie istotne różnice pod względem poziomu ukwaszenia pomiędzy zakwasami przygotowanymi z użyciem poszczególnych mieszanych kultur starterowych. Na podstawie przeprowadzonych ocen i analiz uznano również, że największą zdolnością kompleksowej poprawy cech zakwasów owsianych charakteryzuje się kultura KM1, której przydatność do otrzymywania pieczywa pszennego z udziałem mąki owsianej określono w próbnym wypiekach.

Strata piecowa i objętość wypieków zwiększały się wraz ze zmniejszaniem udziału zakwasu owsianego oraz zwiększaniem ilości mąki pszennej w cieście (tab. 5). Warianty wypieku: A i B oraz C i D nie różniły się istotnie pod względem stopnia ukwaszenia. Poszczególne warianty wypieków nie różniły się między sobą pod względem wilgotności (tab. 5). Wyniki punktowej oceny sensorycznej poszczególnych wariantów wypieków według kryteriów normy PN-A-74108:1996 [26] przedstawiono w tab. 6. Podczas oceny nie brano pod uwagę wskaźników fizykochemicznych (do sumy uzyskanych punktów dodano 8 jako ekwiwalent punktów przypadających na wskaźniki fizykochemiczne).

Tabela 5

Wyniki oceny jakości pieczywa różnych wariantów przygotowanych z kulturą starterową KM1.
Quality assessment results of different variants of breads made using KM1 starter culture.

Wskaźniki jakości Quality indicators	Wariant wypieku / Variant of baked breads:			
	A	B	C	D
Upiek / Baking loss [%]	10,3 ± 0,1 ^a	12,5 ± 0,03 ^b	13,2 ± 0,05 ^c	15 ± 0,11 ^d
Objętość / Volume V ₁₀₀ [cm ³]	244,9 ± 2,5 ^a	339,7 ± 3 ^b	517,6 ± 5 ^c	577,5 ± 4,5 ^d
Wilgotność miększa Moisture of crumb [%]	42 ± 1 ^a	42 ± 1 ^a	43 ± 1 ^a	43 ± 1 ^a
pH	3,63 ± 0,05 ^a	3,67 ± 0,02 ^a	3,89 ± 0,06 ^b	3,94 ± 0,02 ^b
Kwasowość / Titratable acidity [°kwasowości] / [degrees of acidity]	5,06 ± 0,1 ^a	4,98 ± 0,05 ^a	3,46 ± 0,13 ^b	3,36 ± 0,11 ^b

Objaśnienia: / Explanatory notes:

średnia + SEM / average + SEM; n = 3;

a, b, c – wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie, p < 0,05 / values in the rows and denoted by different letters differ statistically significantly, p < 0.05.

Tabela 6

Ocena sensoryczna poszczególnych wariantów wypieków wg PN-A-74108:1996.

Sensory evaluation of individual variants of baked breads according to PN-A-74108:1996.

Cecha / Feature	Wariant wypieku / Variant of baked breads			
	A	B	C	D
Wygląd zewnętrzny / External appearance	-35	0	4	5
Skórka – barwa / Crust – colour	0	2	3	3
Skórka – grubość / Crust – thickness	0	4	4	4
Skórka – pozostałe cechy / Crust – other features	0	0	4	4
Miękisz – elastyczność / Crumb – elasticity	-35	3	4	4
Miękisz – porowatość / Crumb – porosity	-35	0	3	3
Miękisz – pozostałe cechy / Crumb – other features	-35	2	3	3
Smak i zapach / Taste and smell	0	6	6	6
Suma punktów (+8) / Points in total (+8)	-132	25	39	40
Klasa jakości / Quality class	-	IV	I	I

W toku próbnych wypieków przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy nie uzyskano pieczywa o 100-procentowej zawartości mąki owsianej, które charakteryzowałyby się zadowalającą jakością (wariant A). Wykazano, że poprzez zastosowanie odpowiednio skomponowanej kultury starterowej (KM1) można otrzymać pieczywo o dobrej jakości, które zawiera 50 % mąki owsianej razowej w stosunku do całości masy mąki użytej do sporządzenia ciasta (wariant B – IV klasa jakości pieczywa według kryteriów PN-A-74108-1996 [26]).

Taki sam udział mąki owsianej określili Flander i wsp. [8] poprzez dodanie znacznej ilości glutenu witalnego (15 % w stosunku do ogólnej masy mąki) i drastyczne zwiększenie udziału wody w cieście (91,5 g na 100 g mąki ogółem). Pieczywo o takiej samej zawartości mąki owsianej, jak w doświadczeniach wymienionych autorów, uzyskano w niniejszej pracy – bez dodatku glutenu witalnego oraz przy udziale wody w cieście wynoszącym 61,7 g. Podobnie Kawka i wsp. [17, 18] otrzymali pieczywo dobrej jakości, w którym surowcem były ukwaszone otręby owsiane. Ze względu na różnice w zastosowanym surowcu i metodach oceny trudno porównać pieczywo otrzymane w poszczególnych pracach badawczych [8, 13, 15, 16, 17, 18, 32]. W niniejszej pracy zmniejszenie zawartości mąki owsianej razowej do 30 % w stosunku do masy mąki ogółem powodowało poprawę jakości wypieków. Pieczywo uzyskane w ten sposób (wariant C) zostało zaklasyfikowane do I klasy jakościowej według PN-A-74108-1996 [26] oraz charakteryzowało się delikatniejszym smakiem (aczkolwiek również wyraźnym i charakterystycznym) niż wypieki wykonane według wariantu B. Dodatek glutenu witalnego w ilości 5 % do ciasta o zawartości 30 % mąki owsianej razowej w stosunku do mąki ogółem (wariant D) nie powodował znaczących zmian w wypiekach w stosunku do wariantu C (z wyjątkiem nieznacznego zwiększenia ich objętości). Można zatem stwierdzić, że zastosowanie kultur starterowych składających się z autochtonicznych szczepów bakterii fermentacji mlekowej pozwala na zwiększenie udziału mąki owsianej w pieczywie bez stosowania dodatków polepszających.

Wnioski

1. Opracowano mieszaną bakteryjną kulturę starterową, której zastosowanie umożliwia otrzymanie bardzo dobrej jakości pieczywa z 30-procentowym udziałem mąki owsianej razowej oraz dobrej jakości pieczywa z 50-procentowym udziałem mąki owsianej, bez zastosowania dodatków polepszających, takich jak gluten witalny lub preparaty enzymatyczne.
2. Izolacja i selekcja bakterii fermentacji mlekowej z naturalnie fermentujących zakwasów piekarskich, uzyskanych ze zbóż niechlebowych (np. z mąki owsianej), jest sposobem na otrzymanie efektywnie działających kultur starterowych w określonym środowisku.

3. Zastosowanie mieszanych kultur starterowych wpływa na poprawę jakości mikrobiologicznej zakwasów (ograniczenie lub wyeliminowanie obecności pleśni) oraz korzystnie wpływa na jakość pieczywa.

Badania zrealizowano w ramach projektu „Ekologiczne metody produkcji pieczywa i produktów zbożowych oraz metody wydłużania trwałości i świeżości parametrów przechowalniczych tych wyrobów” – zgodnie z decyzją Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (decyzja nr RRre-029-28-25/11(39) oraz tematu prowadzonego w ramach działalności statutowej IBPRS.

Literatura

- [1] Bartnikowska E., Lange E.: Znaczenie dietetyczne przetworów owsianych, ich wpływ na stężenie cholesterolu w osoczu oraz poposiłkową glikemię. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **1** (22), 18-35.
- [2] Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M.: Ziarno owsa – niedocenione źródło składników odżywczych i biologicznie czynnych. Część I. Ogólna charakterystyka owsa. Białka, tłuszcze. *Biul. IHiAR*, 2000, **215**, 209-221.
- [3] Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M.: Ziarno owsa – niedocenione źródło składników odżywczych i biologicznie czynnych. Część II. Polisacharydy i włókno pokarmowe, składniki mineralne i witaminy. *Biul. IHiAR*, 2000, **215**, 223-237.
- [4] Bering S., Suchdev S., Sjøtø L., Berggren A., Tetens I., Bukhave K.: A lactic acid-fermented oat gruel increases non-haem iron absorption from a phytate-rich meal in healthy women of childbearing age. *Br. J. Nutr.*, 2006, **96**, 80-85.
- [5] Brümmer J.M., Morgenstern G., Neumann H.: Herstellung von Hafer-, Gerste-, Mais-, Reis-, Hirse- und Buchweizenbrot. *Getreide, Mehl und Brot*, 1988, **5**, 153-158.
- [6] Degutye-Fomins L., Sontag-Strohm T., Salovaara H.: Oat bran fermentation by rye sourdough. *Cereal Chem.*, 2002, **79**, 345-348.
- [7] De Vuyst L., Vancanneyt M.: Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiol.*, 2007, **24**, 120-127.
- [8] Flander L., Salmenkallio-Marttila M., Suortti T., Autio K.: Optimization of ingredients and baking process for improved wholemeal oat bread quality. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2006, **40**, (5), 860-870.
- [9] Forssell P., Shamek S., Härkönen H., Poutanen K.: Effects of native and enzymatically hydrolysed soya and oat lecithins in starch phase transitions and bread baking. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, **76**, 31-38.
- [10] Gänzle M.G.: Mikrobiologie des Sauerteiges. In: *Handbuch Sauerteig*. Eds. M.J. Brandt and M.G. Gänzle. Behr's Verlag, Hamburg, 2005, pp. 77-108.
- [11] Gąsiorowski H. (Red.): *Owies. Chemia i technologia*. PWRiL, Poznań 1995.
- [12] Gibiński M., Gumul D., Korus J.: Prozdrowotne właściwości owsa i produktów owsianych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4** (45), 49-60.
- [13] Gibiński M., Gambuś H., Nowakowski K., Mickowska B., Pastuszka D., Augustyn G., Sabat R.: Wykorzystanie mąki owsianej – produktu ubocznego przy produkcji koncentratu z owsa w piekarstwie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 56-75.
- [14] Gormley T.R., Morrissey A.: A note on the evaluation of wheaten breads containing oat flour or oat flakes. *Irish J. Agric. Food Res.*, 1993, **32**, 205-209.

- [15] Hüttner E.K., Dal Bello F., Arendt E.K.: Identification of lactic acid bacteria isolated from oat sourdoughs and investigation into their potential for the improvement of oat bread quality. *Eur. Food Res. Technol.*, 2010, **230** (6), 849-857.
- [16] Kawka A., Rausch P., Budna A.: Startery fermentacji w produkcji pieczywa pszenno-owsianego. *Nauka Przyr. Technol.*, 2010, **4**, 2.
- [17] Kawka A., Górecka D.: Porównanie składu chemicznego pieczywa pszenno-owsianego i pszenno-jęczmiennego z udziałem zakwasów fermentowanych starterem LV2. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 44-55.
- [18] Kawka A., Górecka D.: Porównanie składu chemicznego pieczywa pszenno-owsianego i pszenno-jęczmiennego z udziałem zakwasów fermentowanych starterem LV1. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **42**, 288-293.
- [19] Kawka A.: Współczesne trendy w produkcji piekarskiej – wykorzystanie owsa i jęczmienia jako zbóż niechlebowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 25-43.
- [20] McKechnie R.: Oat products in bakery foods. *Cereal Foods World*, 1983, **28**, 635-637.
- [21] Krishnan P., Chang K., Brown G.: Effect of commercial oat bran on the characteristics and composition of bread. *Cereal Chem.*, 1987, **64**, 55-58.
- [22] Oomah B.D.: Baking and related properties of wheat–oat composite flours. *Cereal Chem.*, 1983, **60**, 220-225.
- [23] Oomah B.D., Lefkovich L.P.: Optimal oxidant requirement of wheat – oat composite flours. *Nahrung*, 1988, **32** (6) 527-538.
- [24] Piasecka-Józwiak K., Chabłowska B., Słowik E., Rozmierska J., Stecka K.: Zastosowanie kultur starterowych (wyselekcjonowanych szczepów bakterii mlekowych) do poprawy jakości pieczywa mieszanego i żytniego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1** (46) Supl., 100-112.
- [25] PN-A-74100:1992. Półprodukty piekarskie. Metody badań.
- [26] PN-A-74108:1996. Pieczywo. Metody badań.
- [27] PN-EN ISO 7218:1998. Mikrobiologia żywności i pasz. Ogólne wymagania i zasady badań mikrobiologicznych.
- [28] PN-EN ISO 7954:1999. Mikrobiologia. Ogólne zasady oznaczania drożdży i pleśni. Metoda płytkowa w 25 °C.
- [29] PN-EN ISO 6887-1:2000. Mikrobiologia żywności i pasz. Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych. Ogólne zasady przygotowania zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych.
- [30] PN-ISO 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30 °C.
- [31] Scheirlinck I., van der Moulen R., van Schoot A., Vancanneyt M., de Vuyst L., Vandamme P., Huys G.: Influence of geographical origin and flour type on diversity of lactic acid bacteria in traditional Belgian sourdough. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, 6262-6269.
- [32] Wolska P., Ceglińska A., Rudzińska A.: Wpływ dodatku produktów owsianych na jakość pieczywa pszenne. *Nauka Przyr. Technol.*, 2009, **3** (4).
- [33] Zhang D.C., Moore W.R., Doehlert D.C.: Effects of oat grain hydrothermal treatments on wheat-oat flour dough properties and bread baking quality. *Cereal Chem.*, 1998, **75**, 602-605.

APPLYING LACTIC ACIDS BACTERIA STARTER CULTURES TO PRODUCE BREAD WITH HIGH CONTENT OF OAT FLOUR

Summary

The objective of the research study was to produce oat breads, containing a high amount of wholemeal oat flour and showing a proper sensory quality, by means of applying some selected starter cultures. Eleven strains of lactic acid bacteria (LAB), occurring naturally in organic wholemeal oat flour, were isolated. Among the isolated strains, six strains belonged to *Lactobacillus plantarum* species, two strains to *Pediococcus acidilactici*, two strains to *Pediococcus pentosaceus*, and one strain belonged to *Leuconostoc mesenteroides* species. The suitability of the isolated LAB for making baker's starter cultures was determined based on the results of assessing the following: capability of growing at various temperatures, quantity of synthesized lactic acid and acetic acid, and individual ability of each LAB strain to modify the fermentation process and to positively impact sensory qualities of sourdough. From among the LAB strains selected, three mixed starter cultures were prepared; they varied in the number of strains and in the strain composition. A mixed starter culture, characterized by the capability of inhibiting mould growth in oat sourdough, was added to the baked experimental products; this started culture consisted of: *L. plantarum* KKP 1797, *L. plantarum* KKP 1803, *P. pentosaceus* KKP 1804, *P. acidilactici* KKP 1805, and *L. mesenteroides* KKP 1807. Four experimental variants of wheat-oats bread were prepared using the sourdough produced with the application of the starter culture made; the sourdoughs used to make the four bread variants differed in the content of wholemeal oat flour. The bread containing 30 % of wholemeal oat flour in the sourdough was characterized by such a volume and sensory quality that it was possible to classify it into the first quality class according to PN-A-74108:1996.

Key words: lactic acid bacteria, starter cultures, sourdough, oat bread 