

DOROTA ZARĘBA

STABILNOŚĆ AROMATU FERMENTOWANEGO MLEKA SOJOWEGO W CZASIE CHŁODNICZEGO PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Typowymi związkami tworzącymi aromat mlecznych napojów fermentowanych są: aldehyd octowy, diacetyl, kwas mlekowy, kwas octowy, acetoina i wiele innych. Udział wymienionych związków decyduje o pożądanym i akceptowanym walorach zapachowo-smakowych mlecznych napojów fermentowanych. Mleko sojowe ma odmienny skład w porównaniu z mlekiem krowim, co powoduje, że charakteryzuje się innymi cechami smaku i zapachu.

Celem pracy była ocena stabilności aromatu jogurtów sojowych w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania. Dla pogłębienia interpretacji wyników obrazujących stabilność aromatu, określono przeżywalność bakterii jogurtowych i zmiany pH jogurtu sojowego podczas magazynowania. Analiza chromatograficzna GC-MS z użyciem techniki SPME wykazała brak istotnych zmian profilu lotnych związków jogurtów sojowych w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania. Dodatek glukozy nie miał większego wpływu na intensyfikację zmian profilu aromatycznego jogurtów podczas przechowywania. W składzie lotnych związków zidentyfikowano: etanol, 1-heksanol, acetoinę, 2,3-butanodion (diacetyl), 2,3-pentanodion, heksanal, nonanal, kwas butanowy i octowy.

Słowa kluczowe: jogurt sojowy, przechowywanie, związki lotne, aromat, SPME

Wstęp

Produkcja jogurtów z mleka sojowego polega na fermentacji przez bakterie jogurtowe (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*) i/lub probiotyczne (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp.) mleka sojowego z dodatkiem sacharozy, glukozy lub laktozy. Dotychczas na polskim rynku nie ma sojowych analogów jogurtów mlecznych. Jak wykazują badania, dodatek bakterii fermentacji mlekowej do mleka sojowego wpływa na poprawę jego wartości odżywczej oraz smakowości poprzez rozkład związków wpływających niekorzystnie na cechy smakowe (heksanal, pentanal) lub cukrów będących substratami tworzenia gazów przez mikroflorę jelitową (stachiozy, rafinozy) [14, 25]. Należy podkreślić, że żywe komórki bakterii

Mgr inż. D. Zaręba, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa

fermentacji mlekowej przyczyniają się także do zwiększenia biodostępności aminokwasów egzogennych, ponadto fermentowane mleko sojowe wykazuje działanie: obniżające poziom cholesterolu, antyoksydacyjne, antymutagenne [15, 30]. Jak wykazał Miyazaki [21] mleko sojowe fermentowane przez *Bifidobacterium* stymuluje również produkcję kwasu hialuronowego w komórkach skóry. Dodatkowo mleko sojowe zawiera korzystne izoflawony, na przykład genisteinę i daidzeinę, które prawdopodobnie hamują rozwój niektórych nowotworów, niwelują efekty menopauzy i osteoporozy, a także korzystnie wpływają na układ sercowo-naczyniowy [6, 10, 16].

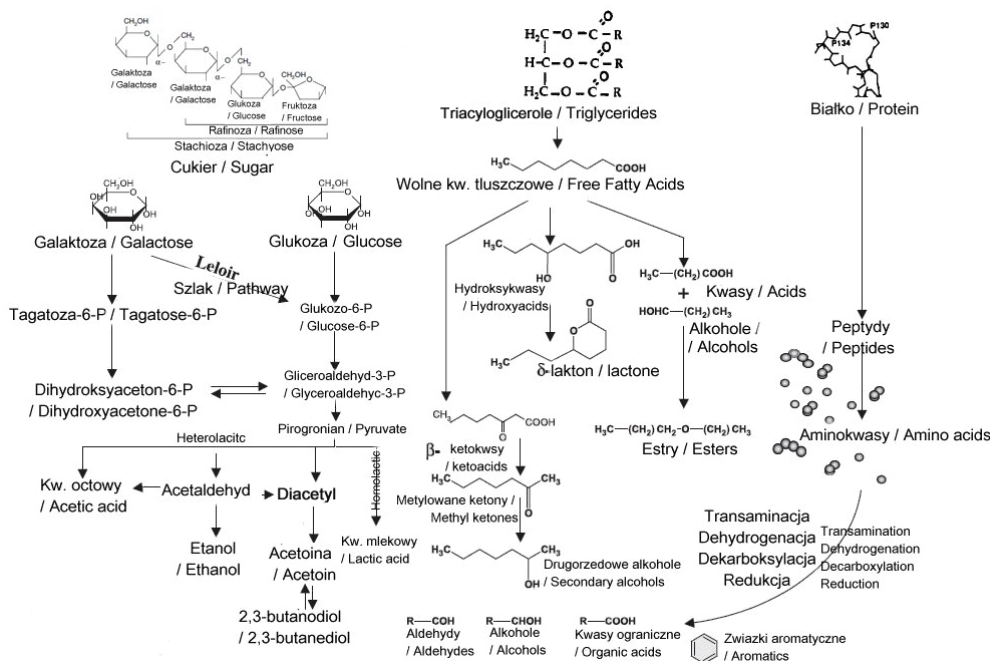
Mikroflora starterowa to podstawowy czynnik profilujący cechy smakowo-zapachowe produktów fermentowanych. W wyniku aktywności proteolitycznej, lipolitycznej i przede wszystkim fermentacyjnej bakterie fermentacji mlekowej kształtują cechy sensoryczne napojów fermentowanych, zależne od użytych rodzajów i gatunków LAB [1, 4].

Mleko sojowe (soymilk) jest napojem produkowanym z ziaren soi lub izolatów sojowych. Najczęściej do jego produkcji wykorzystywana jest mąka sojowa. W suchej masie ziarna soi, w zależności od rodzaju, jak i warunków klimatycznych, zawarty jest przeciętnie 40 % białka, 20 - 25 % lipidów i 30 % węglowodanów. Po procesie pozyskiwania mleka sojowego zawartość tych składników zmniejsza się średnio 10-krotnie: w mleku sojowym pozostaje około 4 % białka, 2 - 2,2 % tłuszczu ogółem i ok. 1,8 % węglowodanów. Dominującymi węglowodanami mleka sojowego są stachioza (120,3 mg/100 cm³), rafinoza (55,4 mg/100 cm³) i glukoza (76,0 mg/100 cm³) [25]. Mleko sojowe zawiera mniej niestrawnych oligosacharydów i frakcji tłuszczowych w porównaniu z całymi ziarnami soi. Jednak produkt ten nadal charakteryzuje nieprzyjemny zapach i smak, opisywany jako surowy lub mączny, za który w największym stopniu odpowiada heksanal powstający w czasie lipooksygenacji wielonienasyconych kwasów.

Wielu badaczy udowodniło pozytywny wpływ fermentacji mlekowej na zawartość heksanalu [2, 3, 25]. Z tego względu podstawowym wyróżnikiem cechującym bakterie fermentacji mlekowej wykorzystywane w procesie fermentacji mleka sojowego powinna być zdolność do fermentacji tych cukrów. Garro i wsp. [13] stwierdzili redukcję zawartości stachiozy w mleku sojowym o 85 % przez mezofilne pałeczki mlekowe gatunku *Lb. fermentum*. W badaniach innych naukowców szczep *Lb. fermentum* CRL 722 miał zdolność do całkowitego rozkładu stachiozy i rafinozy, tym samym uwalniając produkt od niepożądanych oligosacharydów [17]. Cytowani badacze zasugerowali wykorzystanie bakterii fermentacji mlekowej, jako nośnika egzogennych enzymów trawiennych, w tym α -galaktozydazy, w postaci doustnie przyjmowanych preparatów ułatwiających trawienie węglowodanów [7, 17]. Podobnie Thi i wsp. [24] w wyniku badań nad zmniejszaniem koncentracji stachiozy i rafinozy w mleku sojowym wykazali zasadność zastosowania bakterii fermentacji mlekowej i tym samym

potwierdzili rozkład tych oligosacharydów oraz innych związków mających w efekcie wpływ na korzystne zmiany smaku i zapachu produktu finalnego. Metabolizm oligosacharydów przez LAB zależy od aktywności galaktozydazy, która jest dominującym enzymem *Str. thermophilus* (w porównaniu do aktywności tego enzymu innych kultur jogurtowych), natomiast *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* charakteryzuje się dominującą aktywnością proteolityczną [9].

Układ uzupełniających się aktywności biochemicznych obu gatunków bakterii jogurtowych umożliwia im przeżycie wskutek synergistycznego współdziałania. Zdolności proteolityczne pałeczek jogurtowych i sacharolityczne paciorkowców mlekowych oraz ich lipolityczna aktywność są podstawowym źródłem związków odpowiadających za smak i zapach napojów fermentowanych. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach nad składem kwasów tłuszczowych mleka sojowego, fermentacja prowadzona przy wykorzystaniu kultury YC-X16 spowodowała redukcję zawartości kwasu linolowego z 8 do 5,08 mg/1 g napoju oraz pozostałych zidentyfikowanych kwasów średnio o 35 % w czasie chłodniczego przechowywania [31]. Rozkład cukrów, wolnych kwasów tłuszczowych i białek dostępnych dla bakterii jogurtowych to podstawa powstawania substancji składowych bukietu zapachowego fermentowanego mleka sojowego, których biochemiczne szlaki przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Biochemiczne szlaki tworzenia składników aromatu w mleku sojowym.

Fig. 1. Biochemical pathways leading to the formation of aroma compounds in soymilk.

Opracowanie własne na podstawie [19, 25] / The author's own study.

Jak opisano wyżej, zarówno mleko sojowe, jak i bakterie mlekowe (LAB) wykazują wiele pozytywnych właściwości korzystnych dla zdrowia człowieka, dlatego też ważne są badania nad udoskonalaniem produktów stworzonych na bazie napoju sojowego i LAB. Do osiągnięcia tego celu najważniejszy jest dobór szczepów bakterii, za pomocą których otrzyma się poprawę cech sensorycznych, a przy okazji także zwiększy wykorzystanie cennych składników mleka sojowego [5, 8, 26]. W czasie poszukiwania najlepszego szczepu najistotniejszym wyróżnikiem jest zdolność do fermentacji cukrów zawartych w mleku sojowym i do rozkładu czynników odpowiedzialnych za nieprzyjemny smak określany jako surowy lub fasolowy. Donkor i wsp. [9] wykazali, że zwykły jogurt sojowy sensorycznie bardziej odpowiadał potencjalnym konsumentom niż probiotyczny jogurt sojowy. Potwierdzili to Champagne i wsp. [5], wykazując, że jogurt sojowy wytworzony na bazie tylko szczepu probiotycznego cechuje się nieprzyjemnym smakiem. Wang i wsp. [27] stwierdzili, że w przypadku zastosowania mieszanych kultur starterowych do fermentacji mleka sojowego otrzymuje się produkt smaczniejszy i o większej redukcji poziomu stachiozy i rafinozy. Sugimoto i wsp. [23] osiągnęli poprawę smaku fermentowanego mleka sojowego przez dodatek kwasu poliglikolowego (PGA).

Celem pracy była ocena stabilności aromatu jogurtów sojowych w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania. Dla pogłębienia interpretacji wyników obrazujących stabilność aromatu określono przeżywalność bakterii jogurtowych i zmiany pH jogurtu sojowego podczas magazynowania.

Material i metody badań

Do produkcji jogurtów sojowych wykorzystano kulturę jogurtową YC-X16 (Chr. Hansen) zawierającą bakterie jogurtowe z gatunków *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Str. thermophilus*. Fermentację prowadzono w temp. 37 °C przez 5 h. Przed inkubacją, do mleka sojowego (Alpro[®] soya) dodawano glukozę (w ilości 0 lub 4 %) w celu ułatwienia bakteriom przeprowadzenia fermentacji. Po zakończeniu fermentacji jogurty sojowe przechowywano w temp. 6 °C przez 4 tygodnie.

Liczbę komórek bakterii mlekowych oznaczano metodą płytkową z wykorzystaniem podłoży agarowych M17 i MRS (Merck). Płytki z posiewami *Str. thermophilus* inkubowano tlenowo w temp. 37 °C / 48 h. Płytki z posiewami bakterii *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* inkubowano w anaerostatach zapewniających warunki beztlenowe w temp. 37 °C / 48 h.

Pomiaru wartości pH dokonywano przy użyciu pehametru typu LPH330T (Tocussel, Francja).

W celu przygotowania próbki do analizy chromatograficznej GC-MS z użyciem techniki SPME naważkę 2 g próbki i 2 g zdearomatyzowanego chlorku sodu wymieszanego z 1-propanolem (standard wewnętrzny o gęstości 0,7996 g/cm³, POCH)

umieszczano w szczelnie zamkniętym naczyniu i inkubowano w temp. 30 °C przez 20 min, następnie przez 25 min prowadzono mikroekstrakcję do fazy stałej. Desorpcję związków z włókna typu DVB/CAR/PDMS (diwinylobenzen / carboksen / polidimetylosiloksan), o grubości faz 30/50 µm, prowadzono przez 2 min. Do analizy wykorzystano chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem masowym GC-MS QP20105 (Shimadzu), temp. komory nastrzykowej 220 °C z kolumną kapilarną ZB WAX o wymiarach: 30 m /0,25 µm /0,25 mm o temp. początkowej 40 °C, przez 2 min, szybkość wzrostu temp. 4 °C/min, temp. końcowa 180 °C, czas izotermy końcowej 6 min, z wykorzystaniem helu jako gazu nośnego z przepływem liniowym o prędkości 0,73 cm³/min. Ustawienia detektora były następujące: temp. źródła jonów 190 °C, temp. linii łączącej GC-MS 200 °C, jonizacja elektronowa o energii 70 eV, napięcie detektora 0,95 kV, zakres przemieszczenia filtru kwadropulowego 40 - 500 m/z. Analizę chromatograficzną prowadzono przez 45 min. Identyfikacji związków lotnych dokonywano na podstawie widm spektrów masowych, które porównano z bibliotekami WILEY7N2, NIST147 i PAL600K. Analizę ilościową zidentyfikowanych związków lotnych dokonywano przy wykorzystaniu standardu wewnętrznego 1-propanolu.

Analizę statystyczną (jednoczynnikową i wieloczynnikową ANOVA przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$) przeprowadzono używając programu Statgraphics Plus 4.1.

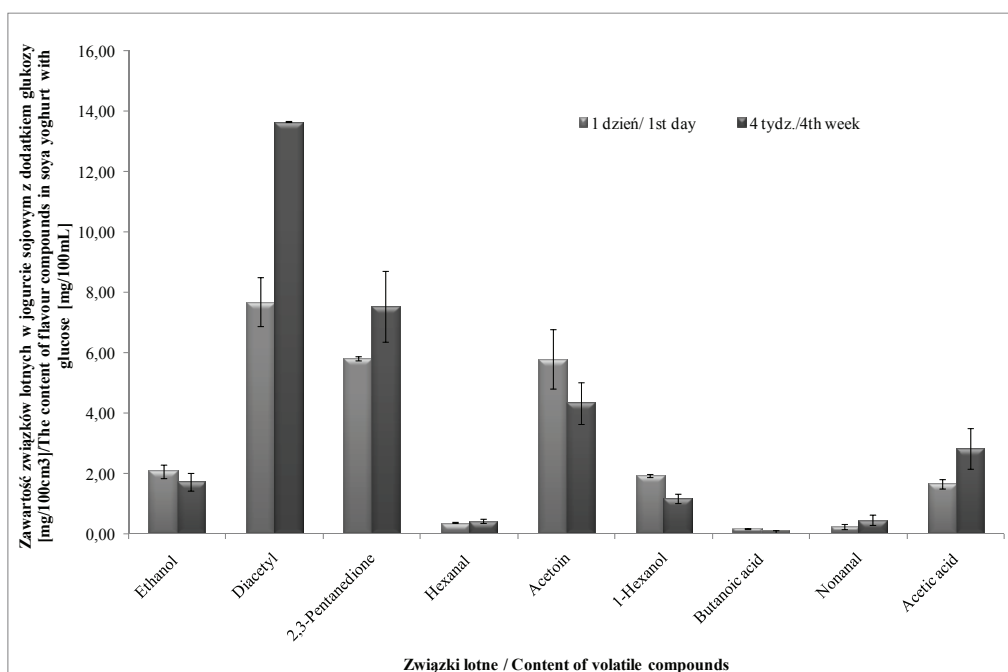
Wyniki i dyskusja

Wśród związków lotnych zidentyfikowano alkohole (etanol i 1-heksanol), ketony (acetoinę, 2,3-butandion i 2,3-pentandion), aldehydy (heksanal i nonanal) i kwasy (butanowy i octowy). W obu wersjach jogurtu, z dodatkiem i bez dodatku glukozy, dominującymi związkami były odpowiednio diacetyl, 2,3-pentanodion i acetoina. Dodatek glukozy spowodował zwiększenie zawartości wtórnych produktów rozkładu cukrów: diacetylu i acetoiny odpowiednio z 3,67 do 7,68 i 2,93 do 5,78 mg/100 cm³ po procesie fermentacji i z 9 do 13,65 i 3,12 do 4,33 mg/100 cm³ po 4 tygodniach chłodniczego przechowywania (rys. 2 i 3). Zawartość bezpośrednich produktów rozkładu cukrów, takich jak etanol i kwas octowy nie zmieniły się istotnie i wynosiły odpowiednio 1,07 - 1,48 i 1,51 - 2,79 mg/100 cm³ w próbce bez dodatku glukozy oraz 2,07 - 1,72 i 1,65 - 2,83 mg/100 cm³ w próbce z glukozą (rys. 2 i 3).

W ogólnej analizie profilu związków aromatycznych nie stwierdzono istotnego wpływu czasu ani dodatku glukozy na zawartość związków lotnych (p -value = 0,5563). Brak zmian zawartości składników na przestrzeni 4 tygodni chłodniczego przechowywania świadczy o stabilności produktu w tym czasie i sugeruje możliwy termin przydatności do spożycia.

Analizując szlaki metaboliczne charakterystyczne dla bakterii fermentacji mlekowej można zauważyć, że wszystkie ze zidentyfikowanych związków są prawdopodobnie efektem rozkładu cukrów przez żywe liczne komórki bakteryjne, głównie strep-

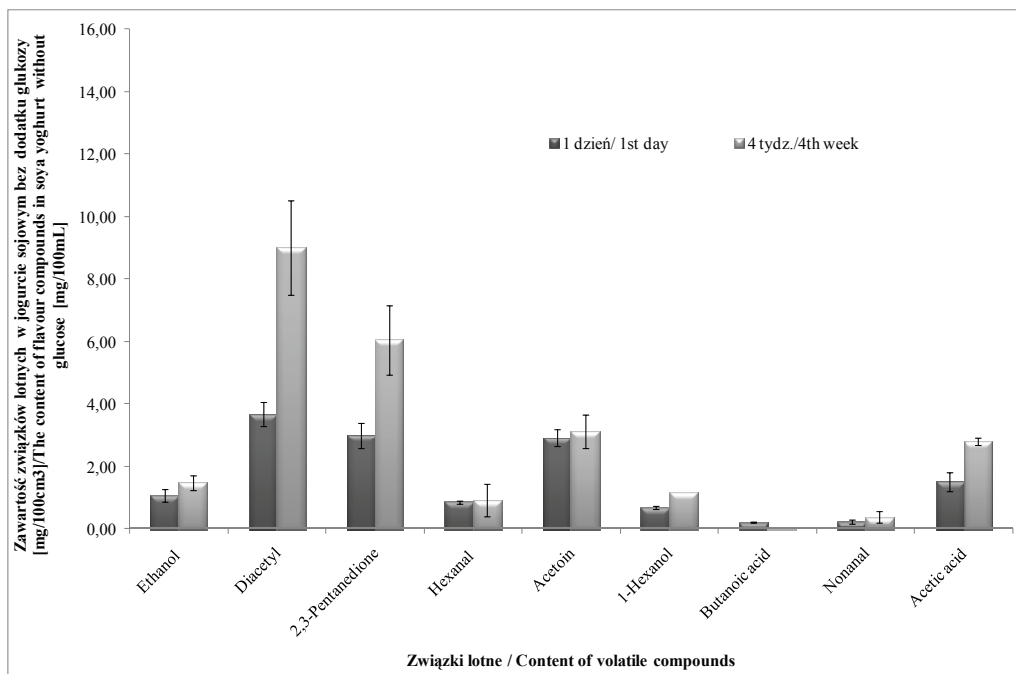
tokoków. W badaniach wykorzystano typową kulturę jogurtowa YC-X16, w której skład wchodziły *Str. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, a jak wynika z badań Wang i wsp. [29], *Str. thermophilus* wykazują większą skuteczność rozkładu stachiozy i rafinozy niż *Lactobacillus*. Cytowani badacze wykazali zmniejszenie zawartości rafinozy i stachiozy z jednoczesnym wzrostem zawartości fruktozy oraz sumarycznie glukozy i galaktozy. Jak wynika z danych przedstawionych na rys. 4., liczba komórek bakterii *Str. thermophilus* przeważała w układzie nawet o 4 cykle logarytmiczne w końcowym etapie przechowywania fermentowanego mleka sojowego. Wcześniej wspomniana wysoka aktywność sacharolityczna *Str. thermophilus* i duża populacja jego komórek wyjaśniają przewagę związków lotnych pochodzących z rozkładu cukrów w fermentowanym mleku sojowym (p -value = 0,0151).



Rys. 2. Profil związków lotnych w mleku sojowym z dodatkiem glukozy, fermentowanym kulturą YC-X16 (wartości średnie i SD).

Fig. 2. Profile of volatile compounds in soymilk with glucose added and fermented by YC-X16 starter culture (mean values and SD).

W niniejszej pracy porównano profil związków lotnych tworzonych w jogurtach sojowych z dodatkiem i bez dodatku glukozy, ponieważ, jak wykazał Drake [11], cukier lub dodatki smakowe w postaci wsadów owocowych (cytrynowych, truskawkowych) tłumią niepożądane posmaki obecne w produktach sojowych (rys. 2 i 3).

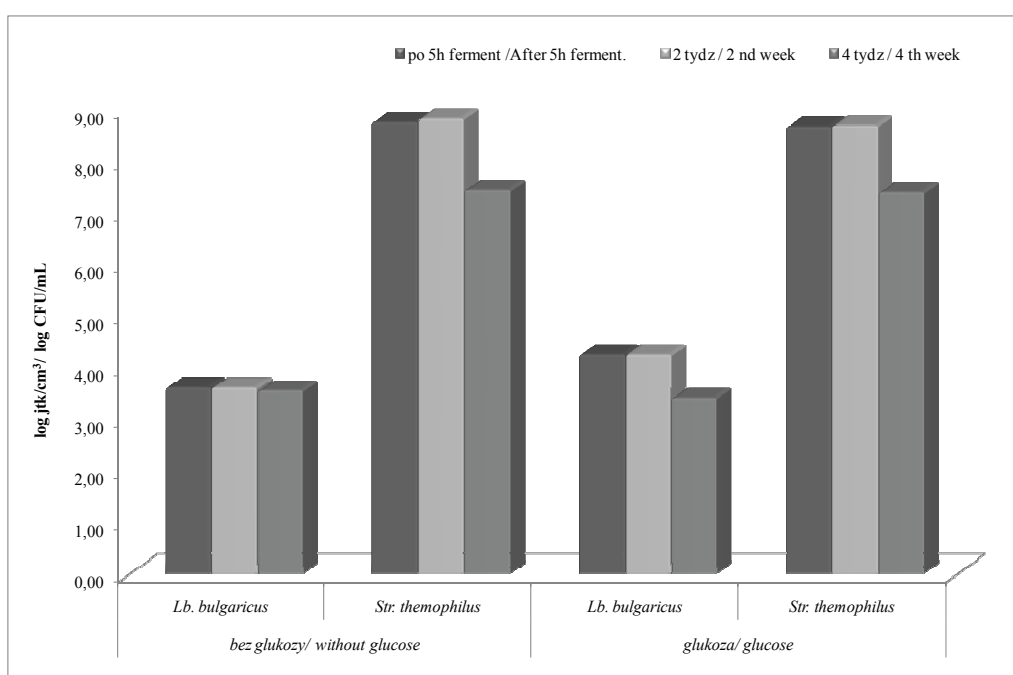


Rys. 3. Profil związków lotnych w mleku sojowym bez dodatku glukozy, fermentowanym kulturą YC-X16 (wartości średnie i SD).

Fig. 3. Profile of volatile compounds in soymilk without glucose fermented using YC-X16 starter culture (mean values and SD).

Glukoza, jako monosacharyd, jest wprost i w pierwszej kolejności wykorzystywana przez bakterie fermentacji mlekowej w konkurencji z pozostałymi cukrami. Po porównaniu obu profili związków lotnych fermentowanego mleka sojowego (z dodatkiem i bez dodatku glukozy) nie wykazano istotnego statystycznie wpływu dodatku tego cukru na ogólny profil związków lotnych (p -value = 0,5981) w czasie chłodniczego przechowywania. Dodatek glukozy miał istotne znaczenie jedynie w przypadku zawartości acetoiny i etanolu (p -value < 0,0254) (rys. 2 i 3). Udział acetoiny, podobnie jak i 2,3-pentanodionu, stanowi ok. 21 % w ogólnym składzie. Acetoina może być wytwarzana bezpośrednio lub wtórnie wskutek aktywności dehydrogenazy acetoynowej redukującej wcześniej powstały diacetyl, pośrednio z acetaldehydu lub na drodze odwracalnej reakcji dehydrogenazy 2,3-butanodiolu (rys. 1). Zarówno diacetyl, jak i acetaldehyd są nietrwałe i rozkładane odpowiednio do acetoiny i etanolu, dlatego nie dziwi znaczący wpływ glukozy na poziom zawartości obu tych substancji [20]. Acetoina, jako związek bezzapachowy, ma drugorzędne znaczenie w kształtowaniu aromatu, jednak duże nagromadzenie tego związku powoduje mało orzeźwiający, słodki smak jogurtu [1].

Diacetyl jest wytwarzany przez niektóre szczepy *Str. thermophilus* w wyniku transformacji dostępnych cukrów. W niniejszych badaniach wykazano istotny wpływ czasu chłodniczego przechowywania (p-value = 0,0221), liczby żywych komórek bakterii jogurtowych (p-value = 0,0016) i słabszy wpływ wartości pH (p-value = 0,0499) na zawartość diacetylu w ogólnym profilu lotnych związków badanych próbek (rys. 2 i 3). Diacetyl współtworzy delikatny aromat jogurtu, jego duża zawartość może powodować słodkawy smak produktu, natomiast nadprodukcja wywołuje niepożądane zmiany [22]. Ze względu na nietrwałość diacetylu, gotowy produkt należy przechowywać w niskiej temperaturze, która hamuje aktywność reduktazy acetoiny.



Rys. 4. Przeżywalność bakterii jogurtowych w próbkach jogurtu sojowego [log jtk/cm³].

Fig. 4. Viability of yoghurt bacteria in soy yoghurt samples [log CFU/cm³].

Sensoryczną cechą charakterystyczną tradycyjnych jogurtów jest acetaldehyd, którego obecności nie potwierdzono w niniejszych badaniach. Wiadome jest, że zbyt mała jego ilość przyczynia się do mało intensywnego zapachu [4]. Wykorzystana w badaniach kultura jogurtowa YC-X16 zgodnie z deklaracją producenta charakteryzuje się tworzeniem jogurtu o delikatnym smaku, czego przyczyną jest zmniejszona zawartość *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, które odpowiadają za tworzenie aldehydu octowego. Brak acetaldehydu może być także wywołany jego rozkładem do etanolu i kwasu octowego, których obecność nie jest typowa w jogurtach klasycznych (rys. 1).

Oznaczona zawartość etanolu na poziomie ok. 1,5 mg/100 cm³ i kwasu octowego średnio na poziomie 2,20 mg/100 cm³ produktu może dowodzić, że związki te częściowo powstały z aldehydu octowego, który w tradycyjnych jogurtach występuje na poziomie 1,0 - 1,5 mg/100 cm³ [1]. Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała istotny wpływ czasu chłodniczego przechowywania (p-value = 0,0015) i liczby żywych komórek bakterii jogurtowych (p-value = 0,0395) na zawartość kwasu octowego w ogólnym profilu aromatycznym jogurtu sojowego (rys. 2 i 3). Donkor i wsp. [9] wykazali, że w zależności od szczepu, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Str. thermophilus* wytwarzają od 0,002 do 0,007 mg/100 cm³ kwasu octowego, przy czym zdolność do tworzenia kwasu octowego dotyczyła trzech spośród pięciu przebadanych szczepów rodzaju *Lactobacillus* i czterech z pięciu szczepów rodzaju *Streptococcus*.

Spośród wolnych kwasów tłuszczowych w analizie składu związków lotnych mleka sojowego zidentyfikowano kwas masłowy, który ma cenny wkład w ogólny bukiet zapachowy fermentowanych produktów (rys. 2 i 3). Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w jogurcie jest w dużym stopniu uzależniona od poziomu ich zawartości w mleku przed fermentacją, gdyż mogą one powstawać także w wyniku enzymatycznych przemian białek, cukrów i tłuszczu obecnych w mleku. Warto przypomnieć, że bakterie fermentacji mlekowej wykazują nieznaczną aktywność enzymów lipolitycznych wewnątrzkomórkowych, które są uwalniane do produktu dopiero podczas lizy komórki [18, 32]. Mała liczba pałeczek mlekowych w badanych próbkach jogurtu sojowego była prawdopodobnie przyczyną nielicznych przemian proteolitycznych i lipolitycznych (p-value = 0,0074). Jednak należy pamiętać, że nadmiar kwasu butanowego (masłowego) mógłby doprowadzić do niepożądanych zmian zapachowych o charakterze ostrym, intensywnym i trudnym do zaakceptowania przez konsumenta [19].

Pozostałe zidentyfikowane związki: heksanal i nonanal, są to związki rodzime mleka sojowego, jedynie 1-heksanol jest efektem aktywności enzymatycznej bakterii fermentacji mlekowej podczas rozkładu białek lub cukrów (p-value < 0,0217) (rys. 2 i 3). Wiadomo, że heksanal jest związkiem powszechnie uważanym za powodowanie nieakceptowanego posmaku gorzkiego i mącznego, typowego dla mleka sojowego. Jak dowodzą uzyskane wyniki, nie wykazano istotnej redukcji zawartości tego związku podczas przechowywania (p-value = 0,3729). Tsangalis i Shah [25] wykazali redukcję zawartości tego związku w ciągu 48 h fermentacji mleka sojowego z udziałem *Bif. animalis* BB12 i *Bif. longum* 1941 z początkowego poziomu 3,60 do odpowiednio 2,33 i 1,10 µg/100 cm³ z uwzględnieniem szczepu.

Wartość pH w obu próbkach także nie wykazała istotnych statystycznie zmian podczas przechowywania (p-value > 0,6) (tab. 1). Wartość pH mleka sojowego fermentowanego bez dodatku glukozy wyniosła początkowo 4,74 i nie uległa zmianie w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania, natomiast wartość pH mleka sojowego fer-

mentowanego z dodatkiem glukozy wyniosła początkowo 4,65 i po 4 tyg. magazynowania obniżyła się do 4,41. Jak wykazali Wang i wsp. [28], w mleku sojowym zaszczerpionym monokulturą *Str. thermophilus* po 24 h fermentacji nastąpiło obniżenie pH do wartości 4,56, zaś po 48 h do 3,84. Dla porównania, po fermentacji prowadzonej przez monokulturę *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* pH mleka sojowego zmniejszyło się do 6,32 po 24 h i 5,97 po 48 h. Farnworth i wsp. [12] dowiedli, że obniżanie wartości pH w mleku krowim zaszczerpionym kulturą jogurtową jest wolniejsze niż w mleku sojowym. Brak istotnych zmian wartości pH podczas chłodniczego przechowywania mleka sojowego fermentowanego kulturą starterową YC-X16 przekłada się na brak statystycznie istotnych różnic w ogólnym profilu zidentyfikowanych związków w czasie chłodniczego przechowywania.

Tabela 1

Wartość pH próbek jogurtu sojowego w ciągu 4-tygodniowego przechowywania.
pH value of soy yoghurt samples during their four week storage.

Mleko / Milk	po 4 h ferment. after 4 h ferment.	2 tydz. 2nd week	4 tydz. 4th week
bez glukozy / without glucose	4,74	4,77	4,74
z glukozą/ with glucose	4,65	4,42	4,41

Otrzymany w niniejszych badaniach jogurt sojowy, zarówno z dodatkiem, jak i bez dodatku glukozy charakteryzował się przyjemnym waniliowym zapachem i kremową półpłynną konsystencją, typową bardziej dla jogurtu pitnego niż stałego. W ocenie sensorycznej nadal wyczuwano charakterystyczny dla ziarna soi posmak, jednak w ocenie był bardziej akceptowany niż w wersji niefermentowanej mleka sojowego. Podobne obserwacje poczynili Beasley i wsp. [3], którzy otrzymali jogurt sojowy fermentowany monokulturą *L. lactis* LL3 o stabilnych cechach smakowych pozytywnie oceniony przez konsumentów.

Wnioski

1. Nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu chłodniczego przechowywania na profil związków aromatycznych w jogurcie sojowym. Brak zmian świadczy o stabilności cech sensorycznych w okresie przydatności do spożycia.
2. Nie wykazano istotnego wpływu dodatku glukozy na zawartość analizowanych składników aromatu w jogurcie sojowym podczas 4 tygodni chłodniczego przechowywania oraz na wartość pH tego produktu.

3. Brak obecności aldehydu octowego w składzie związków zapachowych wynikał z użycia niskoaromatyzującej starterowej kultury jogurtowej YC-X16, prawdopodobnie wpłynęło to na większą stabilność składników aromatu fermentowanego mleka sojowego w czasie chłodniczego przechowywania.
4. W profilu stwierdzono dominację związków pochodzących z rozkładu cukrów, głównie przez komórki bakterii *Str. thermophilus*.
5. Nie stwierdzono istotnej redukcji heksanal przez bakterie jogurtowe wchodzące w skład kultury YC-X16 podczas 4 tygodni chłodniczego przechowywania fermentowanego mleka sojowego.

Literatura

- [1] Baranowska M.: The content of volatile free fatty acids in milk cultured with yoghurt bacteria. Pol. J. Natur. Sci., 2006, **2**, 13-21.
- [2] Beasley S.: Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota. Helsinki, Academic Dissertation, 2004, pp. 22-32.
- [3] Beasley S., Tuorila H., Saris P.E.J.: Fermented soymilk with a monoculture of *Lactococcus lactis*. Int. J. Food Microbiol., 2003, **81**, 159-162.
- [4] Bonczar G., Wszolek M.: Charakterystyka jogurtów z mleka owczego o normalizowanej zawartości tłuszczu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2002, **1 (30)**, 109-115.
- [5] Champagne C.P., Green-Johnson J., Raymond Y., Barrete J., Buckley N.: Selection of probiotic bacteria for the fermentation of soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. Food Res. Int., 2009, 1-10.
- [6] Cheng I.-C., Shang H.-F., Lin T.-F., Wang T.-H., Lin H.-S., Lin S.-H.: Effect of fermented soy milk on the intestinal bacterial ecosystem. World J. Gastroenterol., 2005, **11 (8)**, 1225-1227.
- [7] Chien H.-L., Huang H.-Y., Chou C.-C.: Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiol., 2006, **23**, 772-778.
- [8] Donkor O.N., Henriksson A., Basiljevic T., Shah N.P.: Probiotic strain as starter cultures improve angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in soy yogurt. J. Food Sci., 2005, **70 (8)**, 375-381.
- [9] Donkor O.N., Henriksson A., Wasiljevic T., Shah N.P.: α -Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. Food Chem., 2007, **104**, 10-20.
- [10] Donkor O.N., Shah N.P.: Production of beta-glucosidase and hydrolysis of isoflavone phytoestrogens by *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus casei* in soymilk. J. Food Sci., 2008, **73 (1)**, 15-20.
- [11] Drake M.A., Gerard P.D., Chen X.Q.: Effects of sweetener, sweetener concentration, and fruit flavour on sensory properties of soy fortified yogurt. J. Sens. Studies, 2001, **16**, 393-405.
- [12] Farnworth E.R., Mainville I., Desjardins M.P., Gardner N., Fliss I., Champagne C.: Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation. Int. J. Food Microbiol., 2007, **116**, 174-181.
- [13] Garro M.S., de Valdez G.F., Oliver G., de Giori G. S.: Growth characteristics and fermentation products of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus casei* and *L. fermentum* in soymilk. Z Lebensm Unters Forsch A, 1998, **206**, 72-75.

- [14] Hou J.-W., Yu R.-Ch., Chou Ch.-Ch.: Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. *Food Res. Int.*, 2000, **33**, s. 393-397.
- [15] Hsieh M.-L., Chou C.-C.: Mutagenicity and antimutagenic effect of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **111**, 43-47.
- [16] Kano M., Takayanagi T., Harada K., Sawada S., Ishikawa F.: Bioavailability of isoflavones after ingestion of soy beverages in healthy adults. *J. Nutr.*, 2006, **136**, 2291-2296.
- [17] LeBlanck J.G., Ledue-Clier F., Bensaada M., Savoy de Giori G., Guerekobaya T., Sesma F., Juillard V., Rabot S., Piard J.-C.: Ability of *Lactobacillus fermentum* to overcome host α -galactosidase deficiency, as evidenced by reduction of hydrogen excretion in rats consuming soya α -galactooligosaccharides. *BMC Microbiol.*, 2008, **8**, 22, 1-9.
- [18] Lortal S., Chapot-Chartier M.-P.: Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 857-871.
- [19] Marilley L., Casey M.G.: Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **90**, 139-159.
- [20] Marsili R.: Flavours and off-flavours in dairy foods. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Roginski H. (ed.), Academic Press, London, 2002, pp. 1069-1073.
- [21] Miyazaki K., Hanamizu T., Iizuka R., Chiba K.: *Bifidobacterium*-fermented soy milk extract stimulates hyaluronic acid production in human skin cells and hairless mouse skin. *Skin Pharm. Appl. Skin Physiol.*, 2003, **16**, 108-116.
- [22] Sa Xu, Boylston T.D., Glatz B.A.: Effect of inoculation level of *Lactobacillus rhamnosus* and yoghurt cultures on conjugated linoleic acid content and quality attributes of fermented milk products. *J. Food Sci.*, 2006, **71** (4), 275-280.
- [23] Sugimoto H., Nishio M., Horiuchi T., Fukushima D.: Improvement of organoleptic quality of fermented soybean beverage by additions of propylene glycol alginate and calcium lactate. *J. Food Proc. Preserv.*, 2007, **5** (2), 83-93.
- [24] Thi N., Champagne C.P., Lee B.H., Goulet J.: Growth of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* on tofu whey. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **89**, 67-75.
- [25] Tsangalis D., Shah N.P.: Metabolism of oligosaccharides and aldehydes and production of organic acids in soymilk by probiotic bifidobacteria. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2004, **39**, 541-554.
- [26] Tuitemwong P., Erickson L.E., Fung D.Y.C., Setser C.S., Perng S.: Sensory analysis of soy yoghurt and frozen soy yoghurt produced from rapid hydration hydrothermal cooked soy milk. *J. Food Qual.*, 1993, **16** (3), 223-239.
- [27] Wang Y.-C., Yu R.-C.: Viability of lactic acid bacteria and bifidobacteria in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **93**, 209-217.
- [28] Wang Y.-C., Yu R.-C., Chou C.-C.: Growth and survival of bifidobacteria and lactic acid bacteria during the fermentation and storage of cultured soymilk drinks. *Food Microbiol.*, 2002, **19**, 501-508.
- [29] Wang Y.-C., Yu R.-C., Yang H.-Y., Chou C.-C.: Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. *Food Microbiol.*, 2003, **20**, 333-338.
- [30] Weidner C., Krempf M., Bard J.-M., Cazaubiel M., Bell D.: Cholesterol lowering effect of a soy drink enriched with plant sterols in a French population with moderate hypercholesterolemia. *Lipids Health Dis.*, 2008, **7**, 35.
- [31] Zaręba D.: Profil kwasów tłuszczowych mleka sojowego fermentowanego różnymi szczepami bakterii fermentacji mlekowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **6** (67), 59-71.
- [32] Zaręba D., Ziarno M., Obiedziński M., Bzducha A.: Profil lotnych związków modeli mleka niefermentowanego i fermentowanego przez bakterie jogurtowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **2** (57), 60-73.

AROMA STABILITY OF FERMENTED SOYMILK DURING COLD STORAGE**S u m m a r y**

Typical aroma compounds of fermented milk drinks are: acetaldehyde, diacetyl, lactic acid, acetic acid, acetoin, and others. The content of the above mentioned compounds determines the required and acceptable flavour and taste qualities of fermented milk drinks. The composition of soymilk is different from the composition of cow's milk; therefore, the soymilk is characterized by different taste and flavour characteristics than the cow's milk.

The objective of this paper was to assess the aroma stability of soy yoghurts during the 4 weeks of cold storage. In order to enhance the detailed interpretation of the research results on the aroma stabilization, the viability of yoghurt bacteria was determined, as were changes in pH of soy yoghurts during their storage. A chromatographic analysis GC-MS using a SPME technique performed showed that there were no significant changes in the profile of volatile compounds contained in soy yoghurts during the 4 weeks of cold storage. The glucose added had no significant effect on the intensification of changes in the aroma profile of yoghurts during their storage. In the composition of volatile compounds, the following compounds were identified: ethanol, 1-heksanol, acetoin, 2,3-butanedione (diacetyl), 2,3-pentanedione, hexanal, nonanal, butanoic acid, and acetic acid.

Key words: soy yoghurt, storage, volatile compounds, aroma, SPME ☒