

DOROTA ZIELIŃSKA, URSZULA UZAROWICZ

WARUNKI DOJRZEWANIA I PRZECHOWYWANIA FERMENTOWANEGO NAPOJU SOJOWEGO

Streszczenie

Celem badań był dobór warunków dojrzewania i przechowywania fermentowanego napoju sojowego o właściwościach potencjalnie probiotycznych, biorąc pod uwagę kryterium sensoryczne i mikrobiologiczne. Zakres pracy obejmował określenie czasu dojrzewania napoju sojowego po fermentacji oraz zbadanie przeżywalności bakterii *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym, po okresie dojrzewania i podczas przechowywania w temp. 5°C przez 28 dni. W przechowywanym napoju oznaczano także kwasowość oraz określano jakość sensoryczną, w celu wyznaczenia terminu jego przydatności do spożycia.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że po fermentacji napój sojowy powinien być przechowywany w celu dojrzewania w temp. 15°C przez 48 godz. Biorąc pod uwagę liczbę bakterii probiotycznych i jakość sensoryczną, napój fermentowany może być przechowywany w temp. 5°C nie dłużej niż 12 dni.

Słowa kluczowe: bakterie probiotyczne, fermentowany napój sojowy, przechowywanie

Wprowadzenie

Żywność probiotyczna, to żywność zawierająca w swym składzie żywe kultury bakterii szczepów starannie wyselekcjonowanych, zwanych probiotykami, która dzięki ich obecności wpływa korzystnie na zdrowie, samopoczucie konsumenta, a także może zmniejszać ryzyko niektórych chorób cywilizacyjnych. Natomiast bakterie probiotyczne to żywe mikroorganizmy, które po podaniu w odpowiedniej liczbie zapewniają korzyści zdrowotne gospodarzowi [1]. Pożądane jest, aby liczba żywych bakterii w 1 g produktu spożywanego wynosiła około 10^8 komórek, wtedy jego 100-gramowa porcja zapewni odpowiednią liczbę bakterii wystarczającą do wywołania efektu zdrowotnego [8].

Mgr inż. D. Zielińska, mgr inż. U. Uzarowicz, Zakład Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C 02-776 Warszawa

Asortyment produktów probiotycznych poszerza się o inne produkty niż mleczne, np.: warzywne produkty fermentowane, w postaci soków czy sałatek, które mogą stanowić alternatywę uzupełnienia mikroflory przewodu pokarmowego dla ludzi nietolerujących laktozy i białek mleka, u których rozwój i obecność poszczególnych grup bakterii w przewodzie pokarmowym zostały zachwiane poprzez działanie różnych czynników [4].

Badania nad tego rodzaju produktami prowadzone są m.in. w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności (UWM w Olsztynie), gdzie podejmowano próby fermentowania soków i sałatek warzywnych bakteriami probiotycznymi, stosując szczepy z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* suplementowane *Propionibacterium* [16]. W Zakładzie Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności SGGW również zaprojektowano sok marchwiowy fermentowany szczepem bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* CH-2, który cechował się wysoką pożądannością sensoryczną [15]. Innymi interesującymi produktami są fermentowane napoje z soi i ryżu, cechujące się bezpośrednio po wytworzeniu wysoką liczebnością bakterii kwasu mlekowego [12].

Nowym kierunkiem są próby wykorzystania soi i jej przetworów do fermentacji. Przykładami fermentowanych tradycyjnych produktów sojowych są m.in.: tempeh, miso, natto czy kinema [11]. Interesującym wyrobem, niedostępnym na rynku polskim, jest jogurt sojowy produkowany przez fermentację napoju sojowego bakteriami kwasu mlekowego. Przy produkcji wykorzystuje się różne szczepy z gatunku *Lactobacillus acidophilus*, które fermentując rafinozę i sacharozę, nadają mu specyficzny, pożądany zapach oraz słodko-kwaśny smak [5].

W niniejszej pracy podjęto próbę zaprojektowania nowego produktu, tj. fermentowanego napoju sojowego o właściwościach probiotycznych.

Celem przeprowadzonych badań, będących częścią szerszych badań, jest dobór warunków dojrzewania i przechowywania fermentowanego napoju sojowego.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań był napój sojowy naturalny firmy Polgrunt słodzony sacharozą oraz szczep o właściwościach potencjalnie probiotycznych z kolekcji szczepów Politechniki Łódzkiej, z gatunku *Lactobacillus casei*. Do napoju dodawano 24-godziną hodowlę, tak aby po zaszczepieniu liczba bakterii wynosiła średnio 5,02 log jtk/ml i poddawano procesowi fermentacji przez 6 godz. w temp. 37°C. Optymalne warunki fermentacji ustalono we wcześniejszych badaniach [18].

Badanie dotyczące doboru warunków dojrzewania napoju sojowego po fermentacji prowadzono w 10 powtórzeniach, w dwóch niezależnych doświadczeniach. Próbkę fermentowanego napoju sojowego przechowywano przez 8 dni w temp. 10 i 15°C.

Liczbę bakterii kwasu mlekowego i jakość sensoryczną określano w odstępach 48 godz.

Liczbę bakterii kwasu mlekowego określano metodą wglębną, stosując podłoże wybiórcze – agar MRS firmy Biokar Diagnostic. Na płytki Petriego wylewano po 1 ml z trzech kolejnych rozcieńczeń w dwóch powtórzeniach. Inkubację prowadzono przez 72 godz. w temp. 30°C wg PN-ISO [13].

Jakość sensoryczną fermentowanego napoju sojowego podczas dojrzewania (po fermentacji) badano metodą skalowania. Oceniano pożądalność zapachu, smaku oraz jakość ogólną napoju. W ocenach wykorzystano tzw. nieustrukturywaną skalę graficzną [0-10 j.u.]. W badaniu brały udział 30-osobowe zespoły przeszkolone w zakresie metod oceny sensorycznej.

Badania przechowalnicze fermentowanego napoju sojowego prowadzono w 10 powtórzeniach, w dwóch niezależnych doświadczeniach. Próbkę fermentowanego napoju sojowego po okresie dojrzewania (2 dni) przechowywano w temp. 5°C przez 28 dni i w odstępach 4-dniowych oceniano jakość sensoryczną, oznaczano liczbę bakterii kwasu mlekowego oraz kwasowość napoju.

Liczbę bakterii kwasu mlekowego określano wg PN-ISO [13].

Pomiaru pH dokonywano aparatem ELMETRON CP551, z uwzględnieniem temperatury napoju. Pomiar kwasowości miareczkowej prowadzono wg PN [14] i obliczono kwasowość w stopniach Soxhleeta-Henkla.

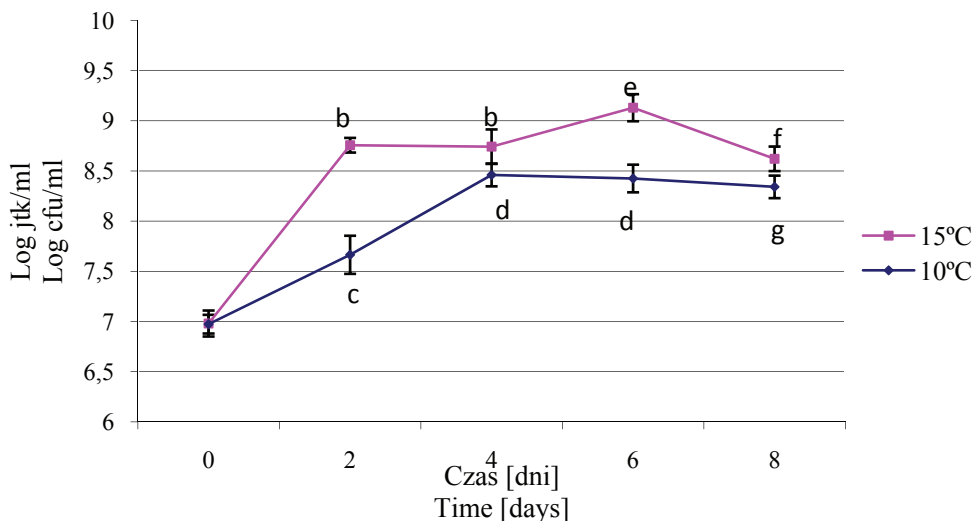
Ocenę sensoryczną napoju podczas przechowywania wykonywano przy użyciu metody Ilościowej Analizy Opisowej [QDA]. Ocenę wykonał 10-osobowy zespół biegły w tego typu ocenach. Wyróżniki do oceny zostały wybrane, przedyskutowane i zdefiniowane w dyskusji panelowej, a następnie zweryfikowane po ocenie wstępnej [7]. Wybrano cztery wyróżniki zapachu (waniliowy, słodki, fermentacji mlekowej, mleczny), trzy wyróżniki konsystencji (gęstość, gładkość, lepkość), pięć wyróżników smaku (fermentacji mlekowej, kwaśny, słodki, gorzki, mączny). Na podstawie ww. wyróżników i ich wzajemnego zharmonizowania określano jakość ogólną próbek napoju [10].

Analiza statystyczna obejmowała jednoczynnikową analizę wariancji, a do określenia różnic między wartościami średnimi zastosowano test Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

W czasie dojrzewania fermentowanego napoju sojowego w temp. 15°C najintensywniejszy wzrost liczby bakterii *L. casei* KN291 stwierdzono do 2. dnia doświadczenia, natomiast w napoju przechowywanym w temp. 10°C do 4. dnia (rys. 1). W kolejnych dniach następowało stabilizowanie się liczby bakterii. Fazę dojrzewania po fermentacji wprowadzono celowo, aby zakończyć fazę logarytmicznego wzrostu bakterii

probiotycznych w napoju na etapie produkcji, gdyż pożądane jest, aby gotowy produkt zawierał stałą liczbę bakterii przez cały okres przydatności do spożycia.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – wartości średnie oznaczone tymi samymi indeksami nie różnią się między sobą statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / mean values denoted by the same superscripts do not differ significantly from each other ($\alpha = 0.05$).

Rys. 1. Wzrost liczby bakterii *L. casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym podczas dojrzewania w temperaturze 10°C i 15°C.

Fig. 1. Growth of *L. casei* KN291 number in fermented soy beverage during ripening at temp. 10°C and 15°C.

Garro i wsp. [3], którzy fermentowali napój sojowy bakteriami *Bifidobacterium longum* stwierdzili, że w czasie 8 godz. fermentacji w temp. 37°C liczba bakterii zwiększyła się o 1,5 cyklu logarytmicznego, natomiast pH zmniejszyło się do 4,7. Dłuższa fermentacja wpłynęła na zmniejszenie liczby bakterii i pH. W innych badaniach po fermentacji napoju sojowego bakteriami *Lactobacillus lactis* w temp 30°C przez 12 godz. zaobserwowano wzrost liczby bakterii o 1 rząd logarytmiczny w ciągu 7 dni przechowywania w temp. 6°C, w kolejnych 7 dniach przechowywania obserwowano stabilizowanie się liczby bakterii [2]. Przedstawione powyżej wyniki badań świadczą o tym, że w przypadku fermentacji napoju sojowego faza logarytmicznego wzrostu bakterii może być dość długa, co wymaga zastosowania etapu dojrzewania, w celu jej szybkiego zakończenia.

Pożądalność zapachu fermentowanego napoju sojowego w czasie dojrzewania zarówno w temp. 10°C, jak i w 15°C nie zmieniała się istotnie. Zespół ocenił, że pożądalność napoju sojowego tuż po fermentacji wynosiła średnio 6,6 j.u., a po 2. dniu

dojrzwiania w temp. 15°C pożądalność napoju sojowego zmniejszyła się istotnie do wartości 4,5 j.u. i utrzymywała się na tym poziomie do 8. dnia przechowywania. W przypadku napoju przechowywanego w temp. 10°C nastąpiło nieznaczne podwyższenie pożądalności smaku po 4. dniu i nie zmieniało się do końca okresu dojrzwiania. Ocena jakości ogólnej fermentowanego napoju w czasie dojrzwiania skorelowana była pozytywnie i wysoce istotnie z oceną pożądalności smaku. Podobne obserwacje poczynili autorzy w innych pracach [6, 9], w których wykazano, że pożądalność ogólna soków zależy od proporcji smaku słodkiego do kwaśnego.

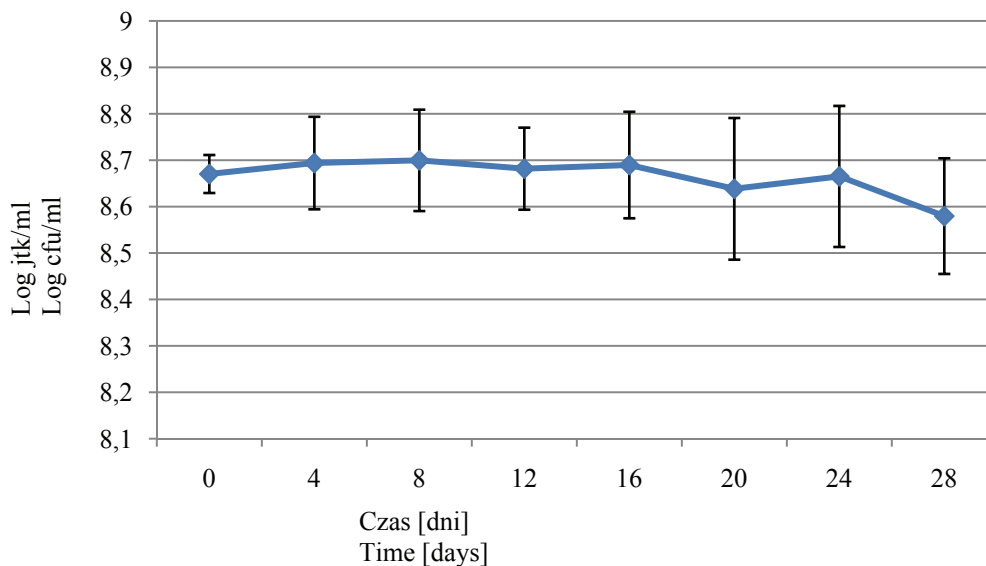
Pożądalność zapachu fermentowanego napoju sojowego w czasie dojrzwiania w obu wartościach temperatury nie zmieniała się istotnie. Pożądalność napoju sojowego pod względem zapachu bezpośrednio po fermentacji wynosiła średnio 6,6 j.u., a po 2. dniu dojrzwiania w temp. 15°C pożądalność napoju sojowego zmniejszyła się istotnie do wartości 4,5 j.u. i utrzymywała się na tym poziomie do 8. dnia przechowywania.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że fazę dojrzwiania napoju po fermentacji należy prowadzić w temp. 15°C przez 2 dni, ponieważ jest to najkrótszy czas, po którym liczba bakterii stabilizuje się i jednocześnie ocena pożądalności napoju jest wysoka (jakość ogólna średnio 6,9 j.u. i smakowitość średnio 6,6 j.u.).

W badaniach przeprowadzonych przez Yoon i wsp. [17], w których fermentowano sok z buraków bakteriami probiotycznymi *L. casei*, zaobserwowano wzrost ich liczby w ciągu 48 godz. fermentacji w temp. 30°C o 2,5 cykli logarytmicznych (do 10^8 jtk/ml). Wydłużenie czasu fermentacji nie wpłynęło na zmianę liczby bakterii. Również w czasie przechowywania tego napoju w temp. 4°C przez 3 tygodnie obserwowano niezmienną liczbę bakterii.

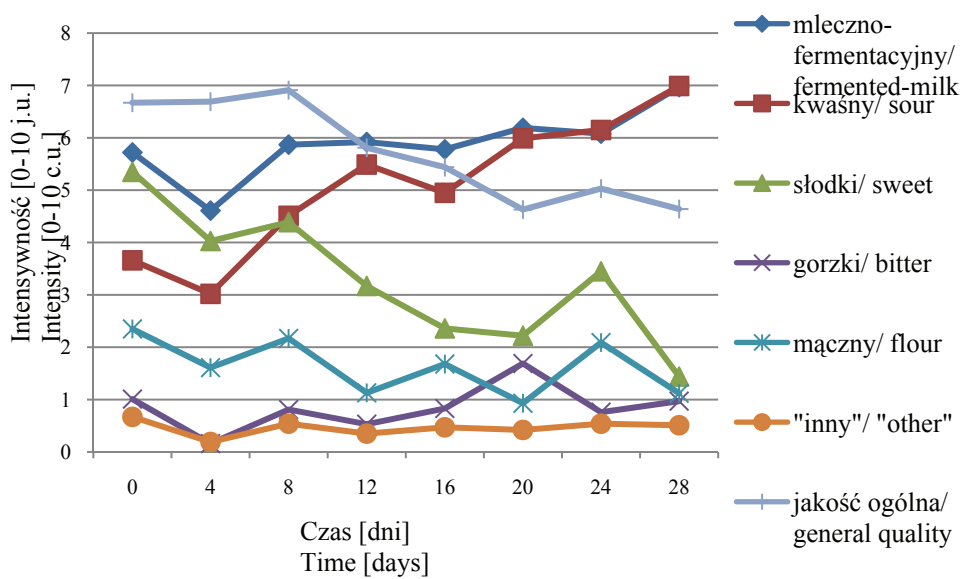
W prowadzonych badaniach własnych stwierdzono, że liczba bakterii probiotycznych w fermentowanym i dojrzwianym napoju sojowym nie zmieniała się istotnie do 28. dnia przechowywania i wynosiła średnio 8,6 log jtk/ml (rys. 2). Kwasowość napoju sojowego zmieniała się istotnie w trakcie przechowywania. W ciągu 28 dni przechowywania pH fermentowanego napoju obniżało się powoli z wartości 5,16 do 4,28. Wartość pH zmniejszyła się istotnie po 0., 8. i 12. dniu przechowywania. Kwasowość wyrażona w stopniach SH zwiększała się istotnie co 4 dni podczas przechowywania, od wartości 11,3 dnia 0., do wartości 27,6 ostatniego dnia.

Zwiększanie się kwasowości fermentowanego napoju sojowego świadczy o obecności żywych bakterii, które wykorzystując cukry obecne w napoju (głównie sacharozę, w mniejszym stopniu stachiozę i rafinozę) produkują kwas mlekowy i inne metabolity (kwas octowy, etanol) [3]. Produkty te wpłynęły na jakość sensoryczną napoju, zwiększając intensywność noty kwaśnej i mleczno-fermentacyjnej w smaku (rys. 3).



Rys. 2. Przeżywalność bakterii *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym w temp. 5°C.

Fig. 2. Survival of *Lactobacillus casei* KN291 in fermented soybean beverage at temp. 5°C.



Rys. 3. Zmiany intensywności wyróżników smaku fermentowanego napoju sojowego w czasie przechowywania.

Fig. 3. Changes of intensity flavor values of fermented soy beverage in storage time.

Zmiany intensywności not zapachowych (waniliowy, słodki, fermentacji mlekowej, mleczny, „inny”) nie były istotnie zróżnicowane w czasie przechowywania, natomiast gęstość i lepkość zmniejszyły się istotnie po 16. dniu przechowywania. Gładkość napoju utrzymywała się na stałym i wysokim poziomie do końca okresu przechowywania.

Intensywność noty smakowej słodkiej była odwrotnie skorelowana z intensywnością noty smaku kwaśnego. Noty negatywne tj. gorzki, mączny oraz „inny” wyczuwane były na niskim poziomie, ich intensywność nie przekraczała wartości 3 j.u.

W badaniach Warmińskiej-Radyko i wsp. [16] soki wielowarzywne fermentowane bakteriami z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* przechowywane przez 21 dni w temp. 5°C utrzymywały niezmienną jakość do 10. dnia przechowywania. Liczebność bakterii fermentacji mlekowej w świeżych sokach wynosiła ok. 10^9 log jtk/ml i do 21. dnia zmniejszyła się do liczby $3,9 \times 10^7$ - $6,8 \times 10^8$ log jtk/ml. Wykazano, że cechy sensoryczne fermentowanych soków również zmieniły się istotnie po 10. dniu przechowywania, co może stanowić potwierdzenie wyników niniejszych badań. Również doświadczenia przeprowadzone przez Trząskowską [15] wskazują, że jakość ogólna i pożądalność smaku fermentowanego soku marchwiowego obniżyły się istotnie po 8. dniu przechowywania w temp. 5°C.

Wnioski

1. Ze względów technologicznych (odpowiednia liczba bakterii i pożądana jakość sensoryczna) celowe jest prowadzenie dojrzewania napoju sojowego fermentowanego *Lactobacillus casei* KN291 w temp. 15°C przez 2 dni
2. Ogólna jakość sensoryczna fermentowanego napoju sojowego przechowywanego w temp. 5°C obniża się statystycznie istotnie po 8. dniu przechowywania, co jest wynikiem wzrostu kwasowości, wzrostu intensywności noty smaku kwaśnego oraz gęstości i lepkości.
3. Napój sojowy fermentowany *Lactobacillus casei* KN291 może być przechowywany w temp. 5°C po okresie dojrzewania (48 godz.) nie dłużej niż 12 dni.

Praca wykonana pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Danuty Kołożyn-Krajewskiej, była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

Literatura

- [1] Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Raport a Joint FAO/WHO Working Group, 2002.
- [2] Beasley S., Tuorila H., Saris P. E. J.: Fermented soymilk with a monoculture of *Lactococcus lactis*. Int. J. Food Mikrob., 2003, **81**, 159-162.
- [3] Garro M.S., de Valdez G.F., Oliver G., de Giori G.S.: Hydrolysis of soya milk oligosaccharides by *Bifidobacterium longum* CRL849. Z. Lebensm. Unters Forsch. A., 1999, **208**, 57-59.

- [4] Goderska K., Czarnecka M., Czarnecki Z.: Przeżywalność wybranych szczepów bakterii potencjalnie probiotycznych w sokach warzywnych. W: Bakterie fermentacji mlekowej. Metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Wyd. Politechniki Łódzkiej, 2003, s. 124-128.
- [5] Hesseltine C.W.: Soya cheeses. In: Macrae R., Robinson R.K., Sandler M.J.: Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition, Vol. 6, Academic Press London 1993, pp. 4230-4238.
- [6] Hoffman M., Jaworska D.: Jakość sensoryczna rynkowych soków przecierowych marchwiowo-jabłkowo-bananowych, W: Towaroznawstwo żywności i przedmiotów użytku - pod red. Skibniewskiej K.A., Wyd. UWM, Olsztyn 2004, s. 191-198.
- [7] ISO 13299:2003 Methodology- General guidance for establishing a sensory profile.
- [8] Libudzisz Z.: Żywność probiotyczna, W: Mikroorganizmy w żywności i żywieniu - pod red. Gawęckiego J., Libudzisz Z. Wyd. AR im. A. Cieszkowskiego, Poznań 2006, s. 93-102.
- [9] Matuszewska I., Szczecińska A., Baryłko-Pikielna N.: Przydatność sensorycznej metody profilowej w interpretacji preferencji konsumenckich wybranych produktów. Żywność, Technologia, Jakość, 1998, **1 (1)**, 5-15.
- [10] Meilgard M., Civille G.V., Carr B.T.: Sensory evaluation techniques (3rd ed.), Boca Raton, CRC Press, 1999.
- [11] Messina M., Gardner C., Barnes S.: Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go: commentary on the fourth international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. J. Nutr. 2002, **132**, 547s-551s.
- [12] Owczarek L., Osińska M., Mączyńska D.: Produkty pochodzenia roślinnego a żywność funkcjonalna, Przem. Spoż., 1999, **1 (53)**, 13.
- [13] PN-ISO:15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- [14] PN-83/A-86341 Mleko i przetwory mleczarskie. Napoje mleczne fermentowane.
- [15] Trząskowska M.: Prognostyczne modele wzrostu i przeżywalności bakterii probiotycznych w wybranych produktach żywnościowych. Praca doktorska, SGGW, Warszawa 2006.
- [16] Warmińska-Radyko I., Łaniewska-Trokenheim Ł., Gerlich J.: Fermented multi-vegetable juices supplemented with *Propionibacterium* cell biomass. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2006, **15/56**, 4, 433-436.
- [17] Yoon K.Y., Woodams E.E., Hang Y.D.: Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 2005, **38**, 73-75.
- [18] Zielińska D.: Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **2 (43) Supl.**, 289 - 297.

DEVELOPMENT OF RIPENING AND STORAGE CONDITIONS OF PROBIOTIC SOY BEVERAGE

Summary

The aim of this study was development of ripening and storage conditions of potential probiotic soy beverage including microbiological and sensory values. The scope of evaluation was to determine appropriate conditions and time of soy beverage ripening after fermentation and survival of *Lactobacillus casei* KN291 in fermented and ripened soy beverage, during 28 days storage at temp. 5°C. pH value, lactic acid content and sensory quality of fermented soy beverage were evaluated to determine the time of shelf life.

It was found that soy beverage after fermentation should be ripened during 48 hours at temp. 15°C. Taking into consideration number of probiotic bacteria and sensory quality of fermented soy beverage can be stored at temp. 5°C (after 48 hours ripening) not longer than 12 days.

Key words: probiotic bacteria, fermented soy beverage, storage ☒