

ANNA MITUNIEWICZ-MAŁEK, IZABELA DMYTRÓW, JERZY BALEJKO,
MAŁGORZATA ZIARNO

**KOMERCYJNE KULTURY PROBIOTYCZNE *LACTOBACILLUS* SP.
(*LB. PARACASEI*, *LB. CASEI* I *LB. ACIDOPHILUS*) W NAPOJACH
FERMENTOWANYCH Z MLEKA KOZIEGO**

Streszczenie

Od kilku lat obserwuje się wzrost spożycia produktów zawierających szczepy o właściwościach probiotycznych. Za mikroorganizmy probiotyczne uznaje się głównie bakterie kwasu mlekowego z rodzaju *Lactobacillus*, ze szczególnym uwzględnieniem *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei* oraz *Lb. johnsonie*. Dodatkowo do grupy tej zalicza się niektóre szczepy *Lb. plantarum*, a także *Bifidobacterium bifidum* i *Bifidobacterium longum*.

Celem badań było wyprodukowanie napojów fermentowanych nowej generacji z mleka koziego przy użyciu komercyjnych kultur probiotycznych *Lactobacillus* sp., zawierających pojedyncze szczepy (*Lb. paracasei*, *Lb. casei* i *Lb. acidophilus*) oraz ocena ich cech jakościowych podczas trzytygodniowego przechowywania (5 ± 1 °C). Wyprodukowano trzy warianty wyrobów doświadczalnych: NP-A (z udziałem *Lb. paracasei* AD 400), NP-B (z udziałem *Lb. casei* 01) i NP-C (z udziałem kultury Lyofast La 3 zawierającej szczep *Lb. acidophilus* 3). Napoje doświadczalne oceniono sensorycznie oraz poddano analizie mikrobiologicznej, fizykochemicznej i reologicznej, odpowiednio po 1, 7, 14 i 21 dniach przechowywania w warunkach chłodniczych.

Stwierdzono, że doświadczalne napoje fermentowane z mleka koziego charakteryzowały się bardzo dobrymi i dobrymi cechami sensorycznymi oraz wymaganą liczbą żywych komórek bakterii probiotycznych (co najmniej 10^6 jtk/g) podczas przechowywania. Kwasowość miareczkowa, pH, zawartość aldehydu octowego, lepkość oraz twardość istotnie zależały od rodzaju badanego napoju i czasu chłodniczego przechowywania.

Słowa kluczowe: mleko kozie fermentowane, kultury probiotyczne, cechy jakościowe, tekstura

Dr inż. A. Mituniewicz-Malek, dr inż. I. Dmytrów, Zakład Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności, dr hab. J. Balejko, prof. nadzw., Zakład Inżynierii Procesowej i Maszynoznawstwa, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła IV 3, 71-459 Szczecin, dr hab. inż. M. Ziarno, Zakład Biotechnologii Mleka, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

Wprowadzenie

Mleko kozie jest źródłem cennych składników odżywczych i często może być stosowane jako zamiennik mleka krowiego. Podobnie wartościowe są przetwory z mleka koziego, takie jak: sery podpuszczkowe i twarogowe, masło oraz mleko fermentowane charakteryzujące się podwyższoną wartością odżywczą i dietetyczną. Wzrasta produkcja i spożycie wyrobów zawierających szczepy o właściwościach probiotycznych. Za mikroorganizmy probiotyczne uznaje się głównie bakterie kwasu mlekowego z rodzaju *Lactobacillus*, ze szczególnym uwzględnieniem *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* oraz *Lb. johnsonie* [2]. Do grupy tej zalicza się także *Bifidobacterium longum* i *Bifidobacterium bifidum* [8].

Celem badań było wyprodukowanie z mleka koziego napojów fermentowanych nowej generacji przy użyciu komercyjnych kultur probiotycznych *Lactobacillus* sp. zawierających pojedyncze szczepy (*Lb. paracasei*, *Lb. casei* i *Lb. acidophilus*,) oraz ocena ich cech jakościowych podczas trzytygodniowego przechowywania ($5 \pm 1^\circ\text{C}$).

Material i metody badań

Surowcem do produkcji fermentowanych napojów doświadczalnych było zbiorcze mleko kozie, zakupione na początku lipca 2011 roku w indywidualnym gospodarstwie ekologicznym „JASIONEK Hodowla kóz” w Cewlinie k. Koszalina. Mleko pasteryzowano metodą zbiornikową ($85^\circ\text{C}/15 - 20$ min), schładzano do temp. 40°C i normalizowano dodatkiem koziego proszku mlecznego (firmy Danmis, Polska) do 14 % zawartości suchej masy. Następnie mleko dzielono na trzy części i każdą z nich zaszczipiano jedną z trzech, wcześniej uaktywnionych (5 % zakwasu roboczego), komercyjnych kultur bakterii *Lactobacillus* sp. o potencjalnych właściwościach probiotycznych.

Przygotowano trzy warianty prób:

- NP-A – z udziałem monokultury *Lb. paracasei* AD 400 (Kanadyjski Instytut Rosell Inc.),
- NP-B – z udziałem kultury *Lb. casei* 01 (firma Ch. Hansen, Dania),
- NP-C – z udziałem kultury starterowej Lyofast La 3 (Sacco, Polska), zawierającej szczep *Lb. acidophilus* 3.

Inkubację prowadzono w temp. 40°C do uzyskania skrzepu, po czym napoje schładzano do temp. $5 \pm 1^\circ\text{C}$ i w takich warunkach przechowywano przez trzy tygodnie. Łącznie chłodniczemu przechowywaniu poddano 96 próbek.

Próbki do analiz pobierano po 1, 7, 14 i 21 dniach chłodniczego przechowywania. W mleku przerobowym oznaczano zawartość: suchej masy, białka ogółem [40] i tłuszczu [27], określano gęstość, kwasowość miareczkową [5] oraz kwasowość czynną [40]. Napoje doświadczalne oceniano sensorycznie oraz poddawano analizie mikrobio-

logicznej, fizykochemicznej i reologicznej (lepkość i twardość). Ocenę sensoryczną przeprowadzał przeszkolony zespół składający się z pięciu osób. Oceniano wygląd, smak, zapach i konsystencję napojów w skali 5-punktowej [29]. Analiza mikrobiologiczna obejmowała oznaczenie w napojach fermentowanych liczby komórek mikroflory technicznej metodą płytkową wgłębną, w dwóch równoległych powtórzeniach próbek i trzech niezależnych powtórzeniach każdego analizowanego napoju. Do fermentacji mleka koziego wykorzystywano monokulturę bakterii, dlatego do posiewów zastosowano pożywkę MRS Agar [22] sporządzoną z gotowego preparatu podłoża (firmy Merck). Przygotowanie próbek do analiz mikrobiologicznych, jak również przygotowanie rozcieńczeń wykonywano zgodnie z zaleceniami normy [28]. Płytki z posiewami inkubowano w temp. 37 °C przez 72 h w warunkach beztlenowych, korzystając z anaerostatów wyposażonych we wkłady anaerocult A (firmy Merck). Po zakończeniu inkubacji płytek z posiewami wynik przeliczano na liczbę jednostek tworzących kolonię w 1 g produktu (jtk/g). Analiza fizykochemiczna obejmowała oznaczenie: kwasowości miareczkowej w °SH [5], kwasowości czynnej (pH) przy użyciu pehametru (model Q 150) i zawartości aldehydu octowego [20]. Pomiar lepkości wykonywano za pomocą układu współosiowych cylindrów z podwójną szczeliną na reometrze American Instruments AR 2000. Lepkość pozorną prób badawczych określano w zakresie szybkości ścinania od 1 do 400 s⁻¹, utrzymując w trakcie trwania testu stałą temperaturę próbki (moduł Peltiera). Analizę profilu tekstury (TPA) wykonywano przy użyciu analizatora tekstury TA.XT plus firmy Stable Micro System z zestawem komputerowym. Próbkę napoju penetrowano walcem aluminiowym o średnicy 20 mm na głębokości 25 mm z szybkością 5 mm·s⁻¹ i siłą nacisku 1 G [14]. Kierując się dostępną literaturą [31], w pracy ograniczono się do analizy twardości jako głównego parametru tekstury.

Wyniki analiz mikrobiologicznych i fizykochemicznych opracowano statystycznie. Przeprowadzono jedno- lub dwuczynnikową analizę wariancji z powtórzeniami (ANOVA). Do oszacowania różnic między dwoma wartościami średnimi zależnymi i niezależnymi zastosowano testy t-Studenta i Cochrań-Coxa. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Mleko kozie wzbogacone proszkiem mlecznym przeznaczone do produkcji napojów doświadczalnych zawierało średnio 14 % suchej masy, w tym 3,85 % białka ogółem i 3,50 % tłuszczu, a kwasowość miareczkowa oraz czynna (pH) kształtowały się odpowiednio na poziomie 6,95°SH i 6,02. Podobne zawartości składników suchej masy oraz kwasowości mleka koziego wzbogaconego proszkiem mlecznym oznaczyli Domagała i Wszolek [11], a także Abrahamsen i Holmen [1].

W tab. 1. przedstawiono liczbę komórek mikroflory technicznej (starterowej), a w tab. 2. średnie wyniki oceny sensorycznej, cech fizykochemicznych oraz twardości i lepkości wyprodukowanych napojów fermentowanych z mleka koziego w okresie 21-dniowego chłodniczego przechowywania. W tab. 3 zestawiono wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji wskaźników fizykochemicznych i reologicznych. Stwierdzono statystycznie istotne ($p = 0,05$) różnice między napojami, jak również istotny wpływ czasu przechowywania na kwasowość miareczkową, pH, zawartość aldehydu octowego oraz lepkość i twardość. Wykazano również istotne interakcje obu badanych czynników w odniesieniu do wszystkich wyróżników jakości (kwasowości miareczkowej, pH, zawartości aldehydu octowego, lepkości i twardości) napojów fermentowanych z mleka koziego.

Tabela 1

Liczba komórek mikroflory starterowej w kozich napojach fermentowanych w czasie 21-dniowego chłodniczego przechowywania [log jtk/g].

Count of cells of starter microflora in goat's fermented milks during 21 day period of cooling storage [log cfu/g].)

Czas przechowywania [dni] Storage time [days]	NP-A	NP-B	NP-C
1	7,7 ± 0,1 ^a	7,9 ± 0,3 ^b	7,5 ± 0,3 ^c
7	7,5 ± 0,2 ^a	7,9 ± 0,4 ^b	7,4 ± 0,3 ^c
14	7,2 ± 0,2 ^a	7,3 ± 0,4 ^b	7,4 ± 0,2 ^c
21	7,5 ± 0,2 ^a	7,4 ± 0,3 ^b	7,3 ± 0,1 ^c

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 6;

NP-A – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. paracasei* AD 400 / drink produced with the use of *Lb. paracasei* AD 400; NP-B – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. casei* 01 inoculant/ drink produced with the use of *Lb. casei* 01 inoculant; NP-C – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. acidophilus* 3 / drink produced with the use of *Lb. acidophilus* 3 inoculant;

a, b, c – różne indeksy przy wartościach średnich w tej samej kolumnie oznaczają statystycznie istotne różnice między tymi średnimi ($p = 0,05$) / different superscripts at mean values in the same column denote statistically significant differences among those mean values ($p = 0.05$).

Mimo rosnącej popularności mleka koziego niewiele jest prac badawczych na temat dynamiki rozwoju i przeżywalności w nim bakterii fermentacji mlekowej, a szczególnie szczepów probiotycznych. Z tego względu wyniki analizy mikrobiologicznej uzyskane w niniejszych badaniach porównano z odnośnymi wynikami mleka krowiego fermentowanego monokulturami bakterii mlekowych. Początkowa średnia liczba komórek mikroflory technicznej (starterowej) w uzyskanych kozich napojach fermento-

wanych zawierała się w zakresie $3,1 \times 10^7$ - $8,5 \times 10^7$ jtk/g. Przez cały okres chłodniczego przechowywania populacja szczepów probiotycznych użytych do produkcji tych napojów nie zmieniła się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) i wszystkie napoje doświadczalne charakteryzowały się normatywną liczbą żywych komórek (co najmniej 10^6 jtk/g).

Otrzymane wyniki są zgodne z wynikami uzyskanymi przez Zarebę i wsp. [37] w przypadku mleka krowiego fermentowanego monokulturą *Lb. casei* i przechowywanego w temp. 6 °C przez cztery tygodnie. W całym okresie przechowywania próbek liczba *Lb. casei* nie zmniejszała się poniżej koniecznego minimum, a nawet pozostawała na wysokim poziomie: powyżej 10^8 jtk/cm³. W drugim tygodniu przechowywania liczba *Lb. casei* osiągnęła nawet wartość bliską 10^{10} jtk/cm³. W cytowanych badaniach zaobserwowano natomiast odmienne tendencje przeżywalności bakterii z gatunku *Lb. acidophilus*, w przypadku których liczba żywych komórek uległa silnej redukcji w czasie 4-tygodniowego chłodniczego przechowywania i osiągnęła poziom zaledwie 10^3 jtk/g. Okazuje się, że przeżywalność bakterii mlekowych w mleku fermentowanym i chłodniczo przechowywanym zależy od wielu czynników, m.in. od czasu i temperatury fermentacji, warunków przechowywania produktu finalnego, jego kwasowości, zawartości suchej substancji i cukrów, dostępu bakterii do substancji odżywczych, obecności tlenu, a także od rodzaju, gatunku i szczepu bakterii kwasu mlekowego użytych do fermentacji [16, 38, 39, 25]. Minervini i wsp. [23] badali przeżywalność 4 monokultur pałeczek mlekowych: *Lb. casei* LC01, *Lb. helveticus* PR4, *Lb. acidophilus* 2949 i *Lb. plantarum* 1288 w fermentowanym mleku kozim, przechowywanym następnie w temp. 4 °C przez 45 dni. Bezpośrednio po zakończeniu fermentacji liczba żywych pałeczek mlekowych osiągała 10^7 - 10^8 jtk/g, natomiast po 45 dniach przechowywania fermentowanego mleka w warunkach chłodniczych uległa statystycznie istotnej redukcji (do 7,0 i 7,4 log jtk/g odpowiednio w przypadku *Lb. casei* LC01 oraz *Lb. helveticus* PR4) lub nie zmieniła się (*Lb. plantarum* 1288). Liczba komórek mikroflory starterowej w mlecznych napojach fermentowanych powinna wynosić co najmniej 10^7 jtk/g, co zostało określone w wytycznych FIL/IDF i FAO/WHO [9]. Przy takiej liczbie bakterii konieczne jest spożycie co najmniej 10 g produktu. Kryterium liczby musi być spełnione w całym okresie przydatności do spożycia. W przypadku mikroflory probiotycznej poziom żywych bakterii powinien wynosić co najmniej 10^6 jtk/g i jest określony mianem minimum terapeutycznego [19]. Ziarno i wsp. [41] wykazali, że przeżywalność probiotycznych szczepów bakterii fermentacji mlekowej (w tym *Lb. acidophilus* La-5 i *Lb. casei* subsp. *paracasei* LCP) w modelowych jogurtach borówkowych była na poziomie gwarantującym spełnienie kryterium minimum terapeutycznego przez co najmniej 12 tygodni. W odniesieniu do zacytowanych danych literaturowych można stwierdzić, że kozie napoje fermentowane, uzyskane w niniejszych badaniach, również spełniały kryterium minimum terapeutycznego przez cały czas ich chłodniczego przechowywania.

Wyprodukowane napoje fermentowane z mleka koziego przez 21 dni przechowywania charakteryzowały się bardzo dobrą i dobrą jakością sensoryczną (tab. 2). Najwyżej oceniono napój, do produkcji którego użyto szczepionki *Lb. paracasei* AD 400. Przez cały okres chłodniczego składowania napój ten wyróżniał się jednolitą, zwartą konsystencją, która po wymieszaniu wykazywała tendencję do ciągliwości, co jest typowe dla produktów zawierających potencjalnie probiotyczne szczepionki. Niższe oceny pozostałych dwóch napojów (NP-B i NP-C) wynikały ze stopniowego pogarszania się ich jakości (bardziej wyczuwalnego koziego posmaku, minimalnego podcieku serwatki i rozluźnienia konsystencji). Obniżenie jakości sensorycznej napojów fermentowanych z mleka koziego podczas chłodniczego przechowywania stwierdzili również Borek-Wojciechowska [4] oraz Pieczonka i Pasionek [26].

Kwasowość miareczkowa napojów fermentowanych kształtowała się od 30,4 do 49,0 °SH, przy czym najniższą stwierdzono w produkcie NP-B z udziałem monokultury *L. casei* 01, a najwyższą w produkcie NP-A z monokulturą *L. paracasei* AD 400 odpowiednio po 1 i 21 dniach chłodniczego przechowywania. Kwasowość miareczkowa wszystkich napojów fermentowanych zwiększała się podczas przechowywania (tab. 2). Podczas składowania doświadczalnych napojów fermentowanych stwierdzono dość znaczne wahania kwasowości czynnej (pH). Największe stwierdzono po 7 dniach (NP-B i NP-C), a w próbie NP-A – po 14 dniach. Ostatecznie jednak po 21 dniach chłodniczego przechowywania we wszystkich napojach fermentowanych nowej generacji oznaczono istotny spadek pH w stosunku do wartości po 1 dniu (tab. 2). Danków i wsp. [10] analizowali grupę napojów fermentowanych z mleka koziego i stwierdzili wpływ okresu przechowywania na kwasowość, zarówno miareczkową, jak i czynną. Cais-Sokolińska i Pikul [6], a także Bonczar i Wszolek [3] tłumaczą wahania kwasowości mleka ukwaszonego podczas chłodniczego przechowywania działalnością fermentacyjną drobnoustrojów wchodzących w skład szczepionek, które w temperaturze 4°C rozkładają w dalszym ciągu laktozę, choć znacznie wolniej niż w temperaturach optymalnych dla wzrostu bakterii fermentacji mlekowej.

Związki aromatotwórcze są produktami metabolizmu węglowodanów, tłuszczów, białek i cytrynianów, których przemiany podczas dojrzewania i przechowywania produktów fermentowanych są możliwe dzięki uwalnianym przez bakterie enzymom proteolitycznym i lipolitycznym [15, 36]. Dzwolak i wsp. [15], a także Libudzisz [21] twierdzą, że różnorodność składników wpływających na aromat mleka fermentowanego jest zdeterminowana właściwościami szczepów bakterii stosowanych do jego produkcji. Bakterie fermentacji mlekowej mogą wytwarzać 0,1-10,0 mg·dm⁻³ aldehydu octowego [18, 32]. Zawartość tego związku w napojach fermentowanych stanowiących materiał badań była nieznaczna i kształtowała się w granicach od 0,399 mg·dm⁻³ do 1,779 mg·dm⁻³. Małą zawartość aldehydu octowego w jogurtach z mleka koziego wykazali Cais-Sokolińska i wsp. [7] oraz Mituniewicz-Malek i wsp. [24]. Jak wynika

z ich badań, w napojach fermentowanych z mleka koziego, w porównaniu z mlekiem krowim, trudno o dużą zawartość aldehydu octowego, co warunkowane jest ponad dwudziestokrotnie większą zawartością w nich glicyny działającej inhibicyjnie na aldozę treoninową, przekształcającą treoninę w aldehyd octowy i glicynę [33, 30].

W ciągu trzech tygodni chłodniczego przechowywania twardość napojów fermentowanych mieściła się w zakresie od 0,250 do 0,489 N, przy czym większe jej wartości stwierdzono w napoju z udziałem szczepionki *Lb. paracasei* AD 400 (NP-A), a mniejsze – w napoju wyprodukowanym przy użyciu szczepionki *Lb. casei* 01 (NP-B). Po zakończeniu doświadczenia (po 21 dniach), we wszystkich produktach, stwierdzono wzrost twardości w odniesieniu do wartości po 1 dniu (tab. 2). Również w przypadku lepkości najwyższe oraz najniższe jej wartości zaobserwowano odpowiednio: w napoju NP-A i NP-B. W trzecim badanym produkcie (NP-C), do wyrobu którego wykorzystano kulturę starterową Lyofast La 3, zawierającą szczep *Lb. acidophilus* 3, lepkość osiągnęła wartości w granicach od 0,355 mPa·s do 0,635 mPa·s. Dodatkowo, po trzech tygodniach lepkość wszystkich produktów, podobnie jak twardość, była wyższa niż w pierwszym okresie prowadzonych badań (po 1 dniu). Wpływ rodzaju szczepionki na teksturę napoju fermentowanego (jogurtu i biojogurtu) z mleka koziego badali Domagała i Wszolek [11]. Stwierdzili oni, że rodzaj stosowanej szczepionki wpływa na jakość produktów fermentowanych. Wyniki napojów fermentowanych nowej generacji, produkowanych przy użyciu komercyjnych kultur probiotycznych *Lactobacillus sp.* (*Lb. paracasei*, *Lb. casei*, i *Lb. acidophilus*), uzyskane w wyniku badania będącego przedmiotem niniejszego opracowania, są zgodne z wynikami tych autorów [11]. Warto jednak zaznaczyć, że Domagała [12] oraz Domagała i Juszcak [13], na podstawie wcześniejszego badania wpływu rodzaju szczepionki na teksturę jogurtów i biojogurtów z mleka koziego stwierdzili, że rodzaj szczepionki nie wpływa istotnie na zmiany jakości sensorycznej, lepkości pozornej i parametrów tekstury w grupie samych jogurtów czy biojogurtów. Istotne różnice wartości ww. parametrów stwierdzono jednak między jogurtami i biojogurtami [12, 13]. Z danych literaturowych [11, 34, 35, 17] wynika także, że na właściwości teksturalne napojów fermentowanych, produkowanych z mleka koziego, znaczący wpływ ma czas chłodniczego przechowywania. Domagała [12] stwierdził, że w przypadku jogurtu z mleka koziego po przechowywaniu nastąpiło zwiększenie lepkości pozornej, podczas gdy twardość produktu pozostała na niezmiennym poziomie. Wzrost lepkości pozornej chłodniczo przechowywanych jogurtów z mleka koziego zaobserwowali także Karademir i wsp. [17].

Tabela 2

Wybrane cechy jakościowe napojów fermentowanych z mleka koziego.
Quality properties of fermented drinks of goat's milk.

Cecha / Feature	NP-A						NP-B						NP-C												
	Czas przechowywania / Storage time [days]																								
	1	7	14	21	1	7	14	21	1	7	14	21	1	7	14	21	1	7	14	21					
Ocena sensoryczna [pkt] Sensory evaluation [scores]	5,0	5,0	5,0	5,0	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,5					
Kwasowość miareczkowa Titratable acidity [°SH]	35,87	35,20	43,33	49,00	30,40	44,13	43,47	42,93	35,73	44,40	44,93	46,00	5,08	4,84	4,33	4,27	5,33	4,53	4,62	4,41	5,08	4,50	4,51	4,39	
pH	5,08	4,84	4,33	4,27	5,33	4,53	4,62	4,41	5,08	4,50	4,51	4,39	0,525	0,777	0,404	0,476	1,779	0,747	0,429	0,399	0,489	0,449	0,816	0,575	
Aldehyd octowy Acetate aldehyde [mg·dm ⁻³]	0,776	0,821	0,462	0,842	0,333	0,531	0,283	0,415	0,407	0,635	0,462	0,462	0,776	0,821	0,462	0,842	0,333	0,531	0,283	0,415	0,407	0,635	0,355	0,462	
Lepkość Viscosity [mPa·s]	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466	
Twardość Hardness [N]																									

Objaśnienia: / Explanatory notes:

NP-A – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. paracasei* AD 400 / drink produced with the use of *Lb. paracasei* AD 400; NP-B – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. casei* 01 inoculant / drink produced with the use of *Lb. casei* 01 inoculant; NP-C – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. acidophilus* 3 / drink produced with the use of *Lb. acidophilus* 3 inoculant

Tabela 3

Wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji wskaźników fizykochemicznych i reologicznych napojów fermentowanych z mleka koziego.

Results of bi-factor analysis of variance of physicochemical indicators and rheological fermented drinks from goat's milk.

Cecha / Feature	Czynnik / Factor	F	P	Test F
Kwasowość miareczkowa Titratable acidity [$^{\circ}\text{SH}$]	Czas przechowywania Storage time	565,403	2,18E-22*	3,008
	Rodzaj napoju Type of drink	43,144	1,13E-08*	3,402
	Interakcje Interactions	93,015	2,03E-15*	2,508
pH / pH	Czas przechowywania Storage time	848,999	1,76E-24*	3,009
	Rodzaj napoju Type of drink	30,267	2,74E-07*	3,403
	Interakcje Interactions	54,491	8,36E-13*	2,508
Aldehyd octowy Acetate aldehyde [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$]	Czas przechowywania Storage time	424,944	6,33E-21*	3,009
	Rodzaj napoju Type of drink	371,337	8,86E-19*	3,403
	Interakcje Interactions	645,184	2,69E-25*	2,508
Lepkość Viscosity [$\text{mPa}\cdot\text{s}$]	Czas przechowywania Storage time	43,2120	7,86E-10*	3,009
	Rodzaj napoju Type of drink	114,460	5,33E-13*	3,403
	Interakcje Interactions	5,306	0,001*	2,508
Twardość Hardness [N]	Czas przechowywania Storage time	26,238	9,45E-08*	3,009
	Rodzaj napoju Type of drink	35,287	7,13E-08*	3,403
	Interakcje Interactions	13,188	1,42E-06*	2,508

*różnice statystycznie istotne ($p = 0,05$) / statistically significant differences ($p = 0.05$).

Uysal i wsp. [35] stwierdzili wzrost twardości jogurtów i biojogurtów z tego samego mleka oraz z mieszaniny mleka koziego i krowiego po 14 dniach chłodniczego przechowywania.

Wnioski

1. Wyprodukowane z mleka koziego napoje fermentowane nowej generacji zawierające pojedyncze szczepy probiotyczne *Lactobacillus* sp. (*Lb. paracasei* AD 400, *Lb. casei* 01 oraz *Lb. acidophilus* 3) charakteryzowały się bardzo dobrymi i dobrymi cechami sensorycznymi przez cały okres chłodniczego przechowywania.
2. Populacja szczepów *Lb. paracasei* AD 400, *Lb. casei* 01 oraz *Lb. acidophilus* 3 użytych do produkcji kozich napojów fermentowanych utrzymywała się na zbliżonym poziomie podczas 21-dniowego przechowywania w warunkach chłodniczych.
3. Z udziałem komercyjnych szczepionek probiotycznych *Lactobacillus* sp. (*Lb. paracasei* AD 400, *Lb. casei* 01 oraz *Lb. acidophilus* 3) możliwe jest otrzymanie kozich napojów fermentowanych spełniających kryterium minimum terapeutycznego.
4. Wskaźniki fizykochemiczne i reologiczne istotnie zależały od rodzaju badanego napoju fermentowanego i czasu chłodniczego przechowywania.

Literatura

- [1] Abrahamsen R.K., Holmen T.B.: Yoghurt from hyperfiltrated, ultrafiltrated and evaporated milk and from milk with added milk powder. *Milchwiss.*, 1981, **35** (7), 399-402.
- [2] Avonts L., van Uytven E., de Vuyst L.: Cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus* strains in different media. *Int. Dairy J.*, 2004, **14** (11), 947-955.
- [3] Bonczar G., Wszolek M.: Jakość i trwałość kefiru i jogurtu produkowanego z mleka owczego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1997, **1** (10), 60-68.
- [4] Borek-Wojciechowska R.: Zmiany cech organoleptycznych jogurtów z mleka koziego podczas przechowywania. *Przegl. Mlecz.*, 2001, **1** (10), 60-61.
- [5] Budślawski J.: Badanie mleka i jego przetworów. PWRiL, Warszawa 1973.
- [6] Cais-Sokolińska D., Pikul J.: Wpływ chłodniczych temperatur przechowywania na jakość i trwałość jogurtu naturalnego. *Chłodnictwo*, 2001, **8-9**, 84-88.
- [7] Cais-Sokolińska D., Danków R., Wojciechowski J.: Preparat skrobi o ustabilizowanej lepkości w technologii produkcji jogurtów z mleka krowiego, koziego i owczego. *Przegl. Mlecz.*, 1996, **11**, 345-347.
- [8] Cebeci A., Gürakan C.: Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiol.*, 2003, **20** (5), 511-518.
- [9] Codex Standard For Fermented Milks 2010. Codex Stan 243-2003. Adopted in 2003. Revision 2008, 2010, http://www.codexalimentarius.net/download/standards/400/CXS_243e.pdf.
- [10] Danków R., Matylla P., Pikul J.: Wpływ przechowywania w warunkach chłodniczych na jakość jogurtów z mleka koziego. *Chłodnictwo.*, 2000, XXXV, **9**, 74-76.
- [11] Domagała J., Wszolek M.: Wpływ sposobu zagęszczania oraz rodzaju szczepionki na teksturę i podatność na synerезę jogurtu i biojogurtu z mleka koziego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **6** (61), 118-126.
- [12] Domagała J.: Zmiany tekstury i mikrotekstury jogurtu z mleka koziego pod wpływem wybranych czynników. *Zesz. Nauk. AR*, **425**, Kraków 2005.
- [13] Domagała J., Juszcak L.: Flow behaviour of goat's milk yoghurts and bioyoghurts. *EJPAU, Food Sci. Technol.*, 2003, **7**, 2.
- [14] Domagała J., Wszolek M.: Wpływ sezonowych zmian w składzie mleka koziego na teksturę jogurtu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **2** (23), 70-77.

- [15] Dzwolak W., Ziajka S., Chmura S., Baranowska M.: Produkcja mlecznych napojów fermentowanych. Wyd. Hoża, Warszawa 2000.
- [16] Kailasapathy K., Harmstorf I., Philips M.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* in stirred fruit yoghurts. LWT Food Sci. Technol., 2008, **41** (7), 1317-1322.
- [17] Karademir E., Atamer M., Tamucay B., Yaman S.: Some properties of goat milk yoghurts produced by different fortification methods. Milchwiss., 2002, **57** (5), 261-263.
- [18] Kornacki K.: Mikrobiologia mleka i jego przetworów. W: Mleczarstwo – zagadnienia wybrane. Red. S. Ziajka. T. I. Wyd. ART, Olsztyn 1997, ss. 119-161.
- [19] Lee Y.K., Salminen S.: The coming of age of probiotics. Trends Food Sci. Technol., 1995, **6**, 241-245.
- [20] Lees G.J., Jago G.R.: Methods for the estimation of acetaldehyde in cultured dairy products. Australian J. Dairy Technol., 1969, **24**, 181-185.
- [21] Libudzisz Z.: Fizjologia i modelowanie układów mieszanych paciorkowców fermentacji mlekowej w hodowlach okresowych i ciągłych. Zesz. Nauk. Politech. Łódz. 1990, **595**, 6-99.
- [22] Merck Microbiology Manual 2007. 12th Edition; Merck: Darmstadt, Germany.
- [23] Minervini F., Bilancia M.T., Siragusa S., Gobbetti M., Caponio F.: Fermented goats' milk produced with selected multiple starters as a potentially functional food. Food Microbiol., 2009, **26** (6), 559-564.
- [24] Mituniewicz-Małek A., Dmytrów I., Jasińska M., Balejko J., Szymczak B.: Traditional yoghurt culture vs. selected quality properties of fermented beverages produced from goat's milk. EJPAU, 2011, **14** (3), #7.
- [25] Moneta J.: Fermentowane produkty mleczne suplementowane bakteriami probiotycznymi. Przegl. Mlecz., 2006, **1**, 4-8.
- [26] Pieczonka W., Pasionek B.: Trwałość i akceptacja konsumencka napojów fermentowanych z mleka koziego. Przem. Spoż., 1995, **4**, 128-130.
- [27] PN-ISO 2446:2002. Mleko. Oznaczenie zawartości tłuszczu (metoda rutynowa).
- [28] PN-93 / A-86034-03. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Przygotowanie próbek i rozcieńczeń.
- [29] PN-EN ISO 6658:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.
- [30] Rysstad G., Knutsen W., Abrahamsen R.: Effect of threonine and glycine on acetaldehyde formation in goat's milk yogurt. J. Dairy Res., 1990, **57**, 401-411.
- [31] Salvador A., Fiszman S.M.: Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavoured set-type yoghurt during long storage. J. Dairy Sci., 2004, **87** (12), 4033-4041.
- [32] Stepaniak I., Kornacki K., Habaj B.: Właściwości biochemiczne mikroflory kultur mleczarskich. Przem. Spoż., 1997, **9**, 340-343.
- [33] Szczepaniak A., Libudzisz Z.: Przydatność technologiczna mleka koziego. Przem. Spoż., 2001, **2**, 35-36.
- [34] Tratnik L., Bożanic R., Herceg Z., Draglić I.: The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. Int. J. Dairy Technol., 2006, **59** (1), 40-46.
- [35] Uysal H., Kilic S., Kavas G., Akbulut N., Kesenkas H.: Production and some properties of Bifighurt de from goat milk and cow-goat milk mixtures by ultrafiltration and addition of skim milk powder. Milchwiss, 2003, **58** (11/12), 636-639.
- [36] Wszolek M.: Przydatność technologiczna mleka koziego. Przegl. Mlecz., 1997, **1**, 12-14.
- [37] Zaręba D., Obiedziński M., Ziarno M.: Porównanie profilu lotnych związków mleka fermentowanego i niefermentowanego przez bakterie jogurtowe i szczepy probiotyczne. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **3** (58), 18-32.
- [38] Zaręba D., Ziarno M., Czapska M., Bednarczyk M.: Czynniki warunkujące przeżywalność mikroflory jogurtów i biojogurtów. Przegl. Mlecz., 2008, **10**, 8-13.

- [39] Zaręba D., Ziarno M., Obiedziński M.: Przeżywalność bakterii jogurtowych i probiotycznych w układach modelowych mleka niefermentowanego i fermentowanego. *Med. Wet.*, 2008, **64 (8)**, 1007-1011.
- [40] Zmarlicki Z.: Ćwiczenia z analizy mleka i produktów mlecznych. Wyd. AR, Warszawa 1981, ss. 11-79.
- [41] Ziarno M., Zaręba D., Ścibisz I.: Przeżywalność probiotycznych bakterii fermentacji mlekowej w modelowych jogurtach owocowych. *Bromatol. i Chemia Toksykol.*, 2011, XLIV, **3**, 645-649.

**COMMERCIAL PROBIOTIC LACTOBACILLUS SP. CULTURES (*LB. PARACASEI*,
LB. CASEI AND *LB. ACIDOPHILUS*) IN FERMENTED DRINKS MADE
FROM GOAT'S MILK**

S u m m a r y

Over the last few years, an increase has been confirmed in the consumption of food products containing strains showing probiotic features. *Lactobacillus sp.* strains, a major part of the lactic acid bacteria, are considered to be main probiotic micro-organisms, especially *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, and *Lb. johnsonie*. Additionally, some strains of *Lb. plantarum* are classified into this group as are *Bifidobacterium bifidum* and *Bifidobacterium longum*.

The objective of the research was to produce a new generation of fermented drinks from goat's milk by means of commercial probiotic *Lactobacillus sp.* cultures containing single species (*Lb. Paracasei*, *Lb. casei*, and *Lb. acidophilus*,) and to assess their quality features during a three week storage period (5 ± 1 °C). Three variants of experimental products were produced: NP-A (containing *Lb. Paracasei* AD400), NP-B (containing *Lb. casei* 01), and NP-C (with a Lyofast La 3 culture containing *Lb. acidophilus*). The experimental drinks were sensory assessed and underwent microbiological, physical-chemical, and rheological analyses after the 1st, 7th, 14th, and 21st day of cooling storage.

It was found that the experimental drinks produced from the goat's milk were characterized by very good and good sensory features and a required number of live cells of probiotic bacteria (at least 10^6 cfu/g) during the storage. Their titratable acidity, pH, content of acetaldehyde, viscosity, and hardness depended significantly on the type of drink analyzed and the time of cooling storage.

Key words: fermented goat's milk, probiotic culture, quality features, texture ☒