

IZABELA DMYTRÓW

WPLYW PROBIOTYCZNYCH BAKTERII KWASU MLEKOWEGO NA STABILNOŚĆ PRZECHOWALNICZĄ KWASOWYCH SERÓW TWAROGOWYCH

Streszczenie

Określono wpływ probiotycznych bakterii kwasu mlekowego (*Lactobacillus acidophilus* LA 5 i *Bifidobacterium bifidum* BB 12) na stabilność przechowalniczą kwasowych serów twarogowych. Twarogi oceniono sensorycznie, oznaczono w nich zawartość wody i tłuszczu, dokonano pomiaru pH i kwasowości miareczkowej, jak również określono synerżę serwatki. Próbkę serów poddano również analizie reologicznej, która polegała na ocenie ich twardości za pomocą testu podwójnej penetracji TPA. W stosowanych zakwasach oraz wyrobach doświadczalnych oznaczono liczbę mezofilnych paciorkowców mlekowych oraz szczepów probiotycznych. Analizę serów twarogowych wykonano bezpośrednio po wyprodukowaniu i zapakowaniu oraz po 3, 7, 14 i 21 dniach przechowywania w temperaturze 5 ± 1 °C. Sery twarogowe kwasowe, stanowiące przedmiot badań, charakteryzowały się odpowiednimi cechami sensorycznymi oraz normatywną kwasowością oraz zawartością tłuszczu i wody. Stwierdzono statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost twardości wszystkich badanych twarogów oraz statystycznie istotną ($p = 0,05$) korelację między zawartością wody w twarogach a ich twardością. Sery charakteryzowały się rekomendowaną liczbą LAB i bakterii probiotycznych (nie mniej niż $10^6 \div 10^7$ jtk·g⁻¹) w całym okresie przechowywania, mimo zmniejszania się liczby bakterii kwasu mlekowego, jak i szczepów *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12. Szczepy probiotyczne wpływały na jakość sensoryczną kwasowych serów twarogowych. Najwyższą jakością sensoryczną charakteryzował się twaróg zawierający szczep *B. bifidum* BB 12, najniższą zaś – ser z udziałem *Lb. acidophilus* LA 5.

Słowa kluczowe: probiotyki, bakterie LAB starterowe, twaróg, przechowywanie

Wprowadzenie

Podstawą przemysłowej produkcji kwasowych serów twarogowych jest proces koagulacji kazeiny zachodzący pod wpływem dodawanych do mleka mezofilnych

Dr hab. inż. I. Dmytrów, Zakład Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin, Kontakt: izabela.dmytrow@gmail.com

paciorokowców mlekowych, tj. *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Lc. lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* i/lub *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*. W celu osiągnięcia specyficznych efektów do mleka przerobowego przeznaczonego do produkcji twarogu dodaje się coraz częściej mikroflorę dodatkową, oprócz mikroflory technicznej [25]. Prawdziwym wyzwaniem technologicznym staje się wprowadzenie do produktu oraz utrzymanie odpowiednio dużej liczby bakterii probiotycznych. Interakcje pomiędzy kulturami technicznymi a probiotycznymi bakterii, zarówno pozytywne (protokooperacje), jak i negatywne (antagonizm), mogą powodować niepożądane zmiany w składzie mikroflory podczas wyrobu i chłodniczego składowania fermentowanych produktów mlecznych [28].

Celem pracy była ocena wpływu probiotycznych bakterii kwasu mlekowego *Lactobacillus acidophilus* LA 5 i *Bifidobacterium bifidum* BB 12 na stabilność przechwalniczą kwasowych serów twarogowych.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były kwasowe sery twarogowe wyprodukowane w okresie jesienno-zimowym. Oprócz kultury starterowej Choozit™ (Danisco Biolacta Sp. z o.o., Olsztyn), w skład której wchodziły szczepy tradycyjnie stosowane w produkcji serów twarogowych kwasowych (*Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides*), do wyrobu twarogów używano bakterii o udokumentowanym działaniu probiotycznym, tj. *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12 (Clerici – Sacco, Włochy). Kulturę twarogową Choozit™ oraz odpowiednią kulturę probiotyczną dodawano do mleka przerobowego w proporcjach zapewniających udział *Lb. acidophilus* LA 5 i *B. bifidum* BB 12 w mleku na poziomie $1 \cdot 10^7$ jtk \cdot g $^{-1}$. W zakwasie roboczym szczepionki ożywionej w mleku regenerowanym udział kultury twarogowej i jednego z dwóch szczepów probiotycznych wynosił każdorazowo 1 : 1. Surowcem do wyrobu twarogów było mleko (zakupione bezpośrednio od producenta za pośrednictwem Spółdzielni Obrotu Towarowego w Szczecinie) homogenizowane (15 MPa/55 °C) i pasteryzowane (85 °C/15 s), zawierające 3,2 % tłuszczu, 4,7 % laktozy oraz 3,4 % białka ogólnego. Wyrób kwasowych serów twarogowych w warunkach laboratoryjnych przebiegał zgodnie z zaleceniami Instrukcji Technologicznej CZSM 342/88 „Sery twarogowe niedojrzewające” [13]. Otrzymano 3 warianty doświadczalnych, kwasowych serów twarogowych z udziałem:

- 1) A – kultury starterowej Choozit™ (wyrób kontrolny),
- 2) B – kultury starterowej Choozit™ oraz szczepu *Lb. acidophilus* LA 5,
- 3) C – kultury starterowej Choozit™ oraz szczepu *B. bifidum* BB 12.

Twarogi pakowano w próżniowej pakowarce stołowej (Empira, Polska) w folię PA/PE o grubości 40 μm , stosując podciśnienie 15 mbar w ciągu 2,5 s oraz opcję „soft air” na poziomie 400 mbar. Klinki kwasowego sera twarogowego (łącznie 120 szt.), o masie ok. 150 g każdy, przechowywano w temp. 5 ± 1 °C przez 21 dni.

W twarogach doświadczalnych oznaczano:

- zawartość wody metodą techniczną poprzez suszenie w temp. 130 °C przez 30 min;
- zawartość tłuszczu metodą techniczną Gerbera w tłuszczomierzach van Gulika;
- kwasowość miareczkową w °SH;
- pH przy użyciu pH-metru IQ150 (PIAP, Warszawa).

Oznaczano także zdolność synerazy serwatki. Twaróg ważono w opakowaniu (z dokładnością do 0,01 g) oraz po jego usunięciu. Opakowanie pozostawiano do ocieknięcia, a następnie osuszano papierowym ręcznikiem. Na podstawie różnicy poszczególnych mas ustalano masę serwatki i wyrażano ją, jako procent masy twarogu [6, 7, 8]. Doświadczalne sery twarogowe poddawano ponadto analizie reologicznej, która polegała na ocenie ich twardości [6, 8]. Oznaczenie to wykonywano testem penetrometrycznym przy użyciu wielofunkcyjnego analizatora tekstury TA.XT plus (Sable Micro System, Wielka Brytania) z zestawem komputerowym. Próbkę penetrowano trzpieniem aluminiowym o średnicy 6 mm z siłą nacisku 1 G, prędkością $5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ i na głębokość 20 mm.

Oznaczenia fizykochemiczne wykonywano w 4 powtórzeniach z wyjątkiem twardości, którą mierzono w każdej próbce w 12 powtórzeniach.

Przeprowadzono również analizę mikrobiologiczną zakwasów oraz twarogów, w których oznaczano ogólną liczbę bakterii fermentacji mlekowej (LAB) oraz liczbę żywych komórek kultur probiotycznych. Ogólną liczbę LAB określano wykonując posiewy metodą wgłębną na podłożu MRS Agar (Merck Sp. z o.o., Warszawa) w dwóch równoległych powtórzeniach. Płytki inkubowano w temp. 30 °C przez 72 h. Pożywkę MRS agar przygotowywano z suchego podłoża, natomiast wodę peptonową z preparatu nr S-0009 (Zakład Enzymów i Peptonów BLT, Łódź). Rozcieńczeń dokonywano zgodnie z PN-EN ISO 6887-1:2000 [22]. Warunki beztlenowe uzyskiwano w anaerostatach z wkładem do tworzenia atmosfery beztlenowej Anaerocult (Merck Sp. z o.o., Warszawa). Liczbę *Lb. acidophilus* LA 5 oznaczano na podłożu MRS agar zawierającym maltozę. Próbkę inkubowano przez 72 h w temp. 37 °C, z zachowaniem warunków beztlenowych [12]. Liczbę *B. bifidum* BB 12 oznaczano na podłożu MRS agar, do którego dodatkowo wprowadzano mieszaninę kwasu nalidyksowego ($50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$), siarczanu neomycyny ($100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$), chlorku litu ($3 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) oraz siarczanu paromomycyny ($200 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) (MRS-NNLP). Płytki inkubowano przez 72 h w temp. 37 °C, w warunkach beztlenowych. Wyniki podawano w jednostkach tworzących kolonie (jtk) w przeliczeniu na 1 g produktu.

Twarogi doświadczalne każdorazowo poddawano ocenie sensorycznej z zastosowaniem skali porządkowej – pięciopunktowej [7]. Oceniano strukturę i konsystencję, barwę oraz smak i zapach serów. Oceny dokonywała 9-osobowa grupa degustatorów przeszkolona w wykonywaniu analiz sensorycznych serów twarogowych. Próbkę do oceny pobierano losowo. Wszystkie analizy serów twarogowych wykonano bezpośrednio po wyprodukowaniu i zapakowaniu oraz po 3, 7, 14 i 21 dniach przechowywania w temp. 5 ± 1 °C.

Wyniki wyrażano jako wartości średnie [6, 8], a następnie analizowano statystycznie za pomocą arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel. Przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji z powtórzeniami (ANOVA) Różnice między dwoma średnimi zależnymi i niezależnymi weryfikowano testem t-Studenta z korektą Cochran-Coxa. Zależność pomiędzy wybranymi wskaźnikami fizykochemicznymi zbadano, weryfikując testem t-Studenta istotność współczynnika korelacji liniowej Pearsona. Wnioskowanie statystyczne prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie wyników badań przechowalniczych stwierdzono ubytek wody w twarogu kontrolnym oraz zawierającym *Lb. acidophilus* LA 5 (odpowiednio: o 1,9 i 1,6 %). W przypadku sera twarogowego z udziałem *B. bifidum* BB 12 wystąpił prawie 1,5-procentowy wzrost zawartości wody (tab. 1). Największą średnią zawartością tego składnika w czasie składowania charakteryzował się twaróg kontrolny (71,2 %), natomiast najmniejszą – wyrób doświadczalny zawierający *B. bifidum* BB 12 (67,8 %). Czas przechowywania oraz udział potencjalnie probiotycznych kultur starterowych statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) wpływały na zawartość wody w badanych twarogach (tab. 2). Oceniane sery twarogowe charakteryzowały się stabilną zawartością tłuszczu w czasie przechowywania, a wpływ kultury probiotycznej na zawartość tłuszczu w badanych twarogach był nieistotny statystycznie ($p \leq 0,05$) – tab. 2. Największą zawartością tłuszczu charakteryzował się ser twarogowy zawierający *B. bifidum* BB 12 (średnio: 15,6 %), natomiast najmniejszą – próbka kontrolna (średnio: 13,4 %) (tab. 1). W literaturze przedmiotu brak jest danych na temat wpływu kultur probiotycznych na stabilność przechowalniczą kwasowych serów twarogowych. Wyniki badań własnych można w pewnym stopniu porównać z rezultatami innych autorów, ale w odniesieniu do probiotycznych serów podpuszczkowych dojrzewających. Wśród naukowców dominuje przekonanie, że wzbogacenie zakwasu w szczepy probiotyczne nie oddziałuje na skład chemiczny uzyskanego sera podpuszczkowego dojrzewającego [3, 18]. Zaobserwowany w badaniach własnych wpływ kultur probiotycznych na zawartość wody w twarogach mógł być związany ze zmianami kwasowości próbek doświadczalnych, która również w istotny sposób zależała od obecności w zakwasie probiotyków. Kwasowość wpływa na stosunek zawartości wody do kazeiny. Przeprowadzona analiza

statystyczna potwierdziła wpływ szczepów probiotycznych oraz czasu przechowywania na kwasowość wszystkich wariantów badanego twarogu (tab. 1 i 2).

Podczas przechowywania twarogów stwierdzono przyrost kwasowości miareczkowej próbki kontrolnej oraz zawierającej szczep *Lb. acidophilus* LA 5. Wyrób doświadczalny C (*B. bifidum* BB 12) był tym, w którym nastąpiło zmniejszenie kwasowości miareczkowej (o ok. 1 %), niemniej jednak charakteryzował się on największą średnią wartością tego wskaźnika podczas przechowywania. Najmniejszą kwasowość miareczkową oznaczono w serze twarogowym zawierającym szczep *Lb. acidophilus* LA 5 (tab. 1). Kwasowość czynna (pH) badanych serów twarogowych wynosiła 4,5 ÷ 4,6. Najwyższą wartością pH podczas przechowywania charakteryzował się twaróg zawierający *Lb. acidophilus* LA 5, najniższą – ser twarogowy z udziałem *B. bifidum* BB 12.

Na ogół uważa się, że probiotyki nie powinny zwiększać zakwaszenia produktu [11]. Najprawdopodobniej przyczyną zaobserwowanych różnic kwasowości w serach twarogowych wyprodukowanych z zastosowaniem kultur probiotycznych była zróżnicowana aktywność metaboliczna bakterii [4, 25]. Farnworth i wsp. [9] stwierdzili, że bakterie probiotyczne w pewnych warunkach mogą wraz z typowymi mikroorganizmami zakwasu współuczestniczyć w fermentacji. Wykazano, że do zmian kwasowości sera mogą przyczyniać się także bifidobakterie wytwarzające kwas octowy [22]. Wyrób doświadczalny zawierający szczep *B. bifidum* wykazywał największą kwasowość spośród badanych twarogów.

Wyniki analizy reologicznej świadczą o przyroście twardości wszystkich badanych serów twarogowych. Kultury probiotyczne oraz czas przechowywania statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) wpływały na twardość twarogów. Interakcja obu czynników okazała się również statystycznie istotna ($p \leq 0,05$) – tab. 1 i 2. Największy (4-krotny) przyrost twardości zaobserwowano w wyrobie kontrolnym, najmniejszy natomiast (prawie 3-krotny) – w twarogu zawierającym szczep *B. bifidum* BB 12 (tab. 2).

Twardość badanych kwasowych serów twarogowych zależała od zawartości w nich wody. Współczynniki korelacji między zawartością tłuszczu a twardością okazały się statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) – tab. 3. Wcześniej wykazano, że w czasie chłodniczego składowania twarogów zwiększa się ich twardość [7]. Zaobserwowane zjawisko tłumaczy się krystalizacją tłuszczu mlekowego w temperaturze poniżej 8 °C, a w mniejszym stopniu synerezą serwatki. Wraz ze wzrostem zawartości wody w serach twarogowych obserwuje się zmniejszenie ich twardości [15]. Największą synerezą serwatki stwierdzono w serze twarogowym zawierającym szczep *B. bifidum* BB 12 (średnio: 3,41 %). Podczas przechowywania stwierdzono przyrost ilości serwatki gromadzącej się w opakowaniach badanych twarogów (tab. 1). Wyniósł on w serze zawierającym *B. bifidum* BB 12,00 ÷ 22,46 %, w wyrobie z udziałem *Lb. Acidophilus*

Tabela 1. Wybrane cechy jakościowe serów twarogowych kwasowych
Table 1. Selected quality features of acid curd cheeses

| Cecha Feature | Wyrób doświadczalny A Experimental product A | | | | | Wyrób doświadczalny B Experimental product B | | | | | Wyrób doświadczalny C Experimental product C | | | | |
|--|---|------|------|------|------|---|------|------|------|------|---|------|------|------|------|
| | Czas przechowywania [dni] / Storage time [days] | | | | | | | | | | | | | | |
| | 0 | 3 | 7 | 14 | 21 | 0 | 3 | 7 | 14 | 21 | 0 | 3 | 7 | 14 | 21 |
| Zawartość wody Water content [%] | 71,7 | 71,9 | 70,8 | 71,2 | 70,3 | 70,9 | 70,9 | 69,6 | 69,3 | 69,7 | 66,8 | 67,3 | 70,0 | 67,0 | 67,8 |
| Zawartość tłuszczu Fat content [%] | 13,5 | 13,2 | 13,5 | 13,2 | 13,8 | 14,2 | 13,7 | 14,0 | 13,8 | 14,5 | 15,7 | 15,8 | 15,2 | 15,5 | 15,6 |
| Kwasowość miazgowa Titratable acidity [°SH] | 34,3 | 38,0 | 37,1 | 36,5 | 35,0 | 31,0 | 35,8 | 35,3 | 35,0 | 32,3 | 52,5 | 53,0 | 51,5 | 52,0 | 49,3 |
| pH | 4,6 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,6 | 4,6 | 4,5 | 4,6 | 4,6 | 4,6 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 |
| Twardość Hardness [N] | 0,7 | 1,1 | 1,5 | 2,4 | 2,9 | 0,8 | 1,8 | 2,1 | 2,1 | 2,6 | 1,2 | 2,6 | 2,3 | 2,9 | 3,4 |
| Synergeza serwatki Whey syneresis [%] | 2,3 | 2,3 | 1,5 | 2,2 | 2,4 | 3,2 | 3,3 | 3,7 | 3,4 | 3,3 | 2,8 | 3,7 | 3,8 | 3,6 | 3,4 |
| Ogólna ocena sensoryczna [pkt] Overall sensory evaluation [score] | 5,0 | 4,8 | 4,8 | 4,6 | 4,6 | 4,5 | 4,5 | 4,0 | 4,0 | 4,3 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 4,9 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wyrób doświadczalny A – ser twarogowy kwasowy wyprodukowany z zastosowaniem kultury starterowej Choozit™ (wyrób kontrolny) / experimental product A: acid curd cheese produced using Choozit™ starter culture (control sample); wyrób doświadczalny B – twaróg wyprodukowany z zastosowaniem kultury starterowej Choozit™ oraz szczepu *Lb. acidophilus* LA 5 / experimental product B: acid curd cheese produced using Choozit™ starter culture and *Lb. acidophilus* LA 5 strain; wyrób doświadczalny C – ser twarogowy otrzymany przy użyciu kultury starterowej Choozit™ oraz szczepu *B. bifidum* BB 12 / experimental product C: acid curd cheese produced using Choozit™ starter culture and *B. bifidum* BB 12 strain.

Tabela 2. Wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji z powtórzeniami (ANOVA) weryfikującej wpływ kultur probiotycznych oraz czasu przechowywania na wybrane cechy fizykochemiczne serów twarogowych kwasowych

Table 2. Results of two-way ANOVA with replications to verify impact of probiotic strains and storage time on selected physical-chemical features of acid curd cheeses

| Źródło wariancji Source of variance | Wartość p / p-value | | | | | |
|---|---------------------------------|-----------------------------------|----------|---|----------------------|-------------------------------------|
| | Zawartość wody Water content | Zawartość tłuszczu Fat content | pH pH | Kwasowość miareczkowa Titratable acidity | Twardość Hardness | Synereza serwatki Whey syneresis |
| Czas przechowywania Storage time | 0,0009* | 0,1312 | 0,0000* | 0,0000* | 0,0000* | 0,0000* |
| Szczep probiotyczny Probiotic strain | 0,0000* | 0,0613 | 0,0000* | 0,0000* | 0,0000* | 0,0000* |
| Interakcja Interaction | 0,0000* | 0,1341 | 0,0000* | 0,0000* | 0,0000* | 0,0000* |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* – statystycznie istotny wpływ czynnika na badany wskaźnik ($p \leq 0,05$) / statistically significant impact of factor on indicator analyzed ($p \leq 0.05$)

Tabela 3. Współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy wybranymi cechami fizykochemicznymi kwasowych serów twarogowych w zależności od kultury probiotycznej

Table 3. Pearson correlation coefficients between selected physical-chemical features of acid curd cheeses depending on probiotic culture

| Wyrób doświadczalny Experimental product | Zawartość wody Water content | Twardość Hardness | Zawartość tłuszczu Fat content | Twardość Hardness | pH pH | Twardość Hardness | pH pH | Synereza serwatki Whey syneresis |
|---|---------------------------------|----------------------|-----------------------------------|----------------------|----------|----------------------|----------|-------------------------------------|
| A | -0,914* | | 0,923* | | -0,157 | | | -0,942* |
| B | -0,712* | | 0,897* | | -0,102 | | | -0,910* |
| C | -0,887* | | 0,965* | | -0,253 | | | -0,974* |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* - współczynnik korelacji statystycznie istotny ($p = 0,05$) / statistically significant correlation coefficient ($p = 0.05$)

LA – $5 \div 2,47\%$, a w wyrobie kontrolnym – $1,72\%$. Dwuczynnikowa analiza wariancji potwierdziła, że czas przechowywania, kultura probiotyczna, a także interakcja obu czynników istotnie wpływały na synerezę serwatki ze wszystkich badanych serów twarogowych (tab. 2). Stwierdzono również statystycznie istotną ($p = 0,05$) korelację pomiędzy pH a synerezą serwatki z wyrobów doświadczalnych (tab. 3). Wiadomo jest, że miejscowe naprężenia w sieci żelu twarogowego prowadzą do przegrupowań i lokalnego wydzielania serwatki [5]. Różnice występujące w synerezie można tłumaczyć specyfiką bakterii znajdujących się w zakwasie, które powodują zróżnicowane zakwa-

szanie środowiska i decydują o kurczeniu się skrzepu kazeinowego oraz o ilości wydzielonej wolnej serwatki [10, 24].

Zastosowane zakwasy mleczarskie odznaczały się wymaganą liczbą LAB, która mieściła się w zakresie $3,4 \cdot 10^8 \div 5,9 \cdot 10^8$ jtk·g⁻¹. Liczba bakterii probiotycznych w zakwasach wynosiła: $4,0 \cdot 10^8$ jtk·g⁻¹ w przypadku *Lb. acidophilus* LA 5 oraz $3,5 \cdot 10^8$ jtk·g⁻¹ – *B. bifidum* BB 12. W czasie przechowywania badanych twarogów stwierdzono sukcesywne, statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszanie się liczby LAB (tab. 4 i 6), jak i szczepów *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12 (tab. 5 i 6), jednak do poziomu, który nie dyskwalifikował twarogów jako produktów o potencjalnych właściwościach probiotycznych, czyli zawierających nie mniej niż $10^6 \div 10^7$ żywych komórek na 1 g produktu. Liczba *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12 w serach twarogowych w ostatnim dniu przechowywania wynosiła odpowiednio: $1,2 \cdot 10^6$ i $1,7 \cdot 10^6$ jtk·g⁻¹ (tab. 5).

Tabela 4. Ogólna liczba bakterii LAB w serach twarogowych kwasowych w czasie chłodniczego przechowywania [jtk·g⁻¹]

Table 4. Total LAB counts in acid curd cheeses during cooling storage [cfu·g⁻¹]

| Wyrób doświadczalny Experimental product | Czas przechowywania [dni] / Storage time [days] | | | | |
|---|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 0 | 3 | 7 | 14 | 21 |
| A | $3,5 \cdot 10^{-6}$ | $2,6 \cdot 10^{-6}$ | $2,5 \cdot 10^{-6}$ | $2,3 \cdot 10^{-6}$ | $1,9 \cdot 10^{-6}$ |
| B | $5,3 \cdot 10^{-6}$ | $3,7 \cdot 10^{-6}$ | $3,1 \cdot 10^{-6}$ | $2,4 \cdot 10^{-6}$ | $1,6 \cdot 10^{-6}$ |
| C | $5,8 \cdot 10^{-6}$ | $4,3 \cdot 10^{-6}$ | $3,0 \cdot 10^{-6}$ | $2,1 \cdot 10^{-6}$ | $1,9 \cdot 10^{-6}$ |

Objaśnienia jak pod tab. 1 / Explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 5. Liczba żywych bakterii probiotycznych w serach twarogowych kwasowych w czasie chłodniczego przechowywania [jtk·g⁻¹]

Table 5. Viable probiotic bacteria count in acid curd cheeses during cooling storage [cfu·g⁻¹]

| Szczep / Strain | Czas przechowywania [dni] / Storage time [days] | | | | |
|----------------------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 0 | 3 | 7 | 14 | 21 |
| <i>L. acidophilus</i> LA 5 | $4,7 \cdot 10^{-6}$ | $2,9 \cdot 10^{-6}$ | $2,3 \cdot 10^{-6}$ | $1,9 \cdot 10^{-6}$ | $1,2 \cdot 10^{-6}$ |
| <i>B. bifidum</i> BB 12 | $3,2 \cdot 10^{-6}$ | $2,5 \cdot 10^{-6}$ | $1,9 \cdot 10^{-6}$ | $1,8 \cdot 10^{-6}$ | $1,7 \cdot 10^{-6}$ |

Radošević i wsp. [21] stwierdzili, że wyprodukowany przez nich ser zawierał znacznie wyższą liczbę żywych komórek *Lb. acidophilus* niż jest to wymagane dla produktów o właściwościach probiotycznych. Generalnie twierdzi się, że bifidobakterie charakteryzują się słabym wzrostem w mlecznych produktach fermentowanych,

Tabela 6. Wyniki analizy statystycznej dla dwóch średnich zależnych weryfikującej wpływ czasu przechowywania na zmiany liczby LAB oraz bakterii probiotycznych w serach twarogowych kwasowych

Table 6. Results of statistical analysis for two dependent means to verify impact of storage time on changes in counts of LAB and probiotic bacteria in acid curd cheeses

| Wyszczególnienie Item | LAB | <i>L. acidophilus</i> LA 5 | <i>B. bifidum</i> BB 12 |
|--------------------------|--------|----------------------------|-------------------------|
| t | 5,023* | 3,258* | 2,263* |
| t_{α} | 2,015 | 2,015 | 2,015 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

t - wartość statystyki testującej / empirical value of t; t_{α} – wartość krytyczna ($p = 0,05$) / critical value of t ($p = 0.05$), * - statystycznie istotna zmiana wskaźnika / statistically significant change in indicator ($t \geq t_{\alpha}$)

a wiele prac dowodzi, że nie wszystkie produkty probiotyczne zawierają ich rekomendowany poziom, gdyż większość szczepów bifidobakterii wrażliwych jest na pH poniżej 4,6 [1, 16]. Uważa się, że szczepy *Lb. acidophilus* są bardziej wrażliwe na kwaśne środowisko niż *B. bifidum* [2, 26]. Kultury probiotyczne wpływały na jakość sensoryczną ocenianych kwasowych serów twarogowych. Najwyżej oceniono ser twarogowy zawierający szczep *B. bifidum* BB 12 (tab. 1). Łagodny, lekko słodkawy smak tego twarogu uznano za najbardziej atrakcyjny. Najniżej oceniono ser zawierający *Lb. acidophilus* LA 5. Pomimo że opinie na temat oddziaływania probiotyków na cechy sensoryczne gotowych produktów są podzielone, to niejednokrotnie podkreśla się, że ważne jest, aby użycie szczepów probiotycznych nie wpływało negatywnie na smak, teksturę oraz wygląd uzyskanych przetworów [3, 15, 17, 18]. Radošević i wsp. [21], jako nieliczni, twierdzą, że świeży ser kwasowy zawierający szczep *L. acidophilus* charakteryzuje się lepszym smakiem i zapachem niż wyrób kontrolny wyprodukowany bez dodatku probiotyków. Kasimoğlu i wsp. [14] uważają nawet, że szczep ten może być stosowany w celu poprawy aromatu i tekstury sera. Stwierdzona w badaniach własnych stabilność cech sensorycznych serów twarogowych oraz podkreślana łagodność smaku twarogu zawierającego *B. bifidum* znajdują potwierdzenie w wynikach badań Djurić i wsp. [5].

Wnioski

1. Sery twarogowe kwasowe stanowiące przedmiot badań charakteryzowały się odpowiednimi, stabilnymi cechami sensorycznymi oraz zalecaną kwasowością oraz zawartością tłuszczu i wody.
2. Czas przechowywania oraz potencjalnie probiotyczne kultury starterowe wpływały na zawartość wody, kwasowość, synerezę serwatki, twardość analizowanych kwasowych serów twarogowych. Zawartość tłuszczu w twarogach nie zależała od cza-

- su przechowywania oraz obecności w serze szczepów *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12.
3. Stwierdzono statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zwiększenie twardości wszystkich badanych twarogów oraz statystycznie istotną ($p = 0,05$) korelację między zawartością wody w twarogach a ich twardością. Zależność pomiędzy twardością a zawartością tłuszczu w twarogach okazała się statystycznie nieistotna.
 4. W całym okresie przechowywania sery twarogowe charakteryzowały się rekomendowaną zawartością LAB oraz bakterii probiotycznych. Zaobserwowano statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszanie się liczby LAB, jak i szczepów *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12 w serach twarogowych.
 5. Szczepy probiotyczne wpływały na jakość sensoryczną kwasowych serów twarogowych. Najwyżej oceniono ser doświadczalny zawierający szczep *B. bifidum* BB 12, najniżej – twaróg zawierający *Lb. acidophilus* LA 5.

Literatura

- [1] Bergamini C.V., Hynes E.R., Quiberoni A., Suárez V.B., Zalazar C.A.: Probiotic bacteria as adjunct starters, influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 597-604.
- [2] Boylston T.D., Vinderola C.G., Ghoddusi H.B., Reinheimer J.A.: Incorporation of Bifidobacteria into cheese, challenges and rewards. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 375-387.
- [3] Burity F.C.A., Okazaki T.Y., Alegro J.H.A., Saad S.M.I.: Effect of a probiotic mixed culture on texture profile and sensory performance of Minas fresh cheese in comparison with the traditional product. *Archiv. Latinoam. Nurt.*, 2007, **2** (57), 179-185.
- [4] Dabiza N.M.A., Effat B.A., Sharaf O.M.: Antibacterial effect of probiotic isolated from dairy products. *DLR*, 2006, **3** (102), 114-121.
- [5] Djurić M.S., Panić M., Milanović S., Carić M.D., Tekić M.N., Krstić D., Albijanić B.: Probiotic starters versus traditional starter in quark production. *Ann. Faculty Eng. Hunedoara*, 2005, **3** (3), 154-163.
- [6] Dmytrów I., Jasińska M., Dmytrów K.: Effect of microbiological transglutaminase on selected physicochemical properties of tvarog. *Italian J. Food Sci.*, 2010, **4** (22), 449-460.
- [7] Dmytrów I., Kryża K., Dmytrów K., Lisiecki S.: Wpływ opakowania na wybrane cechy jakościowe kwasowego sera twarogowego przechowywanego w warunkach chłodniczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1** (50), 64-76.
- [8] Dmytrów I., Mituniewicz-Małek A., Dmytrów K.: Fizykochemiczne i sensoryczne cechy kwasowego sera twarogowego wyprodukowanego z mleka koziego oraz mieszaniny mleka koziego i krowiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **2** (69), 46-61.
- [9] 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.
- [10] Goncu A., Alpken Z.: Sensory and chemical properties of white pickled cheese produced Rusing kefir, yoghurt or a commercial cheese cultures as a starter. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 771-776.
- [11] Heller K.J.: Probiotic bacteria in fermented foods, product characteristics and starter organism. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **73**, 374S-379.

- [12] IDF Standard 306:1995. IDF Guideline determination of acidifying activity of dairy cultures. Bulletin of the IDF306. Brussels, Belgium.
- [13] Instrukcja Technologiczna CZSM 342/88 „Sery twarogowe niedojrzewające”.
- [14] Kasimoğlu A., Göncüoğlu M., Akgün S.: Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. Int. Dairy J., 2004, **14**, 1067-1073.
- [15] Mazur J.: Zmiany tekstury w trakcie przechowywania w różnych warunkach kwasowych serów twarogowych otrzymywanych metodą tradycyjną. Inżynieria Rolnicza, 2009, **2 (111)**, 99-106.
- [16] Mc Brearty S., Ross R., Fitzgerald G., Collins J., Wallace J., Stanton C.: Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on Cheddar cheese quality. Int. Dairy J., 2001, **11**, 599-610.
- [17] Milanović S., Carić M., Panić M.: Effect of probiotic on Quarg quality. Food Industry – Milk and Dairy Product, 2003, **14**, 11-19.
- [18] Ong L., Shah N.P.: Probiotic Cheddar cheese, Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganism, cheese composition and organic acid profiles. LWT – Food Sci. Technol., 2009, **42**, 1260-1268.
- [19] Phillips M., Kailasapathy K., Tran L.: Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium sp.*, *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. Int. J. Food Microbiol., 2006, **108**, 276-280.
- [20] 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.
- [21] Radošević V., Tonković K., Gregurek L., Kos B., Šušković J.: Production of fresh probiotic cheese with addition of transglutaminase. Mljekarstvo, 2007, **1 (57)**, 15-29.
- [22] Roy D.: Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products. Lait, 2005, **1-2 (85)**, 39-56.
- [23] Souza C.H.B., Saad S.M.I.: Viability of *Lactobacillus acidophilus* La-5 added solely or in co-culture with a yoghurt starter culture and implications on physico-chemical and related properties of Minas fresh cheese during storage. LWT - Food Sci. Technol., 2009, **42**, 633-640.
- [24] Śmietana Z., Szpendowski J., Bohdziewicz K.: Charakterystyka tradycyjnego „polskiego twarogu” otrzymywanego według własnej nowoczesnej techniki i technologii. Przegl. Mlecz., 2003, **4**, 126-129.
- [25] Usajewicz I.: Mikrobiologia mleka i jego przetworów. W: Mleczarstwo. t.1. Red. S. Ziajka, Wyd. UWM, Olsztyn 2008, ss. 188-199.
- [26] Vinderola C.G., Mocchiutti P., Reinheimer J.A.: Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. J. Dairy Sci., 2002, **85**, 721-729.
- [27] Vinderola C.G., Prosello W., Molinari F., Ghiberto D., Reinheimer J. A.: Growth of *Lactobacillus paracasei* A13 in Argentinian probiotic cheese and its impact on the characteristic of the product. Int. J. Food Microbiol., 2009, **135**, 171-174.

EFFECT OF LACTIC ACID PROBIOTIC BACTERIA ON STORAGE STABILITY OF ACID CURD CHEESES (TVAROG)

Summary

The effect of lactic acid probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus* LA 5 and *Bifidobacterium bifidum* BB 12) was determined on the storage stability of acid curd cheeses known as tvarogs. The tvarogs were sensory assessed, the content of water and fat therein was determined, the titratable acidity and pH value thereof were measured, and the whey syneresis was determined. The samples of cheeses were also

rheologically analyzed, i.e. their hardness was assessed using a double penetration test (TPA). In the starters and experimental products analyzed, the counts of mesophilic lactic streptococcus and probiotic strains were determined. The analysis of tvarogs was performed immediately after the tvarogs were manufactured and wrapped up, and, then, after they were stored for 3, 7, 14, and 21 days at a temperature of 5 ± 1 °C. The acid curd cheeses analyzed were characterized by appropriate sensory features and a normative acidity, water content, and fat contents. A statistically significant ($p \leq 0,05$) increase was reported in the hardness of all the analysed cheeses and a statistically significant ($p = 0.05$) correlation was found between the water content in and the hardness of the tvarogs. Despite the decreasing number of LAB, *L. acidophilus* LA 5, and *B. bifidum* BB 12 strains, the cheeses analyzed were characterised by the recommended LAB and probiotic bacteria counts (not less than $10^6 \div 10^7$ cfu·g⁻¹) during the entire period of storage. The probiotic strains impacted the sensory quality of acid curd cheeses. The cheese containing *Bifidobacterium bifidum* BB 12 strain was characterized by the best sensory quality, whereas the cheese with *Lactobacillus acidophilus* LA 5 bacteria – by the lowest sensory quality.

Key words: probiotics, starter LAB, ‘tvarog’ acid curd cheese, storage ☒