

Promjene koncentracije sastojaka arome u običnom i probiotičkom jogurtu tijekom skladištenja

Mirjana Hruškar, Marina Krpan, Ivana Bucak, Nada Vahčić

Znanstvena bilješka – Scientific notes

UDK: 637.146.35

Sažetak

U ovom radu su korišteni uzorci običnog i probiotičkog jogurta s hrvatskog i slovenskog tržišta. Uzorci su čuvani 25 dana na dvije različite temperature (+4 °C, +20 °C), a svakih 5 dana uzimani su uzorci za određivanje sastojaka arome (acetaldehid, etanol i diacetil). Istovremeno je provedena i senzorska procjena.

*Svrha ovog istraživanja bila je utvrditi promjene koncentracija pojedinih tvari arome i senzorske kakvoće običnog i probiotičkog jogurta tijekom skladištenja ovisno o temperaturi i trajanju skladištenja, te utvrditi u kojoj mjeri su te promjene arome progresivnije s obzirom na različitost uzoraka. Dobiveni rezultati ukazuju da je smjer promjena udjela sastojaka arome identičan u obje vrste jogurta uglavnom zbog bakterija jogurtne kulture (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*) koji značajno utječu na tvari arome, dok prisutnost probiotičkih bakterija ima uglavnom terapijski učinak.*

Ključne riječi: jogurt, probiotički jogurt, sastojci arome, senzorska procjena

Uvod

Funkcionalna hrana je nova vrsta hrane definirana kao hrana koja pozitivno djeluje na zdravlje, na fizičko i mentalno stanje pojedinca. Funkcionalna hrana pojavila se na tržištu Japana, a prihvaćena je i u SAD-u i u Europi. Najpopularnija funkcionalna hrana u Europi su probiotički i prebiotički mliječni proizvodi, a očekuje se da će njihovo prisustvo na tržištu biti sve veće (Groeneveld, 1998.). Danas su najbolje istraživane i najopsežnije dokumentirane probiotičke bakterije mliječne kiseline, kojima je zajednička karakteristika da proizvode mliječnu kiselinu kao krajnji produkt metabolizma. Dobro je poznato da te bakterije prisutne u mlijeku pozitivno djeluju na metaboličku aktivnost intestinalne flore (Schaafsma, 1996., Scheinbach, 1998.).

Najviše upotrebljavan i najprepoznatljiviji oblik funkcionalne hrane je jogurt. To je koagulirani mliječni proizvod dobiven djelovanjem bakterija mliječne kiseline *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* (Tamime i Robinson, 1985.). Fermentaciju mlijeka pomoću specifičnih mikroorganizama prati tehnološka modifikacija i upotreba nekih aditiva što uzrokuje promjenu sastava, okusa, izgleda, boje, mirisa i nutritivnih karakteristika mlijeka te osigurava raznolik izbor te vrste hrane. Fermentirana mlijeka su najstarija funkcionalna hrana (Oberman i Libudzisz, 1998.).

Fermentacija mlijeka provodi se pomoću bakterija mliječne kiseline koje su sposobne fermentirati laktozu u mliječnu kiselinu. Mliječna kiselina daje oštar, osvježavajući okus, i kao nehlapljiva, predstavlja izvrsnu pozadinu za mnoge specifične okuse bitne za identitet fermentiranih proizvoda (Marshall, 1984.).

Nastajanje tvari arome može biti opisano kao serija reakcija povezanih s metabolizmom mliječne kiseline, lipolizom, oksidacijom i proteolizom koje mogu slijediti kao reakcije između produkata nastalih na svakom od tih metaboličkih puteva. U tim reakcijama mikroorganizmi imaju značajnu ulogu kroz svoje enzimske sustave (Gonzales i sur., 1994.).

Acetaldehid, etanol, diacetil i acetoin su najvažniji sastojci arome u fermentiranom mlijeku, a nastaju djelovanjem mezofilnih i termofilnih bakterija mliječne kiseline. Stoga, određena senzorska svojstva fermentiranih mlijeka zavise o koncentraciji prisutnih sastojaka arome (Xanthopoulos i sur., 1994.).

Acetaldehid je prepoznat kao najvažnija komponenta arome u jogurtu. Bakterije iz roda *Streptococcus* mogu proizvesti acetaldehid iz laktoze preko piruvata, a taj put koristi i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Metabolizam treonina je odgovoran za nakupljanje acetaldehida. Bakterija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* je vrsta uvelike odgovorna za nastajanje acetaldehida u jogurtu jer posjeduje enzim treonin aldolazu koji prevodi treonin u glicin. Idealan okus i aroma jogurta postiže se koncentracijom acetaldehida između 23 i 41 mg/kg. Diacetil i acetoin nastaju kao rezultat metaboličke aktivnosti bakterije *Streptococcus thermophilus* i njihova koncentracija je vrlo niska, samo 0,5 mg/kg. Prisutnost diacetila doprinosi, punom okusu i aromi jogurta i vrlo je važan u slučaju da je koncentracija acetaldehida niska jer pojačava okus jogurta. Mnoge starter kulture koje se koriste u proizvodnji fermentiranih mlijeka metaboliziraju acetaldehid do etanola. Budući da *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* nemaju alkoholnu dehidrogenazu, ne mogu

pretvarati acetaldehid u etanol što rezultira nakupljanjem acetaldhida kao krajnjeg produkta (Marshall, 1984.)

Svrha ovog istraživanja bila je utvrditi promjene koncentracija pojedinih tvari arome i senzorske kakvoće u uzorcima, običnog i probiotičkog jogurta tijekom skladištenja a zavisno o temperaturi i trajanju skladištenja.

Materijal i metode rada

Istraženi su uzorci običnog, tekućeg jogurta (U) proizvođača: Lura d.d., Zagreb, Vindija d.d., Varaždin, KIM Mljekara Karlovac d.d., Mljekara d.d. Pula, Mlekarna Celje, Ljubljanske mlekarne d.d. i uzorci probiotičkog jogurta (UP) istih proizvođača pod trgovačkim nazivom: "Bio Aktiv LGG", "Vivis", "Pro Bios", "Bios + LAC!", "LCA", "LC Pro Bio", s dodatcima *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), *Bifidobacterium longum* BB 536, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp. i *Lactobacillus casei*, zavisno o proizvođaču.

Uzorci su nabavljeni na hrvatskom i slovenskom tržištu. Čuvani su tijekom 25 dana na dvije različite temperature (+4 °C, +20 °C) i svaki 5. dan uzimani su uzorci za određivanje tvari arome (acetaldehid, etanol i diacetil). Istovremeno je provedena i senzorska procjena uzoraka. Vrijeme skladištenja i analize svih uzoraka podijeljeni su u pet perioda i to u razmaku od pet dana. Ukupno je sakupljeno 240 uzoraka a svaka je analiza vršena u dva paralelna mjerenja unutar svakog pokusa.

Udjeli acetaldhida i etanola određeni su enzimskom metodom (Boehringer, 2000.). Udjel diacetila određen je modificiranom Hill-ovom kolorimetrijskom metodom (Hill i sur. 1954.). Senzorska svojstva (izgled, konzistenciju, boju, miris i okus) ocijenila je panel skupina od pet članova koristeći sustav od 20 ponderiranih bodova prema obrascima izrađenim za tu svrhu (ISO, 1985.). Postignuti rezultati statistički su obrađeni (StatSoft, 2001.).

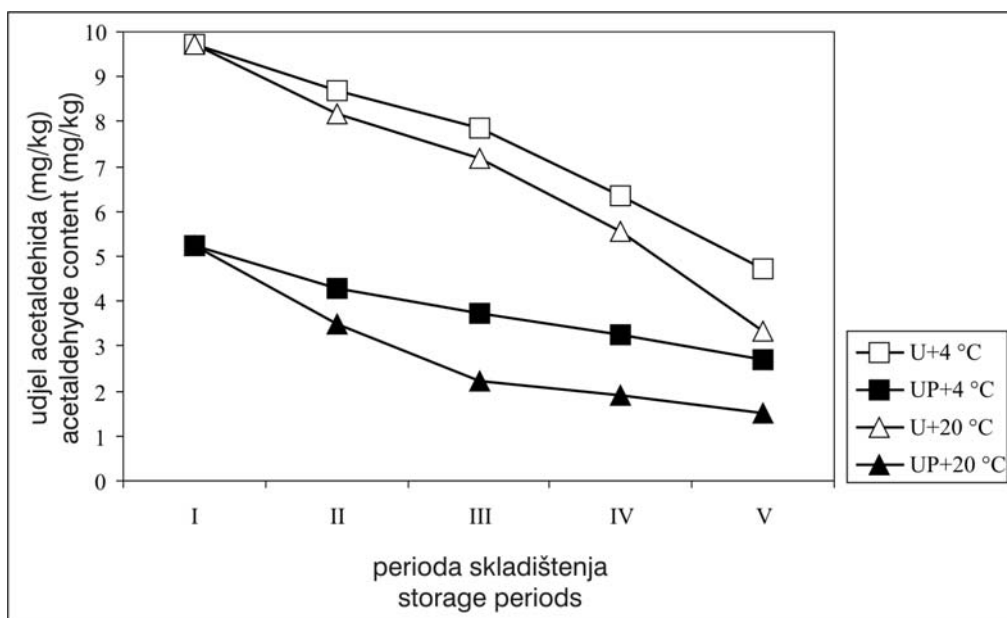
Rezultati i rasprava

Dobiveni rezultati prikazani su na slikama od 1 do 4. Koncentracija acetaldhida, kao glavne tvari arome u obje se vrste uzoraka razlikovala na početku skladištenja. Najveća koncentracija u uzorcima običnih jogurta iznosila je tada prosječno 9,72 mg/kg, odnosno 5,23 mg/kg u uzorcima probiotičkih jogurta. Koncentracija acetaldhida se smanjuje tijekom skladištenja na obje temperature što može biti rezultat metaboličkog puta limunsko-kisele fermentacije u kojoj nastaje diacetil. Temperatura skladištenja

značajno utječe na sniženje koncentracije acetaldehida u obje vrste uzoraka (slika 1). Udjel acetaldehida smanjio se u uzorcima običnih jogurta za 51% u odnosu na 49%-tno smanjenje u uzorcima probiotičkih jogurta tijekom skladištenja na +4 °C što je gotovo podjednako, dok skladištenje na +20 °C prosječno ubrzava to smanjenje za oko 3 puta.

Slika 1: Udjel acetaldehida (mg/kg) u uzorcima običnog (U) i probiotičkog jogurta (UP) tijekom skladištenja na dvije temperature

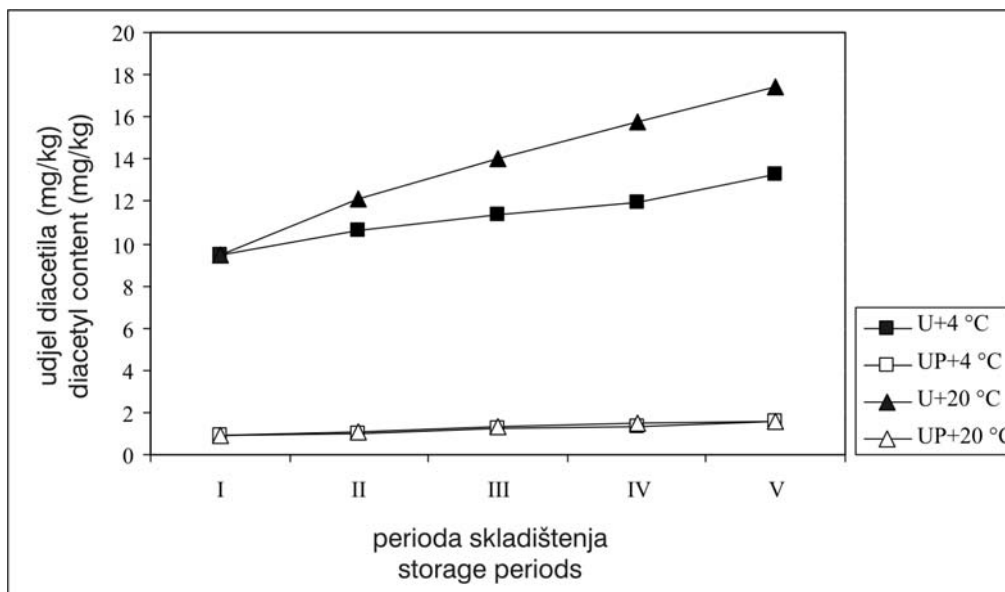
Figure 1: Acetaldehyde content (mg/kg) in yoghurt (U) and probiotic yoghurt (UP) samples during storage at two temperatures



Povećane koncentracije diacetila zabilježene su u uzorcima probiotičkih jogurta već na početku skladištenja. Koncentracija diacetila u uzorcima probiotičkih jogurta iznosila je tada 9,5 mg/kg, dok je u uzorcima običnog jogurta bila samo 0,90 mg/kg. Dakle, na samom početku skladištenja, uzorci probiotičkih jogurta imaju oko 10 puta veći udjel diacetila u odnosu na uzorke običnog jogurta. Rezultati pokazuju povećanje koncentracije diacetila tijekom skladištenja probiotičkih jogurta na +4 °C, ali statistički značajno povećanje ($p < 0,05$) zamijećeno je samo tijekom skladištenja na +20 °C. U uzorcima običnih jogurta nije došlo do značajnijih promjena koncentracije diacetila ($p > 0,05$) tijekom skladištenja na obje temperature (slika 2).

Slika 2: Udjel diacetila (mg/kg) u uzorcima običnog (U) i probiotičkog jogurta (UP) tijekom skladištenja na dvije temperature

Figure 2: Diacetyl content (mg/kg) in yoghurt (U) and probiotic yoghurt (UP) samples during storage at two temperatures



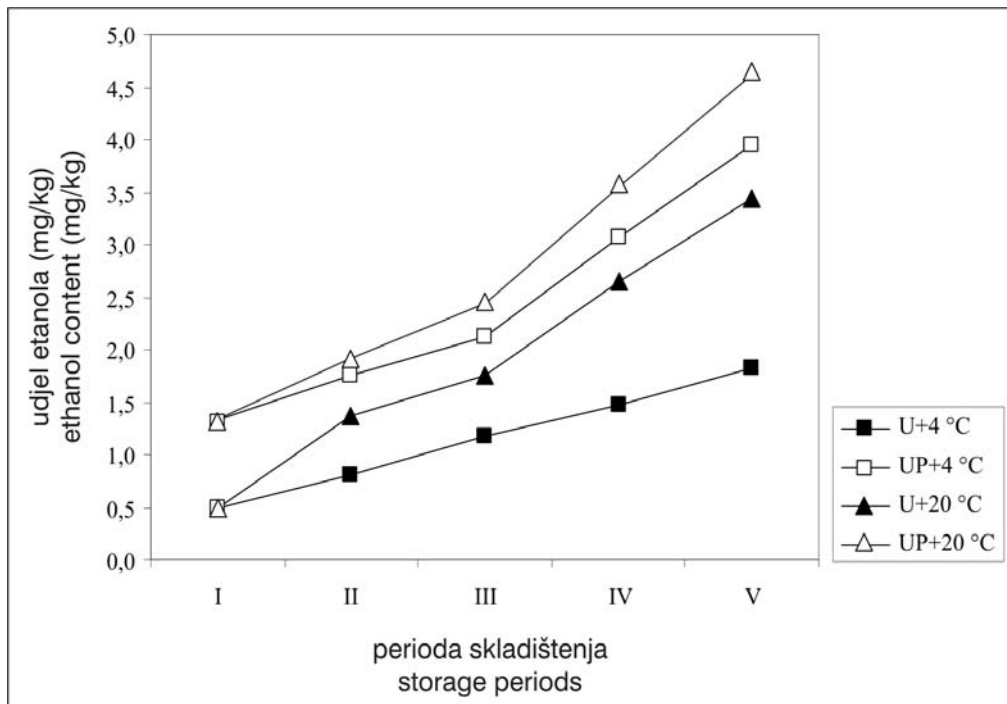
Srednja vrijednost koncentracije etanola iznosila je 1,33 mg/kg za uzorke običnog jogurta, odnosno 0,50 mg/kg za uzorke probiotičkog jogurta. Uočeno je da uzorci probiotičkog jogurta, na početku skladištenja, imaju 2,5 puta manji udjel etanola.

Temperatura i vrijeme skladištenja značajno utječu na povećanje koncentracije etanola ($p < 0,01$) u svim uzorcima jogurta, a promjene su značajnije u uzorcima čuvanim na temperaturi od +20 °C (slika 3). Povećanje se kreće od 66 do 85%.

Lactobacillus acidophilus je obligatno homofermentativna i fakultativno anaerobna vrsta bakterije čiji je krajnji produkt mliječna kiselina. Fermentirana mlijeka dobivena ovom bakterijom vrlo su siromašne arome pa se stoga u industrijskoj proizvodnji često kombiniraju s drugim starter kulturama. *Lactobacillus acidophilus* metabolizira acetaldehid u alkohol i također koristi piruvat u prisustvu glukoze i proizvodi diacetil. *Bifidobacterium* vrste razlikuju se od drugih bakterija mliječne kiseline jer ne proizvode samo mliječnu kiselinu nego i octenu kiselinu kao krajnji produkt fermentacije.

Slika 3: Udjel etanola (mg/kg) u uzorcima običnog (U) i probiotičkog jogurta (UP) tijekom skladištenja na dvije temperature

Figure 3: Ethanol content (mg/kg) in yoghurt (U) and probiotic yoghurt (UP) samples during storage at two temperatures



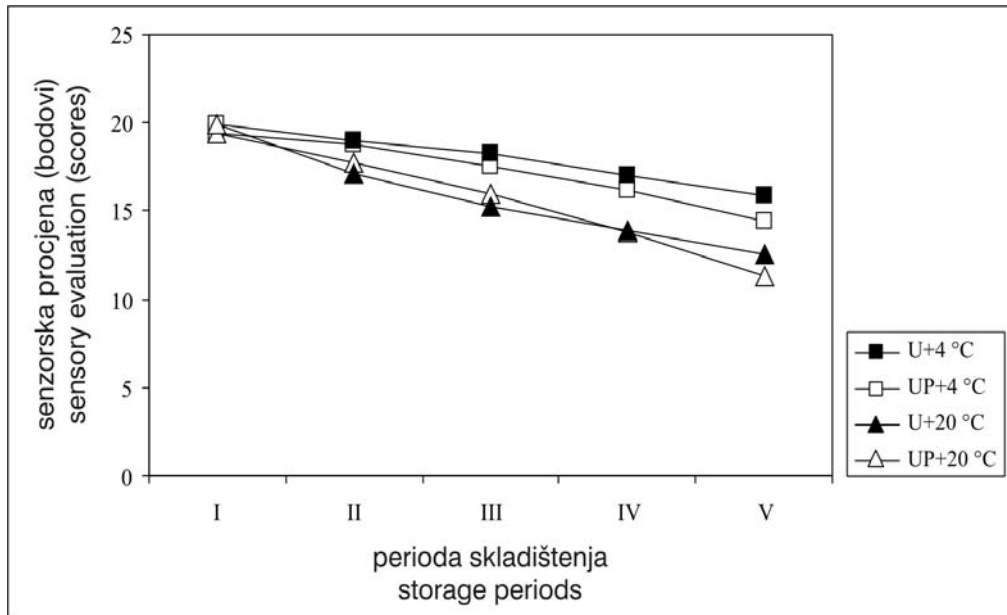
Lactobacillus casei je mezofilna, fakultativno heterofermentativna bakterija koja može fermentirati široki spektar ugljikohidrata i najčešći je laktobacil nađen u fermentiranim mliječnim proizvodima (Marshall, 1984.).

Na početku skladištenja uzorci obiju vrsta jogurta bili su izvrsni. Senzorska procjena iznosila 19,4 ponderiranih bodova za uzorke običnog jogurta i 19,9 ponderiranih bodova za uzorke probiotičkih jogurta.

Senzorska procjena pokazala je značajne promjene kakvoće ($p < 0,01$) u svim uzorcima jogurta tijekom čuvanja na obje temperature a posljedica je promjene koncentracije sastojaka arome. Te promjene su puno naglašenije skladištenjem na temperaturi od +20 °C. Iako su uzorci obje vrste jogurta izgubili na senzorskoj kakvoći do kraja istraživanja, bili su pogodni za konzumaciju (slika 4).

Slika 4: Senzorska procjena (bodovi) uzoraka običnog (U) i probiotičkog jogurta (UP) tijekom skladištenja na dvije temperaturne

Figure 4: Sensory evaluation (scores) in yoghurt (U) and probiotic yoghurt (UP) samples during storage at two temperatures



Uzorci probiotičkog jogurta u odnosu na uzorke običnog jogurta imali su na početku skladištenja niže koncentracije acetaldehida i etanola, a više koncentracije diacetila.

Streptococcus thermophilus i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (dominantne vrste bakterija u obje vrste jogurta) i njihova metabolička aktivnost uglavnom je odgovorna za nastajanje tvari arome. Razlike u sastojcima arome na početku istraživanja rezultat su različitog broja pojedinih bakterija prisutnih u svježim uzorcima, što svakako zavisi o proizvođaču.

Na višoj temperaturi skladištenja utvrđena je veća promjena koncentracije tvari arome kao rezultat intenzivnije metaboličke aktivnosti mikroorganizama.

Aroma običnog jogurta najvjerojatnije je rezultat prisutnosti samo dva mikroorganizma kulture koji proizvode prisutne tvari arome. U probiotičkom jogurtu zapravo je prisutan kompleksniji mikrobni sustav značajan za veću stabilnost proizvoda tijekom skladištenja što pokazuje visoka senzorska ocjena, a što je također važno za potrošača kao i za probiotički učinak fermentiranog proizvoda.

Zaključci

Na temelju dobivenih rezultata mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Uzorci probiotičkog jogurta, u odnosu na uzorke običnog jogurta na početku čuvanja, imali su nižu koncentraciju acetaldehida i etanola, a višu koncentraciju diacetila. Senzorska procjena bila je u kategoriji “izvrsno” za obje vrste uzoraka.
- Vrijednosti koncentracija acetaldehida i senzorske procjene smanjivale su se, dok je koncentracija diacetila i etanola rasla u svim uzorcima jogurta pri čuvanju na obje temperature.
- Porast koncentracije diacetila i etanola izraženiji je u uzorcima probiotičkog jogurta.
- Sniženje koncentracije acetaldehida i smanjenje vrijednosti senzorske procjene bilo je izraženije u uzorcima običnog jogurta.
- Vrijeme i temperatura skladištenja značajno utječu na smanjenje ili povećanje koncentracije sastojaka arome u svim istraživanim uzorcima.
- Sve promjene bile su izraženije na višoj temperaturi skladištenja.

CONCENTRATION CHANGES OF AROMA COMPONENTS IN PLAIN AND PROBIOTIC YOGHURT DURING STORAGE

Abstract

In this study, two types of yoghurt, plain yoghurt and probiotic yoghurt purchased from Croatian and Slovenian market, were stored for up to 25 days at two different temperatures (+4 °C, +20 °C). Samples were analyzed every 5 days and changes in acetaldehyde, ethanol and diacetyl content were determined. At the same time sensory evaluation was carried out.

*The aim of this study to show changes in concentrations of some flavor compounds and sensory quality in both yoghurt types during storage as a function of storage time and temperature. The results indicate that the equal changes in aroma compounds in both yoghurt types were result of the same microorganisms present in both yoghurt types (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* which have the greatest influence on the aroma, while the addition of other microorganisms has mostly probiotic effect.*

Key words: yoghurt, probiotic yoghurt, aroma compounds, sensory evaluation

Literatura

Boehringer Mannheim GmbH, (2000.): Methods of Biochemical Analysis and Food Analysis, Mannheim.

GONZALEZ, S., MORATA DE AMBROSINI, V., MANCA DE NADRA, M., PESCE DE RUIZ HOLGADO, A., & OLIVER, G. (1994.): Acetaldehyde production by strains used as probiotics in fermented milk, *Journal of Food Protection*, 57, 436-440.

GROENEVELD, M. (1998.): Functional food – definitions and legal situation, *Ernahrungs – Umschau*, 45, 156.

HILL, E.C., WENZEL, F.W., & BARRETO, A. (1954.): Colorimetric method for detection of microbiological spoilage in citrus juices, *Food Technology*, 8, 168-171.

ISO (TC 34) SC 12 (Secretariat - 139) E (1985.): “Sensory analysis” DC.

MARSHALL, V.M.E. (1984.): Flavour development in fermented milks. In: F. L. Davies, & B. A. Law, *Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk*, (pp. 153-186). New York: Elsevier Applied Science Publishers Ltd.

OBERMAN, H. & LIBUDZISZ, Z. (1998.): Fermented milks. In: B.J.B. Wood, *Microbiology of fermented foods*, (pp. 308-350). London: Blackie Academic & Professional.

SCHAAFSMA, G. (1996.): State of the art concerning probiotic strains in milk products, *IDF Nutrition Newsletter*, 5, 23-24.

SCHEINBACH, S. (1998.): Probiotics – functionality and commercial status, *Biotechnology Advances*, 16, 581-608.

StatSoft, Statistica 6. (2001.): License for University of Zagreb.

TAMIME, A.Y., & ROBINSON, R.K. (1985.): *Yoghurt: science and technology*. Oxford: Pergamon Press Inc. pp. 401.

XANTHOPOULOS, V., PICQUE, D., BASSIT, N., BOQUIEN, C. Y., & CORRIEU, G. (1994.): Methods for the determination of aroma compounds in dairy products: a comparative study, *Journal of Dairy Research*, 61, 289-297.

Adrese autora - Author's addresses:

Dr. sc. Mirjana Hruškar, doc.

Marina Krpan, dipl. ing.

Ivana Bucak, dipl. ing.

Dr. sc. Nada Vahčić, red. prof.

Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Prispjelo-Received: 24. 02. 2005.

Prihvaćeno-Accepted: 31. 03. 2005.