

VYUŽITIE OVSENEJ MÚKY NA PRÍPRAVU MLIEČNE FERMENTOVANÝCH NÁPOJOV

MICHAL MAGALA, ZLATICA KOHAJDOVÁ,
JOLANA KAROVIČOVÁ, MÁRIA GREIFOVÁ
a GABRIEL GREIF

Oddelenie potravinárskej technológie, Ústav biotechnológie a potravinárstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
michal.magala@stuba.sk

Došlo 5.9.14, prijato 28.9.14.

Kľúčové slová: ovos, kyslomliečne baktérie, fermentácia, chemická analýza

Úvod

Fermentované cereálne produkty majú významnú úlohu vo výžive človeka vo všetkých častiach sveta, kde sa cereálie pestujú¹. Fermentácia zvyšuje výživovú hodnotu biosyntézou vitamínov a esenciálnych aminokyselín, zlepšením stráviteľnosti bielkovín a polysacharidov, zvýšením dostupnosti minerálnych látok a degradáciou antinutričných zložiek. Produkciou látok s antimikrobiálnymi účinkami ako kyselina mliečna, bakteriocíny, CO₂, H₂O₂ a etanol sa zvyšuje bezpečnosť potravín inhibíciou patogénnych mikroorganizmov. Fermentačný proces taktiež obohacuje potraviny produkciou chuťových a aromatických látok².

V súčasnosti sa zvyšuje záujem konzumentov o nemliečne fermentované nápoje. Fermentované nápoje na báze cereálií majú veľký potenciál uspokojiť tento dopyt a zároveň slúžiť ako nosič funkčných zložiek ako vláknina, prebiotiká, antioxidanty a vitamíny³.

Ovos siaty (*Avena sativa* L.) predstavuje vo výžive človeka jednu z najvýznamnejších cereálií, pretože obsahuje vysoké množstvá hodnotných výživových zložiek a to vlákninu, bielkoviny, nenasýtené mastné kyseliny, vitamíny, minerálne látky a fytochemikálie⁴. Vzhľadom na výživovú hodnotu ovsu sa niektoré výskumy zaoberajú využitím ovsu ako substrátu pri príprave fermentovaných nápojov pomocou kyslomliečnych baktérií^{5–8}.

Práca bola zameraná na prípravu fermentovaných ovsených nápojov s použitím štartovacích kultúr kyslomliečnych baktérií, chemický a mikrobiologický rozbor vzoriek počas fermentácie a senzorické hodnotenie pripravených nápojov.

Experimentálna časť

Príprava fermentovaných ovsených nápojov

Fermentované ovsené nápoje (FON) boli pripravené podľa receptúry a postupu Angelov a spol.⁶. Pri príprave FON sa 5,5 hm.% celozrnnej ovsenej múky (Natural, Jihlava, Česká republika) zakúpenej v miestnej maloobchodnej sieti zmieša s vodou a pridajú sa 2 hm.% cukru. Suspenzia sa následne zahrieva pri 95 °C počas 10 min. Po ochladení na 37 °C sa zmes naočkuje 1 obj.% štartovaciu kultúrou kyslomliečnych baktérií a zmes sa nechá fermentovať pri 37 °C počas 36 h za anaerobných podmienok. Počas fermentácie boli vo vopred určených časových intervaloch odoberané vzorky na chemické a mikrobiologické analýzy.

Použitie kultúry kyslomliečnych baktérií

V rámci prípravy dvoch vzoriek fermentovaných ovsených nápojov boli použité kultúry kyslomliečnych baktérií *Lactobacillus* (*Lb.*) *plantarum* CCM 7039 a *Lb. amylovorus* CCM 4380 získané z Českej zbierky mikroorganizmov (Prírodovedecká fakulta, Masarykova univerzity, Brno) v lyofilizovanej forme. Kultúry boli kultivované pri 30 °C počas 48 h v bujóne de Man, Rogosa, Sharpe (MRS) (Merck, Darmstadt, Nemecko) a po odstredení pri 5000 ot. min⁻¹ boli kultúry resuspendované v sterilnom fyziologickom roztoku (0,85 % NaCl) a následne použité ako inokulum pri príprave FON.

Meranie hodnôt pH

Na meranie hodnôt pH bol použitý prístroj inoLab pH Level 2 (WTW, Weilheim, Nemecko) so sklenou elektrodou a teplotným senzorom (Blue Line)⁹.

Stanovenie celkovej kyslosti

Celková kyslosť bola stanovená vizuálnou titráciou pomocou štandardného odmerného roztoku NaOH (0,1 mol dm⁻³) a fenolftaleínu ako indikátora. Obsah celkovej kyslosti (v g dm⁻³) bol prepočítaný na kyselinu mliečnu¹⁰.

Stanovenie obsahu organických kyselín

Obsah organických kyselín (kyselina mliečna, kyselina octová) bol stanovený metódou kapilárnej izotachoforézy¹¹. Na analýzy bol použitý izotachoforetický analyzátor ZKI 01 (Villa Labeco, Spišská Nová Ves, Slovensko) vybavený vodivostným detektorom a dvojliniovým zapisovačom TZ 4200 (Laboratorní přístroje, Praha, Česká republika). Elektrolýtický systém pozostával z vodiaceho elektrolytu (0,01 mol dm⁻³ HCl, protitión kyselina 6-aminokaprónová, aditívum 0,1 % metylhydroxyethylcelulóza, pH 4,25) a zakončujúceho elektrolytu (0,005 mol dm⁻³ kyselina kaprónová), použitý hnací prúd 250 μA.

Stanovenie obsahu sacharózy

Obsah sacharózy bol stanovený metódou HPLC na prístroji DeltaChromTM (Watrex, Bratislava, Slovensko) vybaveného refraktometrickým detektorom RI K-2301 (Knauer, Berlín, Nemecko)¹². Podmienky analýzy: kolóna Nucleodur 100-5 NH₂-RP (250 × 4 mm, 5 µm) (Macherey-Nagel, Düren, Nemecko) temperovaná na 50 °C, mobilná fáza acetonitril:voda (75:25 obj.%) s prietokom mobilnej fázy 1 cm³ min⁻¹. Namerané údaje boli spracované softvérom Clarity chromatography station (DataApex, Praha, Česká republika).

Stanovenie počtu kyslomliečnych baktérií

Celkové počty kyslomliečnych baktérií (KTJ cm⁻³) boli stanovené zriedovacou kultivačnou metódou na MRS agar (Merck, Darmstadt, Nemecko). Po inkubácii pri teplote 37 °C počas 48 h boli následne kolónie na Petriho miskách spočítané¹³.

Senzorické hodnotenie

Senzorické hodnotenie vykonávalo 11 hodnotiteľov, vopred poučených o metódach a spôsoboch hodnotenia, vo veku 22–25 rokov, 9 žien a 2 muži, 10 nefajčiarov a 1 fajčiar. Na hodnotenie bola použitá metóda podľa autorov Faccin a spol.¹⁴ a Coda a spol.¹⁵ s 9 bodovou hedonic-

kou stupnicou, pričom posudzované senzorické parametre boli vôňa, konzistencia, chuť a kyslosť a celková prijateľnosť vyznačením príslušnej hodnoty v % na 100 mm neštruktúrovanej úsečke predstavujúca 100% stupnicu s popisom krajných bodov.

Štatistické vyhodnotenie výsledkov

Všetky analýzy boli vykonané v troch nezávislých meraniach a vyjadrené ako priemer ± smerodajná odchýlka. Na zistenie štatistickej významnosti rozdielov bola použitá multivariačná štatistická metóda, jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) a Fisherov test na hladine významnosti $P = 0,05$. Štatistické vyhodnotenie experimentálnych údajov bolo uskutočnené s použitím softvéru Statgraphic Plus 3.1 (Statsoft, Tulsa, USA).

Výsledky a diskusia

V tab. I. sú uvedené výsledky chemickej analýzy (pH, celková kyslosť, koncentrácia sacharózy) a mikrobiologického rozboru vzoriek ovsených nápojov počas fermentácie.

So zvyšujúcim časom fermentácie bol zaznamenaný vo vzorkách fermentovaných ovsených nápojov (FON) pokles pH z 7,41–7,44 pred fermentáciou na hodnoty 3,69 až 3,75 po 36 h. Súčasne došlo k nárastu celkovej kyslosti

Tabuľka I

Výsledky chemickej a mikrobiologickej analýzy a vzoriek ovsených nápojov počas fermentácie

Vzorka ^x	Čas [h]	pH	Celková kyslosť [g dm ⁻³]	Obsah sacharózy [g dm ⁻³]	Počty KMB ^y [log KTJ cm ⁻³]
FON s <i>Lb. plantarum</i> CCM 7039	0	7,41 ± 0,03 ^a	0,11 ± 0,00 ^a	20,06 ± 0,10 ^a	7,23 ± 0,12 ^a
	10	6,43 ± 0,05 ^b	0,24 ± 0,01 ^a	18,93 ± 0,18 ^b	7,70 ± 0,08 ^b
	12	5,60 ± 0,03 ^c	0,31 ± 0,00 ^b	18,23 ± 0,05 ^c	7,87 ± 0,05 ^c
	14	5,45 ± 0,04 ^d	0,55 ± 0,02 ^c	16,63 ± 0,17 ^d	7,93 ± 0,07 ^d
	17	4,82 ± 0,01 ^e	0,68 ± 0,01 ^d	16,11 ± 0,12 ^e	8,10 ± 0,10 ^e
	20	4,28 ± 0,02 ^f	1,20 ± 0,01 ^e	16,05 ± 0,23 ^f	8,27 ± 0,06 ^f
	24	3,66 ± 0,03 ^g	2,53 ± 0,05 ^f	15,88 ± 0,09 ^g	8,55 ± 0,04 ^g
	36	3,69 ± 0,01 ^h	2,39 ± 0,03 ^g	15,76 ± 0,16 ^h	8,07 ± 0,16 ^h
FON s <i>Lb. amylovorus</i> CCM 4380	0	7,44 ± 0,06 ^a	0,10 ± 0,00 ^a	20,11 ± 0,17 ^a	7,06 ± 0,05 ^a
	10	5,81 ± 0,04 ^b	0,51 ± 0,01 ^b	19,73 ± 0,11 ^b	7,12 ± 0,11 ^a
	12	5,42 ± 0,01 ^c	0,73 ± 0,03 ^c	18,35 ± 0,04 ^c	7,19 ± 0,09 ^a
	14	4,84 ± 0,03 ^d	0,95 ± 0,02 ^d	18,04 ± 0,12 ^d	7,30 ± 0,07 ^b
	17	4,68 ± 0,02 ^e	1,49 ± 0,02 ^e	17,49 ± 0,07 ^e	7,66 ± 0,02 ^c
	20	4,01 ± 0,04 ^f	1,67 ± 0,06 ^f	17,09 ± 0,21 ^f	7,91 ± 0,19 ^d
	24	3,94 ± 0,02 ^g	2,02 ± 0,01 ^g	16,97 ± 0,09 ^g	7,97 ± 0,04 ^e
	36	3,75 ± 0,03 ^h	2,18 ± 0,02 ^h	16,95 ± 0,03 ^h	7,94 ± 0,08 ^f

^x FON – fermentovaný ovsený nápoj, ^y KMB – kyslomliečne baktérie. Hodnoty s rôznym písmenom v indexe sú štatisticky významne odlišné podľa Fisherovho test s $P = 0,05$

produktov na hodnoty 2,18–2,39 g dm⁻³ po ukončení fermentačného procesu. Rýchly nárast kyslosti minimalizuje rast nežiaducich a patogénnych baktérií¹⁶.

Sacharidy sú počas fermentácie využívané ako zdroj energie pre rast a metabolizmus kyslomliečnych baktérií¹⁷. Stanovenie obsahu sacharózy poukázalo na pokles obsahu počas fermentácie z pôvodných hodnôt 20,06–20,11 g dm⁻³ na hodnoty 15,76–16,96 g dm⁻³. Celkové počty kyslomliečnych baktérií sa počas fermentácie zvýšili približne o 1 log poriadok, pričom maximálne koncentrácie buniek kyslomliečnych baktérií boli zaznamenané v 24 h (8,55 log KTJ cm⁻³ vo vzorke s kultúrou *Lb. plantarum* CCM 7039 a 7,97 log KTJ cm⁻³ vo FON inokulovanom *Lb. amylovorus* CCM 4380). Autori Rathore a spol.¹⁸ vo svojej experimentálnej práci zaznamenali počas fermentácie zmesi jačmennej a sladovej múky (5 hm.%) zmesnou kultúrou *Lb. acidophilus* NCIMB 8821 a *Lb. plantarum* NCIMB 8826 (1:1) nárast počtu kyslomliečnych baktérií zo 7,2 na 8,4 log KTJ cm⁻³ po 30 h fermentácie.

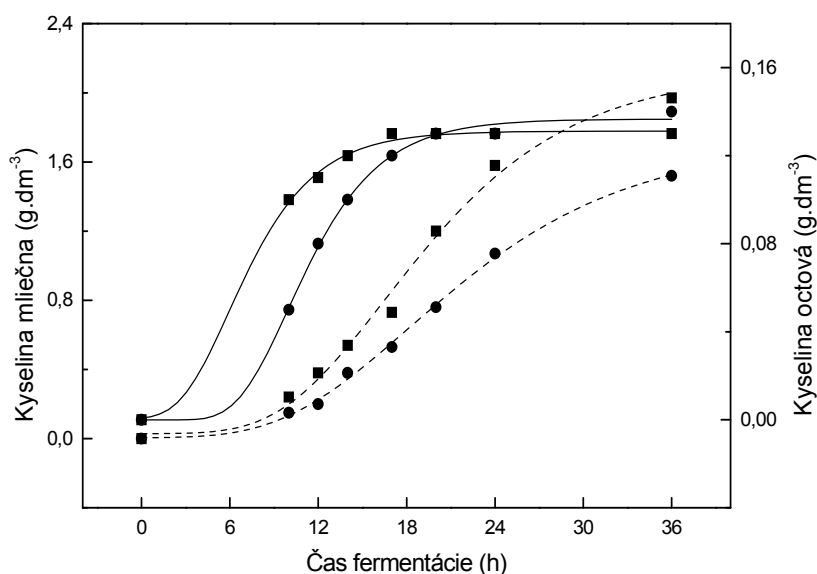
Organické kyseliny vznikajú počas metabolizmu fermentovateľných sacharidov a vykazujú antimikrobiálnu aktivitu^{19,20}. Koncentrácia kyseliny mliečnej a kyseliny octovej sa počas fermentácie zvyšovala (obr. 1), pričom obsah kyseliny mliečnej bol vo vzorkách FON na konci fermentácie výrazne vyšší (1,68–1,74 g dm⁻³ po 36 h) v porovnaní s obsahom kyseliny octovej (0,12–0,16 g dm⁻³). Podobný obsah kyseliny mliečnej počas fermentácie ovsených nápojov kultúrou *Lb. plantarum* NCIMB 8826 uvádzajú aj Kedia a spol.²¹. Autori Rathore a spol.¹⁸ sa vo svojej štúdii venovali fermentácii suspenzie zmesi jačmennej a sladovej múky (5 hm.%) pomocou zmesnej kultúry *Lb. acidophilus* NCIMB 8821 a *Lb. plantarum* NCIMB 8826 (1:1), pričom zistili mierny nárast obsahu kyseliny

octovej a po 28 h dosiahla kyselina octová koncentráciu 0,24 g dm⁻³.

Z výsledkov senzorického hodnotenia FON vyplýva, že pri hodnotení vône a kyslosti vykazovala vzorka s kultúrou *Lb. plantarum* CCM 7039 (7,2 ± 0,3 a 7,4 ± 0,2) porovnateľné hodnoty s FON inokulovaným kultúrou *Lb. amylovorus* CCM 4380 (7,1 ± 0,1 a 7,3 ± 0,2). Najvyššie bodové hodnotenia dosiahla vzorka s kultúrou *Lb. plantarum* CCM 7039 aj v prípade hodnotenia konzistencie (7,6 ± 0,3) a chuti (7,5 ± 0,2) a táto vzorka dosiahla aj vyššiu celkovú prijateľnosť (83,4 ± 5,2 %) v porovnaní so vzorkou FON fermentovanou kultúrou *Lb. amylovorus* CCM 4380 (78,6 ± 2,9).

Záver

Na základe výsledkov experimentálnych prác vykonanej štúdie možno konštatovať, že kyslomliečne baktérie *Lb. plantarum* CCM 7039 a *Lb. amylovorus* CCM 4380 predstavujú vhodné druhy štartovacích kultúr pre prípravu fermentovaných ovsených nápojov v dôsledku rýchleho okysľovania média a dobrého rastu kyslomliečnych baktérií. Počas fermentácie bol zaznamenaný pokles hodnôt pH a nárast celkovej kyslosti ako následok tvorby kyseliny mliečnej a octovej. Obsah sacharózy počas fermentácie klesal, nakoľko sacharidy slúžia ako zdroj energie pre rast a metabolizmus kyslomliečnych baktérií. Fermentované ovsené nápoje možno považovať za výživné a bezpečné potraviny, nakoľko nežiaduce a patogénne mikroorganizmy sú inhibované nízkymi hodnotami pH a antimikrobiálnym pôsobením kyseliny mliečnej a octovej a tieto nápoje vykazujú aj dobré senzorické vlast-



Obr. 1. Koncentrácia kyseliny mliečnej (—) a kyseliny octovej (---) počas fermentácie ovsených nápojov s kultúrou *Lb. plantarum* CCM 7039 (■) a *Lb. amylovorus* CCM 4380 (●)

nosti.

Zoznam použitých skratiek

CCM	Česká zbierka mikroorganizmov
KTJ	kolóniotvorné jednotky
MRS	agar/bujón podľa de Man, Rogosa, Sharpe
FON	fermentované ovsené nápoje

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0453/13.

LITERATÚRA

- Brandt M. J.: Food Microbiol. 37, 41 (2014).
- Giraffa G.: FEMS Microbiol. Rev. 28, 251 (2004).
- Nionelli L., Coda R., Curiel J. A., Poutanen K., Gobetti M., Rizzello C. G.: Int. J. Food Microbiol. 185, 17 (2014).
- Hüttner E. K., Bello F. D., Arendt E. K.: J. Cereal Sci. 52, 65 (2010).
- Angelov A., Gotcheva V., Hristozova T., Gargova S.: J. Sci. Food Agric. 85, 2134 (2005).
- Angelov A., Gotcheva V., Kuncheva R., Hristozova T.: Int. J. Food Microbiol. 112, 75 (2006).
- Gokavi S., Zhang L., Huang M. K., Zhao X., Guo M.: J. Food Sci. 70, 216 (2005).
- Gupta S., Cox S., Abu-Ghannam N.: Biochem. Eng. J. 52, 199 (2010).
- Yonzan H., Tamang J. P.: Food Biotechnol. 24, 227 (2010).
- Kohajdová Z., Karovičová J.: Chem. Pap. 59, 55 (2005).
- Kohajdová Z., Karovičová J., Greifová M.: J. Food Nutr. Res. 45, 115 (2006).
- Sims A.: J. Agr. Food Chem. 43, 377 (1995).
- Fialová J., Chumchalová J., Míková K., Greifová M., Greif G.: Chem. Listy 107, 308 (2013).
- Faccin G. L., Vieira L. N., Miotto L. A., Barreto P. L. M., Amante E. R.: Ric. Sci. 16, 226 (2009).
- Coda R., Lanera A., Trani A., Gobetti M., Di Cagno R.: Int. J. Food Microbiol. 155, 120 (2012).
- Karovičová J., Kohajdová Z.: Hort. Sci. (Prague) 30, 152 (2003).
- Costa M. G. M., Fonteles T. V., Jesus A. L. T., Rodrigues S.: Food Chem. 139, 261 (2013).
- Rathore S., Salmerón I., Pandiella S. S.: Food Microbiol. 30, 239 (2012).
- Erbaş M., Uslu M. K., Erbaş M. O., Certel M.: J. Food Compos. Anal. 19, 294 (2006).
- Savard T., Beaulieu C., Gardner N. J., Champagne C. P.: Food Microbiol. 19, 363 (2002).
- Kedia G., Vázquez J. A., Pandiella S. S.: J. Food Eng. 89, 246 (2008).

M. Magala, Z. Kohajdová, J. Karovičová, M. Greifová, and G. Greif (Department of Food Science and Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovakia): **Utilization of Oat Flour for Preparation of Lactic Acid Fermented Beverages**

The suitability of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* CCM 7039, *Lactobacillus amylovorus* CCM 4380) as starter culture for oat beverage fermentation was investigated. The fermentation was carried out at 37 °C for 36 h. The counts of lactic acid bacteria reached 8.55 log CFU cm⁻³ after 24 h fermentation, from an initial concentration of log 7.23 CFU cm⁻³ and pH decreased from 7.4 to below 3.8. The oat beverage inoculated with *Lactobacillus plantarum* CCM 7039 showed higher values of sensory parameters than oat beverage inoculated with *Lactobacillus amylovorus* CCM 4380. The oat-based substrate proved to be a suitable medium for the tested *Lactobacillus* strains.