

*Henryk Bartoń, Małgorzata Fortuna, Maria Fołta*

## WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE WYBRANYCH PRODUKTÓW FERMENTACJI MLEKOWEJ

Pracownia Biopierwiastków, Zakład Bromatologii,  
Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie  
Kierownik: dr hab. P. Zagrodzki

*Celem pracy było oznaczenie właściwości antyoksydacyjnych i wybranych parametrów żywieniowych produktów fermentacji mlekowej wybranych zbóż, nasion oraz ich przetworów. Przebadano produkty fermentowane z 13 rodzajów zbóż i przetworów zbożowych (orkisz, żyto, owies, pszenica, kukurydza, ryż brązowy i biały), pseudozbóż (amarantus, proso, gryka), roślin strączkowych (soczewica zielona i czerwona) oraz nasion lnu. W produktach fermentacji oznaczono kwasowość ogólną, pH i aktywność antyoksydacyjną FRAP. Wykazano, że po 14 dniach fermentacji pH próbek ustaliło się na poziomie około 4, a kwasowość ogólna wynosiła średnio 50 mM/L. Aktywność antyoksydacyjna FRAP fazy wodnej produktów fermentowanych była niższa ale proporcjonalna do aktywności produktów wyjściowych i w trakcie fermentacji wzrastała. Produkty fermentowane mogą stanowić wartościowy żywieniowo rodzaj żywności o potencjalnych właściwościach funkcjonalnych.*

Hasła kluczowe: fermentacja mlekowa, zboża, aktywność antyoksydacyjna  
Key words: lactic acid fermentation, cereals, antioxidant activity

Wskutek szybkiego rozwoju i zmian cywilizacyjnych, a także związanego z nimi większego stresu u ludzi, następuje wzrost zainteresowania „zdrowym” trybem życia i odżywiania, jak również zainteresowania syntetycznymi suplementami diety. Jednocześnie w dużym stopniu odchodzi się od tradycyjnych naturalnych, nieprzetworzonych produktów spożywczych na korzyść produktów przetworzonych przemysłowo. Jednym z takich przykładów, który historycznie miał duży a obecnie ma niewielki udział w żywieniu, są produkty fermentowane. Wykazują one szereg właściwości korzystnych, umożliwiają konserwację żywności w sposób naturalny i pozwalają zachować lub wzbogacić walory odżywcze, smakowe i prozdrowotne. Produkty te nie są odpowiednio doceniane w uprzemysłowionym świecie, a umożliwiały przetrwanie naszym przodkom. Do nielicznych roślinnych produktów fermentowanych, mających obecnie jeszcze pewien udział w naszej diecie, można zaliczyć kiszoną kapustę i ogórki, żur z mąki żytniej oraz barszcz z kiszonych buraków czerwonych, otrzymywane w wyniku fermentacji mlekowej. Fermentacja mlekowa polega na przekształceniu cukrów prostych i złożonych głównie do kwasu mlekowego (1) pod wpływem bakterii gatunku *Lactobacillus*,

*Leuconostoc* i *Lactococcus*. Jednocześnie mogą zachodzić zmiany w ilości i rodzaju innych związków w wyniku procesów biologicznych i chemicznych, o charakterze hydrolizy, dekarboksylacji, utleniania, redukcji i innych (2-9).

Celem pracy było wstępne scharakteryzowanie właściwości antyoksydacyjnych produktów powstałych w procesie fermentacji mlekowej z kilkunastu wybranych rodzajów ziaren zbóż, nasion i produktów pochodnych.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał: Nasiona i produkty: nr 1. ryż brązowy z Camargue firmy Agir; nr 2. ryż biały długi firmy Cenos; nr 3. płatki orkiszowe ekologiczne firmy Symbio; nr 4. płatki owsiane błyskawiczne firmy Janex; nr 5. płatki żytnie ekologiczne firmy Symbio; nr 6. mąka kukurydziana handlowa firmy Sante; nr 7. kasza jaglana firmy Sante; nr 8. kasza gryczana niepalona firmy BioAvena; nr 9. nasiona amarantusa wyniosłego; nr 10. ziarna pszenicy z okolic Krakowa; nr 11. soczewica zielona firmy Vitalpol; nr 12. soczewica czerwona firmy Florpak; nr 13. nasiona lnu firmy Flos.

Szczepy bakteryjne: Szczep A) bakteryjną kulturę startową własną uzyskano wychodząc z naturalnych (dzikich) szczepów występujących w mące żytniej razowej (pochodzenie: z woj. podkarpackiego), prowadząc cykliczną fermentację przez kilka miesięcy. Identyfikację bakterii przeprowadzono przez określenie profilu cukrowego (metoda API (10) w Zakładzie Mikrobiologii UJ (doc. dr hab. *Magdalena Strus*). W końcowej kulturze stwierdzono dwa rodzaje szczepów *Lactobacillus*, z których jeden zidentyfikowano jako *Lactobacillus para paracasei*; szczep B) liofilizowany preparat Lakcid 10 ampulek (szczep *Lactobacillus rhamnosus* Pen – 40 %, szczep *Lactobacillus rhamnosus* E/N - 40 %, Szczep *Lactobacillus rhamnosus* Oxy - 20 %).

Metody: Pomiary pH wykonano pH-metrem 510 Cyber Scan (EUTECH INSTRUMENTS). Kwasowość ogólną oznaczono metodą miareczkową za pomocą 0,1 M NaOH wobec fenoloftaleiny.

Oznaczenie aktywności przeciwutleniającej FRAP (11) fazy wodnej po fermentacji i ekstraktów badanych nasion wykonano metodą spektrofotometryczną w buforze octanowym pH 3.6 w temperaturze 37°C. Pomiary wykonano na płytkach 48-pozycyjnych przy użyciu czytnika mikroplótkowego Synergy 2 (Biotek USA). Wyniki wyznaczono dla inkubacji w czasie 4 minut.

Fermentacja: Badane nasiona lub produkty sproszkowano za pomocą młynka łopatkowego do kawy i przesiano przez sito 26 mesh. Mieszanina fermentacyjna: 90 g mąki żytniej razowej umieszczano w zdezynfekowanych słoikach typu twist, dodawano po 50 ml startowej zawiesiny bakteryjnej A lub B oraz po 700 ml wody destylowanej. Słoiki szczelnie zamykano i umieszczono w suszarce w temperaturze 30°C. Proces prowadzono w warunkach beztlenowych w temperaturze 30°C przez 14 dni. Próbkę (50 mL) pobrano po rozpoczęciu fermentacji oraz po 1 i 2 tygodniach fermentacji, odwirowano i zamrożono do czasu analizy w temp. -20°C. Ekstrakcja produktów wyjściowych: 1 g sproszkowanych nasion zawieszono w 40 mL metanolu

zawierającego 0.1 M HCl i wytrząsano przez 2 godziny, fazę ciekłą odwirowano i zamrożono.

Statystyka: wyniki analizowano za pomocą statystyk parametrycznych (Statistica for Windows 5.1./Stat Soft, Inc).

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Najwyższe wartości pH (ok. 5-7) zanotowano dla fazy wodnej produktów fermentacji nasion lnu, amarantusa i gryki, a najniższe (ok. 3-4) dla płatków żytnich, owsianych i mąki kukurydzianej (Tabela I). Różnice między kulturami A i B były niewielkie i nieistotne statystycznie.

Tabela 1. Wartości oznaczonych parametrów dla fazy wodnej po 2 tygodniach fermentacji z użyciem bakterii typu A i B

Table 1. The values of the estimated parameters for the aqueous phase after 2 weeks of fermentation using bacteria type A and B

Nazwa produktu	Kwasowość mM/L		pH		FRAP ± SD μM/g **		
	A	B	A	B	PW *	A**	B**
1. Ryż brązowy	48	30	4,32	4,00	27.6±2.3	5.0±0.7	4.2±0.1
2. Ryż biały	24	40	4,39	3,65	1.7±0.1	0.7±0.1	1.2±0.0
3. Płatki orkiszowe	40	50	3,49	3,94	2.3±0.1	0.8±0.2	5.2±1.0
4. Płatki owsiane	90	78	3,38	3,25	3.5±0.2	3.1±0.1	2.4±0.1
5. Płatki żytnie	82	66	3,22	3,06	2.0±0.5	3.6±0.9	3.8±0.2
6. Mąka kukurydziana	62	40	3,42	3,19	4.0±0.5	4.0±0.1	4.1±0.2
7. Kasza jaglana	18	30	3,91	4,01	1.1±0.2	1.4±0.0	1.9±0.1
8. Kasza gryczana	26	130	5,21	5,23	31.0±0.7	6.2±0.6	12.2±0.4
9. Nasiona amarantusa	50	54	5,52	4,91	2.3±0.0	4.4±0.1	3.6±0.2
10. Ziarna pszenicy	92	66	4,03	3,72	4.4±1.8	4.7±0.1	5.5±0.1
11. Soczewica zielona	42	86	5,06	3,98	52.0±5.1	16.0±0.0	13.0±0.6
12. Soczewica czerwona	170	92	4,13	3,88	4.6±0.2	2.7±0.2	2.6±0.4
13. Nasiona lnu	52	28	5,20	6,48	11.9±1.1	5.3±0.1	6.4±0.7

\* PW - produkt wyjściowy - ekstrakt z nasion lub przetworów; \*\* podane wartości w μM/g materiału roślinnego

Wartości w μM/L fazy wodnej po fermentacji można otrzymać przez pomnożenie podanych wyników przez 120

Najniższą kwasowość ogólną stwierdzono dla kaszy jaglanej (ok. 20 mM/L), a najwyższą dla kaszy gryczanej i soczewicy czerwonej (130-170 mM/L). Wskazuje to, że różnice kwasowości dla różnych produktów fermentacji są bardzo duże. Jednocześnie obserwowano duże różnice kwasowości pomiędzy kulturami A i B.

Najwyższe aktywności antyoksydacyjne zanotowano dla produktu fermentacji soczewicy zielonej (Tabela I), gdzie wartości FRAP wynosiły 16,0  $\mu\text{M/g}$  i 13,0  $\mu\text{M/g}$  odpowiednio dla kultury A i B. Wyniki wskazują, że nie było znaczącej różnicy w aktywności antyoksydacyjnej pomiędzy badanymi kulturami bakteryjnymi. Najniższe aktywności wystąpiły dla ryżu białego i kaszy jaglanej, tj. nasion o znacznej zawartości skrobi. W większości badanych produktów aktywność FRAP mieszanin po fermentacji była niższa niż ekstraktów z nasion niefermentowanych. Tylko dla płatków żytnich, nasion amarantusa i ziaren pszenicy parametr FRAP był znacząco wyższy dla produktów fermentacji niż dla surowca niefermentowanego.

Duże różnice w przebiegu fermentacji powszechnie używanych nasion zbóż i ich przetworów jako produktów żywnościowych, szczególnie w odniesieniu do kwasowości, pH jak i aktywności przeciwutleniającej, sugerują możliwość uzyskania produktów do spożycia o różnorodnych właściwościach. Aktywność antyoksydacyjna produktów fermentacji mlekowej była niższa niż produktów wyjściowych, co może być skutkiem wytwarzania nadtlenu wodoru w trakcie procesu fermentacji bakteryjnej (12), jak również może wynikać z mniejszej wydajności ekstrakcji antyoksydantów z materiału roślinnego w trakcie fermentacji. Mimo że aktywność przeciwutleniająca po fermentacji z reguły nie przekracza wartości dla surowców, to rodzaj składników o charakterze antyoksydacyjnym może być różny. Aktualny stan wiedzy na temat antyoksydantów i rozumienie ich roli w organizmie skłania się do zwrócenia większej uwagi na ich specyficzność, niż na samą wielkość aktywności. Badania nad modyfikacją produktów spożywczych za pomocą fermentacji szczepami *Lactobacillus* mają dużą potencjalną perspektywę uzyskiwania produktów spożywczych o nowych i zdefiniowanych właściwościach dietetycznych i funkcjonalnych.

## WNIOSKI

1. Produkty fermentacji mlekowej wykazywały znaczącą kwasowość, co jest korzystne dla procesu trawienia oraz dla podwyższenia trwałości produktów. Kwasowość ta była zróżnicowana zależnie od zastosowanego szczepu bakterii oraz rodzaju surowca.

2. Aktywność antyoksydacyjna produktów fermentacji mlekowej była najczęściej niższa niż produktów wyjściowych ale rosła w trakcie fermentacji.

3. Należy dążyć do tego, aby fermentacji mlekowej poddawane były różnorodne produkty spożywcze, ponieważ wprowadzając je do naszej diety dostarczamy organizmowi oprócz probiotycznych bakterii także wartościowe składniki. Wymaga to dalszych wnikliwych badań.

H. Bartoń, M. Fortuna, M. Fołta

THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SELECTED PRODUCTS OF LACTIC ACID  
FERMENTATION

Summary

Aim of this study was to determine the antioxidant properties and nutritional parameters of products of lactic fermentation of selected grains, seeds and their products. Fermented products were studied with 13 kinds of cereals and cereal products (spelled, rye, oats, wheat, corn, brown rice and white), pseudo-cereals (amaranth, millet, buckwheat), pulses (lentils, green and red) and flax seeds. The fermentation products was performed by using two bacterial cultures: commercial type bacteria - Lactid® and wild type and identified by API test. After 14 days of fermentation pH of the samples established at a level of about 4 (range 3-7) and total acidity of around 50 mM/L (range 20-170). Antioxidant activity (FRAP) of fermented products was lower but proportional to the activity of starting materials. During fermentation FRAP increased by 40% to 100% of starting material. There was no difference in antioxidant activity between the products fermented with commercial bacterial culture and wild type. Fermented products may constitute a valuable nutritionally type of food and may have functional properties.

PIŚMIENNICTWO

1. *Fortuna M.*: Właściwości antyoksydacyjne kwasu chlebowego i wybranych produktów fermentowanych. Praca Magisterska, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Kraków 2011. - 2. *Oszmiański J.* i in.: Wpływ obróbki technologicznej na zawartość przeciwutleniaczy w produktach spożywczych. Grajek W. (red.): *Przeciwutleniacze w żywności*. Wyd. Naukowo - Techniczne, Warszawa, 2007; 172, ISBN 978-83-204-3277-0. - 3. *Blandino A.* et al.: Cereal- based fermented food and beverages (review). *Food Research International*, 2003; 36: 527- 543. - 4. *Kalui A.* et al.; Probiotic potential of spontaneously fermented cereal based food - A review. *Afr. J. Biotechnol.*, 2010; 9(17): 2490- 2498. - 5. *Reale A.* et al.: The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. *J. Agric. Food Chem.*, 2007; 55: 2993-2997. - 6. *Lopez H. W.* et al.: Prolonged fermentation of whole wheat sourdough reduces phytate level and increases soluble magnesium. *J. Agric. Food Chem.*, 2001; 49: 2657-2662. - 7. *Lennhardt F.* et al.: Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content whole wheat flour throw endogenous phytase activity. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 98-102. - 8. *Anastasio M.* et al.: Selection and use of phytate- degrading LAB to improve cereal- based products by mineral solubilization during dough fermentation. *Journal of Food Science*, 2010; 75(1): 28-35. - 9. *Lönnerdal B.*: Phytic acid trace element (Zn, Cu, Mn) interactions. *Int. J. of Food Sci. and Technology*, 2002; 37: 749-758. - 10. API's tests and micro-organisms identification: [www.biomerieux-usa.com](http://www.biomerieux-usa.com). - 11. *Benzie I. F.F., Strain J. J.*: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 1996; 239: 70-76. - 12. *Mosbah A., Mesbah M.R.*: A study of the role of hydrogen peroxide production by lactobacilli in preterm labor. *Int. J. Med. & Med. Sci.*, 2009; 1 (9): 388-395.

Adres: 30-688 Kraków, ul. Medyczna 9