

IRENA MOLSKA, RENATA NOWOSIELSKA, ILONA FRELIK

ZMIANY JAKOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ KEFIRU I JOGURTU RYNKU
WARSZAWSKIEGO W LATACH 1995–2001

THE CHANGES IN MICROBIOLOGICAL QUALITY OF KEFIR AND YOGHURT ON
THE WARSAW MARKET IN THE YEARS 1995–2001

Katedra Technologii i Oceny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie, Zakład Technologii Mleka
02–787 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159 c,
e-mail: tzy_ztmm@alpha.sggw.waw.pl
Kierownik: prof. dr hab. S. Zmarlicki

Analizy mikrobiologiczne 61 próbek kefiru i 92 próbek jogurtu wytwarzanych przez różne zakłady mleczarskie i dostarczanych na rynek warszawski w roku 1995 i 2001 wykazały znaczną poprawę jakości obu napojów w badanym okresie. Nastąpiło znaczne zwiększenie odsetka próbek nie zawierających bakterii z grupy coli, Escherichia coli, Bacillus cereus oraz pleśni i drożdży. Jedynie część próbek kefiru nie spełniała wymagań FAO/WHO co do liczby drożdży.

WSTĘP

W związku z wzrastającymi wymaganiami konsumentów i dużą konkurencją na rynku zakłady mleczarskie wytwarzające produkty mleczne, w tym fermentowane napoje mleczne, są zobowiązane do stałego podnoszenia jakości swych wyrobów. Podstawy do osiągnięcia tego celu zostały stworzone dzięki wprowadzeniu w ostatnich latach wyższych wymagań wobec skupowanego surowca i systematycznemu podnoszeniu poziomu higieny produkcji w zakładach mleczarskich. Postęp dokonujący się w tej dziedzinie można śledzić badając jakość produktów znajdujących się na rynku. Oznaczając określone grupy drobnoustrojów można stwierdzić, czy produkty spełniają wymagania określonych norm oraz ocenić jakość użytego surowca i poziom higieny produkcji.

Publikowane w ostatnich latach wyniki krajowych badań wskazują na wciąż jeszcze zróżnicowaną jakość fermentowanych napojów mlecznych [5, 6, 8, 9, 15], jakkolwiek poprawiającą się z roku na rok [9].

W pracy niniejszej przedstawiono wyniki mikrobiologicznych badań kefiru i jogurtu rynku warszawskiego przeprowadzonych w roku 1995 i oraz w I kwartale roku 2001 i dokonano porównania jakości tych napojów.

MATERIAŁ i METODY

Materiałem do badań był kefir i jogurt (w tym biojogurt), naturalny i z dodatkami smakowymi produkowany przez różne zakłady mleczarskie i dostarczany na rynek warszawski. Opakowania jednostkowe tych napojów kupowano w sklepach i supermarketach (pobierano je z lad chłodni-

czych) i w ciągu 15 – 30 minut przewożono do laboratorium badawczego, w którym niezwłocznie poddawano je badaniom. W razie konieczności pobrane próbki przechowywano w temperaturze nie przekraczającej 6°C. W większości próbek okres przydatności do spożycia wynosił jeszcze 4–18 dni, a tylko niektóre były badane w ostatnim dniu tej przydatności.

W sumie badaniom poddano 61 próbek kefiru z 24 zakładów mleczarskich i 92 próbki jogurtu z 21 tych zakładów. Badania przeprowadzone w 1995 r. określono jako I serię, a przeprowadzone w 2001 r – jako II serię.

W I serii badań wobec braku krajowej normy metodycznej przy badaniu jogurtu zastosowano do oznaczania ogólnej liczby drobnoustrojów metodę płytkową z użyciem pożywki MRS o pH 6,8 w/g Merck [7], a kolonie liczono po 72 h inkubacji płytek Petriego z posiewami w 37°C w warunkach tlenowych. W II serii badań liczbę tę oznaczono w/g wydanej już wtedy krajowej normy [12] i określono jako liczbę charakterystycznych drobnoustrojów.

Ogólną liczbę drobnoustrojów w kefirze oznaczano w obu seriach badań metodą płytkową stosując pożywkę MRS o pH 6,8 (jak wyżej), a kolonie liczono po 72 h inkubacji płytek *Petriego* z posiewami w 30°C w warunkach tlenowych.

Najbardziej prawdopodobną liczbę bakterii z grupy coli, liczbę enterokoków (w I serii badań), liczbę *Bacillus cereus* oraz liczbę pleśni i drożdży oznaczano metodami opisanymi w odpowiednich arkuszach normy PN – 93/A – 86034 [11]. Ponadto oznaczano: liczbę *Escherichia coli* metodą płytkową na pożywce *Fluorocult Merck* [7] oraz liczbę drobnoustrojów zanieczyszczających w/g normy (4) na pożywce bezwęglowodanowej Merck [7].

OMÓWIENIE I Dyskusja Wyników

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w tabelach 1 i 2. Na wstępie należy zaznaczyć, że w publikacjach zagranicznych i standardach Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej [2, 3] produkty mleczne nazywane dotąd w naszym kraju fermentowanymi napojami mlecznymi [10, 16] określane są jako „fermentowane mleka” (Fermented milks). Liczba charakterystycznych drobnoustrojów (t.j. wprowadzonych ze szczepionkami) ma wynosić w nich nie mniej niż 10^7 jednostek tworzących kolonie (j.t.k.) w 1 g przez cały okres ich przydatności do spożycia. W naszym kraju stało się również możliwe oznaczenie liczby tych drobnoustrojów w jogurcie dzięki opracowaniu normy metodycznej [12]. W ślad za tym mogą zostać ustalone odpowiednie wymagania jakościowe dla jogurtu.

W niniejszej pracy, zastosowane w I serii badań przy oznaczaniu liczby drobnoustrojów ogółem w obu badanych napojach (wobec braku w tym czasie normy metodycznej), tlenowe warunki inkubacji płytek *Petriego* z posiewami umożliwiały przede wszystkim rozwój i tworzenie kolonii przez paciorkowce mlekowe (w obserwacjach mikroskopowych barwionych preparatów z wybranych napojów oraz preparatów z wyrosłych kolonii stwierdzono dominację paciorkowców wśród mikroflory). W II serii badań oznaczenia liczby drobnoustrojów w jogurcie, przeprowadzone już w/g normy [12], umożliwiały oddzielne oznaczenie liczby *S. thermophilus* i *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Jak wskazują dane tabeli I, w 92% i 73% próbek kefiru analizowanych odpowiednio w I i II serii badań oraz w 97% jogurtu analizowanych w I serii (tab. 2) ogólna liczba drobnoustrojów zawierała się w granicach $10^7 - 10^9$ j.t.k. w 1 g. W 90% próbek jogurtu analizowanych w II serii badań w tych granicach mieściła się też ogólna liczba charakterystycznych drobnoustrojów. Podanym w normie FAO/WHO [2] wymaganiom odpowiadała więc przeważająca większość badanych napojów. Dominującym gatunkiem

Tabela I. Skład mikroflory kefiru
The microbiological composition of kefir

Grupa drobnoustrojów	Zakres liczby w 1 g	Procent próbek	
		1995 r.	2001 r.
Ogólna liczba	10 ⁷ –10 ⁹	92,0	73,0
	< 10 ⁷	8,0	28,0
Bakterie z grupy coli	nb ^a w 1,0	– ^b	86,7
	nb w 0,01	33,0	100,0
	10 ² –10 ⁵	67,0	0,0
<i>Escherichia coli</i>	nb w 0,1	48,0	–
	10 ¹ –10 ³	52,0	–
<i>Enterococcus</i>	nb w 0,1	54,0	–
	10 ¹ –10 ³	29,0	–
	> 10 ³	17,0	–
<i>Bacillus cereus</i>	nb w 0,1	88,0	97,0
	10 ⁰ –10 ¹	12,0	3,0
Drożdże	nb w 0,01	25,0	48,0
	10 ³ –10 ⁶	74,0	52,0
Pleśnie	nb w 0,1	82,0	100,0
pH		4,0–4,6	4,0–4,6

a – nieobecne

b – nie oznaczano

bakterii w jogurcie był, jak zaobserwowano w II serii badań, *Streptococcus thermophilus*. Liczba *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* w 40% próbek wynosiła poniżej 10⁷ j.t.k. w 1 g, przy czym w niektórych próbkach była nawet o 2 – 3 rzędy wielkości mniejsza niż liczba *S. thermophilus* (danych tych nie podano w tabeli II). Spośród 16 próbek badanego jogurtu naturalnego (nie wyszczególnione w tabeli II), 3 próbki zawierały nawet poniżej 10⁵ j.t.k. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* w 1 g. W/g danych z pismienictwa [1], proporcje pałeczek do ziarniaków w jogurcie powinny wynosić 1:1 do 1:2. Jest to istotne szczególnie w jogurcie naturalnym, w którym proporcje te decydują o typowych, charakterystycznych cechach organoleptycznych tego napoju. Ponadto *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ma wykazywać pewne właściwości probiotyczne. Należy więc uznać za uzasadnione propozycje ustalenia minimalnej liczby wymienionego gatunku w jogurcie na poziomie 10⁶ j.t.k. w 1 g [9], jakkolwiek brak takich wymagań w normach międzynarodowych.

W kefirze, jak wykazały przeprowadzone obserwacje mikroskopowe, dominowały mezofilne paciorkowce mlekowe.

Drugą grupę drobnoustrojów, co do której zostały podane propozycje wymagań w normie międzynarodowej [3], stanowią drożdże, które są składnikiem mikroflory kefiru. Liczba ich nie może być mniejsza niż 10⁴ w 1 g. Wydana już krajowa norma metodyczna (PN – 93/A – 86034/07) umożliwia oznaczenie drożdży w kefirze i ustalenie wymagań także w naszym kraju.

Tabela II. Skład mikroflory jogurtu
The microbiological composition of yoghurt

Grupa drobnoustrojów	Zakres liczby w 1 g	Procent próbek	
		1995 r.	2001 r.
Ogólna liczba	10^7 – 10^9 < 10^7	97,0 3,0	–
Liczba charakterystycznych drobnoustrojów	10^7 – 10^9 < 10^7	–	90,0 10,0
w tym: <i>S. thermophilus</i>	10^7 – 10^9	–	90,0
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	10^7 – 10^9	–	60,0
Bakterie z grupy coli	nb w 1,0 nb w 0,01 10^2 – 5×10^2	– 81,0 19,0	97,0 100,0 0,0
<i>Escherichia coli</i>	nb w 0,1	100,0	–
<i>Enterococcus</i>	nb w 0,01	100,0	–
<i>Bacillus cereus</i>	nb w 0,1 10^1 – 10^2	55,0 45,0	100,0 –
Drobnoustroje zanieczyszczające	nb w 0,1 10^1 – 10^3	16,0 84,0	62,0 38,0
Drożdże i pleśnie	nb w 0,1 10^1 – 10^3	55,0 45,0	85,0 15,0
pH		4,1–4,4	3,9–4,6

Objaśnienia: jak do tabeli I

Badania przeprowadzone w niniejszej pracy wskazują na zróżnicowaną liczbę drożdży w kefirze znajdującym się na rynku warszawskim w ostatnich latach (tab. I). Część próbek nie zawierała drożdży w 0,01 g i odsetek takich próbek był wyższy w II serii badań. Wynika to ze stosowania różnych szczepionek do wyrobu kefiru, lecz napój fermentowany nie zawierający drożdży nie powinien nosić nazwy „kefir”. Wiadomo, że odpowiednia liczba drożdży przyczynia się do powstania typowych cech organoleptycznych, szczególnie kefiru naturalnego (lekko drożdżowy, lekko musujący smak). Warto dodać, że również cytowane przez *Rennera* i *Drathena* [13] wyniki badań kefiru rynkowego przeprowadzonych w Niemczech przez różnych badaczy oraz własne badania tych autorów wykazały zróżnicowaną liczbę drożdży w kefirze (od 0 do 10^6 j.t.k. w 1 ml), przy czym w 32% próbek nie stwierdzono w ogóle obecności tych drobnoustrojów. Zdaniem wymienionych badaczy, jedynie kefir wyprodukowany z użyciem ziarn kefirowych zawsze zawierał drożdże, a ich liczba wynosiła 10^5 – 10^6 j.t.k. w 1 ml.

Jeśli chodzi o inne grupy drobnoustrojów, to w obowiązującej dotąd, chociaż wydanej już dość dawno krajowej normie dotyczącej fermentowanych napojów mlecznych [10], są zawarte jedynie wymagania co do bakterii z grupy coli, jako wskaźnika jakości higienicznej. Bakterie te mają być nieobecne w 0,01 cm³ zarówno jogurtu jak i kefiru. O ile w I serii badań tylko część próbek kefiru i jogurtu spełniało podane wymagania

to w II serii – już 100% badanych próbek nie zawierało bakterii z grupy coli w 0,01 g, a 87% i 97% odpowiednio – nawet w 1,0 g. Produkty, w których stwierdzono obecność bakterii z grupy coli, pochodziły z 2 – 3 małych, starszych zakładów mleczarskich.

Biorąc pod uwagę proponowane w normie FAO/WHO [2] zwiększone wymagania co do dopuszczalnej w 1 g liczby bakterii z grupy coli ($n = 5$, $m = 0$, $M = 5$, $c = 2$) należy sądzić, że po wprowadzeniu podobnych wymagań w naszym kraju spełnienie ich nie będzie sprawiało trudności dla większości zakładów mleczarskich. Również inne badania krajowe wskazują na zmniejszenie się stopnia zanieczyszczenia tych produktów bakteriami z grupy coli [5, 9, 15]. Np. *Waliszewska* i in. [15] wykazali, że ok. 2,8% próbek mlecznych napojów fermentowanych badanych w roku 1993, a 12 – 14% badanych w latach 1994 i 1996 nie spełniało pod tym względem wymagań normy. Z kolei wszystkie 202 próbki badane w roku 1995 nie budziły zastrzeżeń. *Kisielewska* i in. [5] w nieco późniejszych badaniach jogurtów owocowych pochodzących z 5 zakładów mleczarskich zaobserwowali obecność bakterii z grupy coli tylko w jednej próbce. *Leska* [6] po przebadaniu 39 próbek kefiru i 71 próbek jogurtu stwierdziła tylko w 5% i 3% próbek odpowiednio większy niż dopuszczalny poziom zanieczyszczenia bakteriami z grupy coli.

W niniejszej pracy poza bakteriami z grupy coli oznaczano także *Escherichia coli*. Gatunek ten jest bowiem uznawany za wskaźnik zanieczyszczenia fekalnego produktów spożywczych, jednakże wymagania co do jego dopuszczalnej liczby nie zostały ustalone nawet w wymaganiach międzynarodowych. W produktach mleczarskich *E. coli* może występować przy nieprzestrzeganiu określonych zasad mycia i dezynfekcji urządzeń (w zakładach mleczarskich możliwym źródłem zanieczyszczenia jest mleko surowe). Obecność tego gatunku stwierdzono w kefirze analizowanym w 1995 r., natomiast nie występował on w 0,1 g jogurtu. W II serii badań nie oznaczano już *E. coli* ze względu na brak bakterii z grupy coli w 1 g prawie w 87% analizowanych próbek kefiru i 100% próbek jogurtu. Dane te świadczą o znaczącej poprawie jakości mikrobiologicznej fermentowanych napojów mlecznych na przestrzeni ostatnich 6 lat.

Do drobnoustrojów również wskazujących na poziom higieny produkcji należą enterokoki [14] oraz pleśnie, a w jogurcie także drożdże.

Oznaczenia liczby enterokoków w/g normy w I serii badań wykazały ich obecność tylko w kefirze (tab. I i II), lecz w większości próbek ich liczba nie przekraczała 10^3 j.t.k. w 1 g. W II serii enterokoków już nie oznaczano.

W kefirze mikroflorę niepożądaną stanowią tylko pleśnie. Występowały one, nawet w znacznej liczbie, w próbkach analizowanych w I serii badań, natomiast 100% próbek kefiru badanego w II serii nie zawierało pleśni w 0,1 g.

Pleśnie i drożdże występowały w części próbek jogurtu badanych w I i II serii. Były to głównie drożdże i pochodziły prawdopodobnie z zastosowanych dodatków smakowych (przetwory owocowe). W celu zupełnego wyeliminowania tych drobnoustrojów konieczna jest staranna kontrola jakości wszystkich dodatków stosowanych w produkcji jogurtu.

Oznaczany w niniejszej pracy *Bacillus cereus* jest gatunkiem reprezentującym bakterie przetrwalnikujące pochodzące z mleka surowego. Może być więc uznany za wskaźnik jakości higienicznej tego surowca. Przetrwalniki tego gatunku nie giną pod-

czas pasteryzacji i przechodzą do mleka przeznaczonego na napoje. W toku produkcji fermentowanych napojów mlecznych *B. cereus* na ogół nie rozmnaża się ze względu na wzrastającą kwasowość środowiska, która też powoduje prawdopodobnie zniszczenie części przetrwalników. Część przetrwalników jednak pozostaje w gotowym produkcie, w którym podczas przechowywania stopniowo ginie [17]. Dane tabeli I i II wskazujące na mniejsze zanieczyszczenie przez *B. cereus* zarówno kefiru jak i jogurtu analizowanego w II niż I serii badań upoważniają do wnioskowania o znacznej poprawie jakości surowca i zmniejszeniu w nim liczby przetrwalników *B. cereus*.

Jeśli chodzi o grupę drobnoustrojów określonych jako zanieczyszczające [4], to brak jest wymagań w normie FAO/WHO co do obecności tej grupy w napojach fermentowanych, jednak metoda ich oznaczania jest podana w normie Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej [4]. W trakcie wykonywania badań w niniejszej pracy zaobserwowano, że na wymienionej pożywce tworzą kolonie zarówno bakterie (w tym przetrwalnikujące, pochodzące z surowca), jak też pleśnie i drożdże. W związku z tym nie było możliwe oznaczenie drobnoustrojów zanieczyszczających w kefirze zawierającym drożdże jako mikroflorę charakterystyczną, a nie zanieczyszczającą (tab. I).

Podczas badania jogurtu stwierdzono w pewnej liczbie próbek drobnoustroje zanieczyszczające (tab. II), lecz odsetek próbek od nich wolnych wzrósł 4 – krotnie w II serii badań w porównaniu do I serii, co też potwierdza wyrażony już wyżej pogląd o poprawie jakości fermentowanych napojów mlecznych w ostatnich latach. Należy dodać, że *Kisielewska* i in. [5] bakterie zanieczyszczające wykryli tylko w jednej próbce badanego napoju.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone 2 serie badań (w latach 1995 i 2001) kefiru i jogurtu (naturalnego i z dodatkami smakowymi) znajdujących się na rynku warszawskim (w sumie 61 próbek kefiru i 92 próbki jogurtu) wykazały, że ogólna liczba drobnoustrojów w co najmniej 90% próbek jogurtu i 73% próbek kefiru zawierała się w granicach $10^7 - 10^9$ j.t.k. w 1 g i próbki te spełniały wymagania normy FAO/WHO. W kefirze dominującą grupę stanowiły mezofilne paciorkowce mlekowe, a w jogurcie – *S. thermophilus*. Liczba *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* w 40% próbek jogurtu (analizowanego w 2001 r.) wynosiła poniżej 10^7 j.t.k. w 1 g.

Na przestrzeni ostatnich 6 lat nastąpiła znaczna poprawa jakości bakteriologicznej badanych napojów. Wyrazem tego było znaczne zmniejszenie stopnia zanieczyszczenia bakteriami z grupy coli (w ponad 86% próbek kefiru i 97% próbek jogurtu badanych w 2001 r. bakterie te były nieobecne w 1,0 g) oraz *B. cereus* i pleśniami, a w jogurcie – także drożdżami (w większości próbek nieobecne w 0,1 g).

Ok. 48% próbek kefiru nie zawierało drożdży w 0,01 g i pod tym względem próbki te nie spełniały wymagań normy FAO/WHO.

I. Molska, R. Nowosielska, I. Frelík

THE CHANGES IN MICROBIOLOGICAL QUALITY OF KEFIR AND YOGHURT ON THE WARSAW MARKET IN THE YEARS 1995–2001

SUMMARY

The microbiological quality of kefir (61 samples) and yoghurt (92 samples) purchased in retail network in Warsaw in the years 1995 and 2001 has been examined. The total number of bacteria in at least 90% of yoghurt and 73% of kefir was in the range $10^7 - 10^9$ c.f.u. in 1g. The dominating group of bacteria in kefir were mesophilic lactic acid streptococci and in yoghurt (analysed in the year 2001) – *S. thermophilus*. The number of *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* in 40% of samples was $< 10^7$ – in 1 g.

The increment of microbiological quality of the examined fermented milks has been observed. More than 86% of kefir and 97% of yoghurt analysed in 2001 were free from coliform bacteria, most of them free from *B. cereus*, moulds and yoghurt – also from yeasts.

About 48% of kefir samples didn't fulfilled the requirements of FAO/WHO requirements concerning the number of yeasts.

PIŚMIENNICTWO

1. Dairy processing handbook. Tetra – Pak Processing System AB, Lund 1995, s. 238.
2. FAO/WHO Proposed Revised Standard for Fermented Milks. Alinorm 01/11, 2000, Appendix VII.
3. Fermented milk products. IDF D – Doc. 316, 1997.
4. FIL/IDF Provisional Standard 153, 1991. Butter, fermented milks, and fresh cheese. Enumeration of contaminating microorganisms. Colony count technique at 30°C.
5. Kisielewska E., Janicka J., Szelwa B.: Analiza mikrobiologiczna i sensoryczna serków termizowanych i jogurtów owocowych. XXVIII Sesja Naukowa KTCHZ, Gdańsk 1997, 63.
6. Lęska A.: Zanieczyszczenie mikrobiologiczne mleka i przetworów mleczarskich. Życie Weteryn. 3, 184–186.
7. Microbiology Manual, Merck, Darmstadt, 1994.
8. Molska I., Kazimierzczak A., Nowosielska R.: Jakość mikrobiologiczna wybranych fermentowanych przetworów mleczarskich. Konferencja Naukowa. Bezpieczeństwo mikrobiologiczne produkcji żywności. Warszawa 1997, 146.
9. Pluta A., Berthold A., Ziarno M., Molska I., Frelík I., Nowosielska R., Orzechowska K.: Jakość mikrobiologiczna jogurtów krajowych. Przem. Spoż. 2001, 55, 7–39.
10. Polska Norma PN – 83/A – 86061. Mleko i przetwory mleczne. Napoje mleczne fermentowane.
11. Polska Norma PN – 93/A – 86034. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Arkusze: 07, 08, 10, 14.
12. Polska Norma PN – A – 86034 – 15. Badania mikrobiologiczne. Jogurt – oznaczanie charakterystycznych drobnoustrojów.
13. Renner E., Drathen M.: Untersuchungen über Qualitätskriterien von Kefir. Deutsche Milchwirtschaft 1986, 31, 974–977.
14. Waliszewska D., Sawicka-Wrzonek K., Maciak T.: Ocena mikrobiologiczna przetworów mleczarskich w świetle badań ZHW w Warszawie. Przegl. Mlecz. 1997, 11, 393–395.
15. Vanas V.: Importance of streptococci in fermented dairy products as indication of quality assurance. FIL/IDF E – Doc. 432. Appendix 1997.
16. Wielgosz M.: Napoje mleczne fermentowane a normy. Przegl. Mlecz. 1998, 11, s. 13, 54.

17. Ziarno M., Kazimierzak A.: Przewidywalność *Bacillus cereus* w czasie wyrobu i przechowywania fermentowanych napojów mlecznych. XXIX Sesja Naukowa KTCHZ PAN, Olsztyn, 1998, 200.

Otrzymano: 2002.07.14