

Dr inż Barbara SIONEK

Department of Food Gastronomy and Food Hygiene, Institute of Human Nutrition Sciences,  
Warsaw University of Life Sciences – WULS, Nowoursynowska St. 159C, 02-776 Warsaw, Poland  
Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności,  
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa, Polska

## OCENA MOŻLIWOŚCI PRODUKCJI FERMENTOWANEGO SOKU Z BURAKA ĆWIKŁOWEGO Z DODATKIEM SZCZEPÓW BAKTERII PROBIOTYCZNYCH I POTENCJALNIE PROBIOTYCZNYCH RODZAJU *LACTOBACILLUS*<sup>®</sup>

Assessment of production possibilities of fermented beet root juice with the addition of potentially probiotic *Lactobacillus* strains<sup>®</sup>

*W ostatnich czasach obserwowany jest wzrost zainteresowania konsumentów żywnością funkcjonalną. Badacze z całego świata pracują nad otrzymaniem różnorodnych produktów probiotycznych, w tym pochodzenia roślinnego. Poszukuje się nowych mikroorganizmów potencjalnie probiotycznych, najczęściej izolowanych z żywności spontanicznie fermentowanej. Celem pracy była ocena możliwości zastosowania bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych do produkcji fermentowanego soku z buraka ćwikłowego, akceptowanego sensorycznie i zawierającego odpowiednią liczbę żywych komórek bakterii. Wyselekcjonowano szczep *Lactobacillus rhamnosus* K4, który charakteryzował się wysoką liczbą komórek po procesie fermentacji. Uzyskano produkt o zadowalającej jakości sensorycznej podczas przechowywania. Sok przechowywany w 4°C odznaczał się większą stabilnością cech smaku i jakości ogólnej od soku przechowywanego w 15°C. Przeprowadzone badania wskazują na możliwość zastosowania potencjalnie probiotycznego szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 do produkcji soku z buraka ćwikłowego posiadającego korzystne cechy sensoryczne i o odpowiedniej liczbie komórek, pozwalającej na uznanie produktu za probiotyczny.*

**Słowa kluczowe:** probiotyk, *Lactobacillus*, sok z buraka, przeżywalność.

*Recently, there has been an increase in consumer interest in functional food. Researchers from all around the world are working to obtain a variety of probiotic products, including plant origin. New potentially probiotic microorganisms are introduced, most often isolated from spontaneously fermented foods. The aim of the study was to produce a beetroot juice with addition of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. The assessment of number of potentially probiotic bacteria cells and sensory properties were performed after fermentation and during 21 days of storage test. Following the results obtained after fermentation *Lactobacillus rhamnosus* K4 strain was selected for the storage test. The sensory quality of tested beetroot juice was satisfactory during storage. The juice stored at temperature 4°C have higher overall quality than at 15°C. Studies have shown the possibility of producing beetroot juice with satisfactory sensory quality and sufficient cells numbers of potentially probiotic *Lactobacillus rhamnosus* K4 to allow the product to be considered probiotic.*

**Key words:** probiotic, *Lactobacillus*, beet root juice, viability.

### WPROWADZENIE

Żywność zawierająca mikroorganizmy probiotyczne zyskuje coraz większą popularność wśród konsumentów. Ugruntowaną pozycję na rynku mają produkty nabiałowe. Nie są one jednak polecane wszystkim konsumentom. Istotne ograniczenia dotyczą osób z nietolerancją laktozy, alergiami na białka mleka oraz preferujących wegetarianizm. Ponadto wysoka zawartość w niektórych produktach mlecznych tłuszczu i cholesterolu, eliminuje je z diet niskocholesterolowych, zalecanych np. pacjentom ze schorzeniami układu sercowo – naczyniowego. Cennym uzupełnieniem i alternatywą dla wyżej wymienionych grup konsumentów może być żywność pochodzenia roślinnego zawierająca mikroorganizmy probiotyczne. Zgodnie z wymaganiami FAO/WHO probiotyki

powinny pochodzić z przewodu pokarmowego człowieka. Obecnie, oprócz uznanych drobnoustrojów, poszukuje się nowych mikroorganizmów potencjalnie probiotycznych, najczęściej izolowanych z żywności spontanicznie fermentowanej. Liczne prace badawcze wykazały, że potencjalnie probiotyczne szczepy *Lactobacillus* (LAB) mogą być izolowane nie tylko z przewodu pokarmowego ludzi, ale także z fermentowanej żywności [3, 6, 9, 13, 22]. Doniesienia naukowe [4, 10, 20] potwierdzają, że bakterie izolowane z produktów żywnościowych również mogą zasiedlać jelito grube człowieka i wpływać na jego prawidłowe funkcjonowanie, a często wykazują lepszą przydatność technologiczną. Bakterie LAB mają wiele pożądanych właściwości, które mogą mieć znaczenie w produkcji żywności fermentowanej ze

względu na efekt biokonserwacji, tworzenia odpowiednich cech sensorycznych gotowych wyrobów oraz korzyści zdrowotnych dla konsumenta.

Właściwości probiotyczne LAB są szczezopależne i nie można ich przenosić na inne rodzaje i gatunki. Podstawowym zagadnieniem jest więc ocena poszczególnych szczepów *Lactobacillus*, głównie w zakresie przeżywalności przechowalniczej w produktach żywnościowych [12]. Liczba bakterii ma kluczowe znaczenie dla uzyskania prozdrowotnego efektu probiotyków. Wprowadzenie na rynek mikroorganizmów pochodzących ze spontanicznie fermentowanej żywności, może zwiększyć różnorodność oferowanych produktów żywności funkcjonalnej oraz ich dostępność dla konsumentów. W pracy podjęto próbę wyprodukowania soku z buraka ćwikłowego z dodatkiem szczepu bakterii mlekowych, potencjalnie probiotycznych i probiotycznych. Uważa się, że spożycie buraków ćwikłowych przynosi szereg korzyści zdrowotnych, takich jak m. in. przeciwdziałanie miażdżycy, obniżanie poziomu cholesterolu oraz wpływa na podwyższenie odporności immunologicznej, działanie antystresowe, spowalnianie procesów starzenia. Buraki zalecane są osobom z nadciśnieniem tętniczym, nadkwasotą żołądka oraz w leczeniu otyłości [5]. Warzywo to jest zasobne w składniki mineralne, takie jak potas, żelazo, wapń oraz magnez. Dodatkowo zawiera mikroelementy: cynk, mangan, miedź, kobalt. Buraki ćwikłowe zawierają znaczną ilość folianów (90-95 µg/100g surowego produktu). Analizując wartość odżywcza buraka ćwikłowego można zaobserwować stosunkowo dużą zawartość węglowodanów (10%), z czego przeważającym składnikiem jest sacharoza (6,5%), która nadaje warzywu słodki smak. Błonnik stanowi 1,8 g/100g surowego produktu. Burak ćwikłowy zawiera witaminę C oraz witaminy z grupy B. Obecnie w Polsce burak ćwikłowy nadal nie stracił na popularności, zaraz po marchwi jest najczęściej uprawianym warzywem korzeniowym, a jego roczne spożycie wynosi 12–14 kg w przeliczeniu na jednego mieszkańca [2]. W Unii Europejskiej uprawa polskiego buraka ćwikłowego stanowi aż 85% całej produkcji, co między innymi klasyfikuje Polskę na czwartym miejscu produkcji warzyw ogółem w Europie [11]. Sok z buraka ćwikłowego z dodatkiem mikroorganizmów potencjalnie probiotycznych wykazuje cechy synbiotyczne i łączy zalety żywieniowe z efektem prozdrowotnym probiotyków, co wydaje się szczególnie korzystne dla konsumentów [12].

**Celem artykułu jest przedstawienie uzyskanych wyników badań dotyczących oceny możliwości zastosowania bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych do produkcji fermentowanego soku z buraka ćwikłowego, akceptowanego sensorycznie i zawierającego odpowiednią liczbę żywych komórek bakterii.**

## MATERIAŁ DO BADAŃ

Materiał do badań stanowił sok z buraków ćwikłowych (*Beta vulgaris* L. subs. *vulgaris*), odmiany podłużnej, pochodzący z upraw SGGW w Warszawie. Buraki przechowywano w temperaturze 4°C do momentu użycia. W badaniu zastosowano kultury starterowe probiotyczne i potencjalnie probiotyczne. Probiotyczne szczepy bakterii kwasu mlekowego: *Lactobacillus acidophilus* CH-2, *Lactobacillus acidophilus* CH-5 pochodziły z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej. Szczepy bakterii *Lactobacillus rhamnosus* K4, *Lactobacillus plantarum* O21,

*Lactobacillus rhamnosus* K3 i *Lactobacillus casei* O12 zostały wyizolowane z kiszzonej kapusty i ogórków metodą spontanicznej fermentacji. Wykazywały wybrane właściwości probiotyczne, m.in. zdolność do przeżycia w warunkach panujących w przewodzie pokarmowym oraz adhezji do ścianki jelita [26] i pochodziły z kolekcji mikroorganizmów Zakładu Higieny i Zarządzania Jakością Żywności SGGW w Warszawie. Sok z buraków uzyskano w warunkach laboratoryjnych z zastosowaniem sokowirówki Kenwood, Wielka Brytania. Do soku dodano sacharozę w ilości 2% (przy wyborze szczepu do fermentacji) i 7% (na pozostałych etapach badań) a następnie, w celu pozbycia się mikroflory natywnej, pasteryzowano przez 15 min w temperaturze 90°C. Otrzymany sok schłodzono do 40°C i dodano inokulum w ilości 1 ml hodowli na 99 ml soku. Liczba bakterii w hodowli wyjściowej, która służyła do zaszczepienia soku wynosiła 10<sup>9</sup> jtk/ml.

Kultury bakteryjne przechowywano w temperaturze 80°C w bulionie MRS (Merck, Niemcy) z 20% dodatkiem glicerolu. Szczepy ożywiano przez dwukrotny pasaż na bulionie MRS z dodatkiem 1% inokulum i inkubację w temp. 37°C przez 24 godz. Po inkubacji podłoże hodowlane odwirowano (5 min., 10 000 obr./min) i zastąpiono je jałowym sokiem z buraka. Tak przygotowane szczepy posłużyły do fermentacji soku. Drugi etap badań polegał na zaszczepieniu jałowego soku z buraka ćwikłowego wybranym szczepem *Lb. rhamnosus* K4 i poddaniu procesowi fermentacji skróconej do 10 godzin, w temperaturze 37°C. Następnie sok przechowywano w temp. 4 i 15°C przez 21 dni, okresowo pobierając próbki do badań.

## METODY BADAŃ

Liczbę komórek bakterii kwasu mlekowego oznaczono metodą płytkową wgłębną. Z soku pobierano 1 ml i dodawano do 9 ml sterylnej wody peptonowej (Biokar, Polska), następnie wykonywano szereg rozcieńczeń dziesiętnych. Z ostatnich dwu rozcieńczeń, przenoszono 1 ml zawiesiny na płytki Petriego, zalewano upłynnioną pożywką agarową MRS i dokładnie mieszano. Do obliczeń wybierano płytki liczące od 15 do 300 kolonii.

Wyboru szczepu dokonano na podstawie wyników oceny sensorycznej soku metodą skalowania, polegającej na określeniu stopnia pożądalności cech jakościowych: zapachu, smaku, jakości ogólnej [16].

Pomiaru pH dokonywano za pomocą pH metru Elmetron CP 501 (Polska) metodą potencjometryczną z uwzględnieniem temperatury pomiaru [17].

Do oceny jakości sensorycznej soku po fermentacji oraz podczas przechowywania w 6, 12 i 18 dniu zastosowano Metodę Ilościowej Analizy Opisowej (QDA) zgodnie z normą PN-EN ISO 13299:2016-05 [15]. W ocenie sensorycznej brał udział 9-osobowy zespół oceniający, posiadający odpowiednie przeszkolenie i doświadczenie w zakresie metod stosowanych w analizie sensorycznej. Wytypowano 14 wyróżników jakościowych: 5 wyróżników zapachu, 6 wyróżników smaku oraz barwę, klarowność i jakość ogólną. Intensywność wyróżników zaznaczano pionową kreską, na niestrukturowanej skali graficznej [0–10j.u.], miejsce odpowiadające jakości ocenianej próbki [1]. Oceny przeprowadzono w sali spełniającej wymagania PN-EN ISO 8589:2010 [14]. Badania wykonano w dwu powtórzeniach.

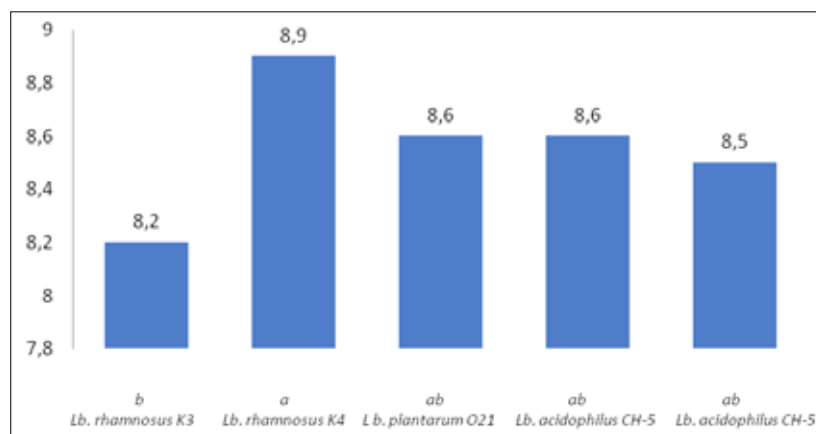
Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w programie Statistica. Do analizowania wyników zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Tukeya na poziomie istotności  $p=0,05$ .

## OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW

W celu wyselekcjonowania optymalnego szczepu bakterii, fermentowano (24 godz./37°C) sok z buraka ćwikłowego 5 szczepami bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych. Bakterie przeprowadziły proces fermentacji, o czym świadczy obniżenie pH badanych soków z 6,12 (świeżo wyciśnięty sok z buraka ćwikłowego) i 6,08 (wartość po pasteryzacji) do ok. 4. Najniższe pH (4,15) osiągnięto w przypadku soku zaszczerpionego *Lb. acidophilus* LA-5, najwyższe (4,56) dla soku z użyciem *Lb. rhamnosus* K4. Dimitrovski i wsp. (2016) otrzymali symbiotyczny sok ze słonecznika bulwiastego [7]. Sok zaszczerpiono *Lb. plantarum* PCS26 i fermentowano w 37°C przez 30 godzin. Wartość pH zmniejszyła się z 6,5 do 4,6. W badanym soku, po procesie fermentacji w tej samej temperaturze uzyskano podobne obniżenie wartości pH soku ze szczepem *Lb. plantarum* O21 z 6,08 do 4,34. Sionek i wsp. (2016) w badaniach probiotycznego soku z kapusty z dodatkiem soku z marchwi do fermentacji wykorzystali szczep *Lb. rhamnosus* K4 [19]. Sok fermentowano w różnych warunkach czasowo-temperaturowych. Dla procesu przeprowadzonego w 37°C przez 24 h otrzymano średnią wartość 3,8. Różnice wartości pH w badaniach mogą wynikać z właściwości poszczególnych szczepów i odmiennych matryc roślinnych.

Liczba komórek LAB po zaszczerpieniu badanych soków wynosiła ok. 7,5 log jtk/ml. W wyniku procesu fermentacji nastąpił wzrost liczby komórek bakterii we wszystkich sokach o ponad 1 rząd logarytmiczny (rys.1). Największą liczebnością komórek charakteryzował się sok z dodatkiem szczepu *L. rhamnosus* K4 (8,9 log jtk/ml), najniższą – z dodatkiem *Lb. rhamnosus* K3 (8,2 log/ml). Wzrost liczby komórek może świadczyć o odpowiedniej zasobności matrycy, jaką był sok z buraka z dodatkiem sacharozy i dobrej adaptacji szczepu do środowiska. Podobne wyniki uzyskali Yoon i Woodans (2005), którzy wyprodukowali sok z buraka ćwikłowego z dodatkiem czterech szczepów bakterii fermentacji mlekowej [23]. Próbkę fermentowano w 30°C przez 24, 48 i 72 h. Po 24-godzinnej fermentacji, sok z dodatkiem *Lb. acidophilus* LA 39 charakteryzował się zbliżoną liczebnością komórek, jak sok z użyciem *Lb. plantarum* C3, odpowiednio: 8,4 oraz 8,2 log jtk/ml.

Chwastek i wsp. (2016) wyprodukowali probiotyczny sok z buraka ćwikłowego z dodatkiem syropu z sacharozy, uzyskanej w wyniku trzykrotnego odwodnienia osmotycznego borówki wysokiej [3]. W badaniach korzystano z pięciu szczepów, między innymi z *Lb. rhamnosus* GG ATCC 53105. Procesowi fermentacji (5 dni w 30°C) poddano czysty sok z buraka ćwikłowego oraz sok z dodatkiem syropu



**Rys. 1.** Średnia liczba komórek bakterii [log jtk/ml] po 24-godzinnej fermentacji w 37°C soku z buraka ćwikłowego z dodatkiem 2% sacharozy, z użyciem różnych szczepów bakterii kwasu mlekowego. Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ( $p<0,05$ ).

**Fig. 1.** The average number of various strains of lactic acid bacteria [log cfu/ml] after 24-hour fermentation in 37°C in beet root juice with the addition of 2% saccharose. Average values marked with the same letters do not differ statistically significantly ( $p<0,05$ ).

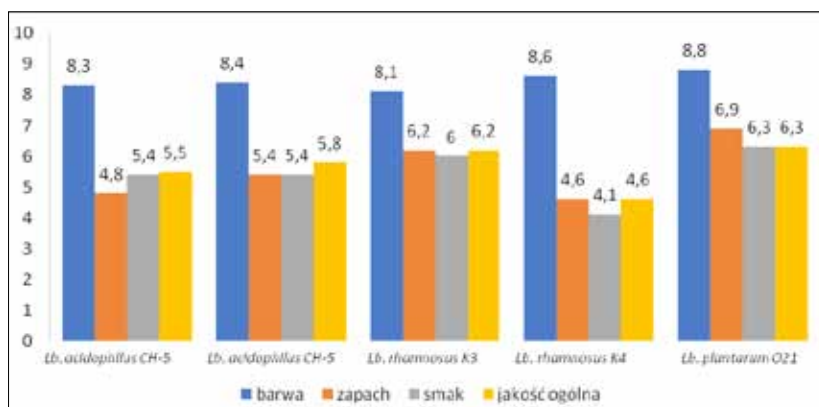
**Źródło:** Badania własne

**Source:** The own study

z sacharozy. Sok z buraka charakteryzował się liczebnością bakterii fermentacji mlekowej na poziomie 8,5 log jtk/cm<sup>3</sup>, zaś dodatek syropu spowodował spadek liczebności bakterii w zależności od ilości dodatku.

Jako kryterium doboru szczepu do fermentacji wzięto pod uwagę wyniki oceny sensorycznej soku z buraka fermentowanego różnymi szczepami. Odpowiedni dobór szczepów pozwala bowiem uzyskać produkt o akceptowanych cechach sensorycznych [21]. Wyniki oceny sensorycznej metodą skalowania wskazują, że wszystkie badane soki uzyskały wysokie oceny pożądalności ocenianych cech (rys.2). Najwyższą pożądalnością zapachu wykazała się próba soku z użyciem *Lb. plantarum* O21 (6,9 j.u.), najniższą - zaszczerpiona *Lb. acidophilus* CH-5. Pod względem jakości ogólnej i pożądalności smaku najlepiej została oceniona próba z użyciem *Lb. plantarum* O21 i *Lb.rhamnosus* K4 (odpowiednio 6,3 i 6,2 j.u.; 6,3 i 6,0 j.u.). Analiza statystyczna wykazała brak istotnych różnic w preferencji wyboru fermentowanego soku z buraka zaszczerpionego pięcioma szczepami, jedynie zapach soku z dodatkiem *Lb. plantarum* O21 został oceniony statystycznie wyżej w porównaniu z pozostałymi próbami. Ze względu na podobne wyniki oceny sensorycznej do dalszych badań wybrano szczep *Lb. rhamnosus* K4, który charakteryzował się najwyższą średnią liczebnością bakterii w fermentowanym soku.

W drugim etapie, po zaszczerpieniu soku z buraka wybranymi bakteriami szczepu *Lb. rhamnosus* K4, skrócono czas fermentacji przeprowadzanej w temp. 37 °C do 10 godz. Uzyskano istotny statystycznie wzrost średniej liczby bakterii z 7,6 log jtk/ml przed fermentacją do 9,1 log jtk/ml ( $p<0,05$ ). Skrócenie czasu procesu fermentacji korzystnie wpłynęło na liczbę bakterii, co jest zgodne z wynikami innych badań. Sionek i wsp. (2016) przeprowadzili fermentację napoju probiotycznego (*Lb. rhamnosus* K4) z kapusty z dodatkiem soku

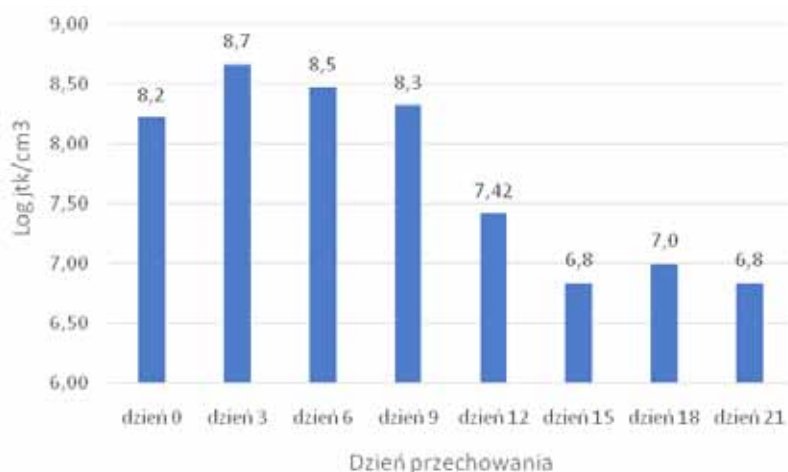


Rys. 2. Ocena sensoryczna fermentowanego soku z buraka ćwikłowego różnymi szczepami bakterii probiotycznych lub potencjalnie probiotycznych, z dodatkiem 2% sacharozy. Metoda skalowania, 10-najlepszy, 0-najgorszy.

Fig. 2. Sensory evaluation of fermented beet root juice with different strains of probiotic or potentially probiotic bacteria, with the addition of 2% saccharose. Scalling method, 10-the best, 0-worst.

Źródło: Badania własne

Source: The own study



Rys. 3. Zmiany średniej liczby komórek *Lb. rhamnosus* K4 w fermentowanym soku z buraka ćwikłowego z dodatkiem 7% sacharozy, przechowywanego 21 dni w 4°C.

Fig. 3. Change in the average number of *Lb. rhamnosus* K4 cells in fermented beet root juice with the addition of 7% saccharose, stored 21 days in 4°C.

Źródło: Badania własne

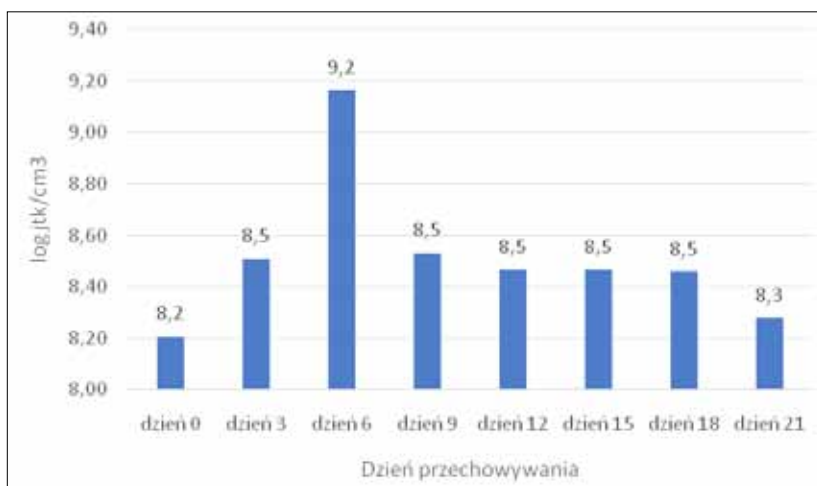
Source: The own study

z marchwi w różnych warunkach czasowo-temperaturowych [19]. Wykazano, że zastosowanie krótkiego, 6 godzinowego czasu fermentacji powodowało uzyskanie wysokiej liczby bakterii (9,1 i 8,4 log jtk/ml) i najkorzystniejszych cech smakowo-zapachowych. Zastosowane warunki fermentacji pozwoliły na otrzymanie soku o zadowalających cechach sensorycznych. Podobne wyniki uzyskała Zielińska (2005), poddając ocenie sojowy napój probiotyczny (z dodatkiem *Lb. casei* KN291), fermentowany w różnych warunkach czasowo-temperaturowych [25]. Napój inkubowany przez 6 godzin w 37°C został oceniony jako najatrakcyjniejszy pod względem smaku, zapachu, jak i oceny ogólnej z pośród badanych soków.

W ostatnim etapie badań przeprowadzono 21 dniowy test przechowalniczy w temp. 4°C i 15°C. Zgodnie z wymaganiami FAO/WHO minimalna liczba żywych komórek bakterii, dotycząca mikroflory podstawowej (naturalnie występującej) i technicznej (dodanej w procesie technologicznych) powinna wynosić w całym okresie przechowywania nie mniej niż  $10^6$  jtk/ml aby można je było uznać za probiotyczne [8]. W czasie 21 dni przechowywania w temp. 4°C i 15°C sok z buraka ćwikłowego zawierał odpowiednią liczbę bakterii, która spełniała minimum terapeutyczne produktów probiotycznych. Największą liczbę komórek *Lb. rhamnosus* K4 zaobserwowano trzeciego dnia przechowywania (8,7 log jtk/ml), po czym liczebność malała. W 18 dniu przechowywania nastąpił nieznaczny wzrost liczebności bakterii fermentacji mlekowej (z 6,8 do 7,0 log jtk/ml), następnie w 21 dniu liczba komórek obniżyła się do 6,8 log jtk/ml. Zmiana liczebności bakterii od 12 do 21 dnia była istotna statystycznie (rys. 3). Podobne wyniki uzyskał Yoon i wsp. (2006) dla probiotycznego soku z kapusty [24]. Początkowa liczebność komórek *Lb. plantarum* C3 w soku wynosiła 5,9 log jtk/ml, po 24 h wzrosła do 8,9 log jtk/ml, a po 48 h do 9,2 log jtk/ml. Po 72 godzinach fermentacji, napój przechowywano w 4°C przez cztery tygodnie. Sharma i Mishra (2013) poszukując alternatywnej roślinnej matrycy stworzyli probiotyczny napój z soku przepętkli ogórkowatej, tykwy pospolitej i marchwi [18]. Wyciśnięte soki wymieszano w równych proporcjach i poddano fermentacji (w temp. 30°C przez 72 h) z użyciem szczepów probiotycznych. Fermentowane napoje przechowywano przez 4 tygodnie w temp. 4°C. Wszystkie analizowane szczepy w trakcie przechowywania traciły na liczebności komórek *Lb. plantarum* NCDC 414. W pierwszym tygodniu liczba komórek badanego szczepu wynosiła 8,1 log jtk/ml, zaś po trzecim tygodniu osiągnęła wartość 7,4 log jtk/ml.

Największy średni wzrost liczby komórek *Lb. rhamnosus* K4 odnotowano w szóstym dniu przechowywania (9,2 log jtk/ml) i jest to istotna statystycznie wartość. Od 9 do 21 dnia przechowywania liczba komórek bakterii spadała odpowiednio do 8,5 i 8,3 log jtk/ml (rys. 4). Duży wzrost liczby komórek bakterii zaobserwowany w początkowym okresie przechowywania mógł wynikać z odpowiedniej zasobności matrycy roślinnej.

Zbliżone wyniki uzyskali również inni badacze. Trząskowska i Kołożyn-Krajewska (2010) prowadziły test przechowalniczy fermentowanego soku marchwiowego przez 32 dni w temperaturze 15°C [21]. Średnia liczba komórek bakterii na początku badania wynosiła 9,0 log jtk/ml, w ósmym dniu przechowywania wzrosła do 9,2 log jtk/ml, i obniżyła się do uzyskania 8,8 log jtk/ml.

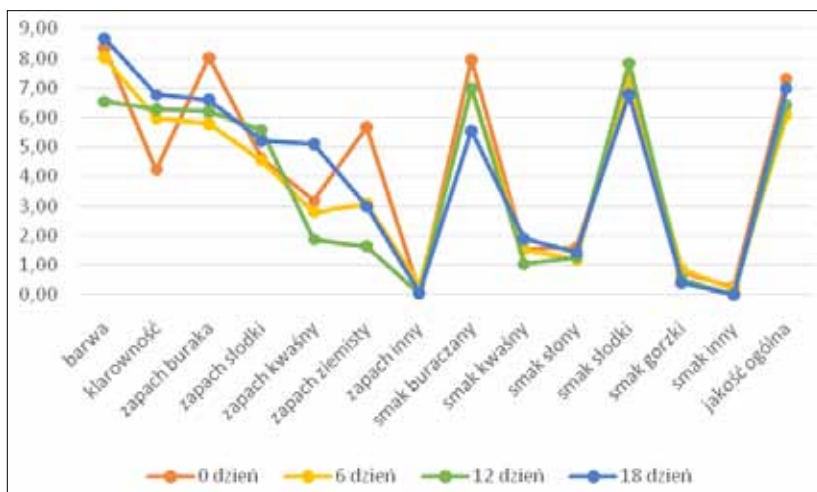


Rys. 4. Zmiany średniej liczby komórek *Lb. rhamnosus* K4 w fermentowanym soku z buraka ćwikłowego z dodatkiem 7% sacharozy, przechowywanego 21 dni w 15°C.

Fig. 4. Change in the average number of *Lb. rhamnosus* K4 cells in fermented beet root juice with the addition of 7% saccharose, stored 21 days in 15°C.

Źródło: Badania własne

Source: The own study



Rys. 5. Wartości średnie badanych wyróżników fermentowanego soku z buraka ćwikłowego z dodatkiem 7% sacharozy, zaszczerpionego *Lb. rhamnosus* K4 i przechowywanego w temperaturze 4°C przez 18 dni (metoda QDA).

Fig. 5. Average sensory notes of fermented beet root juice with the addition of 7% saccharose, vaccinated *Lb. rhamnosus* K4 and stored at 4°C for 18 days (QDA method).

Źródło: Badania własne

Source: The own study

Wyniki oceny sensorycznej wskazują, że sok przechowywany w 4°C jest produktem stabilnym przez cały okres przechowalniczy, pod względem takich cech jak: smak i jakość ogólna. Stwierdzono wzrost klarowności ocenianych prób w trakcie przechowywania chłodniczego. Można przypuszczać, iż na ocenę klarowności soku mogły wpłynąć drobiny miąższu buraka znajdujące się w analizowanych próbkach. Podczas przechowywania intensywność zapachu buraczanego uległa pogorszeniu z 8,03 j.u. (dzień 0) do 5,78 j.u.

(dzień 6), a następnie nieznacznie polepszeniu. W 8 dniu przechowywania zapach kwaśny był najintensywniej odczuwalny i jest średnią statystycznie istotną. Zapach ziemisty najbardziej wyczuwalny był po fermentacji (dzień 0, różnica istotna statystycznie), zaś w ciągu kolejnych dni przechowywania uległ obniżeniu do 1,64 j.u. Intensywność smaku buraczanego malała wraz z długością przechowywania. W ocenianych próbkach nie wyczuwano obcego zapachu i smaku. Przez cały okres przechowalniczy intensywność smaku słodkiego była wyraźnie wyczuwalna (6,78–7,84 j.u.). Intensywność zapachu oraz smaku buraczanego mają bezpośredni wpływ na jakość ogólną, która utrzymywała się na stosunkowo wysokim poziomie, od 6,07 do 7,30 j.u. (rys. 5).

Probiotyczny sok z buraka ćwikłowego przechowywany w 15°C w porównaniu z sokiem przechowywanym w temperaturze 4°C był produktem wykazującym większe wahania w zakresie stabilności jakościowych cech sensorycznych. Odczuwalność zapachu buraczanego, ziemistego oraz smaku buraczanego malała wraz z wydłużającym się okresem przechowalniczym. Wyżej wymienione cechy są ze sobą silnie powiązane, burak ćwikłowy jest warzywem korzeniowym, który nabiera aromatów ziemistych przez swoisty kontakt z glebą. W trakcie okresu przechowalniczego odczuwalność zapachu słodkiego wzrosła, zaś smaku zmalała. Smak kwaśny najmniej wyczuwalny był po fermentacji (dzień 0: 1,56 j.u.). Zarówno smak, jak i zapach kwaśny był najintensywniej wyczuwalny w 6 dniu przechowywania. W ocenianych próbkach nie zaobserwowano obecności smaku i zapachu obcego. Jakość ogólna uległa znacznemu pogorszeniu z 7,11 po fermentacji do 5,17 j.u. w 6 dniu przechowywania (wartość średnia istotna statystycznie) (rys. 6). Trzaskowska i Kołożyn-Krajewska (2010) otrzymały probiotyczny sok marchwiowy, który przechowywano przez 32 dni w różnych warunkach temperaturowych [21]. Produkt przechowywany w 5°C uzyskał najkorzystniejsze noty i jako jedyny wykazał się zadowalającymi cechami sensorycznymi przez cały okres przechowalniczy. W soku przechowywanym w 15°C, już po ósmym dniu przechowywania nastąpiło znaczne pogorszenie cech smakowo-zapachowych, co klasyfikowało go do produktu nieakceptowalnego sensorycznie.

## PODSUMOWANIE

W wyniku przeprowadzonej selekcji szczepów bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych, do fermentacji soku z buraka ćwikłowego wybrano szczep *Lactobacillus rhamnosus* K4, który uzyskał odpowiednią ilość bakterii i wysokie oceny sensoryczne.

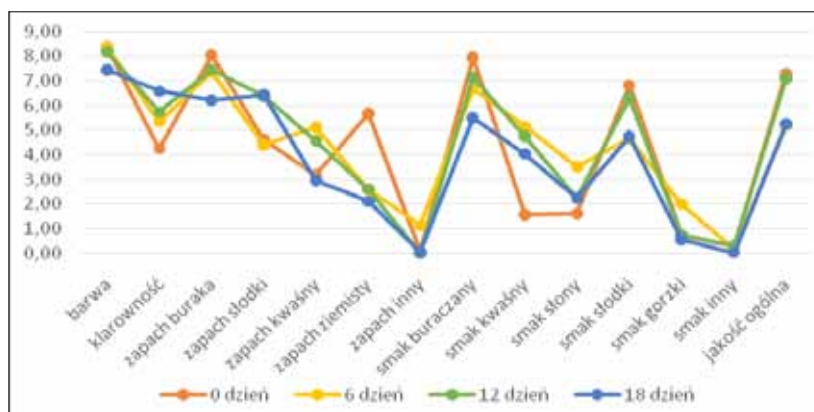
Warunki skróconej fermentacji soku z buraka ćwikłowego 10 godzin w temp 37°C pozwalają na uzyskanie wysokiej liczby bakterii fermentacji mlekowej (powyżej 6 log jtk/ml).

Otrzymany produkt charakteryzował się zadowalającą jakością sensoryczną. Sok przechowywany w 4°C odznaczał się większą stabilnością cech smaku i jakości ogólnej od soku przechowywanego w 15°C. W przeprowadzonych badaniach udowodniono, iż istnieje możliwość produkcji probiotycznego soku z buraka ćwikłowego, o odpowiedniej liczbie komórek bakterii szczepu potencjalnie probiotycznego *Lactobacillus rhamnosus* K4 oraz akceptowalnymi cechami smakowo-zapachowymi.

## CONCLUSIONS

As a result of the selection of probiotic and potentially probiotic bacteria strains, the *Lactobacillus rhamnosus* K4 was selected for fermentation of beet root juice. The juice fermented with this strain had appropriate amount of bacteria cells and achieved high sensory notes.

The short time conditions of fermentation (10 hours at 37°C) applied for beet root juice resulted in high number of lactic acid bacteria (above 6 log cfu / ml). The final product was of satisfactory sensory quality. Juice stored at 4°C was characterized by greater stability of taste and better overall quality



**Rys. 6.** Wartości średnie badanych wyróżników fermentowanego soku z buraka ćwikłowego z dodatkiem 7% sacharozy, zaszczerpionego *Lb. rhamnosus* K4 i przechowywanego w temperaturze 15°C przez 18 dni (metoda QDA).

**Fig. 6.** Average sensory notes of fermented beet root juice with the addition of 7% saccharose, vaccinated *Lb. rhamnosus* K4 and stored at 15°C for 18 days (QDA method).

Źródło: Badania własne

Source: The own study

than juice stored at 15°C. The research showed that there is the possibility of producing probiotic beet root juice with an adequate number of bacterial cells of the potentially probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* K4 and acceptable flavor characteristics.

## REFERENCES

- [1] BARYŁKO-PIKIELNA N., I. MATUSZEWSKA. 2014. „Sensoryczne badania żywności. Podstawy–metody–zastosowania”. Kraków: Wyd. Nauk. PTTŻ.
- [2] BIEGAŃSKA-MARECIK R., J. CZAPSKI, J. BŁASZCZYK, P. BŁASZCZYK. 2007. „Określenie wpływu odmiany i procesu technologicznego na występowanie smaku gorzkiego w buraku ćwikłowym”. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* (3) 52: 62–70.
- [3] CHWASTEK A., R. KLEWICKA, R. KLEWICKI, M. SÓJKA. 2016. „Lactic acid fermentation of red beet juice supplemented with waste high bush blueberry – sucrose osmotic syrup as a method of probiotic beverage production”. *Journal of Food Processing and Preservation* 40: 780–789.
- [4] CINTIA L.R., L. THORSEN, R.F. SCHWAN, L. JESPERSEN. 2013. „Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Lacto-bacillus brevis* isolates from Brazilian food products”. *Food Microbiology* 36: 22–2.
- [5] CZERWIŃSKA D. 2005. „Wszeczhronny jak burak”. *Przegląd Gastronomiczny* 11: 10–11.
- [6] DAS I.J., B.K. MISHRA, S. HATI. 2020. „Techno–functional characterization of indigenous *Lactobacillus* isolates from the traditional fermented foods of Meghalaya”. *Current Research in Food Science* 3: 9–18.

## REFERENCES

- [1] BARYŁKO-PIKIELNA N., I. MATUSZEWSKA. 2014. „Sensoryczne badania żywności. Podstawy–metody–zastosowania”. Kraków: Wyd. Nauk. PTTŻ.
- [2] BIEGANSKA-MARECIK R., J. CZAPSKI, J. BŁASZCZYK, P. BŁASZCZYK. 2007. „Określenie wpływu odmiany i procesu technologicznego na występowanie smaku gorzkiego w buraku ćwikłowym”. *Zywnosc. Nauka. Technologia. Jakosc.* (3) 52: 62–70.
- [3] CHWASTEK A., R. KLEWICKA, R. KLEWICKI, M. SOJKA. 2016. „Lactic acid fermentation of red beet juice supplemented with waste high bush blueberry – sucrose osmotic syrup as a method of probiotic beverage production”. *Journal of Food Processing and Preservation* 40: 780–789.
- [4] CINTIA L.R., L. THORSEN, R.F. SCHWAN, L. JESPERSEN. 2013. „Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Lacto-bacillus brevis* isolates from Brazilian food products”. *Food Microbiology* 36: 22–2.
- [5] CZERWINSKA D. 2005. „Wszeczhronny jak burak”. *Przegląd Gastronomiczny* 11: 10–11.
- [6] DAS I.J., B.K. MISHRA, S. HATI. 2020. „Techno–functional characterization of indigenous *Lactobacillus* isolates from the traditional fermented foods of Meghalaya”. *Current Research in Food Science* 3: 9–18.

- [7] **DIMITROVSKI D., E. VELICKOVA, M. DIMITROVSKA, T. LANGERHOLC, E. WINKELHAUSENE. 2016.** „Synbiotic functional drink from Jerusalem artichoke juice fermented by probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS26”. *Journal of Science and Technology* (53) 1: 766–774.
- [8] **FAO/WHO. 2002.** „Guidelines for the evaluation of probiotics in food, Joint Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Meeting Report, Londyn, Ontario, Kanada” 85: 1–56.
- [9] **HAN Q., B. KONG, Q. CHEN, F. SUN, H. ZHANG. 2017.** „In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics”. *Journal of Functional Foods* 32: 391–400.
- [10] **JULIUS M., U. SCHILLINGER, C. GUIGAS, C. FRANZ, P.M. KUTIMA, S.H. MBUGUA, H.K. SHIM, W.H. HOLZAPFEL. 2008.** „Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. from traditional Maasai fermented milk products in Kenya”. *International Journal of Food Microbiology* (126) 1–2: 57–64.
- [11] **KAZIMIERCZAK R., E. HALLMANN, V. TRÉSCINSKA, E. REMBIAŁKOWSKA. 2011.** „Ocena wartości odżywczej dwóch odmian buraków ćwikłowych (*Beta vulgaris*) z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej”. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* (56) 3: 206–210.
- [12] **KUMAR B.V., S.V.N. VIJAYENDRA, O.V.S. REDDY. 2015.** „Trends in dairy and non-dairy probiotics products – a review”. *Journal of Food Science and Technology* (52) 10: 6112–6124.
- [13] **PANGHALA A., S. JANGHUB, K. VIRKARA, Y. GATA, V. KUMARA, N. CHHIKARAA. 2018.** „Potential non-dairy probiotic products – A healthy approach”. *Food Bioscience* 21:80–85.
- [14] **PN-EN ISO 8589:2010.** Analiza sensoryczna – ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
- [15] **PN-EN ISO 13299:2016-05.** Analiza sensoryczna – metodyka. Ogólne wytyczne ustalania profilu sensorycznego.
- [16] **PN-ISO 4121:1998.** Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [17] **PN-EN 1132:1999.** Soki owocowe i warzywne. Oznaczanie pH.
- [18] **SHARMA V., H.N. MISHRA. 2013.** „Fermentation of vegetable juice mixed by probiotic lactic acid bacteria”. *Nutrafoods* 12: 17–22.
- [19] **SIONEK B., D.KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D. GAWARSKA, J. POSTUPOLSKI. 2016.** „Przydatność technologiczna szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 do produkcji probiotycznego soku warzywnego”. *Żywność Nauka Technologia Jakość.* (2) 105:95–105.
- [7] **DIMITROVSKI D., E. VELICKOVA, M. DIMITROVSKA, T. LANGERHOLC, E. WINKELHAUSENE. 2016.** „Synbiotic functional drink from Jerusalem artichoke juice fermented by probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS26”. *Journal of Science and Technology* (53) 1: 766–774.
- [8] **FAO/WHO. 2002.** „Guidelines for the evaluation of probiotics in food, Joint Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Meeting Report, Londyn, Ontario, Kanada” 85: 1–56.
- [9] **HAN Q., B. KONG, Q. CHEN, F. SUN, H. ZHANG. 2017.** „In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics”. *Journal of Functional Foods* 32: 391–400.
- [10] **JULIUS M., U. SCHILLINGER, C. GUIGAS, C. FRANZ, P.M. KUTIMA, S.H. MBUGUA, H.K. SHIM, W.H. HOLZAPFEL. 2008.** „Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. from traditional Maasai fermented milk products in Kenya”. *International Journal of Food Microbiology* (126) 1–2: 57–64.
- [11] **KAZIMIERCZAK R., E. HALLMANN, V. TRÉSCINSKA, E. REMBIAŁKOWSKA. 2011.** „Ocena wartości odżywczej dwóch odmian buraków ćwikłowych (*Beta vulgaris*) z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej”. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* (56) 3: 206–210.
- [12] **KUMAR B.V., S.V.N. VIJAYENDRA, O.V.S. REDDY. 2015.** „Trends in dairy and non-dairy probiotics products – a review”. *Journal of Food Science and Technology* (52) 10: 6112–6124.
- [13] **PANGHALA A., S. JANGHUB, K. VIRKARA, Y. GATA, V. KUMARA, N. CHHIKARAA. 2018.** „Potential non-dairy probiotic products – A healthy approach”. *Food Bioscience* 21:80–85.
- [14] **PN-EN ISO 8589:2010.** Analiza sensoryczna – ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
- [15] **PN-EN ISO 13299:2016-05.** Analiza sensoryczna – metodyka. Ogólne wytyczne ustalania profilu sensorycznego.
- [16] **PN-ISO 4121:1998.** Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [17] **PN-EN 1132:1999.** Soki owocowe i warzywne. Oznaczanie pH.
- [18] **SHARMA V., H.N. MISHRA. 2013.** „Fermentation of vegetable juice mixed by probiotic lactic acid bacteria”. *Nutrafoods* 12: 17–22.
- [19] **SIONEK B., D.KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D. GAWARSKA, J. POSTUPOLSKI. 2016.** „Przydatność technologiczna szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 do produkcji probiotycznego soku warzywnego”. *Zywnosc Nauka Technologia Jakosc.* (2) 105:95–105.

- [20] SWAIN M.R., M. ANANDHARAJ, R.C. RAY, R.P. RANI. 2014. „Fermented fruits and vegetables of Asia: a potential source of probiotics”. *Biotechnology Research International*. <https://doi.org/10.1155/2014/250424>.
- [21] TRĄSKOWSKA M., D. KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA. 2010. „Fermentowany sok marchwiowy z dodatkiem bakterii potencjalnie probiotycznych”. *Probiotyki w żywności*. Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Wydawnictwo Naukowe PTTŻ: 161–180.
- [22] VERÓN H.E., H.D. Di RISIO, M. INÉSISLA, S. TORRES. 2017. „Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina”. *LWT* 84: 231–240.
- [23] YOON K.Y., E.E. WOODAMS. 2005. „Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria”. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 38:73–75.
- [24] YOON K.Y., E.E. WOODAMS, D. HANGY. 2006. „Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria”. *Bioresource Technology* 97: 1427–1430.
- [25] ZIELIŃSKA D. 2005. „Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego”. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* (2) 43: 289–287
- [26] ZIELIŃSKA D., A. RZEPKOWSKA, A. RADAWSKA, K. ZIELIŃSKI. 2015. „In vitro screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber”. *Current Microbiology* (70) 2: 183–194.

- [20] SWAIN M.R., M. ANANDHARAJ, R.C. RAY, R.P. RANI. 2014. „Fermented fruits and vegetables of Asia: a potential source of probiotics”. *Biotechnology Research International*. <https://doi.org/10.1155/2014/250424>.
- [21] TRASKOWSKA M., D. KOŁOZYŃ-KRAJEWSKA. 2010. „Fermentowany sok marchwiowy z dodatkiem bakterii potencjalnie probiotycznych”. *Probiotyki w żywności*. Polskie Towarzystwo Technologów Żywności Wydawnictwo Naukowe PTTŻ: 161–180.
- [22] VERON H.E., H.D. Di RISIO, M. INESISLA, S. TORRES. 2017. „Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina”. *LWT* 84: 231–240.
- [23] YOON K.Y., E.E. WOODAMS. 2005. „Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria”. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 38:73–75.
- [24] YOON K.Y., E.E. WOODAMS, D. HANGY. 2006. „Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria”. *Bioresource Technology* 97: 1427–1430.
- [25] ZIELINSKA D. 2005. „Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego”. *Zywnosc. Nauka. Technologia. Jakosc* (2) 43: 289–287
- [26] ZIELINSKA D., A. RZEPKOWSKA, A. RADAWSKA, K. ZIELINSKI. 2015. „In vitro screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber”. *Current Microbiology* (70) 2: 183–194.