

Małgorzata NABRDALIK¹ i Paweł ŚWISŁOWSKI¹

OCENA MIKROBIOLOGICZNA NIEPASTERYZOWANYCH SOKÓW OWOCOWYCH I WARZYWNYCH

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF UNPASTERIZED FRUIT AND VEGETABLE JUICES

Abstrakt: Celem pracy była ocena parametrów fizykochemicznych oraz mikrobiologicznych niepasteryzowanych soków owocowych i warzywnych podczas próby przechowalniczej. Analizie poddano takie parametry fizykochemiczne, jak: pH, kwasowość ogólną, gęstość względną oraz zawartość ekstraktu. W badaniach mikrobiologicznych określono ilość mikroorganizmów oraz przeprowadzono ocenę jakościową badanych soków. Przechowywanie otwartych soków przez jedną godzinę w temperaturze pokojowej nie wpłynęło istotnie na zmianę parametrów fizykochemicznych. W trakcie badań odnotowano wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów, stwierdzono obecność bakterii grupy *coli* oraz bakterii rodzaju *Pseudomonas*. Nie stwierdzono obecności *Salmonella* spp. oraz *Staphylococcus aureus*.

Słowa kluczowe: sok niepasteryzowany, parametry fizykochemiczne, jakość mikrobiologiczna

Wprowadzenie

Sok to w pełni naturalny produkt otrzymywany wyłącznie ze zdrowych, dojrzałych, świeżych lub przechowywanych owoców i warzyw. Otrzymuje się go poprzez tłoczenie soku z miazgi lub mechaniczne przetarcie. Do soków zabronione jest dodawanie barwników, substancji konserwujących, jak również aromatów innych niż pochodzących z owoców i warzyw, z których sok został wyprodukowany [1]. Podstawowym składnikiem soków jest woda, a następnie węglowodany, których zawartość waha się pomiędzy 1-16 g na 100 g produktu. Cukry naturalnie występujące w sokach to: sacharoza, fruktoza, glukoza oraz sorbitol. Soki nie stanowią bogatego źródła białka i tłuszczu w diecie, nie zawierają także cholesterolu, natomiast dostarczają znacznych ilości potasu, β -karotenu, witaminy C oraz flawonoidów, jak również umiarkowanych ilości kwasu foliowego i innych witamin z grupy B (B1, B2, B6) [2].

Soki owocowe są produktami, które zawierają znaczne ilości witamin, składników mineralnych, błonnika oraz przeciwutleniaczy zapobiegających starzeniu się komórek organizmu [3]. Na rynku soków owocowych najbardziej preferowanym smakiem wśród Polaków jest pomarańczowy, który stanowi 24,5% wolumenu sprzedaży, a za nim plasuje się smak jabłkowy z 23,1% udziałem. Według danych z 2016 r., spożycie soków i nektarów w Polsce wynosiło ponad 20 litrów na osobę na rok [4].

Z warzyw produkuje się głównie soki przecierowe, które są bogatszym źródłem składników odżywczych w porównaniu do soków owocowych. Charakteryzują się one znacznie niższą zawartością węglowodanów, w tym cukrów, a co za tym idzie niższą kalorycznością. Jest to kategoria produktów, która zawiera szereg składników mineralnych (szczególnie potasu) i witamin (C, B6, folianów, β -karotenu i witaminy K) oraz błonnika

¹ Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 6, 45-032 Opole, tel. 77 401 60 42, fax 77 401 60 50, email: mnabrdalik@uni.opole.pl
Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'16, Zakopane, 5-8.10.2016

pokarmowego [5]. Warzywa pełnią istotną rolę w diecie człowieka, a zwiększające się z roku na rok ich spożycie sprawia, iż na rynku dostępne są zarówno świeże, jak i fermentowane soki („biosoki”) warzywne [6, 7]. Pozwalają one na zwiększenie spożycia warzyw, a tym samym na zwiększenie dostępności bioaktywnych składników w ciągu roku. Stosowane surowce i technologie do otrzymywania tych soków są coraz to bardziej zróżnicowane, co skutkuje dużą rozpiętością cenową oferty [8].

Zainteresowanie takimi produktami wśród konsumentów jest duże, ponieważ rośnie zapotrzebowanie na żywność funkcjonalną, która korzystnie oddziałuje na organizm człowieka. Jednym ze sposobów otrzymywania żywności funkcjonalnej jest dodawanie probiotyków oraz prebiotyków do różnego rodzaju produktów, w tym do soków owocowych i warzywnych [6, 9]. Napoje nowej generacji są otrzymywane w wyniku kontrolowanej fermentacji prowadzonej przez wyselekcjonowane bakterie fermentacji mlekowej, między innymi przez szczepy o udowodnionych cechach probiotycznych: *Lactobacillus acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. gasserii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis* i *Enterococcus faecium*. Do produkcji fermentowanych soków najczęściej wykorzystywane są: kapusta, burak ćwikłowy, pomidor, ogórek lub marchew. W przypadku surowej kapusty i ogórków wśród naturalnie występujących bakterii fermentacji mlekowej można wymienić gatunki mezofilne, takie jak: *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus cerevisiae* i *Leuconostoc mesenteroides* [6]. Stąd obecność tych bakterii w gotowym produkcie.

Produktami typu premium rynku sokowniczego są soki jednodniowe, inaczej nazywane świeżymi lub surowymi. Surowcami do produkcji soków świeżych mogą być warzywa (marchew, seler, burak, pomidor, kapusta kiszona) oraz owoce (jabłka, gruszki, pomarańcze, mandarynki, grejpfruty, ananasy). Producentami soków jednodniowych w Polsce są firmy: Marwit, Ogrody Natury, Victoria Cymes, Viva Natura oraz przedsiębiorstwa o zasięgu lokalnym [10]. Producenci soków zrzeszeni są w Krajowej Unii Producentów Soków (KUPS) - stowarzyszeniu, które reprezentuje firmy dostarczające oraz produkujące na rynek krajowy soki owocowe i warzywne. Rolą KUPS jest wspieranie polskich producentów soków, nektarów i napojów poprzez zapewnianie branży soków jak najlepszych warunków prawnych, politycznych oraz gospodarczych [11]. Wspólnie z AIJN (European Fruit Juice Association) Europejskim Stowarzyszeniem Producentów Soków Owocowych stowarzyszenie opracowuje Kodeks Praktyki AIJN, który precyzuje parametry referencyjne soków, konieczne do ich oceny pod kątem autentyczności i braku zafałszowań. Kodeks obejmuje cechy analityczne i podaje metody, które należy stosować w ocenie soków, podaje również komentarze ułatwiające interpretację uzyskanych wyników. Dane są na bieżąco weryfikowane, a zakres poszerzany o nowe owoce i warzywa [12].

Soki jednodniowe nie są poddawane obróbce enzymatycznej, klarowaniu czy filtrowaniu, dzięki czemu zawierają one znacznie więcej bioaktywnych polifenoli. Nie są one także pasteryzowane [13]. Dla zapewnienia odpowiedniej jakości takich produktów powinny one być cały czas przechowywane w chłodzie (2-6°C), zarówno podczas transportu, jak i w sklepie, co daje gwarancję świeżości. Trwałość takich soków obliczona jest na jeden dzień. Jednak, w zależności od rodzaju surowca, producenci wydłużają termin przydatności do spożycia do 3, a nawet 5 dni [10, 13]. Brak obróbki termicznej w tego typu sokach wiąże się z ryzykiem wystąpienia zanieczyszczeń mikrobiologicznych [14]. Stąd

konieczność zwrócenia uwagi na czynniki, które mogą być źródłem zatruc pokarmowych, ale również powodować obniżenie jakości soków. O jakości soku decydują: barwa, smak, zapach, ogólny wygląd, kwasowość oraz zawartość ekstraktu ogólnego [15]. Znaczenie mają także klasa surowca oraz technologia produkcji zapewniająca odpowiednią redukcję liczby drobnoustrojów. Istotne jest przestrzeganie wymogów łańcucha chłodniczego. Ostatnim elementem, który może istotnie wpływać na poziom zanieczyszczeń mikrobiologicznych, są zachowania konsumenta, w tym sposób przechowywania soku po otwarciu w warunkach i temperaturach różnych od zalecanych [10]. Pełną informację o stanie mikrobiologicznym produktu uzyskuje się poprzez określenie ogólnej liczby mikroorganizmów (bakterii, drożdży i grzybów strzępkowych) oraz obecności bakterii potencjalnie chorobotwórczych.

Celem przeprowadzonych badań była ocena parametrów fizykochemicznych oraz określenie jakości mikrobiologicznej niepasteryzowanych soków owocowych i warzywnych.

Materiały i metody

Materiał do badań stanowiły jednodniowe soki wyprodukowane przez polskiego producenta, dostępne powszechnie w sieciach handlowych. Wykorzystano świeże soki owocowe: jabłkowy i pomarańczowy oraz soki warzywne: marchewkowy i buraczkowo-jabłkowy. W tabeli 1 przedstawiono charakterystykę chemiczną badanych soków owocowych i warzywnych deklarowaną przez producenta na opakowaniu.

Tabela 1

Charakterystyka chemiczna badanych soków według deklaracji producenta na opakowaniu

Table 1

Chemical characteristics of tested juices according to the producer's declaration on the package

Parametr	Sok jabłkowy	Sok pomarańczowy	Sok marchewkowy	Sok buraczkowo-jabłkowy
Wartość energetyczna 100 cm ³ soku [kJ]/[kcal]	178/42	198/47	161/38	213/50
Tłuszcz [g/100 cm ³]	0,3	0,3	0,1	0,1
Węglowodany [g/100 cm ³]	12,0	10,1	8,7	11,5
Białko [g/100 cm ³]	0,3	0,8	0,4	0,8

Badania parametrów fizykochemicznych oraz analizę mikrobiologiczną wykonano bezpośrednio po zakupie soku przechowywanego w warunkach chłodniczych (próbka A) oraz po 1-godzinnym przechowywaniu otwartego soku w temperaturze pokojowej (próbka B).

Analiza fizykochemiczna obejmowała oznaczenie: pH (kwasowości czynnej) [16], kwasowości ogólnej (miareczkowej) i zawartości kwasu jabłkowego [17], gęstości względnej [18] oraz zawartości ekstraktu ogólnego metodą refraktrometryczną.

W analizie mikrobiologicznej oznaczono ogólną liczbę: drobnoustrojów mezofilnych i psychrofilnych na agarze odżywczym, psychrotrofów na podłożu PCA [19], drożdży na podłożu YGC oraz grzybów strzępkowych na podłożu PDA. Liczebność badanych grup mikroorganizmów podano w jednostkach tworzących kolonie w 1 cm³ soku [jtk/cm³]. Do oznaczenia liczby bakterii z grupy coli wykorzystano metodę najbardziej prawdopodobnej

liczby (NPL) zgodnie z obowiązującą normą PN-ISO 4831:2007 [20, 21]. W celu wykrycia drobnoustrojów potencjalnie chorobotwórczych wykorzystano podłoża różnicujące. Oznaczono obecność bakterii: z rodziny *Enterobacteriaceae* (podłoże VRBG) [22], *Escherichia coli* (podłoże Endo), *Salmonella* spp. (podłoże SF, SS i XLD) [23], *Staphylococcus aureus* i innych gatunków (podłoże Baird-Parkera) [24], *Streptococcus* spp. (podłoże *Enterococcus agar*, *Slanetza*) oraz *Pseudomonas* spp. (podłoże agarowe *Pseudomonas P.*). Na podstawie cech morfologicznych kolonii oraz komórek określono obecność danej grupy drobnoustrojów. W oparciu o klucze diagnostyczne sklasyfikowano rodzaj wyizolowanych grzybów strzępkowych (pleśnie) [25].

Wyniki badań i ich dyskusja

Analizowane w pracy soki stanowiły naturalnie mętne, niepasteryzowane i niesłodzone napoje, zawierające sok komórkowy oraz drobne cząsteczki mięszu tworzące naturalny osad. Charakteryzowały się one zróżnicowanymi wartościami parametrów fizykochemicznych oraz mikrobiologicznych (tab. 2 i 3).

Jednym z ważniejszych wskaźników jakości i świeżości soków jest kwasowość czynna (pH) związana bezpośrednio reakcjami biochemicznymi zachodzącymi w sokach. Jednak brak jest dokumentów prawnych, które określałyby dopuszczalne wartości pH dla badanych produktów. Przyjmuje się, iż zbyt niska wartość może świadczyć o nadmiernym dokwaszeniu produktu, zbyt wysoka - o jego rozcieńczeniu [26]. Analizowane soki owocowe charakteryzowały się niskim pH wynoszącym średnio 3,27, natomiast w przypadku soków warzywnych wartości pH były wyższe i wynosiły średnio 6,08 dla soku marchewkowego i 4,96 dla soku buraczkowo-jabłkowego. Czas przechowywania soków w temperaturze pokojowej nie wpłynął istotnie na zmianę kwasowości czynnej (tab. 2). Uzyskane wyniki nie odbiegają od wartości uzyskanych przez innych badaczy [27, 28]. Wartość kwasowości czynnej związana jest z cechami odmian owoców i warzyw. Najlepiej widać to na przykładzie soków jabłkowych, dla których wartość pH może wahać się pomiędzy 3,0 dla odmian jabłek zawierających duże ilości kwasów, a 4,5 dla odmian mniej kwaśnych [28].

Czas przetrzymywania badanych soków w temperaturze pokojowej nie miał wpływu na zmiany kwasowości ogólnej oraz zawartości kwasu jabłkowego. W badanym soku jabłkowym oraz marchewkowym kwasowość ogólna nie uległa zmianie w trakcie badań i wynosiła odpowiednio 3,55 oraz 0,87 g/dm³ w przeliczeniu na kwas jabłkowy. Natomiast w przypadku soków pomarańczowego i buraczkowo-jabłkowego odnotowano wzrost kwasowości odpowiednio o około 4 i 29% (tab. 2). Odnosząc się do wartości określonych w Kodeksie Praktyki AIJN [29] dla soków owocowych, uzyskane ilości kwasu jabłkowego mieściły się w dopuszczalnym zakresie. Zdecydowanie większa wartość kwasowości ogólnej w soku pomarańczowym, w porównaniu do pozostałych soków, związana jest najprawdopodobniej ze znacznie większą zawartością witaminy C [30]. Natomiast, według PN-A-75958:2002 [31], kwasowość ogólna soku marchewkowego w przeliczeniu na bezwodny kwas cytrynowy powinna wynosić nie mniej niż 0,3% [15]. Po przeliczeniu kwasowości ogólnej na zawartość kwasu cytrynowego stwierdzono, iż badany sok marchewkowy spełniał w tym względzie wymagania.

Minimalna gęstość względna według Kodeksu Praktyki AIJN [29] powinna dla analizowanych soków owocowych wynosić 1,040 g/dm³, dla soku marchewkowego 1,028 g/dm³, a dla buraczkowo-jabłkowego 1,046 g/dm³. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż jedynie sok buraczkowo-jabłkowy nie spełnia przyjętych zaleceń. Gęstość względna wynosiła 1,03 g/dm³ bezpośrednio po otwarciu soku i 1,02 g/dm³ po godzinie (tab. 2). Otrzymane wartości gęstości dla analizowanych soków nie odbiegały od wartości cytowanych w innych pracach [32].

Zawartość ekstraktu w owocach i warzywach zależy od warunków klimatycznych podczas wegetacji, terminu zbioru i czasu przechowywania surowców w warunkach chłodniczych. W badaniach własnych najniższe wartości ekstraktu ogólnego odnotowano dla soków warzywnych (tab. 2). Sok buraczkowo-jabłkowy po godzinie przetrzymywania w temperaturze pokojowej nie spełniał wymagań Kodeksu Praktyki AIJN [29]. Ilość ekstraktu ogólnego była niższa od zalecanej wartości minimalnej 11,5% wag. Natomiast na wyższą wartość ekstraktu ogólnego soków owocowych wpłynął prawdopodobnie znaczny poziom kwasów organicznych, których ilość oddziałuje na wartość parametru, jakim jest kwasowość ogólna [33].

Parametry fizykochemiczne badanych soków

Tabela 2

Physicochemical parameters of tested juices

Table 2

Parametr	Sok jabłkowy		Sok pomarańczowy		Sok marchewkowy		Sok buraczkowo-jabłkowy	
	próbka A	próbka B	próbka A	próbka B	próbka A	próbka B	próbka A	próbka B
pH [-]	3,25	3,25	3,23	3,36	6,05	6,10	4,90	5,01
Kwasowość ogólna [mM H ⁺ /dm ³]	53	53	123	128	13	13	17	22
Kwas jabłkowy [g/dm ³]	3,55	3,55	8,24	8,58	0,87	0,87	1,14	1,47
Gęstość względna [g/dm ³]	1,04	1,04	1,05	1,04	1,03	1,03	1,03	1,02
Zawartość ekstraktu [% wag.]	11,0	10,8	12,6	10,6	8,6	7,6	7,8	6,0

Soki niepasteryzowane zalicza się do żywności mało przetworzonej, ponieważ w trakcie ich produkcji wyeliminowane zostały zabiegi termiczne. Stąd stan mikrobiologiczny takich produktów uwarunkowany jest głównie jakością surowców, wody, technologii produkcji oraz temperatury przechowywania gotowego produktu. Obowiązujące kryteria mikrobiologiczne środków spożywczych, w tym soków owocowych i warzywnych niepasteryzowanych (gotowych do spożycia), zawarte są w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. [34]. Jedynym kryterium bezpieczeństwa jest nieobecność bakterii rodzaju *Salmonella* w 25 g produktu. Brak jest natomiast wymagań dotyczących poziomu innych mikroorganizmów oraz dopuszczalnej ich ilości w produkcie. W przeprowadzonych badaniach do określenia mikroflory

saprofitycznej należało oznaczenie ogólnej liczby bakterii mezofilnych, psychrofilnych oraz psychrotrofowych (fakultatywne psychrofile). Szczególnym zagrożeniem dla żywności są bakterie psychrotrofowe, które, wykazując zdolność do rozwijania się temperaturze $\leq 7^{\circ}\text{C}$, mogą powodować psucie się żywności przechowywanej w warunkach chłodniczych. Do psychrotrofów zalicza się wszystkie bakterie psychrofilne i część mezofilnych. Ponadto, ze względu na znaczne rozdrobnienie surowca oraz skład chemiczny (dużą zawartość węglowodanów, obecność kwasów organicznych i witamin), soki niepasteryzowane stanowią doskonałe środowisko do rozwoju mikroorganizmów. Parametrem determinującym rozwój określonej grupy drobnoustrojów jest w tym przypadku pH środowiska.

Tabela 3

Parametry mikrobiologiczne badanych soków

Table 3

Microbiological parameters of tested juices

Parametr	Sok jabłkowy		Sok pomarańczowy		Sok marchewkowy		Sok buraczkowo-jabłkowy	
	próbka A	próbka B	próbka A	próbka B	próbka A	próbka B	próbka A	próbka B
Mezofile [jtk/cm ³]	4,00·10 ²	1,05·10 ⁴	2,00·10 ³	8,00·10 ²	1,04·10 ⁶	3,76·10 ⁶	3,32·10 ⁶	6,00·10 ⁶
Psychrofile [jtk/cm ³]	4,42·10 ³	8,60·10 ⁶	3,00·10 ²	4,00·10 ²	4,89·10 ⁶	5,50·10 ⁶	1,80·10 ⁶	2,00·10 ⁶
Psychrotrofy [jtk/cm ³]	4,50·10 ³	2,40·10 ⁴	1,50·10 ³	3,30·10 ³	1,84·10 ⁶	1,40·10 ⁶	5,20·10 ⁷	3,10·10 ⁷
Drożdże [jtk/cm ³]	6,10·10 ²	3,70·10 ³	1,45·10 ³	1,07·10 ³	1,12·10 ³	1,96·10 ³	4,25·10 ²	3,00·10 ²
Grzyby strzępkowe [jtk/cm ³]	6,10·10 ²	7,60·10 ²	1,00·10 ¹	3,00·10 ¹	2,13·10 ²	4,70·10 ²	7,00·10 ²	1,50·10 ³
NPL bakterii grupy <i>coli</i>	0,3	0,3	0,3	0,3	2,3	2,3	2,3	2,3
Rodzaj grzybów strzępkowych	<i>Penicillium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i>	<i>Trichoderma</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Mucor</i>	<i>Trichoderma</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Mucor</i>
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Enterococcus</i> sp.	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

„+” - wzrost; „-” - brak wzrostu

Owoce są surowcem szczególnie podatnym na zepsucia powodowane przez drożdże i grzyby strzępkowe. Poza tym pH badanych soków owocowych, które wynosiło 3,25-3,36, jest optymalne dla rozwoju tej grupy drobnoustrojów, natomiast czyni owoce

środowiskiem niesprzyjającym rozwojowi bakterii, które z reguły preferują pH neutralne lub wyższe. Stąd ich znacznie niższa liczebność w porównaniu do soków warzywnych (tab. 3). Sok jabłkowy charakteryzował się obecnością zarówno bakterii mezofilnych, psychrofilnych, jak i psychrotrofowych. W próbce A (bezpośrednio po otwarciu soku) ilość mikroorganizmów mezofilnych wyniosła $4,00 \cdot 10^2$ jtk/cm³, a mikroorganizmów niskotemperaturowych (psychrofilnych i psychrotrofowych) była na zbliżonym poziomie - około $4,5 \cdot 10^3$ jtk/cm³. Temperatura pokojowa, w której przetrzymywano sok jabłkowy, sprzyjała rozwojowi mikroflory saprofitycznej. Zaobserwowano gwałtowny wzrost bakterii psychrofilnych w próbce B do poziomu $8,60 \cdot 10^6$ jtk/cm³. Natomiast badany sok pomarańczowy charakteryzował się mniejszą ilością bakterii, a czas jego przetrzymywania nie wpływał znacząco na zmianę ich liczebności. Jedynie w przypadku bakterii mezofilnych odnotowano 10-krotny spadek z $2,00 \cdot 10^3$ do $8,00 \cdot 10^2$ jtk/cm³. W analizowanych sokach warzywnych zanieczyszczenie mikroflorą saprofityczną, w zależności od próbki i rodzaju soku, mieściło się w przedziale od $1,04 \cdot 10^6$ do $5,20 \cdot 10^7$ jtk/cm³. Czas przetrzymywania soków warzywnych w temperaturze pokojowej nie wpłynął istotnie na zmianę ilości zarówno bakterii mezofilnych, jak i psychrofilnych (tab. 3). Tak duża liczba bakterii saprofitycznych w badanych produktach świadczy o ich małej stabilności mikrobiologicznej [35]. Dla porównania, Gientka i in. [10], analizując jednodniowe soki marchewkowe, zanotowali znacznie wyższą, na poziomie 10^5 - 10^7 jtk/cm³, ilość mikroorganizmów mezofilnych w zależności od producenta. W sokach marchewkowo-selerowych Gientka i Brun [36] stwierdzili obecność $3,7 \cdot 10^5$ - $2,0 \cdot 10^6$ jtk/cm³ bakterii mezofilnych i brak bakterii psychrofilnych. Z kolei, w badaniach Sokołowskiej i in. [14], podobnie jak w badaniach własnych, najmniej zanieczyszczone były soki cytrusowe, dla których poziom skażenia mikroflorą mezofilną wynosił od 10^2 - 10^4 jtk/cm³. Kolejną grupę stanowiły soki jabłkowe o zanieczyszczeniu na poziomie 10^3 - 10^5 jtk/cm³. Analogicznie do badań własnych, najbardziej zanieczyszczone były soki zawierające warzywa korzeniowe: marchew, seler i buraki. Ogólna liczba mezofili w tych sokach wynosiła 10^5 - 10^7 jtk/cm³ [14].

Ocenę zmian jakości mikrobiologicznej badanych soków przeprowadzono, również oznaczając liczbę drożdży oraz pleśni. Kwaśne środowisko soków sprzyjało rozwojowi tej grupy mikroorganizmów. Ogólna liczba drożdży wahała się od $6,10 \cdot 10^2$ do $3,70 \cdot 10^3$ jtk/cm³ dla soków owocowych i od $3,00 \cdot 10^2$ do $1,96 \cdot 10^3$ jtk/cm³ dla soków warzywnych. Wszystkie badane soki zawierały grzyby strzępkowe. Największą ich liczbę, rzędu 10^2 - 10^3 jtk/cm³, stwierdzono w sokach warzywnych, ale również w soku jabłkowym. Soki te charakteryzowały się jednocześnie znacznym różnicowaniem jakościowym. Wyizolowano pleśnie należące do rodzajów: *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium* oraz *Mucor* (tab. 3). Niepokojąca jest obecność w soku jabłkowym pleśni rodzaju *Penicillium*, które w określonych warunkach mogą tworzyć mykotoksyny [37]. Mykotoksyną najczęściej obecną w jabłkach i ich przetworach jest patulina wytwarzana głównie przez *Penicillium expansum*. Gatunek ten rośnie w niskich temperaturach, co stwarza możliwość wytwarzania patuliny w warunkach chłodniczych. Ponadto jest ona termostabilna i nie ulega rozkładowi w procesie pasteryzacji [38]. Dane literaturowe podają różne poziomy zanieczyszczenia grzybami świeżych soków owocowych i warzywnych. W badanych przez Pyryt [13] świeżych sokach jabłkowych i egzotywnych nie wykryto drożdży oraz pleśni. Z kolei Sokołowska i in. [14] największą

liczbę drożdży (10^3 - 10^5 jtk/cm³) oraz pleśni (10^2 - 10^4 jtk/cm³) stwierdzili w sokach warzywnych. Soki z jabłek charakteryzowały się mniejszym zanieczyszczeniem grzybami (10^3 - 10^4 jtk/cm³), a w sokach cytrusowych ogólna liczba drożdży wynosiła 10^2 - 10^4 jtk/cm³, pleśni nie przekraczała 10^2 jtk/cm³ [14]. Według Bonin i in. [38], proces pasteryzacji skutecznie ogranicza, ale nie eliminuje całkowicie drożdży i pleśni w zagęszczonym soku jabłkowym. Do ponownego zakażenia (głównie drożdżami) dochodzi w procesie ultrafiltracji [38]. Dlatego też w produkcji soków niepasteryzowanych szczególną uwagę należy zwrócić na poprawę procesu technologicznego. Dotyczy to głównie selekcji surowca oraz jego wstępnej obróbki i mycia.

Największe zagrożenie dla zdrowia konsumentów stanowią drobnoustroje chorobotwórcze, których obecność w produkcie nie zawsze wiąże się z jego zmianami organoleptycznym. Z soków izolowano: *Escherichia coli* (w tym serotyp O157:H7), *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* oraz pierwotniak jelitowy rodzaju *Cryptosporidium* [14, 39]. Przeprowadzone badania pozwoliły na określenie NPL bakterii grupy coli. Wskaźnik NPL dla soków owocowych wynosił 0,3, a dla soków warzywnych uzyskano znacznie wyższą wartość - 2,3. W badanych sokach stwierdzono obecność *E. coli* oraz *Pseudomonas* sp. Dodatkowo z soków warzywnych wyizolowano *Enterococcus* sp. W żadnej z analizowanych próbek nie stwierdzono obecności *Salmonella* sp. oraz *Staphylococcus aureus* (tab. 3). Podobne wyniki uzyskali inni autorzy [10, 14, 35, 36], dlatego nie zaleca się podawania tych produktów małym dzieciom i osobom z obniżoną odpornością ze względu na możliwość wystąpienia zaburzeń jelitowych.

Podsumowanie i wnioski

W żywności mogą występować drobnoustroje, których rozwój powoduje psucie się produktu lub zatrucia pokarmowe. Obecność niepożądanego mikroflory wynika z zanieczyszczenia pierwotnego surowców bądź zanieczyszczenia wtórnego podczas produkcji [40]. Soki niepasteryzowane mogą być zanieczyszczone patogenną florą bakteryjną, taką jak *E. coli* i *Salmonella* spp. [39]. Przyjmuje się, iż tylko soki pasteryzowane są bezpieczne do spożycia i to zarówno przez dzieci i młodzież, jak i osoby dorosłe, ponieważ pozbawione są mikroorganizmów. Na opakowaniu soków niepasteryzowanych powinna więc znaleźć się informacja o potencjalnej obecności w nich szkodliwych dla zdrowia konsumenta bakterii lub innych mikroorganizmów [2].

Analiza niepasteryzowanych soków owocowych i warzywnych miała na celu ocenę parametrów fizykochemicznych oraz mikrobiologicznych. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono:

1. Brak istotnych zmian parametrów fizykochemicznych badanych soków.
2. Wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów mezofilnych i psychrofilnych w trakcie przechowywania soków w temperaturze pokojowej. Konsument powinien dostosować się do wymogów producenta odnośnie do przechowywania produktu i spożyć go bezpośrednio po otwarciu.
3. Znaczne zanieczyszczenie mikrobiologiczne badanych soków. Obecność bakterii psychrofilnych w badanych produktach nie gwarantuje utrzymania jakości mikrobiologicznej w momencie przerywania łańcucha chłodniczego.

4. Brak bakterii chorobotwórczych *Salmonella* sp. Wszystkie badane soki spełniały wymagania określone w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r.
5. Obecność *E. coli* w badanych sokach oraz paciorkowców kałowych. Soków niepasteryzowanych nie należy podawać małym dzieciom oraz osobom z obniżoną odpornością.

Literatura

- [1] Krajowa Unia Producentów Soków. Soki 2016. http://www.kups.org.pl/files/?id_plik=2499.
- [2] Neuhoﬀ-Murawska J, Socha P, Socha J. Soki: zalety i zagrożenia w żywieniu dzieci i młodzieży. *Stand Med Pediatr.* 2007;4(1):91-99. [http://www.wodanastart.pl/artukul/soki-zalety-i-zagrozenia-w-zywieniu-dzieci-i-młodzieży](http://www.wodanastart.pl/artukul/soki-zalety-i-zagrozenia-w-zywieniu-dzieci-i-mlodziezy).
- [3] Pyryt B, Wilkowska D. Ocena jakości wybranych soków pomarańczowych. *Bromatol Chem Toksykol.* 2012;45(3):248-253. <http://www.ptfarm.pl/pub/File/Bromatologia/2012/3/248-253.pdf>.
- [4] AIJN European Fruit Juice Association. 2017. Liquid Fruit - market report. <http://viewer.zmags.com/publication/49404127#/49404127/1>.
- [5] Krajowa Unia Producentów Soków. Jakość handlowa i znakowanie soków i nektarów - omówienie wybranych zagadnień 2014. http://www.kups.org.pl/files/?id_plik=2499.
- [6] Zaręba D, Ziarno M. Alternatywne probiotyczne napoje warzywne i owocowe. *Bromatol Chem Toksykol.* 2011;44(2):160-168. http://www.ptfarm.pl/pub/File/bromatologia_2011/2/bromatologia%202_2011s_160-168.pdf.
- [7] Pierzynowska J, Prędką A, Drywień M, Ostrowska K. Porównanie zawartości witaminy C w wybranych świeżych i fermentowanych sokach warzywnych. *Bromatol Chem Toksykol.* 2007;40(4):341-344. http://www.ptfarm.pl/pub/File/wydawnictwa/b4_07/s%20341-344.pdf.
- [8] Wołosiak R, Miłosz K. Porównanie jakości wybranych soków marchwiowych i pomidorowych. *Bromatol Chem Toksykol.* 2012;45(3):711-716. <http://www.ptfarm.pl/pub/File/Bromatologia/2012/3/711-716.pdf>.
- [9] Płocharski W. Soki - bez nich żyć się już nie da. *Przem Ferment i Owoc-Warzyw.* 2006;7-8:16-22. <http://www.sigma-not.pl/publikacja-20556-soki---bez-nich-%C5%BCy%C4%87-si%C4%99-ju%C5%BC-nie-da-przemysl-fermentacyjny-2006-7-8.html>.
- [10] Gientka I, Chlebowska-Śmigiel A, Sawikowska K. Zmiany jakości mikrobiologicznej soków marchwiowych podczas próby przechowalniczej. *Bromatol Chem Toksykol.* 2012;45(3):397-401. <http://www.ptfarm.pl/pub/File/Bromatologia/2012/3/397-401.pdf>.
- [11] Krajowa Unia Producentów Soków. Misja. <http://www.kups.org.pl/index/?id=248e844336797ec98478f85e7626de4a#>.
- [12] AIJN. <http://www.aijn.org/about/>.
- [13] Pyryt B. Jakość świeżych soków owocowych w okresie ich przydatności do spożycia. *Bromatol Chem Toksykol.* 2009;42(3):381-385. http://www.ptfarm.pl/pub/File/bromatologia_2009/bromatologia_3_2009/BR3%20s.%200381-0385.pdf.
- [14] Sokołowska B, Chotkiewicz M, Niezgoda J, Dekowska A. Ocena zanieczyszczenia mikrobiologicznego świeżych, niepasteryzowanych, wyciskanych soków owocowych i warzywnych dostępnych w handlu. *Zesz Probl Post Nauk Roln.* 2011;569:219-228. <http://www.zppnr.sggw.pl/569.pdf>.
- [15] Malik A, Krukowska A. Ocena preferencji smakowych soków marchwiowych na tle wybranych parametrów jakościowych. *Bromatol Chem Toksykol.* 2009;42(3):965-968. http://www.ptfarm.pl/pub/File/bromatologia_2009/bromatologia_3_2009/BR3%20s.%200965-0968.pdf.
- [16] Polska Norma PN-EN 1132:1999. Soki owocowe i warzywne -- Oznaczanie pH (Fruit and vegetable juices - Determination of the pH-value). <http://sklep.pkn.pl/pn-en-1132-1999p.html>.
- [17] Polska Norma PN-EN 12147:2000. Soki owocowe i warzywne -- Oznaczanie kwasowości miareczkowej (Fruit and vegetable juices - Determination of titratable acidity). <http://sklep.pkn.pl/pn-en-12147-2000p.html>.
- [18] Polska Norma PN-EN 1131:1999. Soki owocowe i warzywne -- Oznaczanie gęstości względnej (Fruit and vegetable juices - Determination of the relative density). <http://sklep.pkn.pl/pn-en-1131-1999p.html>.
- [19] Polska Norma PN-ISO 17410:2004. Mikrobiologia żywności i pasz -- Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych (Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms). <http://sklep.pkn.pl/pn-iso-17410-2004p.html>.

- [37] Nabrdalik M. Szkodliwość grzybów pleśniowych występujących w środowisku człowieka. Ochrona przed Korozją. 2008;1:28-33. <https://www.google.pl/url?sa=t&rcct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0ahUKEwix7-BhMjXAhUEAZoKHV4sDCIQFggyMAI&url=http%3A%2F%2Fsigma-not.net%2Fdownload.php%3Ftoken%3Dx32c92ada346ed1cd89b98b9ccd8f9693&usg=AOvVaw0fX4O3lvT2S-2cUwUwf5nD>.
- [38] Bonin S, Bałdyga P, Lipińska E. Stan mikrobiologiczny produkcji zageszczzonego soku jabłkowego. Bromatol Chem Toksykol. 2011;44(3):706-711. https://www.researchgate.net/publication/263973216_Stan_mikrobiologiczny_produkcji_zageszczzonego_soku_jablkowego.
- [39] Parish ME. Public health and nonpasteurized fruit juice. Crit Rev Microbiol. 1997;23: 109-119. DOI: 10.3109/10408419709115132.
- [40] Trojanowska K. Mikroorganizmy niepożądane w żywności i skutki ich oddziaływania. W: Gawędzki J, Libudzisz Z, redaktorzy. Mikroorganizmy w żywności i żywieniu. Poznań: Wyd. UPP; 2010.

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF UNPASTERIZED FRUIT AND VEGETABLE JUICES

Chair of Biotechnology and Molecular Biology, University of Opole, Opole

Abstract: The aim of the study was to evaluate the physicochemical and microbiological parameters of unpasteurized fruit and vegetable juices during the storage. Physicochemical parameters such as pH, total acidity, relative density and extract content were analyzed. In microbiological studies microorganisms content was determined and quality of the juices were evaluated. Juices kept in open container for one hour at room temperature did not significantly alter the physicochemical parameters. During the study, an increase in the total number of microorganisms was observed, presence of coli forms and *Pseudomonas* bacteria was confirmed. No *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* were found.

Keywords: unpasteurized juice, physicochemical parameters, microbiological quality