

MONIKA TRZĄSKOWSKA, ANITA TRZCIŃSKA, ŻANETA KAPICA

JAKOŚĆ SENSORYCZNA I PRZEŻYWALNOŚĆ POTENCJALNIE PROBIOTYCZNYCH SZCZEPÓW *LACTOBACILLUS* W FERMENTOWANYM NAPOJU MIODOWYM

Streszczenie

Celem pracy było określenie możliwości zastosowania bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus johnsonii* K4 lub *Lactobacillus casei* O12 do produkcji napoju miodowego akceptowanego sensorycznie i zawierającego żywe mikroorganizmy. Materiałem do badań były napoje miodowe przygotowane z miodu wielokwiatowego i wody wodociągowej (12,05 g/100 ml). Napoje poddano 2-, 3-, 4- i 5-dniowej fermentacji monokulturą bakterii (po inokulacji ok. $7 \log \text{ jtk/cm}^3$) w temp. 30 i 37 °C. Średnia liczb bakterii po fermentacji zawierała się w przedziale $6,75 \div 8,14 \log \text{ jtk/cm}^3$. Wzrost bakterii był zależny od szczepu, czasu i temperatury fermentacji ($p < 0,05$). Te same czynniki istotnie wpłynęły na średnie wartości pH we wszystkich próbach w kolejnych dniach fermentacji i mieściły się w granicach $4,6 \div 4,8$ ($p < 0,05$). Czas fermentacji był czynnikiem statystycznie istotnie wpływającym na ocenę sensoryczną ($p < 0,05$). Najwyższe noty w ocenie sensorycznej przyznano próbkom fermentowanym szczepem *Lb. casei* O12 przez 2 dni w temp. 37 °C. Wybrane bakterie z rodzaju *Lactobacillus* można zastosować do wytwarzania innowacyjnego napoju o pożądanych cechach sensorycznych. Na tym etapie badań produkt nie może być nazwany probiotycznym, jednak jakość sensoryczna i zakres przeżywalności szczepów predysponuje do dalszej oceny ich właściwości probiotycznych.

Słowa kluczowe: napój miodowy, probiotyk, fermentacja, *Lactobacillus*

Wprowadzenie

Dążeniem nowoczesnego konsumenta jest poprawa jakości życia, m.in. przez odpowiednio skomponowaną dietę, która umożliwi długotrwałe utrzymanie organizmu w dobrym zdrowiu i sprawności fizycznej. Poprawa świadomości dotyczącej zdrowego trybu życia, jak również naukowo udowodniony wpływ diety na prewencję i łagodze-

Dr inż. M. Trzaskowska, mgr inż. A. Trzcńska, mgr inż. Ż. Kapica, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa.

Kontakt: monika_trzaskowska@sggw.pl

nie dolegliwości wielu chorób, wpłynęły na wyodrębnienie oddzielnej kategorii żywności nazwanej żywnością funkcjonalną [11, 16]. Do tej grupy zalicza się produkty spożywcze wzbogacone w probiotyki, które definiuje się jako żywe mikroorganizmy, które po podaniu w odpowiednich ilościach przynoszą korzyści zdrowotne gospodarzowi [5].

Miodem nazywa się słodką substancję, produkowaną przez pszczoły *Apis mellifera* z wydzielin żywych części roślin, nektaru kwiatowego lub wydzielin owadów wysysających żywe części roślin, które pszczoły zbierają, przerabiają, łączą z wydzielinami swoich gruczołów, odwadniają, magazynują i pozostawiają do dojrzewania w plastrach [4]. Miód dostarcza cennych składników budulcowych, energetycznych oraz regulujących i dzięki temu poprawia zarówno psychiczną, jak i fizyczną kondycję spożywających go osób. Wykazuje również działanie terapeutyczne i profilaktyczne w wielu schorzeniach [14].

Rynek napojów funkcjonalnych jest rozwijającym się sektorem przemysłu spożywczego. Poza produkcją tradycyjnych napojów prowadzi się innowacyjne badania mające na celu rozwój probiotycznych fermentowanych napojów bezmlecznych z różnych substratów, w tym mleka sojowego, serwatki, zbóż, soków warzywnych i owocowych [15].

Wyróżnia się trzy grupy kryteriów uwzględnianych podczas poszukiwania szczepów probiotycznych: (i) wymagania ogólne, np. pochodzenie, bezpieczeństwo; (ii) wymagania technologiczne, np. wzrost i przeżywalność w produkcji; (iii) działanie dobroczynne [8].

Celem pracy było określenie możliwości zastosowania bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus johnsonii* K4 lub *Lactobacillus casei* O12 do produkcji napoju miodowego akceptowanego sensorycznie i zawierającego żywe mikroorganizmy.

Material i metody badań

Materiałem do badań był napój miodowy przygotowany samodzielnie z miodu wielokwiatowego i wody wodociągowej. Miód zakupiono w jednym z lokalnych sklepów. Zgodnie z deklaracją producenta była to mieszanka miodów pochodząca z pasiek państw członkowskich Unii Europejskiej, jak i z pasiek nieeuropejskich. Miód był konfekcjonowany przez firmę „HUZAR” Sp. z o.o. pod marką „Złota Pasieka”, specjalnie dla sieci sklepów Biedronka (Jeronimo Martins Polska S.A.).

Do badań wykorzystano dwa potencjalnie probiotyczne szczepy fermentacji mlekowej – *Lb. casei* O12, wyizolowany z ukwaszonych ogórków i *Lb. johnsonii* K4, wyizolowany z kiszzonej kapusty [19].

Do badań przygotowano 8 wariantów napoju miodowego, które różniły się dodatkowym szczepem bakterii, temperaturą i czasem fermentacji. Napój miodowy bez dodatku bakterii stanowił próbę kontrolną.

Wodę wodociągową doprowadzano do wrzenia, po czym przelewano do sterylnych słoików i studzono do temperatury ok. 40 °C. Następnie rozpuszczano w niej miód, aby stężenie sacharydów wynosiło 10 %, tj. 12,05 g miodu w 100 cm³ wody.

Kultury macierzyste (*Lb. casei* O12 i *Lb. johnsonii* K4) przechowywano w stanie zamrożonym w temp. -80 °C w 20-procentowym glicerolu (m/v). Oczko z rozmrożonej kultury macierzystej przenoszono do 5 ml bulionu MRS (Merck, Polska), inkubowano 24 h w temp. 37 °C. Następnie 1 cm³ uzyskanej hodowli przenoszono do 9 cm³ bulionu MRS i inkubowano kolejne 24 h w temp. 37 °C. W wyniku tej procedury uzyskano liczbę bakterii na poziomie $8 \div 9 \log \text{ jtk/cm}^3$. Uzyskaną hodowlę wirowano 5 min przy 1000 obr./min. Po usunięciu supernatantu do próbki dodawano 10 cm³ jałowej wody. Do 100 cm³ napoju miodowego dodawano niezwłocznie 1 cm³ monokultury i uzyskiwano liczbę bakterii na poziomie średnio $7,02 \log \text{ jtk/cm}^3$. Mieszaninę poddawano 2-, 3-, 4- i 5-dniowej fermentacji w temp. 30 i 37 °C. Fermentację wykonywano w dwóch wariantach: w pierwszym napój miodowy fermentowano 2 i 4 dni, w drugim – 3 i 5 dni.

Po fermentacji określano liczbę bakterii, mierzono poziom pH oraz przeprowadzano ocenę sensoryczną napojów. Proces fermentacji wykonano w trzech powtórzeniach.

Liczbę bakterii fermentacji mlekowej oznaczano metodą płytkową, wgłębną. W dniu posiewu fermentowany napój miodowy mieszano przez 2 min, pobierano 1 cm³ i dodawano do 9 cm³ sterylnej wody peptonowej (Biokar, Polska). Wykonywano szereg rozcieńczeń dziesiętnych od 10⁻¹ do 10⁻⁶. Następnie z rozcieńczenia 10⁻⁵ i 10⁻⁶ przenoszono po 0,1 cm³ zawiesiny na płytki Petriego (w dwóch powtórzeniach), zalewano agarą MRS (Merck, Niemcy) i dokładnie mieszano. Po zestaleniu się pożywki płytki inkubowano w temp. 37 °C przez 48 h i liczono typowe kolonie.

Pomiar pH wykonywano po 3 i 5 dniach fermentacji. Przed pomiarem próby pozostawiano w temp. 20 ± 2 °C, aby wyrównać różnice temperaturowe podczas fermentacji. Pomiar pH wykonywano metodą potencjometryczną za pomocą aparatu Elmetron CP501 (Elmetron Sp.j., Polska).

Do przeprowadzenia semikonsumenckiej analizy sensorycznej wykorzystano 9-stopniową skalę hedoniczną. Zadanie oceniającego polegało na wpisaniu kodu próbki w odpowiednim miejscu na karcie odpowiedzi, spróbowaniu napoju miodowego i przyporządkowaniu mu jednego z dziewięciu określeń podanych na karcie, zgodnie z wrażeniem sensorycznym, jakie wywołała oceniana próbka. Określenia były następujące: 1 – wyjątkowo niepożądana, 2 – bardzo niepożądana, 3 – niepożądana, 4 – nieco niepożądana, 5 – ani pożądana, ani niepożądana, 6 – nieco pożądana, 7 – pożądana, 8 – bardzo pożądana, 9 – wyjątkowo pożądana. Osobami oceniającymi byli studenci oraz pracownicy Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Ocena była przeprowadzana bezpośrednio po procesie fermentacji, przy czym po fer-

mentacji 2-dniowej wykonano 50 ocen, po 3-dniowej – 30 ocen, a po 4-dniowej – 53 oceny. Próby po 5-dniowej fermentacji nie były poddawane ocenie ze względu na dyskwalifikujący zapach napojów.

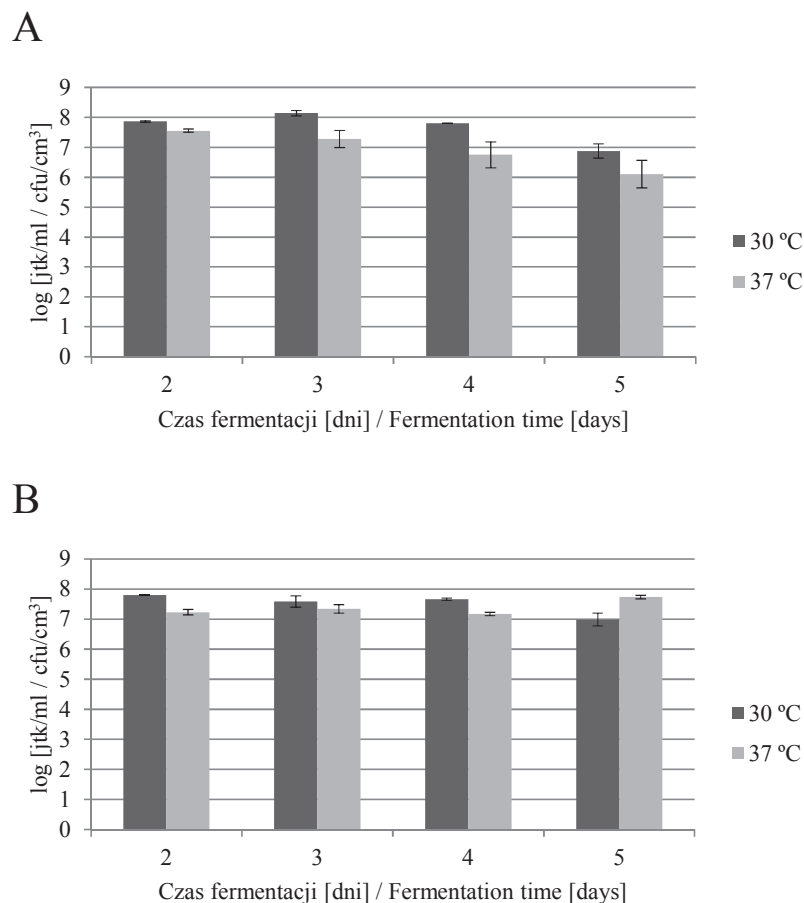
Analizę statystyczną wyników wykonano w programie Statistica 12.0. Obliczono wartości średnie, odchylenia standardowe i zastosowano test t – dla prób niezależnych i wieloczynnikową analizę wariancji ANOVA. Do porównania średnich post-hoc wykorzystano test Bonferroniego. Różnicę uznawano za statystycznie istotną przy $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zgodnie z definicją probiotyków [5] ich korzystny wpływ na zdrowie człowieka wymaga stosowania go w określonej liczbie. Działanie probiotyczne jest związane ze szczepem i efektami zdrowotnymi (poszczególne efekty mogą wymagać różnej liczby probiotyku). Jednocześnie wiadomo, że to nie może być mała dawka mikroorganizmów [1]. Do tej pory podjęto kilka prób zdefiniowania tej dawki i pierwsze wytyczne były określane na poziomie $6 \div 8 \log \text{ jtk/g}$ produktu w czasie konsumpcji. Odpowiada to dawce $8 \div 10 \log \text{ jtk/100 g}$ produktu [10]. Wielkość dawki zależy jednak od szczepu probiotycznego i możliwa jest do ustalenia wyłącznie na podstawie badań klinicznych [17].

Zielińska i wsp. [19] potwierdzają, że szczepy wyizolowane z produktów fermentowanych, takich jak kiszona kapusta (*Lb. johnsonii* K4) lub ogórki (*Lb. casei* O12) są zdolne do przeżywania w warunkach panujących w przewodzie pokarmowym oraz adhezji do ściany jelita. Właściwości te pozwalają zaliczyć szczepy do potencjalnych probiotyków.

Po fermentacji napoju miodowego średnia liczba bakterii była zróżnicowana w zależności od szczepu oraz czasu i temperatury fermentacji. W napoju fermentowanym *Lb. casei* O12 największą liczbę bakterii ($8,14 \log \text{ jtk/cm}^3$) stwierdzono po 3 dniach procesu w temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Natomiast fermentacja w $37 \text{ }^\circ\text{C}$ skutkowała maksymalnym stężeniem tych bakterii już po 2 dobach i wynosiła $7,56 \log \text{ jtk/cm}^3$. W kolejnych dniach procesu obserwowano jednak zamieranie tych mikroorganizmów. Podczas fermentacji napoju miodowego szczepem *Lb. johnsonii* K4 w temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$, największą liczbę komórek, tj. $7,80 \log \text{ jtk/cm}^3$ stwierdzono po 2 dniach procesu. Podwyższenie temperatury fermentacji do $37 \text{ }^\circ\text{C}$ skutkowało maksymalnym stężeniem komórek, tj. $7,73 \log \text{ jtk/cm}^3$ po 5 dniach procesu (rys. 1A i 1B). Zatem porcja 100 ml tego napoju dostarczałaby ok. $10 \log \text{ jtk}$ żywych bakterii i spełniała kryterium wymaganej liczby bakterii w żywności probiotycznej [6].



Objaśnienia / Explanatory notes:

Słupki oznaczają średnią liczbę bakterii, odcinki oznaczają odchylenia standardowe; n = 3 / Bars indicate mean count of bacteria, line segments indicate standard deviations; n = 3.

Rys. 1. Średnia liczba bakterii *Lb. casei* O12 (A) i *Lb. johnsonii* K4 (B) w napojach miodowych fermentowanych w temp. 30 lub 37 °C

Fig. 1. Mean number of *Lb. casei* O12 (A) and *Lb. johnsonii* K4 (B) in honey beverages fermented at 30 or 37 °C

Największą liczbę bakterii stwierdzono w napoju fermentowanym 3 dni w temp. 30 °C przez szczep *Lb. casei* O12. Najmniej tych bakterii było natomiast w produkcie fermentowanym przez 5 dni w temp. 37 °C, także przez szczep *Lb. casei* O12. Zaobserwowany wzrost i przeżywalność badanych szczepów *Lactobacillus* spełnia kryterium technologiczne stawiane probiotykom.

Na podstawie analizy wariancji wykazano, że na liczbę bakterii wpływ miały temperatura i czas fermentacji oraz zastosowany szczep bakterii ($p < 0,05$). Porównanie średnich post-hoc za pomocą testu Bonferroniego ujawniło, że statystycznie istotnie mniej bakterii było w próbkach fermentowanych 5 dni. Statystycznie istotne obniżenie liczby bakterii *Lb. casei* O12 stwierdzano po fermentacji prób w temp. 37 °C oraz po przedłużeniu czasu procesu do 4 i 5 dni. Natomiast podczas fermentacji napoju miodowego szczepem *Lb. johnsonii* K4 w temp. 37 °C i 5-dniowy czas fermentacji były czynnikami ograniczającymi rozwój bakterii ($p < 0,05$).

Wartość pH wszystkich prób poddanych fermentacji obniżyła się statystycznie istotnie w porównaniu z próbą kontrolną ($p < 0,05$). Średnia wartość pH we wszystkich próbach w kolejnych dniach fermentacji mieściła się w granicach $4,6 \div 4,8$ (tab. 1).

Obniżenie wartości pH w produktach poddanych fermentacji mlekowej jest naturalnym zjawiskiem, które odnotowano także w innych badaniach. Kun i wsp. [12] fermentowali różnymi szczepami z rodzaju *Bifidobacterium* sok marchwiowy, w którym nastąpiło obniżenie wartości pH z 6,4 do 4,5. Szydłowska i Kołożyn-Krajewska [18] prowadziły badania przecierów z dyni i wykazały, że w zależności od czasu i temperatury fermentacji, użytego szczepu i dodatku inuliny wartość pH w tym produkcie zmniejszyła się o $1,79 \div 2,12$ jednostki. Łapińska [13] w fermentowanym napoju miodowym również zaobserwowała obniżenie pH. Średnia wartość pH wszystkich prób napojów miodowych fermentowanych bakteriami fermentacji mlekowej obniżyła się z 6,2 do ok. 3,65. Istotny wpływ na wartość pH miało stężenie cukru i zastosowany szczep podczas procesu fermentacji ($p < 0,05$).

Tabela 1. Wartość pH fermentowanych napojów w zależności od temperatury i czasu fermentacji
Table 1. pH value of fermented beverages depending on temperature and fermentation time

Szczep Strain	Temperatura fermentacji Fermentation temperature [°C]	Próba kontrolna Control sample	Czas fermentacji [dni] Fermentation time [days]	
			3	5
<i>Lb. casei</i> O12	30	$6,70^a \pm 0,10$	$4,90^{Ab} \pm 0,15$	$4,80^{Ab} \pm 0,15$
	37	$6,60^a \pm 0,12$	$4,70^{Ab} \pm 0,10$	$4,50^{Ab} \pm 0,10$
<i>Lb. johnsonii</i> K4	30	$6,70^a \pm 0,15$	$4,70^{A,b} \pm 0,15$	$4,70^{Ab} \pm 0,10$
	37	$6,60^a \pm 0,10$	$4,60^{Ab} \pm 0,15$	$4,70^{Ab} \pm 0,15$

Objaśnienia / Explanatory notes:

a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami (małymi w rzędach, dużymi w kolumnach) różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters (lowercase in rows, uppercase in columns) differ statistically significantly ($p < 0,05$); $n = 3$.

Ocena semikonsumencka przeprowadzana jest w celu określenia upodobań konsumentów i sprawdzenia stopnia pożądalności produktów poddawanych ocenie. Prefe-

rencje konsumentów uzależnione są od atrakcyjności sensorycznej, wartości odżywczej oraz bezpieczeństwa stosowania wybieranych produktów [2, 3].

Ocenie semikonsumenckiej poddano tylko próby napojów miodowych otrzymanych po 2, 3 i 4 dniach fermentacji. W napojach miodowych po 5-dniowej fermentacji stwierdzono dyskwalifikujące cechy sensoryczne.

Na podstawie analizy wariancji wykazano, że spośród trzech czynników (tj. szczepu, temperatury i czasu fermentacji) na wynik oceny sensorycznej istotny wpływ miał czas fermentacji ($p < 0,05$). Dodatkowo istotna była interakcja szczep \times temperatura oraz temperatura \times czas fermentacji. Oznacza to, że pożądalność produktów fermentowanych w obrębie jednego szczepu jest warunkowana temperaturą fermentacji. Natomiast efekt główny „temperatura” był warunkowany czasem fermentacji. W uzyskanych danych stwierdzono zmianę wpływu temperatury na pożądalność. Po 2 dniach fermentacji wyżej oceniono produkty fermentowane w temp. 37 °C. Wydłużenie fermentacji o kolejne dni spowodowało zmianę, tj. wyższą ocenę sensoryczną przypisano produktom fermentowanym w temp. 30 °C. Porównanie średnich post-hoc za pomocą testu Bonferroniego dowiodło, że statystycznie istotnie wyżej ocenione zostały próby fermentowane w ciągu 2 dni przez *Lb. casei* O12 w temp. 37 °C. Statystycznie istotnie niżej ocenione były próby fermentowane w ciągu 3 i 4 dni przez *Lb. johnsonii* K4 w temp. 37 °C oraz przez *Lb. casei* O12 w temp. 30 °C przez 3 dni ($p < 0,05$) – tab. 2.

Tabela 2. Średnie wyniki oceny semikonsumenckiej fermentowanych napojów w zależności od temperatury i czasu fermentacji

Table 2. Mean results of semi-consumer evaluation of fermented beverages depending on temperature and fermentation time

Szczep Strain	Temperatura fermentacji Fermentation temperature [°C]	Czas fermentacji [dni] Fermentation time [days]		
		2	3	4
<i>Lb. casei</i> O12	30	5,24 \pm 2,10	4,27 \pm 2,36	5,06* \pm 2,60*
	37	5,96* \pm 1,95	5,23 \pm 2,53	4,83* \pm 2,28
<i>Lb. johnsonii</i> K4	30	5,24 \pm 1,84	5,53 \pm 1,74	5,40 \pm 1,97
	37	5,50 \pm 2,22	3,93* \pm 2,03	4,30* \pm 2,06
Próba kontrolna / Control sample		5,04 \pm 2,10	5,16 \pm 2,12	6,09 \pm 1,97
-		N = 50	N = 30	N = 53

Objaśnienia / Explanatory notes:

* – wartości średnie oznaczone gwiazdką są statystycznie istotnie różne od próby kontrolnej ($p < 0,05$) / mean values denoted by asterisk differ statistically significantly from control sample ($p < 0,05$).

Wpływ szczepu i zawartości sacharydów (8 i 10 %) na pożądalność sensoryczną fermentowanego napoju miodowego oceniono w badaniu Łapińskiej [13]. Najwyżej

oceniono napoje miodowe zawierające 10 % sacharydów, fermentowane w temp. 32 i 37 °C z udziałem szczepu *Lb. acidophilus* CH-2.

Wśród wyników badań dostępnych w literaturze, dotyczących zastosowania miodu i probiotyków, można zacytować badania Fiorda i wsp. [7]. Napój probiotyczny otrzymany przez ww. autorów na bazie hydrolizatu sojowego, siary bydłowej, miodu oraz ziaren kefirowych i zawierający potencjalnie probiotyczne szczepy (*Lb. stansuensis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus megaterium*, *Saccharomyces cerevisiae* i *Lachancea fermentati*) wykazywał działanie ochronne DNA i właściwości antyoksydacyjne. Kantachote i wsp. [9] wyprodukowali napój funkcjonalny z tzw. mleka kokosowego z dodatkiem potencjalnie probiotycznego *Lb. plantarum* DW12. Zwiększone korzyści zdrowotne napoju były związane z wytwarzaniem przez probiotyk kwasu γ -aminomasłowego (GABA), witaminy B₁₂, przeciwutleniaczy i związków przeciwbakteryjnych. Dodatek miodu zwiększył akceptowalność sensoryczną napoju.

Wnioski

1. Potencjalnie probiotyczne bakterie przeżywały w napoju miodowym maksymalnie w liczbie 8,14 log jtk/cm³. Zatem spełniły istotne kryterium technologiczne stawiane probiotykom.
2. W trzech wariantach fermentacja dłuższa niż 3 dni skutkowałą zamieraniem komórek w produkcji.
3. Na podstawie prawidłowego przebiegu procesu fermentacji i korzystnej oceny sensorycznej produktu wskazane jest stosowanie do produkcji szczepu *Lactobacillus casei* O12 oraz prowadzenie fermentacji przez 2 dni w temp. 37 °C.
4. Istnieje konieczność doboru szczepu i warunków fermentacji innowacyjnego napoju o pożądanym cechach sensorycznych. Porcja ok. 100 ml będzie dostarczać ok. 10 log jtk żywych potencjalnie probiotycznych mikroorganizmów. Na tym etapie badań produkt nie może być nazwany probiotycznym, jednak jakość sensoryczna i zakres przeżywalności szczepów predysponuje do dalszej oceny ich właściwości probiotycznych.

Literatura

- [1] Aureli P., Capurso L., Castellazzi A.M., Clerici M., Giovannini M., Morelli L. Poli A., Pregliasco F., Salvini F., Zuccotti G.V.: Probiotics and health: An evidence-based review. *Pharmacol. Res.*, 2011, 63 (5), 366-376.
- [2] Babicz-Zielińska E., Zabrocki R.: Postawy konsumentów wobec prozdrowotnej wartości żywności. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 2007, 6 (55), 81-89.
- [3] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: *Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania.* Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.

- [4] Dyrektywa Rady 2001/110/WE z dnia 20 grudnia 2001 r. odnosząca się do miodu. Dz. Urz. UE L 10, ss. 47-52, z 12.01.2002 z późn. zm.
- [5] FAO/WHO: Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Foods. London, Ontario, Canada, 2002.
- [6] Farnworth E.R., Champagne C.P.: Production of probiotic cultures and their incorporation into foods. In: Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. Ed. R.R. Watson, V.R. Preedy. Academic Press, San Diego 2016, pp. 303-318.
- [7] Fiorda F.A., de Melo Pereira G.V., Thomaz-Soccol V., Medeiros A.P., Rakshit S.K., Soccol C.R.: Development of kefir-based probiotic beverages with DNA protection and antioxidant activities using soybean hydrolyzed extract, colostrum and honey. LWT - Food Sci. Technol., 2016, 68, 690-697.
- [8] Holzapfel W.H., Schillinger U.: Introduction to pre- and probiotics. Food Res. Int., 2002, 35, 109-116.
- [9] Kantachote D., Ratanaburee A., Hayisama W., Sukhoom A., Nunkaew T.: The use of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* DW12 for producing a novel functional beverage from mature coconut water. J. Funct. Foods, 2017, 32, 401-408.
- [10] Klindt-Toldam S., Larsen S.K., Saaby L., Olsen L.R., Svenstrup G., Müllertz A., Knøchel S., Heimdal H., Nielsen D.S., Zielińska D.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and *Bifidobacterium lactis* HN019 encapsulated in chocolate during *in vitro* simulated passage of the upper gastrointestinal tract. LWT - Food Sci. Technol., 2016, 74, 404-410.
- [11] Kudełka W., Łobaza D.: Charakterystyka żywności funkcjonalnej. Zesz. Nauk. UE w Krakowie, 2007, 743, 91-120.
- [12] Kun S., Rezessy-Szabó J.M., Nguyen Q.D., Hoschke Á.: Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. Process Biochem., 2008, 43, 816-821.
- [13] Łapińska E.: Wpływ wybranych czynników technologicznych na jakość mikrobiologiczną i sensoryczną fermentowanych napojów miodowych. Praca magisterska. SGGW, Warszawa 2013.
- [14] Majewska E., Trzaneek J.: Właściwości przeciwutleniające miodów wielokwiatowych i innych produktów pszczelich. Bromatol. Chem. Toksykol., 2009, XLII, 1089-1094.
- [15] Marsh A.J., Hill C., Ross R.P., Cotter P.D.: Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. Trends Food Sci. Technol., 2014, 38, 113-124.
- [16] Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B.: Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2012, 1 (80), 27-44.
- [17] Ouwehand A.C.: A review of dose-responses of probiotics in human studies. Benef. Microbes, 2016, 8, 143-151.
- [18] Szydłowska A., Kołożyn-Krajewska D.: Zastosowanie bakterii potencjalnie probiotycznych do fermentacji przecieru z dyni. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, 6 (73), 109-119.
- [19] Zielińska D., Rzepkowska A., Radawska A., Zieliński K.: *In vitro* screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber. Curr. Microbiol., 2014, 70, 183-194.

**SENSORY QUALITY AND VIABILITY OF POTENTIALLY PROBIOTIC STRAINS OF
LACTOBACILLUS IN FERMENTED HONEY BEVERAGE****S u m m a r y**

The objective of the research study was to determine the possibility of using potentially probiotic strains of *Lactobacillus johnsonii* K4 and *Lactobacillus casei* O12 to manufacture a honey beverage having a appropriate sensory quality and containing viable microorganisms. The research material consisted of honey beverages made of multifloral honey and tap water (12.05 g/100 ml). The beverages were fermented for 2, 3, 4 and 5 days with a bacterial monoculture (after inoculation of approx. 7 log cfu/ml) at a temperature of 30 and 37 °C. The average count of bacteria ranged from 6.75 to 8.14 log cfu/ml. The growth of bacteria depended on the strain, the time and the temperature of fermentation ($p < 0.05$). The same factors significantly impacted the mean pH values of all the samples on the subsequent days of fermentation; those pH values ranged between 4.6 and 4.8 ($p < 0.05$). The fermentation time was a factor to statistically significantly impact the sensory evaluation ($p < 0.05$). The samples fermented with a *Lb. casei* O12 strain for 2 days at 37 °C were given the highest scores in the sensory evaluation. The selected bacteria of the *Lactobacillus* species can be used to manufacture an innovative beverage having desirable sensory qualities. At this stage of the research, the product cannot be called probiotic; however, the sensory quality and the range of viability of the strains predispose them to continue evaluation of their probiotic properties.

Key words: honey beverage, probiotic, fermentation, *Lactobacillus* ☒