

BARBARA SIONEK, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA,  
HALINA GAWARSKA, JACEK POSTUPOLSKI

## PRZYDATNOŚĆ TECHNOLOGICZNA SZCZEPU *LACTOBACILLUS* *RHAMNOSUS* K4 DO PRODUKCJI PROBIOTYCZNEGO SOKU WARZYWNEGO

### Streszczenie

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 do wytworzenia produktu probiotycznego na bazie soku z kapusty białej oraz określenie bezpieczeństwa zdrowotnego proponowanego produktu w zakresie zawartości amin biogennych: putrescyny, kadaweryny, tyraminy i histydyny. Materiałem doświadczalnym był fermentowany sok z kapusty białej (*Brassica oleracea* var. *capitata*, odmiany kamienna głowa) z 2-procentowym dodatkiem sacharozy, do którego dodano 30 % soku marchwiowego oraz potencjalnie probiotyczny szczep bakterii kwasu mlekowego – *Lb. rhamnosus* K4. Ustalono warunki fermentacji: czas 6 h i temp. 37 °C, zapewniające uzyskanie produktu o najwyższej ogólnej jakości sensorycznej. Po fermentacji liczba komórek *Lb. rhamnosus* K4 wzrosła z 8,20 do 9,09 log jtk/cm<sup>3</sup>, a wartość pH obniżyła się z 6,02 do 4,84. Do 12. dnia przechowywania soku w temp. 4 i 8 °C liczba komórek utrzymywała się na stałym poziomie, a sensoryczna jakość ogólna wynosiła powyżej 5 j.u. W soku przechowywanym w temp. 23 °C nastąpiło obniżenie jakości ogólnej do 4,7 j.u. 4. dnia oraz do 2,3 j.u. – 12. dnia. Zawartość kadaweryny w świeżym soku wynosiła 0,27 mg/kg, a podczas przechowywania wzrosła do 11,01 mg/kg. Stwierdzono, że istnieje możliwość zastosowania szczepu *Lb. rhamnosus* K4 do produkcji akceptowanego sensorycznie fermentowanego soku z kapusty z dodatkiem surowego soku marchwiowego, o liczbie komórek warunkującej właściwości probiotyczne i bezpieczeństwo zdrowotne produktu.

**Słowa kluczowe:** sok z kapusty białej, fermentacja, bakterie kwasu mlekowego, aminy biogenne

---

Dr inż. B. Sionek, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, Katedra Technologii Gastronomicznej, i Higieny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, mgr H. Gawarska, dr n. med. Jacek Postupolski, Zakład Bezpieczeństwa Żywności, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa. Kontakt: barbara\_sionek@sggw.pl

## Wprowadzenie

Kapusta biała (*Brassica oleracea* var. *capitata*) jest tradycyjnym produktem w diecie europejskiej. Charakteryzuje się dużą zawartością błonnika i białka, zawiera wapń i żelazo oraz jest bogatym źródłem witaminy A, C i witamin z grupy B [5, 12]. Kusznierewicz i wsp. [10] wykazali, że zawiera związki antyoksydacyjne, zapobiegające chorobom nowotworowym. W Polsce powszechnie spożywana jest kapusta kiszona, która powstaje w wyniku fermentacji przy udziale naturalnej mikroflory liści kapusty. Fermentacji sprzyja szatkowanie liści oraz zasolenie. Dodatek do kapusty 2 ÷ 3 % soli ogranicza rozwój bakterii Gram-ujemnych, co sprzyja dominacji bakterii kwasu mlekowego [1].

Obecnie popularność zyskały fermentowane napoje mleczne z dodatkiem bakterii probiotycznych. Niektórzy konsumenci rezygnują jednak z ich spożywania z powodu alergii, nietolerancji laktozy czy zawartości cholesterolu. Uzupełnieniem oferty mogą stać się fermentowane soki roślinne wytwarzane na bazie warzyw, owoców, zbóż i roślin strączkowych [2, 11]. Rozszerzeniem asortymentu tych produktów może być fermentowany sok z kapusty. Bakterie kultur starterowych, w tym probiotycznych, użyte do produkcji takiego soku, powinny charakteryzować się dobrym wzrostem w środowisku kwaśnym i przeżywalnością do końca terminu jego przydatności do spożycia. Szczep powinien nadać produktowi dodatkowe cechy żywności funkcjonalnej. Bakterie kwasu mlekowego izolowane z żywności są dobrym materiałem na bakterie probiotyczne z uwagi na bezpieczeństwo mikrobiologiczne i łatwą adaptację do warunków fermentowanego soku. Zastosowanie kultury starterowej wyselekcjonowanego szczepu bakterii zapewnia odpowiedni przebieg fermentacji.

Aminy biogenne mogą występować w produktach spożywczych pochodzenia roślinnego, szczególnie tych poddanych fermentacji. Tworzą się w wyniku zanieczyszczenia żywności mikroorganizmami zdolnymi do wytwarzania karboksylaz odpowiedzialnych za dekarboksylację aminokwasów. Aminy biogenne spożyte z żywnością swobodnie przedostają się z przewodu pokarmowego do krwi i mogą być przyczyną zatruc pokarmowych, alergii, obniżenia ciśnienia krwi, zaburzeń oddychania, a nawet wstrząsu anafilaktycznego [17].

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 do wytworzenia produktu probiotycznego na bazie soku z kapusty białej oraz określenie bezpieczeństwa zdrowotnego produktu w zakresie zawartości amin biogennych: putrescyny, kadaweryny, tyraminy i histydyny.

## Material i metody badań

W doświadczeniu użyto szczepu *Lactobacillus rhamnosus* K4 z kolekcji Zakładu Higieny Żywności i Zarządzania Jakością SGGW w Warszawie, wyizolowanego

z kiszzonej kapusty metodą spontanicznej fermentacji. Szczep charakteryzował się wybranymi właściwościami probiotycznymi, m.in. przeżywalnością w środowisku o pH = 2,5 i w 4-procentowym roztworze soli żółci [22]. Szczep przechowywano w temp. -80 °C z 20-procentowym dodatkiem glicerolu. Ożywienie polegało na zaszczepieniu badanym szczepem 5 cm<sup>3</sup> bulionu MRS i inkubacji w temp. 37 °C przez 24 h. Następnie pobierano 1 cm<sup>3</sup> hodowli i po przeniesieniu do 9 cm<sup>3</sup> bulionu MRS całość poddawano ponownej inkubacji w ww. warunkach. Otrzymaną hodowlę wirowano (5 min, 10 tys. obr./min), zlewano bulion MRS i zastępowano go jałowym sokiem z kapusty. Tak przygotowaną kulturę bakterii używano do fermentacji soku. Liczba komórek w hodowli wyjściowej używanej do zaszczepienia soku wynosiła ok. 9 log jtk/cm<sup>3</sup>.

Surowcem do badań była kapusta biała (*Brassica oleracea* var. *capitata*, odmiana kamienna głowa) pochodząca z upraw z okolic Warszawy. Wybrano surowiec świeży, bez uszkodzeń mechanicznych i przechowywano w temp. 4 °C do momentu użycia. Po usunięciu zewnętrznych liści i głąba, z kapusty uzyskiwano sok przy użyciu sokowirówki Kenwood JE 500 (Kenwood, Wielka Brytania). W celu usunięcia natywnej mikroflory sok z 2-procentowym dodatkiem sacharozy poddawano pasteryzacji w temp. 90 °C przez 15 min. Po ochłodzeniu do temp. 40 °C sok zaszczepiano hodowlą bakterii *Lactobacillus rhamnosus* K4 w ilości 1 cm<sup>3</sup> hodowli na 99 cm<sup>3</sup> soku. Fermentację prowadzono w temp. 30 i 37 °C, w ciągu 6, 24 i 48 h, co pozwoliło na ustalenie najkorzystniejszych parametrów procesu. Na podstawie wyników wcześniejszych badań do fermentowanego soku dodawano 30 % soku z marchwi odmiany 'Laguna' (Neoprofit, Wawrzeńczyce, Polska), uzyskanego w warunkach laboratoryjnych. Następnie sok przechowywano w temp. 4, 8 i 23 °C przez 20 dni i okresowo pobierano próbki do badań. Dobór warunków fermentacji soku z kapusty z dodatkiem soku marchwiowego prowadzono z uwzględnieniem wyników analizy sensorycznej metodą szeregowania (1 – najlepszy, 6 – najgorszy) [7]. W celu określenia zmian jakości sensorycznej soku podczas przechowywania stosowano metodę Ilościowej Analizy Opisowej (QDA) [6, 16]. W ocenie sensorycznej każdorazowo brało udział 12 - 15 przeszkolonych osób.

Liczbę bakterii fermentacji mlekowej oznaczano metodą płytkową przez posiew wgłębny na podłożu wybiórczym MRS (Biokar Diagnostic, Francja). Inkubację prowadzono w temp. 37 °C przez 48 h. Wyniki podano w jednostkach tworzących kolonie na 1 cm<sup>3</sup> soku (jtk/cm<sup>3</sup>).

Zawartość amin biogennych oznaczano metodą HPLC. Próbkę bezpośrednio przed ekstrakcją kwaśną homogenizowano do uzyskania jednorodnej masy. Do 5 g homogenatu dodawano 10 cm<sup>3</sup> roztworu wodnego HClO<sub>4</sub> o stężeniu 0,2 mol/dm<sup>3</sup>, homogenizowano z odpowiednią ilością standardu wewnętrznego (1,7-diaminoheptanu) i przenoszono do kolb o pojemności 50 cm<sup>3</sup>. Do reakcji derywatywacji używano nasyconego roztworu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i chlorku dansylu (7,5 mg/dm<sup>3</sup>). Całość ogrzewano 15 min

w łaźni wodnej. Pochodne amin biogennych z roztworu wodnego ekstrahowano do warstwy organicznej toluenem. Zawartość amin biogennych oznaczano przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Alliance Separation Module 2695, Waters Alliance, Milford, USA) w odwróconym układzie faz (RP-HPLC), w kolumnie typu Kromasil C18 (5  $\mu\text{m}$ , 250 mm  $\times$  4,6 mm ID, z odpowiednią prekolumną) termostатовanej w temp. 25  $^{\circ}\text{C}$ , przy  $\lambda = 254$  nm. Temperatura podajnika próbek wynosiła 4  $^{\circ}\text{C}$ , przepływ fazy ruchomej – 1  $\text{cm}^3/\text{min}$ . Fazę ruchomą stanowiła mieszanina acetonitryl : woda, stosowano tryb elucji gradientowej według schematu [%]: 1 min – 35 : 65, 10 min – 20 : 80, 12 min – 10 : 90, 16 min – 0 : 100, 23 min – 0 : 100. Czas retencji (RT) oznaczania jednej próbki amin biogennych wynosił 23 min. Wyniki zawartości poszczególnych amin obliczano z równania:  $y = cAB$  (Tyr, Pu, Hi, Ka)/ $cI \times b$  i podano w mg/kg.

Wartość pH mierzono aparatem Lab 860 (Schott Instruments, Niemcy) z uwzględnieniem temperatury soku. Wykonano dwie serie doświadczeń.

Wyniki opracowano w programie Statistica 10.0. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Różnice między wartościami średnimi weryfikowano testem Tukeya HSD na poziomie istotności  $p = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Atrakcyjność produktu, jego jakość sensoryczna, a przede wszystkim smak i zapach odgrywają główną rolę w akceptacji produktu przez konsumenta. Jakość sensoryczna była kryterium wyboru warunków fermentacji soku z kapusty. Wyniki oceny sensorycznej metodą szeregowania umożliwiły wykazanie zależności pożądalności soków od warunków fermentacji (tab. 1). Soki fermentowane w dłuższym czasie składowania charakteryzowały się mniejszą pożądalnością. Największą pożądalnością (najniższą wartością średniej rangowej) wyróżniał się sok fermentowany w temp. 37  $^{\circ}\text{C}$  przez 6 h. Sok ten różnił się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) pod względem tej cechy od próbek fermentowanych w dłuższym czasie. Zielińska [21] w badaniach dotyczących fermentowanego napoju sojowego także wykazała, że do wytworzenia produktu roślinnego o korzystnych cechach sensorycznych nie jest wymagany długi czas fermentacji.

Czas i temperatura fermentacji wpływały na przeżywalność komórek *Lb. rhamnosus* K4 i kwasowość (tab. 1). Nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych ( $p < 0,05$ ) pod względem liczby komórek w soku po 24 h fermentacji w temp. 30 i 37  $^{\circ}\text{C}$ . Wydłużenie fermentacji do 48 h w 30  $^{\circ}\text{C}$  skutkowało statystycznie istotnym ( $p < 0,05$ ) zmniejszeniem liczby komórek. Zmiany kwasowości po 48 h fermentacji były nieistotne statystycznie, a kwasowość w temp. 30  $^{\circ}\text{C}$  i 37  $^{\circ}\text{C}$  wynosiła odpowiednio: 3,75 i 3,80. Z uwagi na zadowalającą liczbę komórek bakterii i najwyższą ogólną jakość sensoryczną, do dalszych badań wybrano sok po 6 h fermentacji w temp. 37  $^{\circ}\text{C}$ .

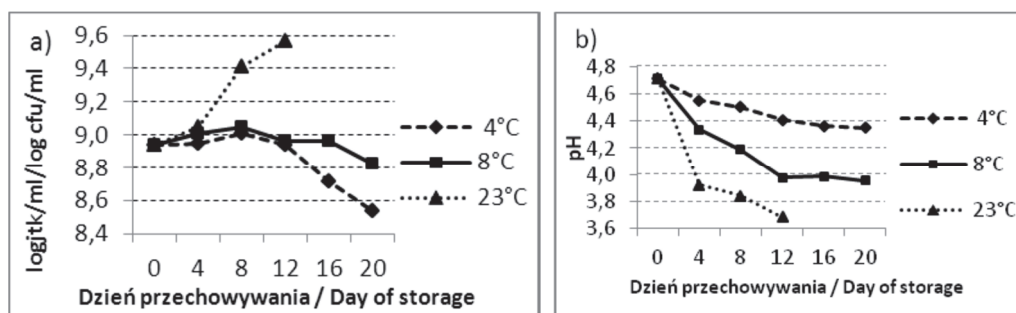
Tabela 1. Średnie wyniki oceny sensorycznej, liczby komórek *Lb. rhamosus* K4 i pH fermentowanego soku z kapusty białej z dodatkiem soku z marchwi i sacharozy, determinowane czasem i temperaturą fermentacji

Table 1. Mean values of sensory evaluation, count of *L.b rhamosus* K4 bacteria, and pH value of fermented cabbage juice with carrot juice and sucrose added

Czas i temperatura fermentacji Time and temperature of fermentation [h]/[°C]	Średnia rangowa oceny sensorycznej Sensory evaluation mean rank [1-6]	Liczba komórek <i>Lb. rhamosus</i> K4 Count of <i>Lb. rhamosus</i> K4 bacteria [log/jtk/cm <sup>3</sup> ]	pH
0	-	8,20 <sup>l</sup> ± 0,03	6,02 <sup>k</sup> ± 0,01
6 / 37	1,7 <sup>b</sup> ± 0,9	9,09 <sup>eg</sup> ± 0,18	4,84 <sup>l</sup> ± 0,01
6 / 30	2,6 <sup>ab</sup> ± 1,2	8,41 <sup>dij</sup> ± 0,29	4,95 <sup>l</sup> ± 0,07
24 / 37	3,4 <sup>a</sup> ± 0,6	8,71 <sup>ighi</sup> ± 0,08	3,80 <sup>m</sup> ± 0,14
24 / 30	2,4 <sup>ab</sup> ± 1,4	9,14 <sup>eg</sup> ± 0,17	3,95 <sup>m</sup> ± 0,07
48 / 37	5,5 <sup>c</sup> ± 0,5	8,38 <sup>dij</sup> ± 0,03 <sup>l</sup>	3,80 <sup>m</sup> ± 0,14
48 / 30	5,4 <sup>c</sup> ± 0,6	8,68 <sup>deh</sup> ± 0,06	3,75 <sup>m</sup> ± 0,07

Objaśnienia / Explanatory notes:

a - m – wartości średnie oznaczone różnymi indeksami różnią się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) / Mean values denoted by different superscripts differ statistically significantly ( $p < 0.05$ );  $n = 6 - 8$



Rys. 1. Zmiana: (a) liczby komórek *Lb. rhamosus* K4 i (b) pH fermentowanego soku z kapusty białej z dodatkiem soku z marchwi i sacharozy podczas przechowywania w temp. 4 °C, 8 °C i 23 °C

Fig. 1. Change in: *Lb. rhamosus* K4 lactic acid bacteria counts (a) and (b) pH of fermented cabbage juice with carrot juice and sucrose added during storage at temp. of 4 °C, 8 °C, and 23 °C

Sok przechowywany w temp. 23 °C cechował się stałym (istotnym od 4. dnia) wzrostem liczby bakterii świadczącym o niezakończeniu fazy logarytmicznego wzrostu (rys. 1a). W zakresie przeżywalności bakterii w temp. 4 i 8 °C nie stwierdzono istotnych różnic pod względem liczby komórek do 12. dnia doświadczenia. Ostatniego dnia przechowywania, w temp. 4 °C liczba komórek bakterii kwasu mlekowego zmniejszyła się istotnie, podczas gdy w temp. 8 °C była ona na tym samym poziomie.

Liczba komórek *Lb. rhamnosus* K4 do końca przechowywania soku w temp. 4, 8 i 23 °C była wysoka, powyżej  $8,5 \log \text{ jtk/cm}^3$ , co spełniało minimum terapeutyczne produktów probiotycznych [3].

Wzrost komórek i ich aktywność metaboliczna wpłynęły na zmiany pH soku w każdej temperaturze przechowywania (rys. 1b). W temp. 8 °C obserwowano stałe, stopniowe obniżanie pH, statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ) do 12. dnia. Obniżenie pH z 4,71 po fermentacji do 3,69; 3,95 i 4,35 ostatniego dnia, odpowiednio w temp. [°C]: 23, 8 i 4 nie zahamowało wzrostu bakterii. Obniżenie pH poniżej 4,0 może hamować wzrost komórek [18], jednak w niniejszych badaniach nie wykazano tej tendencji. Można stwierdzić, że szczep *Lb. rhamnosus* K4 jest oporny na niskie pH soku z kapusty.

Mousavi i wsp. [14] zaobserwowali zróżnicowaną przeżywalność szczepów *Lactobacillus* w fermentowanym soku z granata (w temp. 30 °C przez 72 h). Szczepy *Lb. plantarum* i *Lb. delbrueckii* w pierwszych dwóch tygodniach przechowywania (w temp. 4 °C) wykazały zdolność przeżycia. Natomiast w przypadku *Lb. paracasei* i *Lb. acidophilus* już po pierwszym tygodniu nie stwierdzono obecności żywych komórek, co było spowodowane niskim pH soku i temperaturą przechowywania. Yoon i wsp. [20] po przechowywaniu fermentowanego soku z kapusty w temp. 4 °C przez cztery tygodnie stwierdzili obecność żywych komórek *L. plantarum* i *L. delbrueckii* na poziomie odpowiednio:  $4,1 \times 10^7 \text{ jtk/cm}^3$  i  $4,5 \times 10^5 \text{ jtk/cm}^3$ , podczas gdy *L. casei* nie był zdolny do przeżycia. Z badań własnych wynika, że szczep *Lb. rhamnosus* K4 wykazywał żywotność w założonym okresie przechowywania, a sok z kapusty stanowił dobre środowisko rozwoju i przeżywalności bakterii.

Podczas projektowania nowych produktów żywnościowych ich bezpieczeństwo zdrowotne należy uznać za nadrzędne, dlatego w czasie procesu wytwarzania soków ważne jest minimalizowanie zawartości składników toksycznych, do których zalicza się aminy biogenne. Mogą one występować w fermentowanym soku z kapusty i w kapuście kiszonej [4, 8, 13, 15, 17]. W badaniach własnych wykazano, że zawartość amin biogennych oznaczonych w soku po fermentacji była na podobnym poziomie jak w soku świeżym, z wyjątkiem kadaweryny, której poziom wzrastał w soku po fermentacji i w trakcie przechowywania (tab. 2). Karovičová i wsp. [9] także zaobserwowali wzrost zawartości kadaweryny w wyniku 7-dniowej fermentacji z użyciem kultury startowej *Lactobacillus* w soku z kapusty i marchwi. Stwierdzona w badaniach własnych zawartość histaminy, tyraminy, putrescyny nie zmieniała się w czasie przechowywania. Kadaweryna w soku świeżym występowała w ilości śladowej (0,27 mg/kg), natomiast podczas przechowywania jej zawartość w soku fermentowanym znacznie wzrosła – od 5,25 mg/kg (w 16. dniu przechowywania w temp. 8 °C) do 11,01 mg/kg (w 20. dniu składowania w temp. 8 °C), co mogło mieć wpływ na właściwości sensoryczne soku. Nie zaobserwowano jednak bezpośredniego związku za-



wartości amin z jakością sensoryczną soku. Rabie i wsp. [17] stwierdzili wzrost całkowitej zawartości amin biogennych w wyniku chłodniczego przechowywania fermentowanego soku z kapusty – ich zawartość była największa w 45. dniu przechowywania. Profil amin zależał od szczepu bakterii (w fermentacji kontrolowanej stwierdzono obecność trzech amin biogennych, w fermentacji spontanicznej – sześciu).

Tabela 2. Zawartość amin biogennych w soku z kapusty białej z dodatkiem soku z marchwi i sacharozy, determinowana procesem fermentacji oraz temperaturą i czasem przechowywania [mg/kg]

Table 2. Content of biogenic amines in cabbage juice with added carrot juice and sucrose [mg/kg] as determined by fermentation process, temperature, and storage time

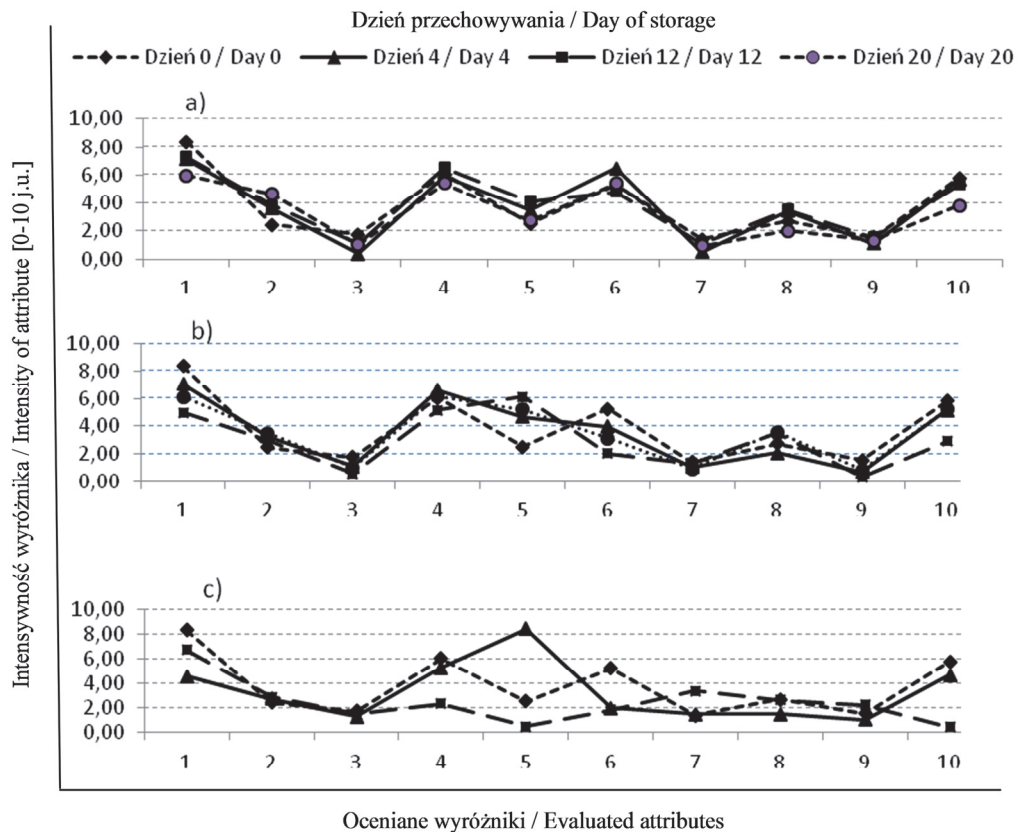
Sok z kapusty / Cabbage juice		Histamina Histamine	Tyramina Tyramine	Putrescyna Putrescine	Kadaweryna Cadaverine
Świeży / Fresh		4,55 ± 0,55	0,40 ± 0,05	5,27 ± 0,64	0,27 ± 0,03
Pasteryzowany / Pasteurised		6,28 ± 0,76	3,68 ± 0,45	8,63 ± 1,05	1,95 ± 0,24
Po fermentacji / Fermented		2,47 ± 0,30	0,52 ± 0,06	4,97 ± 0,61	7,61 ± 0,93
Temperatura Temperature [°C]	Dzień / Day	Zawartość amin w soku fermentowanym w czasie przechowywania Content of amines in fermented juice during storage			
4	4.	2,31 ± 0,28	1,90 ± 0,23	5,79 ± 0,71	7,11 ± 0,87
	8.	1,93 ± 0,24	0,8 ± 0,10	4,92 ± 0,60	8,17 ± 1,00
	12.	2,72 ± 0,33	1,14 ± 0,14	6,03 ± 0,74	9,55 ± 1,17
	16.	2,00 ± 0,257	0,78 ± 0,10	5,54 ± 0,68	7,84 ± 0,96
	20.	2,70 ± 0,32	0,81 ± 0,14	6,37 ± 0,78	9,28 ± 1,12
8	4.	3,11 ± 0,38	1,91 ± 0,10	3,72 ± 0,45	6,87 ± 0,84
	8.	Nie uzyskano wyniku No result obtained	5,12 ± 0,62	4,25 ± 0,52	5,59 ± 0,68
	12.	3,46 ± 0,42	2,57 ± 0,23	6,16 ± 0,75	6,94 ± 0,85
	16.	2,78 ± 0,34	5,90 ± 0,72	4,61 ± 0,56	5,25 ± 0,64
	20.	2,82 ± 0,34	5,49 ± 0,67	4,50 ± 0,55	11,01 ± 1,34
23	8.	4,11 ± 0,50	2,28 ± 0,28	6,63 ± 0,81	8,39 ± 1,02
	12.	3,76 ± 0,46	2,09 ± 0,25	6,22 ± 0,76	8,77 ± 1,07

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations, n = 3

Na jakość sensoryczną fermentowanego soku z kapusty z dodatkiem soku z marchwi istotny wpływ miał czas i temperatura przechowywania. Ogólna jakość sensoryczna soku przechowywanego w temp. 4 °C była na akceptowanym poziomie do 12. dnia (rys. 2). Intensywność smaku kwaśnego zarówno po fermentacji, jak i 20. dnia przechowywania, była na tym samym poziomie, odpowiednio: 2,52 i 2,72 j.u. W 20. dniu przechowywania jakość ogólna produktu obniżyła się statystycznie istotnie

( $p < 0,05$ ) do 3,81 j.u., co może wynikać ze zmniejszenia intensywności zapachu kapusty i smaku orzeźwiającego. Smak i zapach oceniono bowiem jako obojętny, a sok jako nieakceptowany.



Objaśnienia / Explanatory notes:

Wyróżniki / Attributes: 1 – zapach kapusty / smell of cabbage; 2 – z. słodki / sweet s.; 3 – z. obcy / strange s.; 4 – smak kapusty / flavour of cabbage; 5 – s. kwaśny / sour f.; 6 – s. słodki / sweet f.; 7 – s. gorzki / bitter f.; 8 – s. orzeźwiający / refreshing f.; 9 – s. obcy / strange f.; 10 – jakość ogólna / overall quality.

Rys. 2. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych fermentowanego soku z kapusty z dodatkiem soku marchwiowego i sacharozy podczas przechowywania w temperaturze: a) 4 °C, b) 8 °C, c) 23 °C (metoda QDA,  $n = 16$ )

Fig. 2. Evaluation results of intensity of sensory attributes of fermented cabbage juice with added carrot juice and 2 % sucrose during storage at temperature: a) 4 °C; b) 8 °C; c) 23 °C (QDA method,  $n = 16$ )

Sok przechowywany w temp. 8 °C, podobnie jak w 4 °C, zachowywał dobrą ogólną jakość sensoryczną (powyżej 5 j.u.) do 12. dnia. Ostatniego dnia składowania nastąpiło statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ) obniżenie średniej jakości ogólnej o ponad 2



jednostki – do wartości 2,91 j.u. Mogło ono wynikać z obniżenia intensywności smaku słodkiego do 2,01 j.u. oraz wzrostu wrażenia kwaśności do 6,12 j.u., co ma odzwierciedlenie w obniżeniu pH do 3,95. Intensywne zakwaszenie produktu może mieć wpływ na obniżenie jakości ogólnej produktu [2].

Jakość ogólną soku przechowywanego w temp. 23 °C oceniono wysoko jedynie po fermentacji. Już 4. dnia przechowywania jakość ogólna obniżyła się do poziomu poniżej 5 j.u. Na brak akceptacji sensorycznej 12. dnia (średnia jakość ogólna na poziomie 2,3 j.u.) mógł wpłynąć wzrost intensywności smaku kwaśnego do 9,1 j.u., ale przede wszystkim statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost odczuwania smaku gorzkiego (wzrost z 1,50 j.u. do wartości 4,71). Intensywność smaku kwaśnego i słodkiego była na zbliżonym poziomie 4. i 12. dnia przechowywania. Można więc stwierdzić, że wyróżnik negatywny, jakim jest smak gorzki, w największym stopniu wpływa na obniżenie jakości przechowywanego produktu w tej temperaturze.

Trząskowska i Kołożyn-Krajewska [19] zastosowały szczep *Lb. acidophilus* do fermentacji soku marchwiowego i wykazały, że produkt przechowywany w temp. 15 °C był niżej oceniany pod względem jakości ogólnej niż soki przechowywane w temp. 5 °C i 10 °C. Prawdopodobnie wiązało się to z większą aktywnością metaboliczną bakterii w 15 °C, której wynikiem było znaczne obniżenie pH. Zmiany zachodzące w produkcie przechowywanym w wyższej temperaturze powodują wzrost odczuwania wyróżników negatywnych, co prowadzi do niestabilności cech sensorycznych.

## Wnioski

1. Na podstawie przeprowadzonej oceny sensorycznej ustalono najkorzystniejsze warunki fermentacji soku z kapusty białej z dodatkiem surowego soku marchwiowego, tj. czas – 6 h, temp. – 37 °C i fermentacja szczepem potencjalnie probiotycznym *Lactobacillus rhamnosus* K4.
2. Stwierdzono, że czas i temperatura przechowywania miały wpływ na jakość mikrobiologiczną i sensoryczną fermentowanego soku z kapusty białej z dodatkiem soku z marchwi. Na podstawie wyników ogólnej jakości sensorycznej określono, że optymalny czas przechowywania badanego soku wynosi nie więcej niż 12 dni, a temperatura przechowywania nie może być wyższa niż 8 °C.
3. Zawartość kadaweryny w soku zwiększała się po fermentacji i przechowywaniu, jednak nie miało to istotnego wpływu na jakość sensoryczną. Celowe jest jednak kontrolowanie zawartości amin biogennych, jako wskaźnika zdrowotnego bezpieczeństwa produktu, w fermentowanych produktach roślinnych.
4. Szczep *Lactobacillus rhamnosus* K4 może być stosowany do produkowania fermentowanego soku z kapusty białej – akceptowanego sensorycznie, o odpowied-

niej liczbie komórek warunkującej właściwości probiotyczne, przy zachowaniu bezpieczeństwa zdrowotnego produktu.

### Literatura

- [1] Beganović J., Pavunc A.L., Gjuračić K., Šušković J., Kos B.: Improved sauerkraut production with probiotic strain *Lactobacillus plantarum* L4 and *Leuconostoc mesenteroides* LMG 7954. *J. Food Sci.*, 2011, **76** (2) 124-129.
- [2] Buruleanu L.C., Nicolescu C.L., Avram D., Braru M.G., Manea J.: Survival of probiotic bacteria during lactic acid fermentation of vegetable juices. *J. Agroalim. Proc. Technol.*, 2009, **15** (1) 132-139.
- [3] 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 Food. London, Ontario, Canada, 2002.
- [4] Gawarska H., Sawilska-Rautenstrauch D., Ścieżyńska H., Minorczyk M., Postupolski J.: Występowanie wolnych amin biogennych: histaminy, tyraminy, putrescyny i kadaweryny w owocach i warzywach oraz ich produktach. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, **XLV** (2) 105-110.
- [5] Hasan M.R., Solaiman, H.M.A.: Efficacy of organic and organic fertilizer on the growth of *Brassica oleracea* L. (Cabbage). *Intl. J. Agric. Crop. Sci.*, 2012, **4** (3) 128-138.
- [6] ISO 6658:2005. Sensory analysis. Methodology. General guidance.
- [7] PN-EN ISO 13299:2010. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ogólne wytyczne ustalania profilu sensorycznego.
- [8] Kalač P., Spička J., Křížek M., Pelikánová T.: The effect of lactic acid bacteria inoculants on biogenic amines formation in sauerkraut. *Food Chem.*, 2000, **70**, 355-359.
- [9] Karovičová J., Drdák M., Greif G., Hybenová E.: The choice of strains of *Lactobacillus* species for the lactic acid fermentation of vegetable juices. *Eur. Food Res. Technol.*, 1999, **210**, 53-56.
- [10] Kusznierevicz B., Piasek A., Lewandowska J., Śmiechowska A., Baroszek A.: Właściwości przeciwnowotworowe kapusty białej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **55** (6) 20-22.
- [11] Martins E.M.F., Ramos A.M., Vansela E.S.L., Stringheta C.P., de Oliveira Pinto C.L., Martins J.M.: Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of the probiotic bacteria. *Food Res. Int.*, 2013, **51**, 764-770.
- [12] Meena M.L., Ram R.B., Lata R., Sharma S.R.: Determining yield components in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) through correlation and path analysis. *Inter. J. Sci. Nat.*, 2010, **1** (1) 27-30.
- [13] Moret S., Smel D., Populin T., Conte L.S.A.: Survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. *Food Chem.*, 2005, **89**, 355-361.
- [14] Mousavi Z.E., Mousavi S.M., Razavi S.H., Emam-Djomeh Z., Kiani H.: Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World J. Microbiol. Biot.*, 2011, **27** (1) 123-128.
- [15] Peñas E., Frias J., Sidro B., Vidal-Valverde C.: Impact of fermentation condition and refrigerated storage on microbial quality and biogenic amine content of sauerkraut. *Food Chem.*, 2010, **123**, 143-150.
- [16] PN-ISO 11035:1999. Analiza sensoryczna. Identyfikacja i wybór deskryptorów do ustalania profilu sensorycznego z użyciem metod wielowymiarowych.
- [17] Rabie M.A., Siliha H., el-Saidy S., el-Badawy A., Malcata F.X.: Reduced biogenic amine contents in sauerkraut via addition of selected lactic acid bacteria. *Food Chem.*, 2011, **129** (4) 1778-1782.
- [18] Shah N.P.: Funcional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technol.*, 2001, **55** (11) 46-53.

- [19] Trzaskowska M., Kołożyn-Krajewska D.: Fermentowany sok marchwiowy z dodatkiem bakterii potencjalnie probiotycznych. W: Probiotyki w żywności. Red. D. Kołożyn-Krajewska i Z.J. Dolatowski. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2010, ss. 161-180.
- [20] Yoon K.Y., Woodams E.E., Hang Y.D.: Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Biores. Technol.*, 2006, **97** (12), 1427-1430.
- [21] Zielińska D.: Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **43** (2) Supl., 289-297.
- [22] 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.*, 2015, **70**, 183-194.

#### TECHNOLOGICAL SUITABILITY OF *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* K4 STRAIN FOR PRODUCING PROBIOTIC VEGETABLE JUICE

##### S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the applicability of *Lactobacillus rhamnosus* K4 strain for the production of cabbage juice-based probiotic product and to determine the health safety of the product suggested as regards the content of the following biogenic amine therein: putrescine, cadaverine, tyramine, and histidine. The experimental material consisted of a fermented cabbage juice (*Brassica oleracea* var. *capitata*, kamienna głowa variety) combined with 2% sucrose and 30% carrot juice added to it, and with potentially probiotic lactic acid bacterial strain of *Lb. rhamnosus* K4. The fermentation conditions were set, i.e. fermentation time: 6h and temp.: 37 °C; they ensured that the product to be obtained would have the highest overall sensory quality. After fermentation the count of *Lb. rhamnosus* K4 bacteria increased from 8.20 to 9.09 cfu/cm<sup>3</sup> and the pH value decreased from 6.02 to 4.84. The count of the cells remained at a constant level and the overall sensory quality was above 5 arb.u. until the 12<sup>th</sup> day of storing the juice at a temp. of 4 and 8 °C. In the juice stored at 23 °C, the overall sensory quality decreased to 4.7 arb.u. on the 4<sup>th</sup> day and to 2.3 arb.u. on the 12<sup>th</sup> day. The content of cadaverine in fresh juice amounted to 0.27 mg/kg and it increased throughout the storage from 5.25 to 11.01 mg/kg. It was concluded that that it was possible to apply the *Lb. rhamnosus* K4 strain for the production of sensory acceptable fermented cabbage juice with a raw carrot juice added and where the count of those bacteria would determine the probiotic properties and health safety of the product.

**Key words:** cabbage juice, fermentation, lactic acid bacteria, biogenic amines 