

# FERMENTACE – EFEKTIVNÍ ZPŮSOB ZLEPŠENÍ SENZORICKÝCH VLASTNOSTÍ RAKYTNÍKOVÉ ŠŤÁVY

Zuzana Krepsová\* – Mária Greifová – František Kreps

Slovenská Technická Univerzita v Bratislava, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,

Ústav potravinárstva a výživy

\*[zuzana.krepsova@stuba.sk](mailto:zuzana.krepsova@stuba.sk)

## Abstrakt

Práca vedie k zariadeniu podmienok umožňujúcich prípravu fermentovaného ovocného nápoja s obsahom rakytníkovej a jablkovej šťavy a upozorňuje na benefity, ktoré prináša fermentácia ovocných štiav. Experimentálne výsledky dokazujú, že *Lb. plantarum* je najvhodnejší mikroorganizmus na fermentáciu rakytníkovej šťavy (RŠ) s nízkym pH a vysokým obsahom kyseliny jablčnej. Najlepšie podmienky pre priebeh jablkovo-mliečnej fermentácie s baktériou *Lb. plantarum* zabezpečuje kombinácia rakytníkovej a jablkovej šťavy v pomere 2:3. Počas fermentácie sme nezaznamenali výrazný pokles obsahu cukrov, ale bol pozorovaný pokles obsahu kyseliny jablčnej, zvýšenie obsahu kyseliny mliečnej, zvýšenie hodnoty pH a pomer cukrov a kyselín. Pozorovali sme pokles celkového obsahu fenolov, a zvýšenie celkovej antioxidačnej aktivity fermentovanej šťavy, čo je výborný prínos z hľadiska zlepšenia nutričných vlastností RŠ.

**Kľúčové slová:** Rakytník, jablčno-mliečna fermentácia; *Lactobacillus plantarum*

## Materiál

	100 % rakytníková šťava (RŠ) cultivar Leikora	100 % jablková šťava (JŠ) z odrôd Golden Delicious, Jonagold a Gala
obsah fenolických látok [mg GAE/ 100 g]	3870,52 ± 1,21	418,45 ± 1,01
Obsah flavonoidov [mg QE/ 100 g]	2150,12 ± 1,06	55,98 ± 0,45
Kyselina jablčná [mg/ 100 ml]	1210,27 ± 1,14	847,73 ± 1,03
Obsah vitamínu C [mg/ 100 ml]	490,56 ± 0,89	6,57 ± 0,23
pH	2,8	3,4

## Metódy

### • Mikrobiologické analýzy

Rast mikrobiálnych kmeňov a zmesných kultúr sme sledovali v roztokoch RŠ v koncentráciách (25 %, 50 %, 100 %) v zmesi s MRS bujónom a v samotnom MRS bujóne pomocou merania absorbancie v 3 paralelkách.

Použité boli nasledovné

- Mikroorganizmy: *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Lb. reuteri*, *Lb. rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*;
- zmesné kultúry: jogurtová, probiotická, smotanová a kefirová.

Naočkované roztoky sa inkubovali v mikroplatničkovom readeri 24 hodín pri 37 °C za aeróbných podmienok. Meranie absorbancie prebehlo každú hodinu pri vlnovej dĺžke 600 nm.

### • Životaschopnosť *Lb. plantarum*

RŠ sme kombinovali s JŠ s cieľom optimalizovať prostredie pre rast mikroorganizmov. Prídavkom RŠ do JŠ sme pripravili zmesné šťavy na fermentáciu s koncentráciou RŠ 10 %, 20 %, 30 % a 40 %. Do skúmaviek sme odobrali 5 ml zo zmesných štiav a inokulovali ich 200 µl nočnej kultúry *Lb. plantarum*, ktorá rástla v MRS bujóne. Inkubácia prebiehala pri 37 °C za aeróbných podmienok. V daných časoch sme zo skúmaviek odobrali 1 ml a pripravili desiatkové riedenia fyziologickým roztokom po rad 10<sup>-6</sup>. Z nariadených vzoriek sme odobrali 200 µl a inokulovali ich na povrch MRS agaru s následným rozterom hokejkou. Naočkované Petriho misky boli umiestnené v termostate s 37 °C a aeróbnymi podmienkami.

### • Stanovenie kyseliny askorbovej, jablčnej a mliečnej

Kyselinu jablčnú, mliečnu a askorbovú sme stanovovali pomocou HPLC podľa (Schubertová et al. 2021).

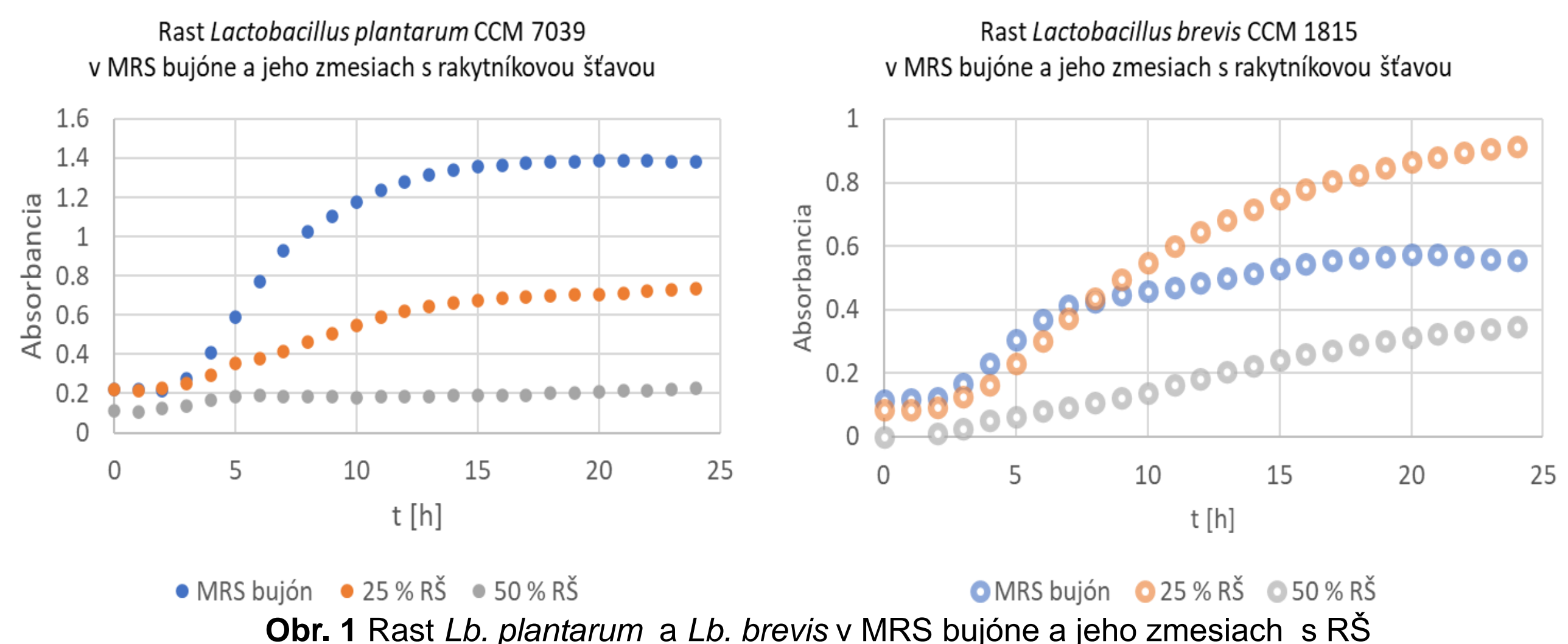
### • Stanovenie celkového obsahu fenolov, flavonoidov a antioxidačnej aktivity

Celkový obsah fenolov bol stanovený spektrofotometricky po reakcii s Folin-Ciocalteuovým činidlom a bezvodým Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Yu et al. 2002). Obsah flavonoidov bol stanovený spektrofotometricky po reakcii s AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O v etanole (Kreft et al. 2002). Antioxidačná aktivita bola stanovená spektrofotometricky metódou DPPH.

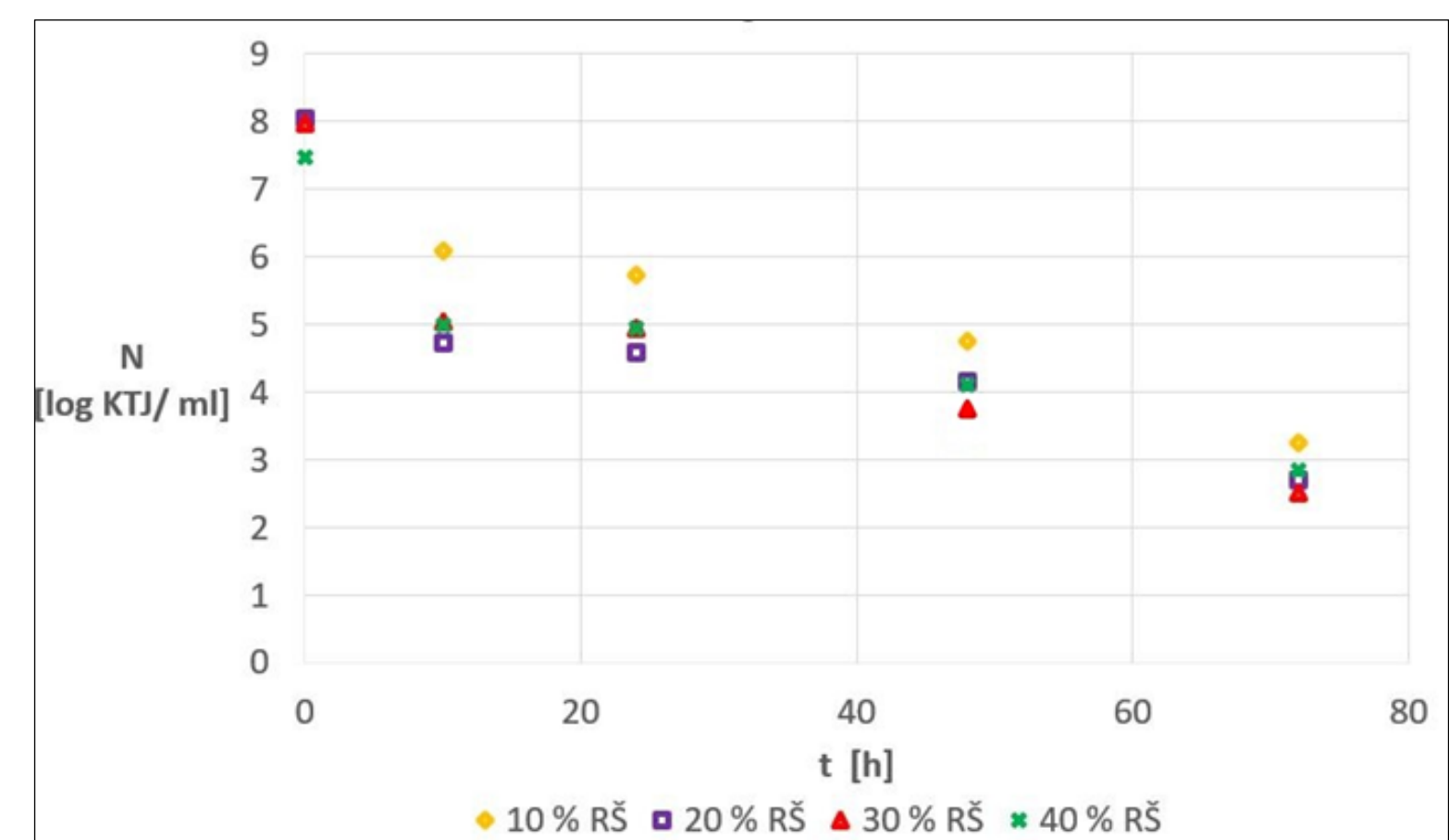
## Výsledky a diskusia

Najlepší rast preukázal *Lb. plantarum*, ale aj *Lb. brevis* (Obr. 1). Žiadna kultúra nerástla dobre v 50 % a 100 % RŠ. *Lb. brevis* rástol dokonca lepšie v 25 % RŠ ako v MRS bujóne a lepšie v 50 % RŠ než *Lb. plantarum*. Jeho metabolizmom cukrov však dochádza k vyššej produkcii kyseliny octovej, etanolu a CO<sub>2</sub> ako v prípade *Lb. plantarum*, ktorý produkuje takmer výlučne kyselinu mliečnu. Produkty metabolizmu *Lb. brevis* by tak pri výrobe ovocných štiav mohli spôsobiť nevhodnú chuť, ale aj nárast obsahu alkoholu. Pre ďalšie experimenty sme preto zvolili *Lb. plantarum*. Pri výbere ovocnej šťavy, ktorú sme pridali k RŠ s cieľom vytvoriť lepšie podmienky pre rast *Lb. plantarum*, sme brali do úvahy jej dostupnosť a taktiež sme vychádzali zo štúdie (Espirito-Santo, 2015), ktorá dokumentovala lepšiu rast *Lb. plantarum* v JŠ než v hrozňovej alebo pomarančovej. Zo zostrojených priblížení rastových čiar (Obr. 2) vidno, že počet kolóniotvorných jednotiek KTJ *Lb. plantarum* v zmesných šťavách bol na začiatku fermentácie 7 – 8 KTJ/ml a počas fermentácie pomaly klesal. Za 72 h sa znížil o 5 logaritmickejch poriadkov. Počet KTJ *Lb. plantarum* v jednotlivých zmesiach RŠ a JŠ v konkrétnych časoch nevykazuje veľké rozdiely. Naše výsledky dokazujú, že počet KTJ vo zvolených časových úsekoch, je len mierne závislý od koncentrácie šťavy rakytníka. To znamená, že použitie najvyššej študovanej koncentrácie šťavy z rakytníka (40 %) nie je problémom z hľadiska fermentácie. Fermentácia RŠ s koncentráciou 40 % by mohla prebiehať porovnateľne s fermentáciou RŠ s koncentráciou 10 %. Štúdie naznačujú, že čím je vstupné médium kyslejšie, tým intenzívnejšia je konverzia kyselín (Schubertová et al. 2021).

vzhľadom na výskumy vypovedajúce o pozitívnej závislosti medzi intenzitou priebehu JMF a zníženou hodnotou pH (Filannino et al. 2016; Schubertová et al. 2021), by výsledný produkt mohol mať viac pozmenené vlastnosti, ak by východiskovou surovinou bola práve 40 % RŠ. Pri využití kmeňa *Lb. plantarum* na fermentáciu RŠ, sme zistili, že JMF vedie ku kompletnej konverzii kyseliny jablčnej. Kyselina jablčná bola teda preferovaným zdrojom uhlíka v porovnaní s cukrami.



Obr. 1 Rast *Lb. plantarum* a *Lb. brevis* v MRS bujóne a jeho zmesiach s RŠ



Obr. 2 Rast *Lb. plantarum* v zmesiach RŠ a JŠ v štyroch koncentráciách, vyjadrený ako závislosť počtu mikroorganizmov N od času t

Z toho dôvodu sme počas fermentácie nezaznamenali významné zníženie obsahu cukrov, ale bolo pozorované zníženie obsahu kyseliny jablčnej, zvýšenie obsahu kyseliny mliečnej, zvýšenie hodnoty pH a pomeru cukrov a kyselín (Tab. 1).

Tab. 1 Vybrané parametre zmesi RŠ a jablkovej šťavy po fermentácii kmeňom *Lb. plantarum*

	Pozorované zmeny Fermentovaná RŠ riedená JŠ; 40 %
rast <i>Lb. plantarum</i>	+
obsah kyseliny jablčnej	Po 12 hod. o 50 % Po 24 hod. o 80 % Po 72 hod. pod medzou stanovenia
zmena senzorických vlastností	pokles kyslosti a adstringencie po 24 hod nárast sladkosti po 24 hod off-flavour a off-odor
zmena obsahu cukrov	+
nárast pH a pomeru obsahu cukrov a kyselín	+
zmena obsahu vit. C	-
zníženie obsahu fenolov	+
zvýšenie antioxidačnej aktivity	+

+ pozorovaná zmena; - zmena nebola pozorovaná

Zároveň sme pozorovali zníženie celkového obsahu fenolov a nárast antioxidačnej aktivity fermentovanej šťavy čo je v súlade s pozorovaniami viacerých autorov (Filannino et al. 2016; Ricci et al. 2019; Wu et al. 2020). Nárast antioxidačnej aktivity (AA) je spájaný so zmenou štruktúry fenolických látok. Aglykóny flavonolov preukazujú oveľa vyššiu AA ako ich glykozidy. Dôvodom je voľná fenolická hydroxylová skupina aglykónov, na ktorú sa v prípade glykozidov viaže glykozidická väzba cukorná zložka. Príkladom je porovnanie AA kvercetínu a rutínu (diglykozid kvercetínu nachádzajúci sa v RŠ. Vyššia AA má kvercetín.

## Záver

Kompromisom medzi použitím čo najvyššej koncentrácie RŠ a vytvorením prostredia vhodného pre fermentáciu kmeňom *Lb. plantarum* je miešenie RŠ a JŠ v pomere 2:3. Fermentácia zmesnej RŠ viedla k zlepšeniu celkového senzorického profilu pripraveného nápoja, čo je žiaduce vzhľadom na adstringentnú a kyslú chuť čistej RŠ. Zároveň fermentácia RŠ prispela k zvýšeniu celkovej antioxidačnej aktivity pripraveného nápoja, čo je považované za významný benefit z hľadiska zvýšenia nutričnej hodnoty.

## Podakovanie

Výskum podporila Vedecká Grantová Agentúra MŠVVaŠ SR a SAV (VEGA) na základe zmluvy Vega 1/0141/23. Ďalej bol tento výskum financovaný Agentúrou na Podporu Výskumu a Vývoja (APVV) na základe zmluvy APVV-16-0088.