

## Spôsob regulácie biokonzervácie zeleniny

MILAN DRDÁK - JOLANA KAROVIČOVÁ - ALICA RAJNIAKOVÁ -  
PETER ŠIMKO - VALTER VOLLEK - KATARÍNA HARŠÁNYIOVÁ

Súhrn. Práca sa zaoberá spôsobom regulácie biokonzervácie zeleniny mliečnou fermentáciou za využitia horčičného oleja alebo alylizotiokyanatanu. Pred spontánnou alebo riadenou fermentáciou za využitia štartovacích mliečnych baktérií alebo zmesných kultúr, pri vhodnom prídavku kuchynskej soli do 3 % hmot. a úprave koncentrácie redukujúcich cukrov v zmesi do 4 % hmot. sa do pripravenej zeleniny nakrájaním alebo homogenizáciou pridá horčičný olej alebo priamo jeho účinná látka alylizotiokyanatan tak, aby jeho koncentrácia v zmesi pripravenej na fermentáciu bola od 0,001 až 0,1 % hmot. Fermentácia môže prebiehať za bežnej teploty, prípadne podľa použitej kultúry sa teplota reguluje.

K známym spôsobom regulácie biokonzervácie zeleniny patrí využitie štartovacích kultúr mliečnych baktérií, zmesných štartovacích kultúr, ďalej výber vhodnej teploty, úprava pH okyslením kyselinou mliečnou, vytvorenie regulovanej atmosféry, vhodný prídavok soli, prípadne korenín, ktoré obsahujú fytoncídne látky (čierne a nové korenie, bobkový list). Na zabránenie rastu plesní na mliečne fermentovaných výrobkoch sa pred fermentáciou pridáva ako regulačný prostriedok sorban draselný.

Antimikrobiálne účinky horčice a z nej získaného oleja boli testované voči niektorým baktériam (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*) a plesniam (*Aspergillus niger*) [1,2]. V pokusoch s kvasinkami sa ukázalo, že horčičný olej je účinnejší pri rovnakých koncentráciách ako oxid siričitý alebo kyselina benzoová [1]. Antimikrobiálne účinky účinnej látky (alylizotiokyanatan) boli preverené s cieľom zníženia času sterilizácie vo vybraných

Doc.Ing.Milan Drdák, DrSc., Ing.Jolana Karovičová, CSc., Ing.Alica Rajniaková, CSc.,  
Ing.Peter Šimko, CSc., Ing.Katarína Haršányiová, Katedra sacharidov a konzervácie  
potravín, RNDr.Valter Vollek, Katedra mikrobiológie, biochémie a biológie,  
Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

typoch výrobkov a predĺženia skladovateľnosti hroznovej šťavy [3,4] ako aj pri predĺžení skladovateľnosti mrkvovej drene za aseptických podmienok v spojitosti s účinnou protiplesňovou aktivitou [5].

Predkladaná práca sa zamerala na možnosti využitia horčičného oleja a jeho účinnej zložky alylizotiokyanatanu na reguláciu mliečnej fermentácie zeleniny.

## Materiál a metódy

Na prípravu vzoriek, výber a testovanie mikroorganizmov sa použila dôkladne očistená karotka, zeler, cibuľka, zelený hrášok, kapusta, zelená paprika a červená repa. Pri príprave vzoriek bola použitá kuchynská soľ, sorban draselný, horčičný olej a biohydrolyzát sacharózy (Cukrovar a konzerváreň, š.p. Sládkovičovo - norma JK 753 922).

Nakrájaná zelenina sa zaliala nálevom pripraveným tak, aby vzorka pred fermentáciou obsahovala požadovanú koncentráciu redukujúcich cukrov (min. 4 %), soli (1,5 - 2 %), fytoncídnej látky, prípadne konzervačného činidla. Pripravené vzorky sa naočkovali príslušným mikroorganizmom v koncentrácii  $10^3$  až  $10^4$  buniek na 1 g vzorky, prípadne zmesnej kultúry. Fermentácia prebiehala za anaeróbných podmienok pri teplote  $25^{\circ}\text{C}$ . Pracovalo sa so zbierkovými alebo vlastnými izolovanými kmeňmi mikroorganizmov a to s: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus sp. "U"*, *Lactobacillus sp. "S"*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus sp. "CSL"*, *Pediococcus pentosaceus*, *Saccharomyces cerevisiae sp.*

Revitalizácia lyofilizovaných kultúr, ako i ďalšie uchovávanie mikroorganizmov, bolo v ATP médiu, počítanie mikroorganizmov bolo robené Briedovou metódou a na testovanie rastu mikroorganizmov v prítomnosti alylizotiokyanatanu bola použitá kultivačná pôda podľa Rogosa.

### Stanovenie alylizotiokyanatanu v horčičnom oleji [6]

Účinné zložky reagujú so známym množstvom  $\text{AgNO}_3$ . Nespotrebovaný prebytok Ag sa titruje po prídavku  $\text{HNO}_3$  a  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$  roztokom  $\text{NH}_4\text{SCN}$  o známej koncentrácii. Z diferencie nezreagovaného Ag sa vypočíta zodpovedajúce množstvo sírnych účinných látok, pričom koncentrácia sa prepočítava na alylizotiokyanatan.

### *Izotachoforetické stanovenie kyselín [7,8]*

V pripravených vzorkách sa stanovili organické kyseliny pomocou izotachoforézy. Merania boli robené na izotachoforetickom analyzátore ZKI 01 (Spišská Nová Ves) s vodivostným detektorom a s dvojliniovým zapisovačom TZ 4200. Na identifikáciu a stanovenie bol aplikovaný elektrolytický systém nasledujúceho zloženia: vodiaci elektrolyt  $1 \cdot 10^{-2}$  mol.dm<sup>-3</sup> HCl; protiión  $\epsilon$  - aminokaprónová kyselina, pH 4,5; aditívum 0,1 % MHEC (metylhydroxyetylcelulóza); zakončujúci elektrolyt  $5 \cdot 10^{-3}$  mol.dm<sup>-3</sup> kyselina kaprónová;  $5 \cdot 10^{-3}$  mol.dm<sup>-3</sup> histidín, pH 4 - 5. Vzorky boli analyzované s prúdom 200  $\mu$ A v preparačnej kolóne a 50  $\mu$ A v analytickej kolóne. Kvantitatívna analýza bola realizovaná pomocou metódy kalibračnej krivky.

### *Chemické metódy*

Stanovenie pH, titrovateľných kyselín, redukujúcich cukrov podľa Schoorla a chloridov podľa Mohra boli robené bežnými postupmi [9].

## **Výsledky a diskusia**

### *Testovanie účinkov alylizotiokyanatanu na kmene produkujúce kyselinu mliečnu.*

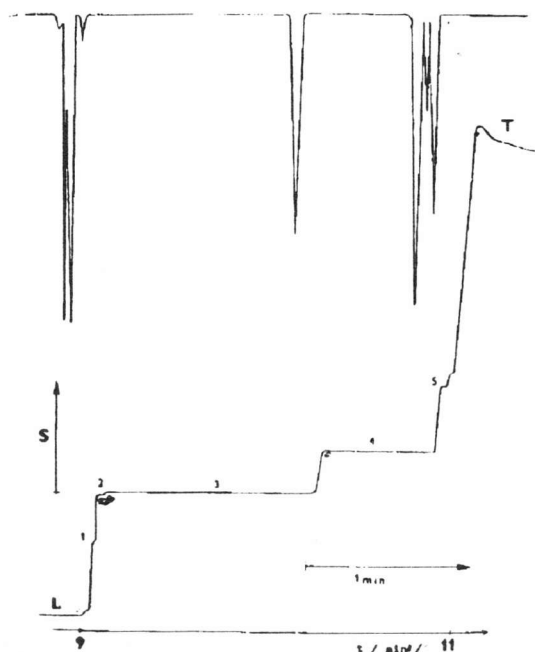
Na kultivačnú pôdu Rogosa v Petriho miskách po prídavku alylizotiokyanatanu v množstve 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1 % hmot. a bez prídavku fytoncídnej látky bolo nanesené rovnaké množstvo suspenzie mikroorganizmov ( $10^3$  MO.ml<sup>-1</sup>) *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus sp. "U"*, *Lactobacillus sp. "S"*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus sp. "CSL"*, *Pediococcus pentosaeceus* a kultivované pri 37°C 3 dni. Po kultivácii sa ukázalo, že nebol štatisticky významný rozdiel v počte vyrastených kolónií na pôde s prídavkom fytoncídnej látky a bez nej, hoci koncentrácia 0,1 % vyvolala miernu inhibíciu rastu.

### *Fermentácia zeleniny*

Po základných testoch protimikrobiálneho pôsobenia horčičného oleja a požadovanom otestovaní senzorickej prijateľnosti jednotlivých koncentrácií sa prišlo k vlastným fermentačným pokusom. Na fermentáciu sa pripravila nakrájaná zelenina o hrane 0,3 až 1 cm v závislosti od druhu. Zelenina bola v pomere 3 : 4 (hmot.) zaliata pripraveným nálevom s požadovanými analytickými parametrami. Do časti vzoriek bol pridaný sorban draselný

v množstve 0,1 % (hmot.), alylizotiokyanatan v množstve 0,01 % (hmot.) a 0,005 % (hmot.). Vzorky boli nepochkované skúmanými kmeňmi mliečnych baktérií a v prípade fermentácie červenej repy taktiež zmesnou kultúrou. Vzorky po vypudení vzduchu dusíkom boli fermentované pod kvasnými uzávermi pri teplote 25°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) počas 10 dní.

V nasledujúcich tabuľkách 1, 2 a 3 uvádzame príklady analytického hodnotenia fermentácie zeleru kultúrami *Lactobacillus sp.* "S", *Lactobacillus sp.* "U" a *Lactobacillus fermentum*. Príklad izotachoforetického záznamu pre fermentáciu kmeňom *Lactobacillus sp.* "S" za využitia sorbanu draselného je na obr.1. Výsledky poukazujú na to, že prakticky vo všetkých prípadoch koncentrácia cca 0,01 % alylizotiokyanatanu ovplyvňuje produkciu kyseliny mliečnej ako pravdepodobný výsledok potlačenia priebehu konkurenčných mikrobiálnych procesov, t.j. výraznejšie sa produkuje rozhodujúca kyselina mliečna. Nepriamym dôkazom bola spontánna fermentácia kapusty, v ktorej boli výraznejšie rozdiely v koncentracii jednotlivých kyselín, ako aj fermentácia niektorých druhov zeleniny bez prídavku fytoncídnej látky alebo sorbanu draselného. Ukázal sa výrazný vplyv alylizotiokyanatanu na produkciu kyseliny propiónovej.



Obr. 1. Izotachoforeogram vzorky zeleru. S - odozva vodivostného detektora, 1 - kyselina citrónová, 2 - kyselina fosforečná, 3 - kyselina mliečna, 4 - kyselina octová, 5 - sorban draselný.

Fig.1. Isotachopherogram of celeriac sample.

S - conduction detector response, 1 - citric acid, 2 - phosphoric acid, 3 - lactic acid, 4 - acetic acid, 5 - potassium sorbate.

Tabuľka 1. Analytické hodnotenie fermentácie zeleru kultúrou *Lactobacillus* sp. "S".  
Table 1. Analytical evaluation of celery fermentation by *Lactobacillus* sp. "S" culture.

Vzorky <sup>1</sup>	konc.regulátora <sup>2</sup> [hmot. %]	pH	konc.kyselín <sup>3</sup> [g.kg <sup>-1</sup> ]			
			T	M	O	P
A	0,1	3,60	1,32	8,5	3,3	0,5
B	0,005	3,46	1,81	13,4	7,7	0,0
C	0,01	3,46	1,94	13,1	8,1	0,0

Vzorky A - s prídavkom sorbanu draselného, vzorky B a C - s prídavkom horčičného oleja, T - koncentrácia titrovateľných kyselín vyjadrená ako kyselina mliečna, M - koncentrácia kyseliny mliečnej, O - koncentrácia kyseliny octovej, P - koncentrácia kyseliny propiónovej.

1 - samples, 2 - regulator concentration, 3 - acid concentration, A - sample with addition of potassium sorbate, B,C - samples with addition of mustard oil, T - titratable acids concentration expressed as lactic acid, M - lactic acid concentration, O - acetic acid concentration, P - propionic acid concentration.

Tabuľka 2. Analytické hodnotenie fermentácie zeleru kultúrou *Lactobacillus* sp. "U".  
Table 2. Analytical evaluation of celery fermentation by *Lactobacillus* sp. "U" culture.

Vzorky <sup>1</sup>	konc.regulátora <sup>2</sup> [hmot. %]	pH	konc.kyselín <sup>3</sup> [g.kg <sup>-1</sup> ]			
			T	M	O	P
A	0,1	3,70	1,54	6,5	3,3	0,5
B	0,005	3,49	1,73	9,4	6,5	0,0
C	0,01	3,55	1,81	8,8	7,5	0,0

Vysvetlivky pozri tab.1.

For explanations see Tab.1.

Tabuľka 3. Analytické hodnotenie fermentácie zeleru kultúrou *Lactobacillus fermentum*.  
Table 3. Analytical evaluation of celery fermentation by *Lactobacillus fermentum*.

Vzorky <sup>1</sup>	konc.regulátora <sup>2</sup> [hmot. %]	pH	konc.kyselín <sup>3</sup> [g.kg <sup>-1</sup> ]			
			T	M	O	P
A	0,1	3,62	1,46	7,0	3,1	0,5
B	0,005	3,42	1,77	11,3	6,4	0,0
C	0,01	3,55	1,95	10,8	8,0	0,0

Vysvetlivky pozri tab.1.

For explanations see Tab.1.

### *Priemyselná využiteľnosť*

Po uskutočnení základnej série pokusov sa urobil výber vhodných kmeňov pre fermentáciu jednotlivých druhov zeleniny. Základným kritériom bola čistota kvasenia, rýchlosť produkcie a výsledná koncentrácia kyseliny mliečnej po 10 dňoch fermentácie. Záväzným kritériom bolo senzorické hodnotenie. Ukázalo sa, že fermentácia zeleného hrášku je na zvládnutie najnáročnejšia, avšak taktiež realizovateľná. Pomerne nízka bola však prijateľnosť tohoto produktu pre hodnotiteľov vzhľadom na charakteristickú chuťnosť mliečne fermentovaných výrobkov.

Vyrobená mliečne fermentovaná zelenina je vhodná na priamu konzumáciu pričom je postačujúce chladiarenské skladovanie (skladovateľnosť sa predĺži pasteráciou), môže slúžiť ako polotovar na výrobu rôznych zeleninových zmesí, po homogenizácii pred alebo po fermentácii sa môže použiť i ako báza pre výrobu širokej skupiny nealkoholických kalných a dreňových nápojov. Postup je vhodný najmä pri mliečnej fermentácii kapusty, uhoriek, papriky, cibule, zeleru, karotky, prípadne zeleného hrášku a červenej repy. Komisionálne hodnotené zmyslové znaky boli bodované vyššie ako pri výrobkoch bez použitia horčičného oleja, prípadne s využitím sorbanu draselného.

### Literatúra

1. KYZLINK, V., Teoretické základy konzervace potravin. Praha, SNTL/Alfa 1988, s.511.
2. GALLI, A. - FRANZETTI, L. - BRIGUGLIO, D., In vitro antimicrobial activity of essential oil and extracts of spices in foods. *Industria Alimentari*, 24, 1985, č. 227, s.463-466.
3. HERSOM, A.C. - HULLAND, E.D., Canned Foods. Moskva, Legkaja piščevaja promyšlennost' 1983, s.320.
4. RAJNIAKOVÁ, A. - DRDÁK, M. - BUCHTOVÁ, V. - TAKÁCSOVÁ, M. - HOZOVÁ, B. - KORCOVÁ, D., Využitie fytoncídov horčice v procese konzervácie potravín. *Bulletin PV*, 31(11), 1992, č.1, s.57-64.
5. DRDÁK, M. - RAJNIAKOVÁ, A., Využitie fytoncídov horčice pri aseptickom uskladnení mrkvovej drene. *Bulletin PV*, 32(12), 1993, č.1, s.1.
6. KYZLINK, V. A KOL., Laboratorní cvičení technologie neúdržných potravin. Praha, SNTL 1984, s.311.
7. KAROVIČOVÁ, J. - DRDÁK, M. - ŠIMKO, P. - VOLLEK, V., Organic acids production by lactic acid fermentation of vegetables (green pea and onion). *Nahrung*, 36, č.5, s.500-502.
8. KAROVIČOVÁ, J. - DRDÁK, M. - ŠIMKO, P. - ČANIGOVÁ, M., Organic acids production by lactic acid fermentation of vegetables (celeriac and capsicum). *Nahrung*, 36, č.5, s.600-602.
9. DAVÍDEK, J. et al., Laboratorní příručka analýzy potravin. SNTL, Praha 1977, s.718.

Do redakcie došlo 22.2.1993.

## **The way of regulation of vegetable biopreservation**

### **Summary**

The paper is concerned on the way of regulation of vegetable biopreservation by lactic fermentation with the use of mustard oil or allylisothiocyanate. Cut or homogenized mustard oil or directly its effective matter allylisothiocyanate in the concentration from 0,001 to 0,1 is added into prepared vegetable before spontaneous or controled fermentation while using starting lactic bacteria or mixture cultures with appropriate addition of cooking salt up to 3 % w and treating of concentration of reducing sugars in mixture up to 4 % w. The fermentation can pass at usual temperature, eventually the temperature is regulated according used culture.