

UPOREDNA ISPITIVANJA AKTIVNOSTI SOJEVA BAKTERIJA MLEČNO-KISELINSKOG VRENJA U SOKU CVEKLE I MRKVE

Josip K. Baras, Suzana I. Dimitrijević, Marica B. Rakin, Branislav Stevović

*Fermentisani sokovi povrća su važna komponenta ishrane jer se tokom fermentacije sintetišu biotičke materije koje poboljšavaju kvalitet prirodnih sokova povrća. Među povrtarskim usevima koji se mogu fermentisati (konzervisati biološkim putem) nalaze se cvekla (*Beta vulgaris* L.) i mrkva (*Daucus carota* L.).*

*U ovom radu vršena su uporedna ispitivanja fermentativne aktivnosti sojeva *Lb. plantarum* A112 i prirodnog izolata *Lb. acidophilus* BGSJ15-3 u toku mlečno-kiselinskog vrenja soka mrkve i soka cvekle. Aktivnost sojeva bakterija, u toku 8 sati fermentacije, praćena je brojem ćelija, promenom pH vrednosti, sadržajem mlečne kiseline i sadržajem šećera.*

*Rezultati su pokazali da su sok cvekle i sok mrkve dobri supstrati za rast i fermentativnu aktivnost ispitivanih sojeva bakterija mlečne kiseline. Uzimajući u obzir sadržaj sintetisane mlečne kiseline i smanjenje koncentracije glukoze u supstratima, može se zaključiti da *Lb. acidophilus* pokazuje bolju aktivnost u odnosu na *Lb. plantarum*, posebno u soku mrkve.*

KLJUČNE REČI: *cvekla, mrkva, bakterije mlečne kiseline*

UVOD

Medju mnogim prirodnim nutrijentima, čije je pozitivno delovanje na ljudsko zdravlje klinički ispitano i dokazano, fitonutrijenti - nutrijenti biljnog porekla, zauzimaju značajno mesto. Voće i povrće obiluju različitim vrstama fitonutrijenata, pa su zbog toga predmet velikog broja istraživanja u oblasti nutricionizma, medicine, biotehnologije i srodnih oblasti (1).

Značajni nutrijenti iz ove grupe su karotenoidi (2), kojih u najvećoj meri ima u korenu mrkve (*Daucus carota* L.), kao i betanini (3), koje sadrži koren cvekle (*Beta vulgaris* L.). U ovoj vrsti povrća je značajan i sadržaj vitamina i minerala (4). Najbolje iskorišćenje vrednih sastojaka mrkve i cvekle postiže se konzumiranjem u obliku sokova.

Dr Josip K. Baras, red. prof., mr. Suzana I. Dimitrijević, asistent, mr Marica B. Rakin, asistent, Branislav Stevović, dipl. ing., istraživač-pripravnik; Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, 11000 Beograd, Karnegejeva 4, Jugoslavija.

Fermentacijom sokova povrća, bakterijama mlečno-kiselinskog vrenja, dodatno se povećava njihova nutritivna vrednost (5). Takođe se doprinosi i povećanju njihove trajnosti, biokonzervacijom, usled stvaranja mlečne kiseline, čije je konzervišuće delovanje dobro poznato, i drugih produkata metabolizma kao što su vodonik peroksid, diacetil, bakteriocini i dr (6). I bakterije mlečne kiseline, posebno iz grupe intestinalnih laktobacila i bifidobakterija se poslednjih godina svrstavaju u funkcionalno vredne nutrijente, tzv. probiotike (7). Njihova metabolička aktivnost u određenim delovima humanog gastrointestinalnog trakta, gde predstavljaju deo normalne mikroflore, takođe pokazuje povoljne efekte na zdravlje ljudi (8).

U ovom radu su prikazani rezultati uporednih ispitivanja aktivnosti sojeva *Lb. plantarum* A112 i *Lb. acidophilus* BGSJ15-3, iz kolekcije laboratorije za mikrobiologiju TMF-a u Beogradu, u mlečno-kiselinskoj fermentaciji soka cvekle i soka mrkve. Izbor sojeva je izvršen na osnovu naših ranijih ispitivanja produkcije funkcionalno vrednih metabolita i brzine fermentacije navedenih sokova različitim sojevima iz roda *Lactobacillus* sp. (Baras J., Dimitrijević S., Rakin M. - nepublikovani podaci).

Cilj rada je bio da se ispituju i optimizuju uslovi mlečno-kiselinske fermentacije pasterizovanog soka cvekle i soka mrkve, da bi se dobili proizvodi optimalne nutritivne vrednosti.

EKSPERIMENTALNI DEO

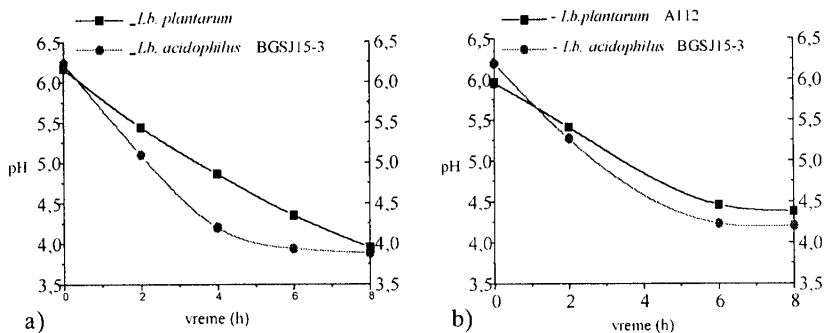
Sokovi cvekle i mrkve su dobijeni usitnjavanjem i centrifugiranjem svežeg povrća u sokovniku, nakon čega je vršena njihova pasterizacija na temperaturi od 70°C u toku 20 min. Ovako pripremljeni sokovi su podvrgavani fermentaciji odabranim sojevima bakterija mlečne kiseline u periodu od 8 sati.

Starter kultura ispitivanih bakterija mlečne kiseline dobijena je standardnim postupkom koji se koristi u propagaciji laktobacila. Prekonoćna starter kultura (16-18 sati) je zasejavana u erlenmajere sa 200 ml pasterizovanog soka. Početni broj ćelija u inokulisanim sokovima je bio reda veličine 10⁶/ml supstrata. Temperatura fermentacije je iznosila 37°C za soj *Lb. plantarum*, a za soj *Lb. acidophilus*, 42°C.

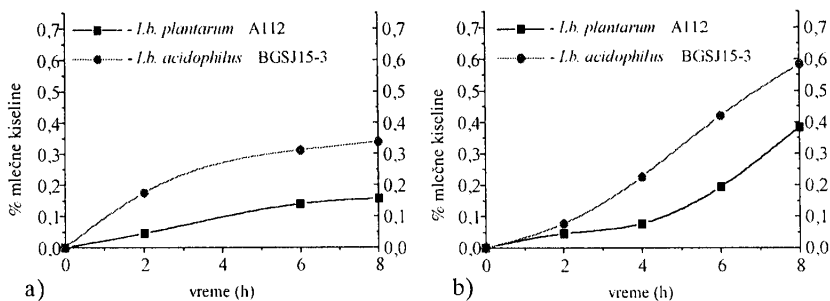
Tok fermentacije je praćen odredjivanjem porasta broja ćelija (standardnim mikrobiološkim metodama), porasta koncentracije H⁺ (pH-metrijski), porasta koncentracije mlečne kiseline (titrimetrijski), promene sadržaja šećera (kolorimetrijski sa antronom) (9) i promena sadržaja α -aminoazota (kolorimetrijski) (10). Sadržaj C vitamina (oksidometrijskom titracijom) (9), odredjivan je u sokovima pre i nakon pasterizacije, kao i nakon završene fermentacije.

REZULTATI I DISKUSIJA

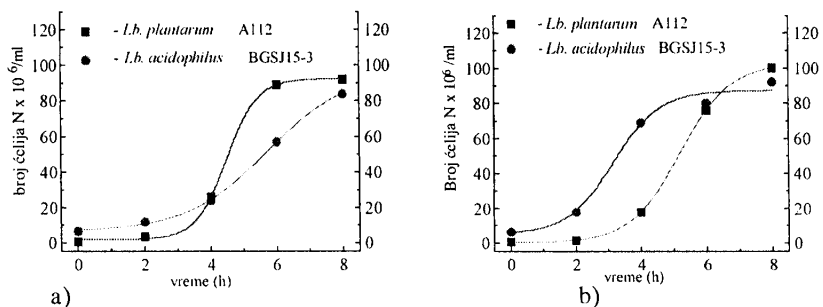
Rezultati praćenja fermentacije navedenim parametrima prikazani su na grafikonima 1-5. Na grafikonu 1 prikazane su promene pH vrednosti soka cvekle (A) i soka mrkve (B) u toku fermentacije. Iz ovih grafikona se vidi da je smanjenje pH u toku 8 sati fermentacije približno isto za oba soja i iznosi 4,38 za *Lb. plantarum* i 4,20 za *Lb. acidophilus* u soku cvekle. Niža krajnja vrednost pH za oba soja je zabeležena u soku mrkve, međjutim, *Lb. acidophilus* je ostvario bržu fermentaciju u odnosu na *Lb. plantarum*, što ukazuje na to da se ovim sojem fermentacija može obaviti za kraće vreme.



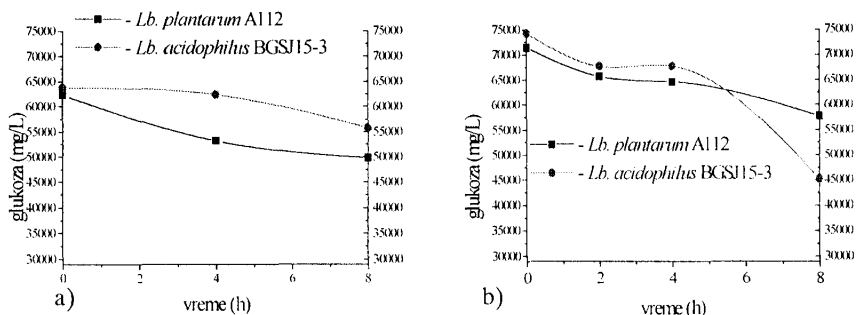
Grafikon 1. Promena pH vrednosti u pasterizovanom soku cvekke (A) i u pasterizovanom soku mrkve (B) u zavisnosti od primenjenog soja



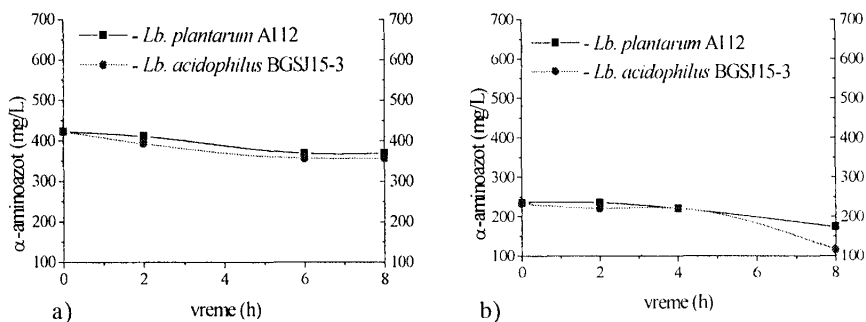
Grafikon 2. Promena sadržaja mlečne kiseline u pasterizovanom soku cvekke (A) i soku mrkve (B) u zavisnosti od primenjenog soja



Grafikon 3. Promena broja ćelija ispitivanih sojeva tokom fermentacije soka cvekke (A) i soka mrkve (B)



Grafikon 4. Promena sadržaja šećera (izražen preko glukoze) tokom fermentacije soka cveklike (A) i soka mrkve (B) u zavisnosti od primenjenog soja



Grafikon 5. Promena sadržaja α-aminoazota tokom fermentacije soka cveklike (A) i soka mrkve (B) u zavisnosti od primenjenog soja

Veće razlike fermentativne aktivnosti sojeva su uočene praćenjem promene sadržaja mlečne kiseline tokom fermentacije, što je prikazano na grafikonu 2 (A i B). U soku cveklike, povećanje sadržaja mlečne kiseline u odnosu na početnu vrednost iznosi oko 0,35% za *Lb. acidophilus* a 0,18% za *Lb. plantarum*. Sadržaj mlečne kiseline u soku mrkve na kraju fermentacije iznosi 0,58% za *Lb. acidophilus*, a 0,38% za *Lb. plantarum*. Iz ovoga sledi da je veća aktivnost oba soja u soku mrkve u odnosu na sok cveklike i nešto bolja fermentativna aktivnost soja *Lb. acidophilus* u oba supstrata u odnosu na *Lb. plantarum*.

Na grafikonu koji prikazuje povećanje broja ćelija ispitivanih sojeva, tokom fermentacije soka cveklike (grafikon 3A) i soka mrkve (grafikon 3B), može se uočiti brži rast *Lb. plantarum* u početnom periodu uz ujednačavanje broja ćelija u poslednjoj tački merenja za oba supstrata. Smanjenje koncentracije šećera, postignuto na kraju fermentacije, u soku cveklike iznosi oko 20% za *Lb. plantarum* i oko 13% za *Lb. acidophilus* (grafikon 4A). U soku mrkve se ne uočava bitinija razlika u smanjenju koncentracije šećera u odnosu na sok cveklike, za *Lb. plantarum* (19%). Medjutim, kod soja *Lb. acidophilus*, smanjenje sadržaja šećera je znatno veće u soku mrkve i iznosi oko 40% (grafikon 4B).

Iz grafikona 5 (A i B) može se uočiti pad koncentracije α -aminoazota u oba supstrata, koji, kao i kod drugih parametara, nastaje kao posledica rasta i asimilacije od strane bakterija, i približno je isti za oba soja u soku cvekle (grafikon 5A). U soku mrkve, asimilacija α -aminoazota je veća od strane *Lb. acidophilus* u odnosu na *Lb. plantarum* (grafikon 5B), što je u skladu sa njegovom većom fermentativnom aktivnošću.

Sumirajući prikazane rezultate, uočavaju se razlike u pogledu fermentativne aktivnosti sojeva u soku cvekle i soku mrkve. Broj ćelija u supstratima ukazuje na bolji rast soja *Lb. plantarum* u odnosu na *Lb. acidophilus*. Međutim, prema drugim parametrima, posebno sadržaju mlečne kiseline i promeni sadržaja šećera u sokovima, kao i smanjenju sadržaja α -aminoazota, može se zaključiti da je bolju aktivnost pokazao soj *Lb. acidophilus*, posebno u soku mrkve. Razlike koje se uočavaju u sadržaju mlečne kiseline kod ispitivanih sojeva u našem radu, mogu biti posledica različitih puteva fermentacije šećera. Poznato je da vrsta *Lb. acidophilus* pripada grupi obligatno homofermentativnih bakterija mlečne kiseline, koje heksoze fermentišu isključivo do mlečne kiseline preko Embden-Meyerhof-ovog puta dok pentoze ili glukonat ne fermentišu (11).

Nasuprot tome, vrsta *Lb. plantarum* pripada grupi fakultativno heterofermentativnih laktobacila koji heksoze fermentišu skoro isključivo do mlečne kiseline, preko Embden-Meyerhof-ovog puta ali neki sojevi sintetišu i sirćetnu kiselinu, CO₂, etanol i mravlju kiselinu, pored mlečne, u uslovima limitiranja glukoze. Pentoze fermentišu do mlečne i sirćetne kiseline preko inducibilnih fosfoketolaza (12).

Tabela 1. Promena sadržaja vitamina C u soku cvekle i soku mrkve u uslovima eksperimenta

UZORAK		Sadržaj C vitamina (mg/100cm ³)
Sok cvekle pre pasterizacije		8,95
Sok cvekle nakon pasterizacije		5,18
Sok mrkve pre pasterizacije		3,15
Sok mrkve nakon pasterizacije		1,84
Fermentisani sokovi		
-sa <i>Lb. plantarum</i> A112	U soku cvekle	4,89
	U soku mrkve	1,74
-sa <i>Lb. acidophilus</i> BGSJ15-3	U soku cvekle	5,13
	U soku mrkve	1,79

Iz rezultata o promeni sadržaja C vitamina tokom pripreme i fermentacije sokova cvekle i mrkve (Tabela 1) može se videti da se sadržaj C vitamina u najvećoj meri smanjuje tokom pasterizacije što je posledica termičkog delovanja. Suprotno tome, neznatno je smanjenje sadržaja C vitamina u sokovima tokom fermentacije.

ZAKLJUČAK

Sumirajući dobijene rezultate može se zaključiti da sok cvekle i sok mrkve predstavljaju dobre supstrate za rast i fermentacionu aktivnost ispitivanih bakterija mlečne kiseline. Takođe, može se jasno uočiti da praćenje pH vrednosti i broja ćelija u supstratu tokom fermentacione aktivnosti bakterija mlečnog vrenja nije dovoljno, jer može dati pogrešnu sliku o toku fermentacije zbog kompleksnosti metaboličkih aktivnosti ovih bakterija. Neophodno je u ispitivanja uključiti i parametre kao što su sadržaj mlečne kiseline i promenu sadržaja šećera.

Na osnovu ovih parametara može se zaključiti da je bolju fermentacionu aktivnost u ispitivanim supstratima, posebno u soku mrkve, pokazao soj *Lb. acidophilus* BGSJ15-3 u odnosu na *Lb. plantarum* A112. Primena bakterija mlečne kiseline iz grupe tzv. probiotičkih bakterija, kojima pripada vrsta *Lb. acidophilus*, u fermentaciji sokova povrća može imati značajno mesto, imajući u vidu njihove moguće pozitivne efekte na zdravlje ljudi.

LITERATURA

1. Dwyer, J.: Overview: dietary approaches for reducing cardiovascular disease risks. *J. Nutr.* **125** (1995), 656S-665S.
2. Block, G. and L. Langseth: Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Tech.* **48** (1994), 80-84.
3. Stavic, B.: Role of chemopreventers in human diet. *Clin. Biochem.* **27** (1994), 319- 332.
4. Tucker K. L., Hannan M. T., Chen H., Cupples A, Wilson P. WF. and D. P. Kiel: Potassium, magnesium, and fruit and vegetable intakes are associated with greater bone mineral density in elderly men and women *American Journal of Clinical Nutrition* **69** (1999), 727-736.
5. Lucke, F.K.: Indigenous Lactic Acid Bacteria of Various Food Commodities and Factors Affecting their Growth and Survival, u *Lactic Acid Bacteria: Current Advances in Metabolism, Genetics and Applications*, NATO ASI Series, vol. H98, Edit by T. Faruk Bozoglu and Bibek Ray, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (1996), pp. 253-267.
6. Vanderbergh, P.A.: Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth, *FEMS Microbiol. Rev.* **12** (1993), 221-238.
7. Gilliland, E.S.: Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* **87** (1990), 175-188.
8. Mishra, C. and J. Lambert: Production of anti microbial substances by probiotics, *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* **5** (1996), 20-24.
9. Trajković J., Mirić M., Baras J. i S. Šiler: *Analiza životnih namirnica*, TMF, Beograd, (1983).
10. *Evropska pivarska konvencija: Analitika EBC III i mikrobiološka analitika EBC*, Schweizer Brauerei-rundschau, ch-8047 Zurich (1985).
11. Sharpe M. E.: *Identification of the Lactic Acid Bacteria in Identification methods for microbiologists - second edition*, Academic Press. (1979), pp.233-259.
12. Kandler O. and N. Weiss: Regular, nonsporing Gram-positive rods. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 6th edn, vol 2, ed. P.H. Sneath, Williams & Wilkins, Baltimore (1996), pp. 1208-23.

COMPARATIVE EXAMINATION OF ACTIVITY OF DIFFERENT STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA IN BEETROOT AND CARROT JUICE

Josip K. Baras, Suzana I. Dimitrijević, Marica B. Rakin, Branislav Stevović

Fermented vegetable juices are an important component of nutrition, because the fermentation improves the quality of natural vegetable juices by its products, which are important biotic substances. Beetroot (*Beta vulgaris L.*) and carrot (*Daucus carota L.*) are vegetables that can be preserved by biological fermentation.

The aim of this research was comparative examination of activity of *Lb. plantarum* A112 and natural isolates *Lb. acidophilus* BGSJ15-3 in lactic-acid fermentation of beetroot and carrot juice. Activity of these strains was expressed as the number of viable cells, pH value, lactic acid and sugar content.

The results of this work showed that beetroot and carrot juices are good substrates for growth and fermentative activity of investigated strain of lactic acid bacteria. According to content of lactic acid in fermented juices and to decreasing of glucose content, it may be concluded that strain *Lb. acidophilus* has better activity than *Lb. plantarum* especial in carrot juice.

Prispeo 31. januara 2000.
Prihvaćen 21. aprila 2000.