

DOROTA WALKOWIAK-TOMCZAK, JANUSZ CZAPSKI

WPŁYW MIKROBIOLOGICZNEJ REDUKCJI AZOTANÓW(V) W SOKU Z BURAKA ĆWIKŁOWEGO NA JEGO WŁAŚCIWOŚCI SENSORYCZNE

Streszczenie

Celem pracy było określenie wydajności procesu denitryfikacji soku z buraka ćwikłowego z zastosowaniem bakterii *Paracoccus denitrificans* oraz wpływu procesu hodowlanego na właściwości sensoryczne soku po denitryfikacji i możliwości jego wykorzystania do barwienia żywności.

Zastosowanie badanego szczepu pozwoliło na całkowite usunięcie azotanów(V) z soku, przy początkowej ich zawartości 4 g/dm^3 , z maksymalną szybkością $0,67 \text{ g/dm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. Na podstawie badań modelowych soku w warunkach biodenitryfikacji stwierdzono, że na straty barwników betalainowych i stosunku ich zawartości oraz zmianę parametrów barwy największy wpływ miała wartość pH i ilość dostępnego tlenu. Proces mikrobiologicznej denitryfikacji wpłynął na zmianę barwy, smaku i zapachu soku. Jednak po odparowaniu części wody wraz z substancjami lotnymi, możliwe jest zastosowanie soku po hodowli do produkcji preparatu barwiącego.

Wprowadzenie

Szkodliwość azotanów(V) wynika z możliwości ich redukcji do azotanów(III), które z kolei stanowią bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia [10, 14]. Zatrucie azotanami(III) wywołuje methemoglobinemię, chorobę szczególnie niebezpieczną dla niemowląt [5, 18]. Azotany(III) stanowią czynnik nitrozujący w tworzeniu nitrozoamin, które wykazują właściwości rakotwórcze i mutagenne [24, 27]. Nadmierne pobieranie azotanów(V) wywołuje ponadto wiele innych dolegliwości, jak np.: zaburzenia wzrostu, czynności tarczycy, przyswajalności witamin, niedokrwistość. Należy tu jednak nadmienić, że w świetle badań z ostatnich lat, azotany(III) i azotany(V) nie zawsze wykazują niekorzystny wpływ na zdrowie. Niektóre doniesienia wręcz wykluczają związek między pobieraniem azotanów (III) i (V) oraz tworzeniem się N-

nitrozozwiązków, a zachorowalnością na raka przewodu pokarmowego [8, 25, 26]. Ponadto azotanom(III) przypisuje się również aktywność antybakteryjną w stosunku do patogennych bakterii żołądkowo-jelitowych [6, 15, 16].

Azotany(V) mogą stanowić zanieczyszczenie zbiorników wodnych, wód podskórnych oraz roślin uprawnych, głównie warzyw [20, 28]. Kumulowanie azotanów(V) w warzywach związane jest nie tylko z nieracjonalnym nawożeniem azotanowym, ale również z właściwościami gatunkowymi i rodzajem organu użytkowego roślin, ponadto uzależnione jest od typu gleby i jej zasobności, warunków agrotechnicznych i pogodowych oraz dojrzałości fizjologicznej rośliny [21].

Na podstawie badań toksykologicznych, Komitet Ekspertów ds. Dodatków do Żywności (FAO/WHO) określił dopuszczalną dzienną dawkę (ADI) azotanów(V) na 3,65 mg/kg masy ciała, zaś azotanów(III) odpowiednio 0,13 mg/kg [9].

Warzywa dostarczają 70–80% pobieranych dziennie azotanów(V) [22]. Wśród warzyw korzeniowych gromadzących największe ilości azotanów(V) znajduje się m.in. burak ćwikłowy, który stanowił obiekt badawczy niniejszej pracy. Wg różnych autorów, poziom azotanów(V) w burakach kształtował się od kilkudziesięciu do 10 000 mg NaNO_3/kg , zaś dopuszczalna ich zawartość wynosi 1500 mg NaNO_3/kg świeżego produktu [7]. Biorąc pod uwagę fakt, że jony azotanowe (III) i (V) występują zarówno w wodzie, jak i w wielu produktach spożywczych, w tym jako konserwanty celowo wprowadzane do żywności, ADI tych związków jest często przekraczane.

W ostatnich latach nastąpił wzrost zainteresowania w zakresie opracowania metod redukcji azotanów (III) i (V) w wodzie oraz warzywach i ich przetworach. Poza racjonalnym stosowaniem zabiegów agrotechnicznych i technologicznych, opracowano wiele metod redukcji azotanów(V) na drodze fizykochemicznej oraz biologicznej. W praktyce, spośród metod fizykochemicznych do produktów spożywczych stosuje się jedynie wymianę jonową z użyciem żywic jonowymiennych [4], jednak główne wykorzystanie tych metod dotyczy wody pitnej [2, 13]. Najbardziej obiecująca, zarówno pod względem skuteczności, jak i spektrum działania, jest metoda biologiczna, w praktyce wykorzystywana do oczyszczania wody ściekowej [1, 12, 19, 29, 30]. Trwają także badania nad biologiczną denitryfikacją soków warzywnych [11] oraz wody pitnej [29].

Celem pracy było określenie wydajności procesu denitryfikacji soku z buraka ćwikłowego z zastosowaniem bakterii *Paracoccus denitrificans* oraz zachodzących w produkcie zmian właściwości sensorycznych, jak również ocena możliwości wykorzystania otrzymanego po hodowli soku do barwienia żywności.

Materiał i metody badań

Mikroorganizmy

W badaniach stosowano szczep *Paracoccus denitrificans* (ATCC 19367), który przechowywano i hodowano na pożywkach i w warunkach zalecanych przez ATCC.

Sok z buraka ćwikłowego

Sok z buraka ćwikłowego otrzymywano poprzez rozcieńczenie koncentratu soku wodą destylowaną w stosunku 1:4, dzięki czemu uzyskiwano stężenie składników jak w soku naturalnym przed zagęszczeniem. Koncentrat pochodził z zakładów Hortex-Holding S.A. w Warszawie, oddział w Górze Kalwarii. Początkowa wartość pH koncentratu wynosiła 4,5, a zawartość ekstraktu refraktometrycznego ok. 50%. Wartość pH soku doprowadzano do 7,0 przy użyciu 10% roztworu NaOH. Sterylizację soku prowadzono na drodze mikrofiltracji (średnica por $\phi = 0,45$ i $0,22 \mu\text{m}$, Millipore, USA). Początkowa zawartość azotanów(V) w soku wynosiła 1–4 g $\text{NO}_3^-/\text{dm}^3$.

Metody hodowlane

Wszystkie hodowle prowadzono metodą okresową w warunkach względnie beztlenowych, w temperaturze 30°C , przy wartości pH soku 7,0, w czasie 12 lub 24 godz.

Badania nad kinetyką i wydajnością denitryfikacji prowadzono w bioreaktorze Bioflo III (New Brunswick Sci.), stosując sok o początkowej zawartości azotanów(V) $4 \text{ g}/\text{dm}^3$.

Doświadczenia oceny wpływu warunków denitryfikacji na właściwości sensoryczne soku po hodowli prowadzono w kolbach Erlenmayera, stosując sok o początkowej zawartości azotanów(V) 1, 2 i $4 \text{ g}/\text{dm}^3$, czas hodowli ustalono na 12 i 24 godz. Z soku po hodowli oddzielano biomasę i przeprowadzano jego pasteryzację, po czym część soku zakwaszano do pH 4,5, przy użyciu 20% roztworu kwasu cytrynowego, a następnie wszystkie próby poddawano ocenie sensorycznej. W celu usunięcia związków odpowiedzialnych za obcy smak i zapach, sok poddawano dodatkowo zagęszczeniu poprzez odparowanie części wody, po czym rozcieńczano go wodą do wyjściowej objętości i przeprowadzano ponowną ocenę sensoryczną. Do oceny możliwości zastosowania soku do barwienia żywności, kiedy stosuje się duże jego rozcieńczenia, sok po zagęszczaniu poddawano również ocenie sensorycznej metodą rozcieńczeń, badając roztwory wodne soku o stężeniach 10–50%.

W celu oceny stabilności barwników w warunkach modelowych zastosowano metodę płaszczyzny odpowiedzi. Plan doświadczenia (układ Box-Behnken'a uwzględniający trzy zmienne niezależne) oraz analizę wyników opracowano w oparciu o program komputerowy Design-Expert ver. 4.0.1.

Metody analityczne

Zawartość azotanów(III) i azotanów(V) oznaczano metodą chromatografii cieczowej (HPLC) z zastosowaniem kolumny APS Hypersil 5 μm (200x4,6 mm 79916 AP-514). Jako eluent używano 15 mM bufor fosforanowy o pH 3,2.

Zawartość barwników betalainowych oznaczano metodą spektrofotometryczną wg Nilssona [17], a barwę w systemie CIE $L^*a^*b^*$. Oznaczenia barwy wykonywano w spektrofotometrze Hitachi U-3000, przy źródle światła C, w świetle przepuszczonym. Barwę określano na podstawie następujących parametrów: L^* (jasność), a^* (udział barwy czerwonej), b^* (udział barwy żółtej), C^* (nasycenie) oraz h^* (kąt tonu).

Ocenę sensoryczną soku po hodowli prowadzono metodą skalowania punktowego z zastosowaniem skali hedonicznej oraz metodą rozcieńczeń, w której stosowano skalę od 1 (niewyczuwalny) do 5 (mocno wyczuwalny).

Wyniki i ich omówienie

Kinetyka procesu denitryfikacji soku z buraka ćwikłowego

Badania te prowadzono w warunkach optymalnych do rozwoju stosowanego szczepu, określonych na podstawie wcześniejszych badań (pH 7,0, temperatura 30°C). Sok wyjściowy zawierał 126 g/dm³ suchej masy oraz 4 g/dm³ azotanów(V), zaś stężenie wprowadzanej biomasy *P. denitrificans* wynosiło 10,5 g s.m./dm³. W tab. 1. przedstawiono zmiany zachodzące w soku w trakcie denitryfikacji.

Prawie całkowite usunięcie azotanów(V) (97,4%) stwierdzono po 10 h (rys. 1), nie stwierdzając obecności azotanów(III). Redukcji azotanów(V) towarzyszył wzrost wartości pH do 7,9 po 9 godz. procesu, po czym obserwowano jej niewielki spadek. Prawidłowość tę stwierdzono również we wcześniejszych badaniach, zatem zmiany wartości pH mogą być wskaźnikiem zakończenia procesu denitryfikacji. W czasie 24-godzinnej hodowli obserwowano ciągły spadek zawartości suchej masy soku (o 8,5 g/dm³ po 12 h i 10,9 g/dm³ po 24 h) oraz przyrost biomasy (o 2,8 g/dm³ po 12 h i 3,5 g/dm³ po 24 h), pomimo osiągnięcia prawie całkowitej redukcji azotanów(V) już po 10 h. Przemawia to za koniecznością skracania czasu denitryfikacji do niezbędnego do redukcji azotanów(V).

Przydatność technologiczną procesu oceniano na podstawie pierwszych 12 godz., podczas których następowała praktycznie całkowita redukcja azotanów(V) (tab. 2). Szybkość denitryfikacji wzrastała do 8. godziny, osiągając najwyższą wartość po 7. godzinie procesu (0,67 g/dm³·h). W tym samym czasie obserwowano również najwyższą wartość produktywności właściwej (0,053 g/g·h). Okresowi najwyższej aktywności denitryfikacyjnej odpowiadało najbardziej efektywne wykorzystanie składników suchej masy na redukcję azotanów(V) (1,03 g/g) oraz na przyrost komórek (3 g/g).

Tabela 1

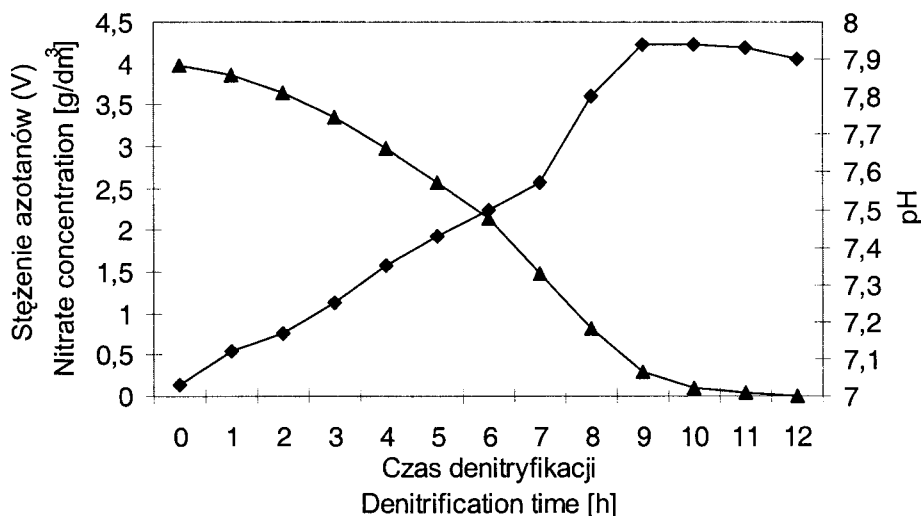
Zmiany wybranych wskaźników jakości soku z buraka ówikowego w czasie denitryfikacji przy użyciu *Paracoccus denitrificans*.
Changes of some quality indices of red beet juice during denitrification by *Paracoccus denitrificans* bacteria.

Czas Time [h]	pH	Stężenie Concentration NO ₃ ⁻ [g/l]	Ubytek Loss NO ₃ ⁻ [g/l]	S.m.soku Juice d.m. [g/l]	S.m. komórek Cell d.m. [g/l]	Barwniki czerwone Red pigments		Barwniki żółte Yellow pigments		Stosunek barwników czerwonych do żółtych Red to yellow pigments ratio
						stęż. concentr. [g/l]	ubytek loss [%]	stęż. concentr. [g/l]	ubytek loss [%]	
0	7,03	3,974±0,287	-	126,6	10,5	1,09	-	0,56	-	1,94
2	7,17	3,639±0,335	8,4	125,1	11,4	1,06	2,8	0,55	0,9	1,90
4	7,35	2,990±0,285	24,8	123,4	11,9	0,99	9,3	0,62	+11,0	1,59
6	7,50	2,143±0,286	46,1	121,8	12,4	0,98	10,3	0,66	+17,1	1,48
8	7,80	0,810±0,218	79,6	120,5	12,8	0,96	11,6	0,67	+20,3	1,42
10	7,94	0,102±0,057	97,4	119,2	13,1	0,92	15,6	0,69	+22,6	1,33
12	7,90	0,002±0,004	99,9	118,1	13,3	0,89	18,2	0,69	+23,8	1,28
24	7,77	0,000±0,000	100	115,7	14,0	0,82	24,6	0,71	+26,3	1,15

± – odchylenie standardowe; liczba powtórzeń: 5 / standard deviation; 5 replications

+ – przyrost w stosunku do stężenia początkowego / increase in comparison with initial pigments content

Zatem wszystkie współczynniki osiągały najkorzystniejsze wartości w czasie, kiedy obserwowano najwyższy stopień denitryfikacji.



Rys. 1. Zmiany stężenia azotanów(V) i wartości pH podczas denitryfikacji soku z buraka ćwikłowego przy użyciu *Paracoccus denitrificans*; ▲ - stężenie azotanów(V) [g/dm³], ◆ - wartość pH.

Fig. 1. Changes of nitrate concentration and pH value in red beet juice during denitrification by *Paracoccus denitrificans*; ▲ - nitrate concentration [g/dm³], ◆ - pH value.

Tabela 2

Wskaźniki szybkości i wydajności procesu denitryfikacji soku z buraka ćwikłowego przy użyciu *Paracoccus denitrificans*.

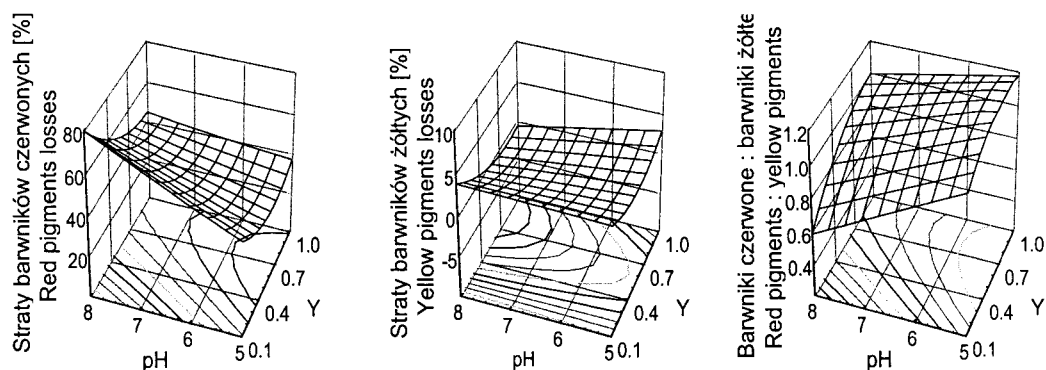
Rate and efficiency factors of red beet juice denitrification process by *Paracoccus denitrificans* bacteria.

Czas Time	Ubytek NO ₃ ⁻ Loss NO ₃ ⁻	Szybkość redukcji NO ₃ ⁻ Rate of NO ₃ ⁻ reduction	Szybkość redukcji NO ₃ ⁻ / s.m.kom. Rate of NO ₃ ⁻ reduction / cell d.m.	Δ s.m. soku / Δ NO ₃ ⁻ Δ juice d.m. / Δ NO ₃ ⁻	Δ s.m.soku / Δ s.m.kom. Δ juice d.m. / Δ cell d.m.	Δ s.m.kom. / Δ NO ₃ ⁻ Δ cell d.m. / Δ NO ₃ ⁻
[h]	[%]	[g/l h]	[g/l h]/[g]	[g/g]	[g/g]	[g/g]
1	3,0	0,17	0,015	4,48	1,67	2,67
3	15,8	0,32	0,027	2,56	3,46	0,74
5	35,1	0,43	0,035	1,89	3,33	0,57
7	62,7	0,67	0,053	1,03	3,00	0,35
9	92,3	0,35	0,027	1,78	4,50	0,40
11	99,2	0,05	0,004	10,60	5,30	2,00

W wyniku mikrobiologicznej denitryfikacji, w soku nastąpiły zmiany właściwości sensorycznych. Zmieniła się zawartość barwników betalainowych (tab. 1), czego odzwierciedleniem była zmiana barwy soku w czasie hodowli. Zawartość barwników czerwonych zmniejszała się, a zawartość barwników żółtych wzrastała. Wpłynęło to na zmniejszenie stosunku zawartości barwników czerwonych do żółtych z 1,94 do 1,28 po 12 godz., co odpowiadało zmianie tonu barwy z fioletowo-czerwonej do czerwonej. Stwierdzono ponadto zmianę zapachu soku po hodowli w kierunku nietypowego karmelowego lub owocowo-winnego.

Ocena stabilności barwników betalainowych w modelowych warunkach procesu biodenitryfikacji metodą płaszczyzny odpowiedzi

W celu oceny stabilności barwników betalainowych badano wpływ następujących czynników (zmiennych niezależnych) na trzech poziomach: ilości dostępnego tlenu, wyrażonej jako stopień wypełnienia ampułki sokiem (0,1, 0,55, 1,0), pH (5,0, 6,5, 8,0) i temperatury (25, 27,5 i 30°C). Jako zmienne zależne (wartości odpowiedzi) analizowano: zawartość barwników czerwonych i żółtych oraz stosunek ich zawartości (współczynnik ϕ), a także parametry barwy L^* , a^* , b^* , C^* i h^* .



Rys. 2. Płaszczyzny odpowiedzi w odniesieniu do strat barwników i zmiany stosunku zawartości barwników czerwonych do żółtych w soku z buraka ćwikłowego w badaniach modelowych po 24 h przechowywania w temperaturze 27,5°C; Y – stopień wypełnienia.

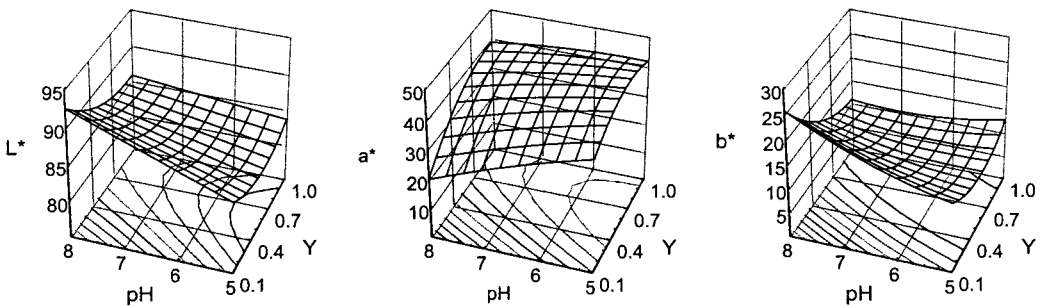
Fig. 2. Response surfaces for pigments loss and changes in red to yellow pigments ratio in red beet juice in model investigations after one day of storage at 27,5°C; Y – filling degree.

Wszystkie badane czynniki wpływały na zawartość barwników. Obserwowano spadek zawartości barwników czerwonych, największy przy pH 8 i dużym dostępie tlenu. Zawartość barwników żółtych najczęściej wzrastała w czasie przechowywania prób, co jest związane z degradacją betacyjanów do brązowych związków, które w stosowanej metodzie spektrofotometrycznej są oznaczane wraz z barwnikami żółtymi

[3]. Powyższe zmiany zawartości barwników betalainowych powodowały zmniejszenie stosunku zawartości barwników czerwonych do żółtych z 1,3 do 0,28 przy pH 8 i małym stopniu wypełnienia. Odzwierciedleniem spadku wartości współczynnika ϕ była zmiana tonu barwy soku z czerwono-fioletowej na brązowo-czerwoną i brązową.

Analizując współczynniki w równaniach płaszczyzn odpowiedzi odnośnie strat barwników czerwonych i żółtych oraz zmian stosunku ich zawartości stwierdzono, że największy wpływ na wartości odpowiedzi miała wartość pH soku i stopień wypełnienia (rys. 2), zaś wpływ temperatury był niewielki. Wzrost stopnia wypełnienia obniżał straty obu barwników, a wzrost pH zwiększał straty barwników czerwonych oraz zmniejszał straty barwników żółtych. Wzrost pH i ilości dostępnego tlenu zmniejszały stosunek zawartości betacyjanów do betaksantyn.

Zmiany w ilości i proporcjach barwników znalazły swoje odbicie w zmianach parametrów barwy, na które największy wpływ miała wartość pH i stopień wypełnienia (rys. 3). W czasie przechowywania obserwowano w soku spadek parametru L^* i a^* oraz wzrost parametru b^* . Jednocześnie zmniejszał się parametr C^* , czyli barwa zbliżała się do barwy białej oraz zwiększała się wartość h^* , co oznacza zmianę barwy w kierunku żółtej. Zarówno w przypadku strat barwników, jak i zmian parametrów barwy, widoczna była interakcja między współczynnikiem stopnia wypełnienia i wartością pH soku.



Rys. 3. Płaszczyzny odpowiedzi w odniesieniu do parametrów barwy w soku z buraka ćwikłowego w badaniach modelowych po 24 h przechowywania w temperaturze 27,5°C; Y – stopień wypełnienia.

Fig. 3. Response surfaces for colour parameters in red beet juice in model investigations after one day of storage at 27,5°C; Y – filling degree.

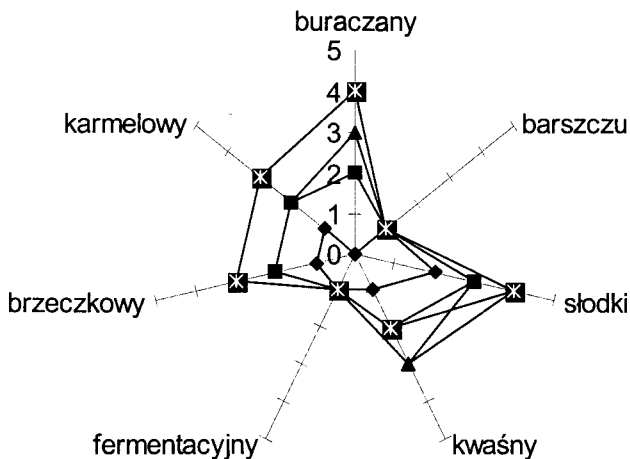
Przedstawione wyniki badań modelowych umożliwiają stwierdzenie, że procesy denitryfikacji należy prowadzić w warunkach beztlenowych przy kontrolowanej wartości pH, nie przekraczającej 7,0.

Wpływ obróbki soku po denitryfikacji na jego cechy sensoryczne

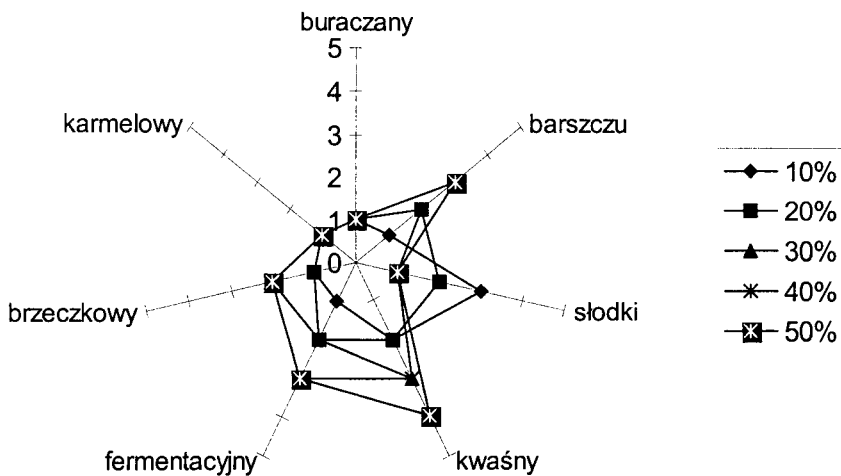
Na podstawie wcześniejszych badań stwierdzono, że w wyniku procesu biologicznej denitryfikacji, sok po hodowli znacznie różnił się od soku wyjściowego barwą, zapachem i smakiem. Do wyeliminowania lub zmniejszenia tych zmian przeprowadzono dodatkową obróbkę soku po denitryfikacji, polegającą na odparowaniu z soku części wody wraz z substancjami lotnymi odpowiedzialnymi za zmieniony smak czy zapach. Ocenę sensoryczną przeprowadzano przed i po procesie zagęszczania. W odniesieniu do oceny sensorycznej soku po hodowli stwierdzono, że zarówno w próbach zakwaszonych, jak i niezakwaszonych, zapach i smak soku pogarszały się wraz ze wzrostem początkowego stężenia azotanów(V) w soku i czasu denitryfikacji. W wyniku procesu zagęszczania i ponownego rozcieńczenia otrzymano sok o znacznie lepszych właściwościach sensorycznych, pozbawiony obcych smaków i zapachów, jakie stwierdzano podczas pierwszej oceny sensorycznej. Również po zagęszczaniu, soki po 24-godzinnej hodowli oceniono niżej niż po 12-godzinnej. Wskazuje to na konieczność skracania czasu procesu denitryfikacji i przerywania go w momencie uzyskania zadawalającego poziomu azotanów(V).

Na podstawie oceny sensorycznej (metodą rozcieńczeń) soku po zagęszczaniu stwierdzono, że przy małym jego stężeniu w badanych próbach, smak i zapach były słabo wyczuwalne lub niewyczuwalne, nawet w próbach po 24-godzinnej hodowli, przy najwyższej zawartości początkowej azotanów(V). Ocenę smaku i zapachu, metodą rozcieńczeń, wybranej próby soku przedstawiono na rys. 4. i 5. We wszystkich próbach soku niezakwaszonego dominował zapach i smak słodko-buraczany z nutą brzezkowego lub karmelowego. Natomiast w próbach soku zakwaszonego stwierdzano smak i zapach kwaśnego barszczu, z dodatkiem nut fermentacyjnej i brzezkowej o różnym nasileniu, w zależności od stopnia rozcieńczenia soku. Wyniki obu ocen sensorycznych wskazują na możliwość zastosowania soku po denitryfikacji i odpowiedniej obróbce, jako barwnika i składnika produktów spożywczych. Zgodnie z zaleceniami Komitetu Ekspertów FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności [23], ilość azotanów(V) w preparatach barwiących otrzymywanych z buraka ćwikłowego nie może przekraczać poziomu dopuszczonego w żywności przeznaczonej dla dzieci i niemowląt. Wskazuje to na konieczność kontrolowania poziomu azotanów(V) w burakach ćwikłowych przeznaczonych nie tylko do bezpośredniej konsumpcji, ale również tych do produkcji preparatów barwiących (czerwień buraczana E 162).

a)



b)

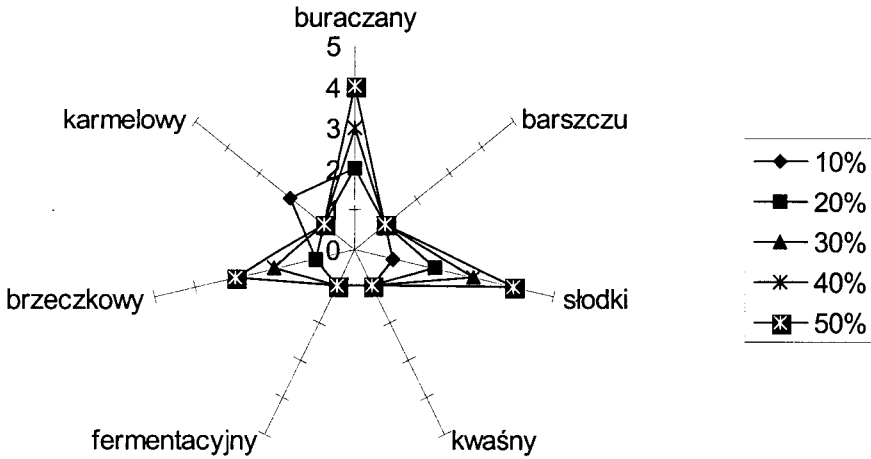


Rys. 4. Profilogramy zapachu roztworów soku po denitryfikacji i zagęszczaniu w zależności od stężenia [%] soku w roztworze, dotyczące próby o początkowej zawartości azotanów(V) 4 g/dm^3 i czasie hodowli 24 h; a) sok niezakwaszony; b) sok zakwaszony do pH 4,5.

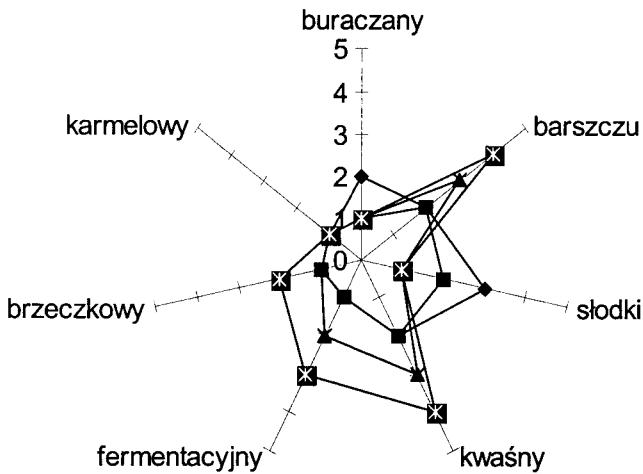
Fig. 4. Flavour profilograms of juice solutions after denitrification and concentration according to juice concentration [%] for juice at initial nitrate content 4 g/dm^3 and fermentation time 24 h; a) non-acidified juice, b) juice after acidification to pH 4,5.

buraczany / red beet odour; barszczu / red borsch odour, brzeczkowy / wort like; fermentacyjny / fermentative; karmelowy / caramel like; kwaśny / sour; słodki / sweet.

a)



b)



Rys. 5. Profilogramy smaku roztworów soku po denitryfikacji i zagęszczaniu w zależności od stężenia [%] soku w roztworze dotyczące próby o początkowej zawartości azotanów(V) 4 g/dm^3 i czasie hodowli 24 h; a) sok niezakwaszony; b) sok zakwaszony do pH 4,5.

Fig. 5. Taste profilograms of juice solutions after denitrification and concentration according to juice concentration [%] for juice at initial nitrate content 4 g/l and fermentation time 24 h; a) nonacidified juice, b) juice after acidification to pH 4,5.

Objaśnienia jak na rys. 4.

Wnioski

1. Zastosowanie bakterii *Paracoccus denitrificans* umożliwiło całkowitą redukcję azotanów(V) w soku z buraka ćwikłowego.
2. W wyniku procesów biodenitryfikacji zmianie uległa zawartość barwników betalainowych w soku po hodowli. Zawartość barwników czerwonych wzrosła, a żółtych zmalała, co spowodowało zmniejszanie się stosunku zawartości barwników czerwonych do żółtych i zmianę tonu barwy w kierunku czerwonej i brązowej.
3. Na podstawie badań modelowych wpływu warunków denitryfikacji na stabilność barwników, największy wpływ miała dostępność tlenu i wartość pH oraz interakcja tych czynników.
4. W czasie przechowywania soku następował spadek jasności barwy L^* i wartości parametru a^* oraz wzrost parametru b^* , jednocześnie malało nasycenie barwy C^* i wzrastała wartość tonu barwy h^* .
5. W wyniku procesów denitryfikacji następowały niekorzystne zmiany właściwości sensorycznych soku. Barwa zmieniała się w kierunku brązowo-czerwonej, a zapach w kierunku karmelowego lub brzeczkowego.
6. Na skutek zagęszczania soku po denitryfikacji następowała poprawa jego cech sensorycznych. Zmniejszała się wyczuwalność obcych smaków i zapachów, co wskazuje na możliwość zastosowania soku, po hodowli i zagęszczeniu, do produkcji preparatów barwiących w przemyśle spożywczym.

Literatura

- [1] Barreiros A.M., Rodrigues C.M., Crespo J.P.S.G., Reis M.A.M.: Membrane bioreactor for drinking water denitrification. *Bioprocess Eng.*, **18** (4), 1998, 297.
- [2] Clifford D., Liu X.: A review of processes for removing nitrate from drinking water. *Proceedings of the 1995 American Water Works Association Annual Conference, Anaheim, California; June 19-22, 1995.*
- [3] Czapski J., Maksymiuk M., Grajek W.: Analysis of biodenitrification conditions of red beet juice using the response surface method. *J. Agric. Food Chem.*, **46** (11), 1998, 4702.
- [4] Hitze W.: Deutsches Patentamt DE 3728372 AL, Deutsches Patentamt: Verfahren zur selektiven Entfernung bzw. Reduzierung von Nitrat-ionen aus Gemüsehomonogenaten., Bundesrepublik Deutschland. 1987.
- [5] Duchañ B., Hady S.: Trzy przypadki methemoglobinemii w przebiegu zatrucia azotynami. *Roczniki PZH*, **43** (3-4), 1992, 267.
- [6] Duncan C., Li H., Dykhuizen R., Frazer R., Johanson P., MacKnight G., Smith L., Lamza K., McKenzie H., Batt L., Kelly D., Golden M., Benjamin N., Leifert C.: Protection against oral and gastrointestinal diseases: Importance of dietary nitrate intake, oral nitrate reduction and enterosalivary nitrate circulation. *Comp. Biochem. Physiol. A-Physiol.*, **118** (4), 1997, 939.
- [7] Dz.U. Nr 9 z dn. 05.02.2001 r.: Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27.12.2000 r. *W sprawie wykazu dopuszczalnych ilości substancji dodatkowych i innych substancji obcych dodawanych do*

środków spożywczych lub używek, a także zanieczyszczeń, które mogą znajdować się w środkach spożywczych lub używkach.

- [8] Eichholzer M., Gutzwiller F.: Dietary nitrates, nitrites and N-nitroso compounds and cancer risk: A review of the epidemiologic evidence. *Nutr. Rev.*, **56** (4 part 1), 1998, 95.
- [9] Evaluation of certain food additives. Twenty third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Techn. Rep. Ser.*: 648, WHO, Genewa 1980.
- [10] Gangolli S.D., Van den Brandt D.A., Feron V.D., Jon-Zowsky C., Koeman J.H., Speijers G.J.A., Spiegelholder B., Walker R., Winshnok J.S.: Assessment: nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *Eur. J. Pharmacol., Environ. Toxicol. Pharmacol. Sect.*, **292**, 1994, 1.
- [11] Gierschner K., Hammes W.P.: Mikrobiologische Nitrat – entfernung aus Gemüsesäften bzw Gemüeflüssigprodukten. *Flüssiges Obst.*, **58** (5), 1991, 236.
- [12] Hallin S., Pell M.: Metabolic properties of denitrifying bacteria adopting to methanol and ethanol in activated sludge. *Water Res.*, **32** (1), 1998, 13.
- [13] Kapoor A., Viraraghavan T.: Nitrate removal from drinking water – review. *J. Environ. Engineering*, **123** (4), 1997, 371.
- [14] Kolb E., Haug M., Janzowski C., Vetter A., Eisenbrond G.: Potential nitrosamine formation and its prevention during biological denitrification of red beet juice. *Food Chem. Toxicol.*, **35**, 1997, 219.
- [15] McKnight G.M., Duncan C.W., Leifert C., Golden M.H. : Dietary nitrate in man: friend or foe? *Br. J. Nutr.*, **81** (5), 1999, 349.
- [16] McKnight G.M., Smith L.M., Drummond R.S., Duncan C.W., Golden M., Benjamin N.: Chemical synthesis of nitric oxide in the stomach from dietary nitrate in humans. *Gut.*, **40**, 1997, 211.
- [17] Nillson T.: Studies into the pigments in beetroot. *Lantbrukshoegsk. Ann.*, **36**, 1975, 179.
- [18] Oliveira C.P., Gloria A., Barbour J.F., Scanlan R.A.: Nitrosamines in whey-containing food products. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1995, 967.
- [19] Pinar G., Oliva J.M., Senchez-Barbero L., Calvo V., Ramos J.L.: Removal of nitrate from industrial wastewater in a pilot plant by nitrate-tolerant *Klebsiella oxytoca* CECT 4460 and *Arthrobacter globiformis* CECT 4500. *Biotech. Bioeng.*, **58** (5), 1998, 510.
- [20] Ryszkowski L., Życzyńska-Bałoniak I., Szpakowska B.: Wpływ barier biogeochemicznych na ograniczenie rozprzestrzeniania się zanieczyszczeń obszarowych. *Oczyszczanie hydrobotaniczne. II Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna, Poznań, 02-03.09.1996. Materiały konferencyjne pod red. R. Błażejewskiego*, 147.
- [21] Sady W.: Czynniki ograniczające zawartość azotanów i metali ciężkich w warzywach. *Przem. Ferm. i Owoc.-Warzyw.*, **5**, 2001, 21.
- [22] Santamaria P.: Occurrence of nitrate and nitrite in vegetables and total dietary intakes. *Ind. Aliment.*, **36** (364), 1997, 1329.
- [23] Summary of evaluations performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). FAO/WHO Geneva, 1994.
- [24] Tsezon A., Kitsion-Tzeli S., Galla A., Gourgiotis D., Papageorgion J., Mitron S., Molybdas P.A., Sinaniotis C.: High nitrate content in drinking water: cytogenetic effects in exposed children. *Arch. Environ. Health*, **51** (6), 1996, 458.
- [25] Van Leeuwen J.A., Waltner-Toeus D., Abernathy T., Smith B., Shoukri M.: Associations between stomach cancer incidence and drinking water contamination with atrazine and nitrate in Ontario (Canada) agrosystems, 1987-1991. *Int. J. Epidemiol.*, **28** (5), 1999, 836.
- [26] Van Loon A.J., Botterweck A.A., Goldbohm R.A., Brants H.A., van Klavern J.D., van der Brandt P.A.: Intake of nitrate and nitrite and the risk of gastric cancer: a prospective cohort study. *Br. J. Cancer*, **78** (1), 1998, 129.

- [27] Van Maanen J.M.S., Welle I.J., Hageman G., Dallinga J.W., Martens P.L., Kleinjans J.C.S.: Nitrate contamination of drinking water: relationship with HPRT variant frequency in lymphocyte DNA and urinary excretion of N-nitrosamines. *Environ. Health Perspectives*, **104** (5), 1996, 522.
- [28] Walkowiak-Tomczak D., Grajek W., Nowak A., Czapski J.: Akumulacja azotanów w warzywach i metody ich usuwania. *Przem. Ferm. i Owoc.-Warzyw.*, **1**, 1996, 25.
- [29] Wang Z.: Application of biofilm kinetics to the sulfur/lime packed bed reactor for autotrophic denitrification of groundwater. *Wat. Sci. Tech.*, **37** (9), 1998, 97.
- [30] Zayed G., Winter J.: Removal of organic pollutants and of nitrate from wastewater from the dairy industry by denitrification. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **49**, 1998, 469.

INFLUENCE OF MICROBIOLOGICAL REDUCTION OF NITRATES IN RED BEET JUICE ON ITS SENSORY PROPERTIES

S u m m a r y

The purpose of this study was to determine the efficiency of denitrification process of red beet juice by *Paracoccus denitrificans* bacteria and culture process influence on sensory properties of juice after fermentation and evaluation of the usefulness of denitrified juice for the production of a natural colouring preparation for foods.

The use of *P. denitrificans* bacteria resulted in complete reduction of nitrates in the juice, at initial nitrate concentration 4 g/l and maximal denitrification rate 0,67 g/l h. In the model investigations the greatest effect on red and yellow pigments loss and their ratio changes as well as changes of colour parameters was demonstrated by oxygen availability and pH value. The microbiological denitrification process influenced on colour and flavour changes. However, concentration by evaporation makes possible to use the juice after denitrification in production of colouring preparation. ☒

KOMUNIKAT

Oddział Nauk o Żywności Instytutu Rozrodu Zwierząt i Nauk o Żywności PAN
w Olsztynie
zaprasza do uczestnictwa w:

EUROFOODTOX V FOOD SAFETY

a challenge for processing of food of plant origin

w dniach 28–30 sierpnia 2002 r. w Mierkach k/Olsztyna.

Informacje:

Oddział Nauk o Żywności IRZiBŻ PAN

ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

tel. +48 (0)89 523 46 70

fax +48 (0)89 524 01 24

e-mail: office@pan.olsztyn.pl