



**WYDZIAŁ  
NAUK O ŻYWNOŚCI  
I BIOTECHNOLOGII**

## SPRAWOZDANIE

z prowadzenia w 2014 r. badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w zakresie rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 maja 2010 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. Nr 91, poz. 595, z późn. zm.)

***pt.: Przetwórstwo produktów roślinnych, zwierzęcych metodami ekologicznymi: Ekologiczne metody przetwórstwa owoców i warzyw z uwzględnieniem właściwości prozdrowotnych otrzymywanych produktów***

Realizowany przez: **Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**

finansowany zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 maja 2010 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. Nr 91, poz. 595, z późn. zm.) na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 09.06.2014 HORre-029-18-11/14(81)

Kierownik tematu: **prof. dr hab. Ewa Solarska**

Główni wykonawcy: dr Bożena Sosnowska, dr Tomasz Czernecki, mgr Anna Nowak

Napój Kombucha powstaje w wyniku fermentacji tlenowej słodzonej herbaty zachodzącej pod wpływem zespołu bakterii i drożdży współistniejących w symbiozie. Mikroorganizmy te metabolizują liczne substancje takie jak: witaminy z grupy B, witamina C, kwas foliowy, kwasy, glukuronowy i glukonowy, kwas octowy, kwas mlekowy, kwas usninowy, niewielkie ilości alkoholu, heparyna, enzymy, dwutlenek węgla. Kombucha, dzięki zawartym w nim kwasom organicznym i witaminom posiada bardzo szerokie spektrum właściwości leczniczych. Kwas glukuronowy posiada właściwości detoksyfikacyjne, a kwas mlekowy obniżające pH krwi, czyli zwiększające jej kwasowość. Kombucha ma korzystny wpływ na czynności przewodu pokarmowego, stymuluje metabolizm i układ odpornościowy, oczyszcza krew i odtruwa organizm z substancji toksycznych, szczególnie pochodnych kwasu moczowego. Pomaga odbudować przyjazną mikroflorę jelit i hamować rozwój niepożądanych mikroorganizmów, zapobiega i leczy zaparcia. Kombucha wspomagając działanie gruczołów dokrewnych i przyspieszając metabolizm pomaga w usuwaniu z organizmu odłożonego tłuszczu i przekształcaniu szkodliwych złogów kwasu moczowego i cholesterolu do form rozpuszczalnych i przez to łatwych do usunięcia. Wpływa, zatem leczniczo na takie schorzenia jak: reumatyzm, artretyzm, podagrę, arteriosklerozę, otyłość, kamienie nerkowe i wątrobowe.

Obecność kwasu mlekowego i innych kwasów organicznych ma znaczenie w profilaktyce i leczeniu nowotworów. Rewitalizujące właściwości kombuchy pomagają pozbyć się zmęczenia, stresu, bólów i zawrotów głowy.

Reasumując, kombucha pomaga na wiele dolegliwości i schorzeń, a szczególnie: prawidłowe trawienie, działa lekko rozwalniająco, przez co zapobiega i leczy zaparcia, powstrzymuje rozwój szkodliwych bakterii w przewodzie pokarmowym, tym samym sprzyja utrzymaniu właściwej mikroflory jelit;

- wspomaga czynność wątroby;
- oczyszcza pęcherz moczowy;
- pomaga usunąć bóle i zawroty głowy; zmęczenie, stres, bezsenność;
- działa rewitalizująco na organizm, dodaje energii
- pomaga w leczeniu chorób związanych ze złogami związków kwasu moczowego w stawach ( reumatyzm, artretyzm, podagra i podobne);
- reguluje apetyt;
- leczy zmiany skórne i wygładza zmarszczki;
- poprawia kondycję włosów i paznokci;
- zapobiega i leczy wczesne stadia nowotworów.

W niektórych chorobach działanie kombuchy opóźnia przebieg choroby i wybitnie wspomaga leczenie farmakologiczne. Dotyczy to szczególnie chorób nowotworowych i chorób immunologicznych.

### **Cel badań.**

Przeprowadzono badania na najlepszych, wytypowanych w poprzednich badaniach wariantach kombuchy tj. z dodatkiem samego chmielu odmiany Marynka oraz chmielu i żurawiny, w celu opracowania metody przerywania procesu fermentacji przed rozlewaniem napoju do butelek, przez eliminację żywych mikroorganizmów pozostających w napoju.

Cel ten osiągnięto przez optymalizację metod utrwalania produktu takich jak pasteryzacja i mikrofiltracja pod kątem uzyskania możliwie najdłuższego okresu trwałości napoju, zachowującego znaczną część aktywności biologicznej napoju świeżego. W celu ograniczenia niekorzystnego wpływu temperatury na właściwości napoju określono optymalny czas i temperaturę procesu pasteryzacji. Zarówno pasteryzację jak i mikrofiltrację z wykorzystaniem filtrów mikrobiologicznych zastosowano do wyeliminowania kolonii grzybów i bakterii, które pozostały po usunięciu galaretowanej masy, będącej konglomeratem tych mikroorganizmów. Założono, że mikrofiltracja pozwoli zachować wszystkie walory prozdrowotne świeżej kombuchy. Proces mikrofiltracji prowadzono z wykorzystaniem membran o średnicy 0,2  $\mu\text{m}$ .

### **Materialy i metody.**

Napój kombucha z dodatkiem chmielu oraz chmielu i żurawiny został wyprodukowany w gospodarstwie ekologicznym Sylwii Pająk w Jastkowie k/ Lublina.

Badaniom zostały poddane napoje wyprodukowane we wrześniu i w październiku bieżącego roku. Zawierały one:

1. herbatę zieloną -10 g, cukier – 100 g, litr wody,
2. herbatę zieloną -10 g, cukier – 100 g, litr wody, chmiel odmiany Marynka – 10 g,
3. herbatę zieloną -10 g, cukier – 100 g, litr wody, chmiel odmiany Marynka i żurawinę – po 5 g

Badaniu zostały poddane wszystkie napoje, przy czym naapój numer 1 był badany po wyprodukowaniu jak i po 30 i 60 dniach przechowywania w warunkach pokojowych. Napoje były poddawane procesowi pasteryzacji w 80°C [3,5] i mikrofiltracji filtrami Vivaflow 50 o średnicy porów 0,2µm i ponownie badano je mikrobiologicznie.

Przeprowadzono następujące oznaczenia mikrobiologiczne zgodnie z PN-90/A-75052 stosując podłoża firmy BTL:

- ogólna liczba bakterii mezofilnych w 1 g na agarze odżywczym M [2];
- liczba drożdży i pleśni w 1g na agarze z glukozą, ekstraktem drożdżowym i chloramfenikolem [4]; Przeprowadzono identyfikację rodzajową drożdży w oparciu o obserwację makroskopową kolonii wyrosłych na agarze brzęczkowym (wygląd, kształt, wielkość, zabarwienie, struktura) i mikroskopową obserwację specyficznych cech morfologicznych (kształt, wielkość, rodzaj rozmnażania, wytwarzanie pseudogrzybni). Wyniki z obserwacji porównywano z danymi literaturowymi [8,10].
- obecność bakterii octowych w 1g owoców na brzęczce z dodatkiem etanolu i kwasu octowego [6].

Wszystkie oznaczenia wykonywano w dwóch powtórzeniach i wyliczano średnie arytmetyczne z otrzymanych wyników.

Z uwagi na fakt, że badane napoje miały niskie pH wynoszące ok. 3, nie były oznaczane drobnoustroje tj. *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, beztlenowce przetrwalnikujące *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, i *Proteusz spp.*, gdyż nie rosną one w tak kwaśnym środowisku.

Po inkubacji z wyrosłych koloni, drożdży wykonano szereg posiewów redukcyjnych w celu uzyskania czystych kultur. Otrzymane pojedyncze kolonie zawieszono w płynie fizjologicznym i wykonano serię rozcieńczeń do 10<sup>-5</sup>.

Następnie posiano końcowe rozcieńczenia na agar brzęczkowy.

Wykonano preparaty przyżyciowe, i przeprowadzono obserwację cech morfologicznych. Drożdże identyfikowano za pomocą testu ID API 32C.

Z podłoża brzęczkowego o 7° Ballinga z kwasem octowym i alkoholem etylowym z kolbek o wyraźnym zapachu octu pobrano błonkę i przeniesiono równolegle na podłoże z ekstraktem drożdżowym i alkoholem, na podłoże z węglanem wapnia [1], i z zielenią bromokrezolową [1].

**Identyfikacja i określenie zawartości kwasów fenolowych w napoju**

W próbach przeprowadzono metodą HPLC analizę kwasów fenolowych wolnych i związanych w próbach. 30 ml napoju zostało przesączone przez bibułę filtracyjną. Próbę poddano odbiałczeniu z acetonitrylem w stosunku 1:1. Po przefiltrowaniu przez filtr strzykawkowy (o grubości porów 0,45  $\mu\text{m}$ ) analizowano w roztworze zawartość wolnych kwasów fenolowych. Analiza związanych kwasów fenolowych w napojach poprzedzona była hydrolizą próbek. Do 9 ml przesączu dodano 9 ml wody destylowanej (zawierającej 120 mg kwasu askorbinowego i 50 mg EDTA). Następnie dodano 5 ml roztworu NaOH o stężeniu 10  $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Kolbę zamknięto korkiem i pozostawiono na około 16 godzin w temperaturze 20  $^{\circ}\text{C}$ . Następnie doprowadzono pH próbki do wartości 2,0 za pomocą 36-38% roztworu kwasu solnego. Uwolnione kwasy fenolowe poddano trzykrotnej ekstrakcji. Do próby dodano 15 ml mieszaniny 1:1 eteru dietylowego i octanu etylu, schłodzonego do temperatury 0-4  $^{\circ}\text{C}$  i wytrząsano 10 minut. Zebrane górne warstwy (eteru z octanem) wraz z kwasami umieszczano w kolbie stożkowej i przechowywano w temperaturze 0-4  $^{\circ}\text{C}$  bez dostępu światła. Rozpuszczalniki odparowano całkowicie w wyparce próżniowej. Osad w kolbie rozpuszczono w 2 ml 100 % metanolu. Przefiltrowano próby przez filtr strzykawkowy (o grubości porów 0,45  $\mu\text{m}$ ) i poddano analizie.

Do rozdziału kwasów fenolowych wykorzystano zestaw HPLC firmy Gilson, złożony z: dwóch pomp tłokowych Gilson 306, detektora DAD typ 170, modułu manometrycznego 805, dynamicznego miksera 811C, pętli objętościowej Gilson 20  $\text{mm}^3$  oraz programu komputerowego UniPoint wersja 3.01. Rozdziały prowadzono przy użyciu kolumny z odwróconą fazą Symmetry C18, 5  $\mu\text{m}$ , 4,6  $\times$  250 mm Cartridge (WatersIreland) oraz prekolumny Symmetry C18 5  $\mu\text{m}$ , 8  $\times$  20 mm Cartridge (WatersIreland). Detekcje sygnału monitorowano przy dł. fali 320 nm, a ponieważ fenolokwasy różni ąsi ę od siebie maksimami absorpcji również przy długościach fal: 365 nm, 280 nm i 260 nm, w układzie gradientowym, stosując jako eluenty: A – 0,1% roztwór kwasu octowego; B – 50% roztwór acetonitrylu. Identyfikację ilościowe oznaczenie zawartości fenolokwasów dokonano w oparciu o następujące wzorce kwasów: galusowego, syringowego, proktokatecholowego, 4-hydroksybenzoesowego, chlorogenowego, kawowego, pkumarowego, ferulowego, synapinowego i 2-hydroksycynamonowego na podstawie czasu retencji.

### **Oznaczenie zawartości ksantohumolu w badanym napoju**

Napój został przefiltrowany przez filtr strzykawkowy (o grubości porów 0,45 µm) i poddany analizie metodą HPLC z wykorzystaniem zestawu HPLC firmy Gilson, złożonego z: dwóch pomp tłokowych Gilson 306, detektora DAD typ 170, modułu manometrycznego 805, dynamicznego miksera 811C, pętli objętościowej Gilson 20 mm<sup>3</sup> oraz programu komputerowego UniPoint wersja 3.01. Rozdziały prowadzono przy użyciu kolumny z odwróconą fazą Symmetry C18, 5 µm, 4,6 × 250 mm Cartridge (WatersIreland) oraz prekolumny Symmetry C18 5 µm, 8 × 20 mm Cartridge (WatersIreland). Detekcje sygnału monitorowano przy dł.370 nm w liniowym układzie gradientowym, zaczynając od 40 do 100 % acetonitrylu w 1 % roztworze kwasu mrówkowego przez 15 minut, kończąc przez 5 minut 100 % acetonitrylem. Identyfikacji ilościowej ksantohumolu dokonano w oparciu o wzorec tego związku.

### Ocena sensoryczna napoju

Do oceny wyróżników organoleptycznych badanych produktów zastosowano ocenę pięciopunktową dla soków owocowych. Ocenę organoleptyczną badanych napojów przeprowadził 7-osobowy zespół, którego członkowie spełniali wymagane minimum wrażliwości sensorycznej. Pomieszczenie do badań było czyste, odpowiednio oświetlone i panowała w nim wymagana temperatura. Przy ocenie brano pod uwagę następujące wyróżniki: wygląd, barwa, zapach oraz smak.

## Wyniki

Tab. 1 Wyniki analizy mikrobiologicznej badanych napojów

	Napój nr1	Napój nr 2	Napój nr 3
Liczba drożdży (w 1 cm <sup>3</sup> produktu)	5,92 x10 <sup>5</sup>	3,7x10 <sup>6</sup>	7,21x10 <sup>3</sup>
Ogólna liczba drobnoustrojów (w 1 cm <sup>3</sup> produktu)	4,87x10 <sup>5</sup>	6,52x10 <sup>6</sup>	5,64x10 <sup>6</sup>

Tab. 2 Wyniki analizy mikrobiologicznej płynu nr 1 po przechowywaniu w temperaturze pokojowej.

	Napój nr 1 świeży	Napój nr 1 po 30 dniach przechowywania	Napój nr1 po 60 dniach przechowywania
Liczba drożdży (w 1cm <sup>3</sup> produktu)	5,92 x10 <sup>5</sup>	7,9x 10 <sup>5</sup>	5,16x10 <sup>6</sup>
Ogólna liczba drobnoustrojów (w1 cm <sup>3</sup> produktu)	4,87x10 <sup>5</sup>	6,38x10 <sup>5</sup>	4,18x10 <sup>6</sup>

Największą liczbę ogólną drobnoustrojów określono w napoju nr 2, najmniej w napoju nr 1 (tab. 1). Liczba drożdży plasowała się między 7,21x10<sup>3</sup> a 3,7x10<sup>6</sup> i najwięcej było tych drobnoustrojów w napoju wzbogaconym chmielem, a najmniej w napoju z żurawiną (tab. 1). Po przechowywaniu napoju stwierdzono wzrost liczby zarówno drożdży jak i innych drobnoustrojów (tab. 2). W produkcie świeżym liczba drożdży wynosiła 5,92 x 10<sup>5</sup>, a po 60 dniach 5,16 x 10<sup>6</sup>. Ogólna liczba drobnoustrojów wynosiła odpowiednio w napoju świeżym 4,87x 10<sup>5</sup>, a po 60 dniach przechowywania 4,18x 10<sup>6</sup>.

Po przeprowadzonej pasteryzacji i mikrofiltracji we wszystkich napojach nie zaobserwowano wzrostu żadnych drobnoustrojów.

Wzrost bakterii octowych w postaci zwartej grzybni na powierzchni brzeczki i intensywnego zapachu kwasu octowego uzyskano we wszystkich próbach.

Wykonano preparat Grama. Po wybarwieniu w preparacie zaobserwowano Gram ujemne pałeczki.

Wykonano test na katalazę.[ 8] Uzyskano wynik dodatni.

- Podłoże z zielenią po 24 h zmieniło barwę z niebieskozielonej na żółtą zarówno przy badanym szczepie jak i wzorcowym. Świadczy to że bakterie wytwarzają kwas octowy z alkoholu .Po 72 godzinach zabarwienie ponownie zmieniło się na zielononiebieskie, ponieważ szczepy *Acetobacter* dalej utleniają kwas octowy do dwutlenku węgla.[1].
- Na podłożu płynnym z ekstraktem i etanolem sprawdzono czy szczep wytwarza celulozę w celu ustalenia czy jest to *Acetobacter xylinum*. Po inkubacji wytworzył się kożuszek, który umieszczono na szkiełku podstawowym, barwiono przez kilka minut płynem Lugola, płukano wodą i dodano kilka kropli 50% kwasu siarkowego. Pod mikroskopem nie zaobserwowano wytworzonych nitek celulozy które powinny wybarwić się na kolor jaskrawoniebieski.[1].

- Na podłożu z mleczanem wapniowym szczep wyrósł w postaci jasnokremowych kolonii otoczonych strefą przejaśnienia, podobnie jak szczep wzorcowy. Nie zaobserwowano mętnej strefy wytrąconego węglanu wapniowego[1].
- Na podłożu stałym z ekstraktem, węglanem wapnia i etanolem szczep wyrósł w postaci jasnokremowych kolonii otoczonych strefą przejaśnienia.

Wyniki te wskazują że wyizolowany szczep bakterii należy do rodzaju *Glukonacetobacter*.

Wyizolowano sześć różnych rodzajów drożdży. Po 24-48h. Identyfikowano drożdże za pomocą testów ID API 32C.[9]

### **Identyfikacja biochemiczna**

Szczep nr I asymilował cukry:

Galaktoza +

Metylo-D-glukopiranozyd +

D-celobioza +

Glukoza +

Reszta cukrów nie była asymilowana. Na podstawie tych wyników nie można było stwierdzić jednoznacznie jaki to gatunek. Podobne wyniki dają drożdże *Dekkera intermedia*.

Szczep nr II po 48h asymilował cukry:

Galaktoza +

N-nacetylo-glukozamina +

D-celobioza +

Glukoza +

Podobne wyniki dają drożdże *Dekkera anomala*.

Szczep nr III asymilował tylko D- sorbitol i jak wszystkie pozostałe szczepy glukozę. Najbardziej przybliżone cechy do rodzaju *Zygosaccharomyces*.

Szczep o tych właściwościach wg systematyki Kregera-van Rija to *Zygosaccharomyces bisporus*.

Szczep nr IV asymilował N-acetylo-glukozaminę, kwas mlekowy, glukozę i glicerol. Te wyniki najbardziej zbliżone są do rodzaju *Candida*.

Szczep nr V asymilował tylko kwas mlekowy, glukozę i glicerol. Wskazuje to na *Candida inconspicue*.



Szczep nr VI asymilował sacharozę, N-acetyloglukozaminę, kwas mlekowy, glukozaminę, nie wykazał wrażliwości na aktidion. Wyniki te nie pozwalają jednoznacznie określić gatunku. Badania genetyczne wykazały, że jest to *Candida ethanolica*.

Zidentyfikowane szczepy I, II, III i VI były obecne we wszystkich napojach. Szczep IV i V izolowano tylko z napoju nr 3 wzbogaconego żurawiną.

### Zawartość kwasów fenolowych i ksantohumolu w napoju

Badane napoje są cennym źródłem kwasów fenolowych. Do najczęściej oznaczanych kwasów należały: chlorogenowy, kawowy, p-kumarowy, synapinowy i 2-hydroksycynamonowy. Zawartość jakościowa i ilościowa oznaczanych kwasów była bardzo zróżnicowana. Największą liczbę badanych kwasów, zarówno wolnych, jak i związanych, oznaczono w próbach utrwalonych poprzez mikrofiltrację. Dodanie do napoju żurawiny przyczyniło się do wzbogacenia produktu w kwas 4-hydroksybenzoesowy, który nie występował w napoju bez dodatku tego owocu. Próby te zawierały także zwiększoną ilość kwasu 2-hydroksycynamonowego w porównaniu z próbami z chmielem, jednakże ten kwas okazał się wrażliwy na proces mikrofiltracji (tab 3).

Tab. 3. Zawartość kwasów fenolowych wolnych i związanych w  $\mu\text{mol}\cdot\text{ml}^{-1}$

		Kwasy fenolowe	Świeży	Pasteryzacja	mikrofiltracja
Ccc ccc	Wolne	galusowy	34,95	24,46	
		Syringowy			
		4-hydroksybenzoesowy			
		chlorogenowy			2,40
		Kawowy		0,56	0,32
		p-kumarowy		1,39	1,52
		Ferulowy	0,89	1,34	
		Synapinowy	0,73		
		2-hydroksycynamonowy		2,12	0,71
	Związane	galusowy			30,40
		Syringowy		0,29	82,81
4-					

		hydroksybenzoesowy			
		chlorogenowy			
		Kawowy			
		p-kumarowy			2,10
		Ferulowy	0,18		1,34
		Synapinowy		0,23	0,28
		2- hydroksycynamonowy	18,69	38,43	25,73
<b>chmiel i żurawina</b>	Wolne	galusowy	24,92	22,97	
		Syringowy			
		4- hydroksybenzoesowy			331,00
		chlorogenowy			1,76
		Kawowy			0,23
		p-kumarowy		1,22	2,67
		Ferulowy	0,72		0,64
		Synapinowy		1,67	0,34
	2- hydroksycynamonowy	2,16	0,27		
	Związane	galusowy			
		Syringowy			15,38
		4- hydroksybenzoesowy	10384,10	7540,37	11408,21
		chlorogenowy	1,11		
		Kawowy	2,25		1,24
		p-kumarowy			0,83
		Ferulowy		2,62	2,33
Synapinowy		0,86	0,76	1,43	
2- hydroksycynamonowy	208,32	193,27			

Chmiel jest źródłem ksantohumolu z grupy prenyflawonoidów, związku cennego pod względem prozdrowotnym. Wzbogacenie napoju w chmiel spowodowało obecność tego

związku w analizowanych próbach. W próbach z samym chmielem stwierdzono ilość ksantohumolu na poziomie ok.  $40 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , przy czym proces utrwalenia nie miał wpływu na jego zawartość. Trochę większą ilość ksantohumolu stwierdzono w próbach z dodatkiem żurawiny (tab 4). Jednak w przypadku obu napojów zawartość tego związku była za niska, aby przypisać mu działanie chemoprewencyjne wynoszące  $5 \text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

Tab. 4 Zawartość ksantohumolu w napojach [ $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^3$ ]

Rodzaj napoju	świeża	Pasteryzacja	mikrofiltracja
chmiel	39,86	40,14	41,36
chmiel i żurawina	48,48	50,64	55,90

Tab. 5. Zawartość kwasu glukuronowego i alkoholu w napoju

Lp	Produkt Dodatek	Utrwalanie	Etanol [% (v/v)]	kwas glukuronowy [g/L]
1	Kombucha z chmielem i żurawiną	Świeża	1,86	1,80
2	Kombucha z chmielem i żurawiną	mikrofiltracja	1,86	1,45
3	Kombucha z chmielem i żurawiną	pasteryzacja	0,76	0,64
4	Kombucha z chmielem	świeża	1,95	1,82
5	Kombucha z chmielem	mikrofiltracja	1,80	1,86
2	Kombucha z chmielem	pasteryzacja	0,55	0,56

Zawartość bardzo cennego kwasu glukuronowego jest w napoju bardzo duża i tylko nieznacznie zmniejszyła się po mikrofiltracji w napoju z dodatkiem żurawiny, natomiast z dodatkiem samego chmielu utrzymała się na tym samym poziomie co w świeżej próbce. Znaczący spadek zawartości kwasu glukuronowego zanotowano po pasteryzacji (tab. 5). Zawartość alkoholu zmniejszyła się tylko po pasteryzacji (tab.5).

### Ocena sensoryczna napoju

Wyniki przeprowadzonej oceny cech sensorycznych przedstawiono w tabeli 6. Najlepszą notę otrzymała kombucha z chmielem i żurawiną po pasteryzacji po 30 dniach przechowywania oraz kombucha z chmielem po mikrofiltracji po 30 dniach przechowywania.

Tab. 6 Ocena sensoryczna kombuchy

Kombucha z chmielem i żurawiną po mikrofiltracji po 30 dniach przechowywania	15,9±1,45
Kombucha z chmielem i żurawiną po mikrofiltracji po 60 dniach przechowywania	13±1,06
Kombucha z chmielem po mikrofiltracji po 30 dniach przechowywania	17,6±1,35
Kombucha z chmielem po mikrofiltracji po 60 dniach przechowywania	15,7±1,77
Kombucha z chmielem i żurawiną po pasteryzacji po 30 dniach przechowywania	18,7±0,82
Kombucha z chmielem i żurawiną po pasteryzacji po 60 dniach przechowywania	16,3±1,83
Kombucha z chmielem po pasteryzacji po 30 dniach przechowywania	16,8±0,79
Kombucha z chmielem po pasteryzacji po 60 dniach przechowywania	16,5±0,73

#### Literatura

- [1]. Burbianka M., Pliszka A., Mikrobiologia Żywności PZWL Warszawa 1977
- [2]. PN-90/A-75052/05. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie obecności i liczby drobnoustrojów tlenowych, mezofilnych i psychrofilnych.
- [3]. Libudzisz .Z., Kowal K. ,Żakowska Z. Mikrobiologia techniczna tom 2

- [4].PN-90/A-75052/08. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie liczby drożdży i pleśni.
- [5]. Libudzisz .Z., Kowal K. ,Żakowska Z. Mikrobiologia techniczna tom 1
- [6].PN-90/A-75052/15. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczenie obecności bakterii octowych.
- [7].PN-ISO 21527-1.Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni.Część1:Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody wyższej niż 0,95.
- [8].Kisielewska E., Kordowska –Wiater M .Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i mikrobiologii żywności.WAR w Lublinie 1999.
- [9]. Freydiere AM, Guinet R, Boiron P.. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods.
- [10]. Kreger-van R The yeast a taxonomic study.Amsterdam.1984.