

MIKROFILTRACJA JAKO SKUTECZNY ZABIEG WYDŁUŻAJĄCY TRWAŁOŚĆ SOKU BRZOSOWEGO

Maciej Bilek¹, Sylwia Piekarz¹, Marcin Olszewski², Stanisław Sosnowski¹

¹ Katedra Inżynierii Produkcji Rolno-Spożywczej, Wydział Biologiczno-Rolniczy

Uniwersytet Rzeszowski

ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów

² Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii, Wydział Chemiczny

Politechnika Gdańska

ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

mbilek@ur.edu.pl

Streszczenie

W ramach badań nad wydłużaniem trwałości soków drzewnych stosowano dotychczas chemiczne dodatki do żywności. W niniejszej pracy podjęto próbę przeprowadzenia mikrofiltracji soku brzoszewego. Trzymiesięczny test przechowalniczy dwunastu próbek prowadzony był w temperaturze pokojowej, zaś badanym parametrem była tzw. gęstość optyczna. Sześć próbek nie było poddanych mikrofiltracji, zaś sześć kolejnych mikrofiltrowano za pomocą jałowych filtrów, w jałowych warunkach i do jałowych naczyń. Uzyskane wyniki wskazują, że mikrofiltrowany sok brzoszewy pozostaje trwały przez okres co najmniej trzech miesięcy, bez oznak zmętnienia i przy utrzymującej się przez ten czas zerowej gęstości optycznej. Z kolei próbki niepoddane mikrofiltracji uległy zmętnieniu już po upływie jednego dnia od rozpoczęcia testu przechowalniczego, co jest charakterystyczne dla mikrobiologicznego rozkładu surowca. Zaprezentowane rozwiązanie może stać się podstawą wdrożenia w przemyśle spożywczym, dzięki któremu będzie można dostarczyć konsumentowi sok brzoszewy o znacznie wydłużonej trwałości, jednak bez dodatku substancji chemicznych.

Słowa kluczowe: soki drzewne, sok brzoszewy, mikrofiltracja, wydłużanie trwałości

MICROFILTRATION AS THE EFFECTIVE METHOD FOR EXTENDING SHELF LIFE OF BIRCH TREE SAP

Summary

As a part of the research on birch tree sap shelf life extending the attempt was made to

use physical method, ie. microfiltration, in contrast to our previous studies in which chemical additives were used. The storage test was carried out at room temperature for three months and the optical density of the twelve samples was examined. Six of them were non-microfiltered but six were microfiltered under sterile conditions and into a sterile vessel. The results show that the microfiltered birch tree sap retained stable at least three months without any signs of turbidity and at zero value of optical density. In turn, unfiltered samples of birch tree sap became turbid just one day after the start of the study, which is characteristic for the microbial decomposition of the birch sap. The presented solution can be an interesting method for implementation in the food industry, which will provide the consumers birch tree sap with significantly longer shelf life without any chemical additives.

Key words: tree sap, birch tree sap, microfiltration, shelf life extending

WSTĘP

Soki drzewne znane są jako nieodłączny element diety naszych przodków, którzy spożywali je w stanie surowym oraz po przefermentowaniu [Sõukand i in. 2015; Svanberg i in. 2012; Zyryanova i in. 2010]. Sok brzozy zalecany był od wieków w medycynie ludowej [Rastogi i in. 2015; Papp i in. 2013], a współczesne badania z wykorzystaniem najnowocześniejszych technik analitycznych pozwoliły potwierdzić słuszność wielu jej wskazań [Bilek i in. 2017; Wnorowski i in. 2017; Bilek i in. 2016a; Peev i in. 2010; Lee i in. 2009]. W ostatnich latach obserwuje się ponowny wzrost zainteresowania sokami brzozy. Dotyczy to dwóch grup konsumentów. Pierwszą są osoby preferujące nieprzetworzone produkty i pobierające soki brzozy samodzielnie, drugą zaś konsumenci ceniący produkty pochodzenia naturalnego, którzy sok brzozy zakupują w postaci butelkowanej [Godyla 2015; Stawarczyk 2015].

Trudność w przetwórstwie soku brzozy stanowi jego bardzo niska trwałość, wynosząca w temperaturze pokojowej zaledwie kilkanaście godzin. Problem bardzo niskiej trwałości soku brzozy rozwiązany może być poprzez zastosowanie chemicznych metod wydłużania trwałości. Tego typu rozwiązania polegać mogą m.in. na wprowadzaniu do soku brzozy kwasów spożywczych, konserwantów i dodatków poprawiających smak, takich jak miód, syropy owocowe i ziołowe, czy naturalna substancja słodząca – stewia. Dzięki takim zabiegom osiągnięto, w temperaturze pokojowej, kilkutygodniową trwałość, a dodatkowo, dzięki brakowi przetwarzania termicznego, zachowano w pełni pierwotny, prozdrowotny skład soku brzozy [Bilek i in. 2016b; Bilek i in. 2016d; Bilek i in. 2016f]. Zasadniczą wadą tych rozwiązań jest dodatek do soku brzozy substancji, do których

konsumenci ceniący produkty naturalne i nieprzetworzone ustosunkować mogą się negatywnie, tzn. kwasów spożywczych – cytrynowego, mlekowego i jabłkowego oraz konserwantu chemicznego – sorbinianu potasu [Babicz-Zielińska, Zabrocki 2007]. Potrzebne są zatem dalsze prace w celu opracowania skutecznych metod wydłużania trwałości soku brzozonego, które nie będą powodować ingerencji w jego skład.

Celem niniejszej pracy stało się zbadanie wpływu mikrofiltracji na trwałość soku drzewnego brzozonego.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Soki drzewne brzozone zostały pobrane na terenie miejscowości Niwiska (powiat kolbuszowski, województwo podkarpackie) z grupy siedmiu osobników, rosnących na typowym, śródpolnym zadrzewieniu, sąsiadującym w odległości ok. 50 metrów od gospodarstwa rolnego i ok. 100 metrów od drogi gminnej. Soki pobierano techniką nawiercania, rekomendowaną przez dane literaturowe [Yoon i in. 1992]. Pnie drzew nawiercono na wysokości 0,5 metra, od strony południowej, wykorzystując wiertło średnicy 16 mm. Nawiercenia dokonywano na głębokość ok. 50 mm, po czym do otworu w pniu drzewa wprowadzano wężyk silikonowy o średnicy 16 mm, uszczelniony dodatkowo taśmą izolacyjną. Drugi koniec wężyka umieszczano w butelkach z ciemnego tworzywa sztucznego, które uprzednio zostały odkażone alkoholem etylowym w stężeniu 70%. Zbiór soku drzewnego prowadzono w pierwszej połowie marca 2016 roku w trybie ciągłym. Sok zbierany z siedmiu osobników łączono w jednym naczyniu, po czym poporcjowany zamrażano w temperaturze -21°C . Po zakończeniu poboru w wywierconych otworach umieszczano kołki drewniane średnicy 16 mm i długości odpowiadającej nawierceniom, które przed wbiciem do nawierconego otworu zanurzano w paście ogrodniczej. Postępowanie to minimalizuje ryzyko zakażenia drzewa, jak również zapewnia całkowite zahamowanie płynięcia soku [Bilek i in. 2016c].

W celu wydłużenia trwałości soku drzewnego zastosowano mikrofiltrację. Sączenie prowadzono do wyjałowionych naczyń, stanowiących dedykowane naczynia pomiarowe tzw. gęstościomierza optycznego (densytometru). Proces ich jałowienia prowadzono w suszarce laboratoryjnej w temperaturze 160°C przez dwie godziny. Naczynia zabezpieczone były w czasie sterylizacji i po jej zakończeniu folią aluminiową w sposób trwały przymocowaną do ścian naczyń. Mikrofiltrację prowadzono za pomocą jałowych filtrów strzykawkowych $0,45\ \mu\text{m}$ i jałowych strzykawek. Jałowe igły, którymi przebijano warstwę folii aluminiowej i którymi wprowadzano przesączony sok do zabezpieczonych naczyń, były opalane, podobnie

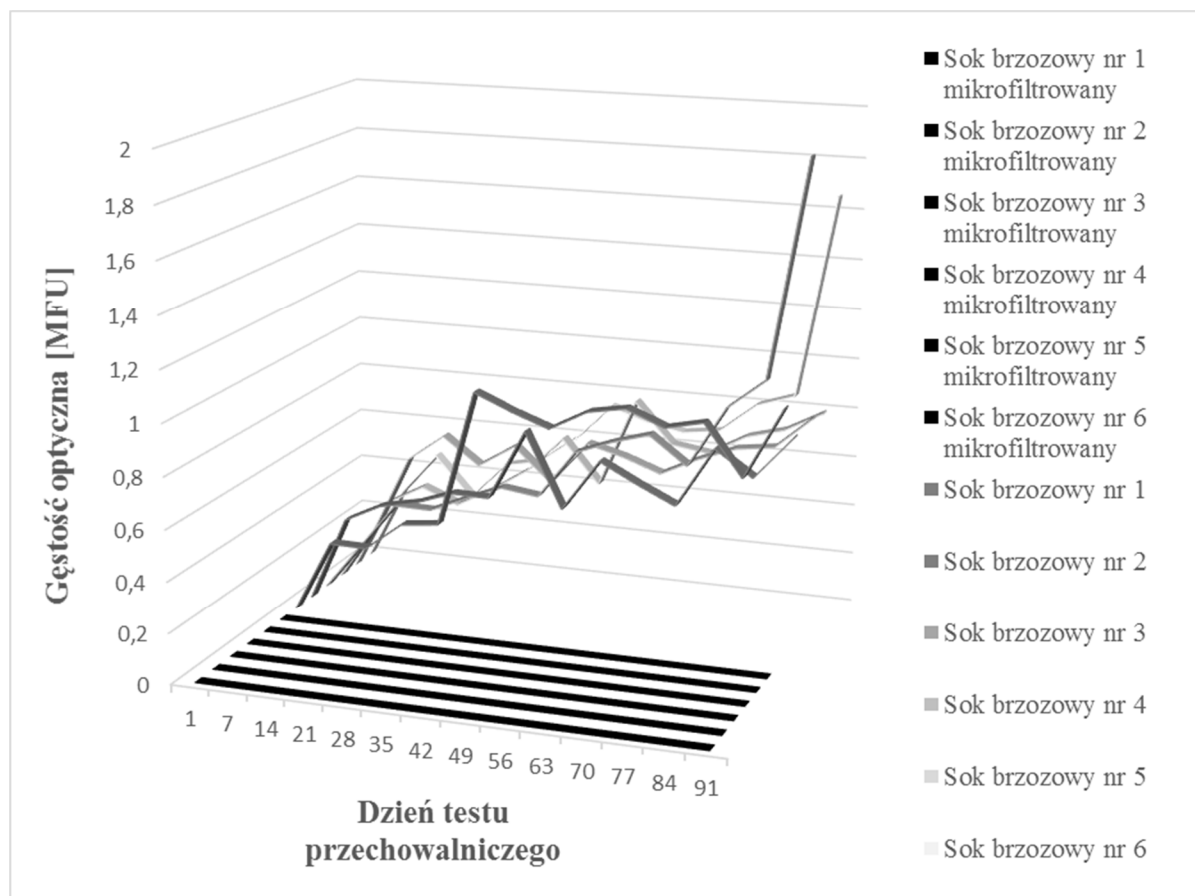
jak przebijana folia aluminiowa. Po wprowadzeniu porcji ok. 5 ml soku igłę wysuwano z naczynia i powtórnie opalano folię aluminiową, po czym naczynia pomiarowe zabezpieczano kolejną warstwą folii aluminiowej, którą również opalano. Procedura została zastosowana wobec sześciu próbek i powtórzona wobec sześciu kolejnych z tą różnicą, że sok nie został poddany mikrofiltracji.

Test przechowalniczy prowadzono w temperaturze pokojowej przez trzy miesiące, wykonując pomiary gęstości optycznej w tygodniowych odstępach. Do oceny zmian przechowalniczych zastosowano fabrycznie wykalibrowany gęstościomierz optyczny (densytometr) firmy BioSan DEN-1B, badający absorbancję przy długości fali 565 ± 15 nm, w zakresie pomiarowym od 0 do 15 jednostek MFU (*McFarland Unit*), przy rozdzielczości 0,01 MFU i z dokładnością pomiaru $\pm 3\%$. Przed każdorazowym wykonaniem pomiaru gęstości optycznej naczynia pomiarowe, w których prowadzono eksperyment, były kilkakrotnie wstrząsane.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki oznaczania gęstości optycznej w dwunastu badanych próbkach zestawiono na rycinie 1. Początkowa gęstość optyczna wszystkich badanych próbek była zerowa. W siódmym dniu badań dla wszystkich próbek niepoddanych mikrofiltracji odnotowano wzrost mętności, a wartość gęstości optycznej oscylowała w zakresie od 0,19 do 0,34 MFU. W kolejnych pomiarach obserwowano stopniowy wzrost mętności dla wszystkich próbek w partii niepoddanej mikrofiltracji, przy czym wartości gęstości optycznej w ostatnim dniu testu kształtowały się w zakresie od 0,83 do 1,89 MFU. Współczynniki zmienności, wyliczone dla zmian parametru gęstości optycznej w czasie, wynosiły od 38% do 71%.

Dla wszystkich próbek, wobec których zastosowano mikrofiltrację, w przeciwieństwie do partii próbek niepoddanych temu zabiegowi, zerowa wartość gęstości optycznej utrzymała się przez cały czas trwania testu przechowalniczego, zaś wyliczone dla tych próbek współczynniki zmienności parametru gęstości optycznej wynosiły 0, świadcząc o braku zmienności.



Rysunek 1. Zmiany przechowalnicze parametru gęstości optycznej dla badanych próbek soku brzożowego i soku brzożowego mikrofiltrowanego
Changes in the optical density parameter for microfiltered and non-microfiltered birch tree sap samples

Alternatywą dla chemicznych środków wydłużających trwałość żywności, takich jak konserwanty czy kwasy spożywcze, stają się obecnie fizyczne metody wydłużania trwałości. Są one znacznie droższe i powodują liczne komplikacje natury technologicznej, jednak są chętniej akceptowane przez konsumentów [Kuźniar i in. 2016]. Pośród nich procesy membranowe stanowią jedne z najnowocześniejszych zabiegów wydłużających trwałość środków spożywczych o płynnej konsystencji. Ich cechą charakterystyczną jest znikomy wpływ na skład chemiczny przetwarzanej żywności [Witrowa-Rajchert 2001; Witrowa-Rajchert 2006]. Jedną z technik membranowych jest mikrofiltracja, stosowana na skalę przemysłową m.in. w produkcji piwa, wina, soków owocowych oraz w mleczarstwie [Waczyński i Kujawski 2008]. Istnieją również doniesienia naukowe publikowane przez naukowców koreańskich na temat możliwego zastosowania ultrafiltracji do wydłużenia trwałości soków drzewnych. W badaniach tych stosowano do oceny zmian przechowalniczych m.in. pomiar absorpcji przy długości fali 590 nm, korespondujący

z prowadzonym w niniejszej pracy pomiarem przy długości fali 565 ± 15 nm. W 2010 roku Lee i wsp. zastosowali ultrafiltrację do wydłużenia trwałości soku klonu *Acer mono*, uzyskując w temperaturze -1°C i 4°C trwałość czternastodniową, zaś w temperaturze 10°C siedmiodniową [Lee i in. 2010]. Z kolei Jeong i wsp. w 2013 roku wykazali, że zastosowanie ultrafiltracji wobec soku brzozy *Betula platyphylla* pozwala wydłużyć trwałość jedynie w warunkach chłodniczych, przy czym słabo nasilony wzrost mętności obserwowano już pomiędzy szóstym a dziesiątym dniem testu przechowalniczego. W temperaturze pokojowej mętność w cytowanej pracy wzrasta już w trzecim dniu testu [Jeong i in. 2013].

Niniejsze badania, w których zastosowano mikrofiltrację, prowadzone były wyłącznie w temperaturze pokojowej i w tych właśnie warunkach uzyskano pełną trwałość w trzymiesięcznym teście przechowalniczym. Przejawiała się ona brakiem wystąpienia zmętnienia badanych próbek i utrzymującą się zerową gęstością optyczną. Wskazuje to na możliwość zastosowania w przemyśle spożywczym przedstawionego modelowego rozwiązania, tj. mikrofiltracji prowadzonej w środowisku jałowym i do jałowego naczynia, w produkcji butelkowanego soku brzozowego, pozbawionego jakichkolwiek substancji dodatkowych, co jest obecnie preferowane przez konsumentów i przejawia się jako silny rynkowy trend *clean label* [Piwowarczyk 2014].

Niezależnie od komplikacji wynikających z przejścia w zaprezentowanym rozwiązaniu ze skali laboratoryjnej do przemysłowej istnieją dwie zasadnicze kwestie, które należy rozstrzygnąć. Pierwszą jest stopień zachowania substancji prozdrowotnych w przesączu mikrofiltracyjnym. Zarówno w pracy Lee i wsp., jak i w pracy Jeonga i wsp. wykazano, że na skutek zastosowania ultrafiltracji następuje spadek zawartości minerałów [Lee i in. 2010; Jeong i in. 2013]. Dla ultrafiltrowanego soku brzozowego procentowo był on największy dla miedzi, żelaza, cynku i potasu [Jeong i in. 2013], a zatem tych składników, które w znacznym stopniu decydują o właściwościach prozdrowotnych i żywieniowych soków drzewnych [Bilek i in. 2016e; Bilek i in. 2015; Kūka i in. 2013; Viškelis, Rubinskienė 2011].

Kolejną kwestią jest potwierdzenie stabilności przesączy mikrofiltracyjnych innymi technikami analitycznymi, które opierałyby się na pomiarach parametrów odmiennych, jak gęstość optyczna. Technikami predysponowanymi do zastosowania w takich testach przechowalniczych mogłyby być analiza fazy nadpowierzchniowej techniką chromatografii gazowej [Wiśniewska i in. 2015; Gonzáles-Mas i in. 2011] oraz badania stabilności składu białkowego soku brzozowego techniką elektroforetyczną [Jiang i in. 2001; Kallio i in. 1995].

WNIOSKI

1. Wszystkie próbki soku brzozonego ulegają zmętnieniu już po upływie jednego dnia testu przechowalniczego, co jest zjawiskiem charakterystycznym dla mikrobiologicznego rozkładu tego surowca. Po tygodniu ich gęstość optyczna wynosi od 0,19 do 0,34 MFU, zaś w ostatnim dniu testu przechowalniczego od 0,83 do 1,89 MFU.
2. Sok brzożowy poddany mikrofiltracji prowadzonej w warunkach jałowych i do jałowego naczynia zachowuje co najmniej trzymiesięczną trwałość bez oznak zmętnienia.
3. Przedstawione rozwiązanie stwarza podstawy do opracowania rozwiązań na skalę przemysłową, dzięki którym konsumentowi można będzie dostarczyć sok brzożowy o wydłużonej trwałości bez wprowadzania substancji dodatkowych.

PIŚMIENNICTWO

1. Babicz-Zielińska E., Zabrocki R. (2007). Postawy konsumentów wobec prozdrowotnej wartości żywności. *Żyw. Nauk. Technol. Ja.*, 50, 81-89
2. Bilek M., Kuźniar P., Stawarczyk K., Cieślik E. (2016a). Zawartość manganu w sokach drzewnych z terenu Podkarpacia. *Post. Fitoter.*, 17, 255-261
3. Bilek M., Pytko J., Dżugan M., Sosnowski S. (2016b). Możliwość wydłużenia trwałości soku brzozonego poprzez sporządzenie napoju o polepszonych walorach smakowych i prozdrowotnych. *Post. Nauk. Techn. Przem. Rol. Spoż.*, 71, 5-19
4. Bilek M., Pytko J., Sosnowski S. (2016c). Badania trwałości soków drzewnych brzożowych. *Pol. J. Sust. Develop.*, 20, 7-14
5. Bilek M., Sądej M., Rączy M., Rębisz A., Sosnowski S. (2016d). Turbidity changes of birch sap after addition of commonly available chemicals. *Biotech. Food Sci.*, 80, 83-90
6. Bilek M., Siembida A., Gostkowski M., Stawarczyk K., Cieślik E. (2017). Variability of minerals content as the limiting factor of health properties of Birch Saps. *J. Elem.*, 22, 957-967
7. Bilek M., Stawarczyk K., Gostkowski M., Olszewski M., Kędziora K. M., Cieślik E. (2016e). Mineral content of tree sap from the Subcarpathian region. *J. Elem.*, 21, 669-679
8. Bilek M., Stawarczyk K., Łuczaj Ł., Cieślik E. (2015). Zawartość wybranych składników mineralnych i anionów nieorganicznych w sokach drzewnych z terenu Podkarpacia. *Żyw. Nauk. Technol. Ja.*, 100, 138-147
9. Bilek M., Vietoris V., Ilko V. (2016f). Shelf life extension and sensory evaluation of birch tree saps using chemical preservatives. *Potravinarstvo*, 10, 499-505
10. Godyla S. (2015). Postawy konsumentów wobec soku z brzozy. *Think*, 20, 7-16

11. González-Mas C., Rambla J. L., Alamar M.C., Gutiérrez A., Granell A. (2011). Comparative analysis of the volatile fraction of fruit juice from different citrus species. PLoS One, 6, e22016
12. Jeong, J., Jeong, H., Woo, S., Shin Ch. (2013). Consequences of ultrafiltration and ultraviolet on the quality of white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*) sap during storage. Austr. J. Crop Sci., 7, 1072-1077
13. Jiang H., Sakamoto Y., Tamai Y., Terezawa M. (2001). Proteins in The Exudation Sap from Birch Trees, *Betula platyphylla* Sukatchev var. *japonica* Hara and *Betula verrucosa* Her. Eurasian J. For. Res., 2, 59-64
14. Kallio H., Lahdenoja M.-L., Penttinen R. (1995). Electrophoretic Profiles of Birch Sap Proteins of *Betula pubescens*, *B. pendula* and *B. pendula* forma *carelica* in Finland with Reference to Overall Composition of Sap. W: Proceedings of the 1st Symposium on Sap Utilization (ISSU) in Bifuka '95. 10-12 kwietnia 1995. Bifuka, Hokkaido, Japonia
15. Kūka M., Čakste I., Geršebeka E. (2013). Determination of bioactive compounds and mineral substances in latvian birch and maple saps. Proc. Latv. Acad. Sci. Sect. B Nat. Exact. Appl. Sci., 67, 437-441
16. Kuźniar W., Kawa M., Kuźniar P. (2016). Konsumenci wobec bezpiecznych rozwiązań w zakresie produkcji żywności. Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Problemy Rolnictwa Światowego, 16, 243-250
17. Lee C., Cho Y., Park E., Shin C., Lee J., Jeong H. (2009). In vivo immune activity of sap of the White Birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*). Korean J. Food Sci. Technol., 41, 413-416
18. Lee C., Woo J., Hwang I., Shin C., Lee J., Jeong H. (2010). Shelf-life Extension of Acer mono Sap Using Ultra Filtration. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 39, 455-460
19. Papp N., Czégényi D., Hegedűs A., Morschhauser T., Quave C. L., Cianfaglione K., Pieroni A. (2014). The uses of *Betula pendula* Roth among Hungarian Csángós and Székelys in Transylvania, Romania. Acta Soc. Bot. Pol., 83, 113-122
20. Peev C., Dehelean C., Mogosanu C., Feflea F., Corina T. (2010). Spring drugs of *Betula pendula* Roth.: Biologic and pharmacognostic evaluation. Studia Univ. VG, SSV., 20, 41-43
21. Piwowarczyk L. (2014). Clean Label – co właściwie oznacza? Wiedza i Jakość, 35, 8-9
22. Rastogi S., Pandey M. M., Rawat A. K. S. (2015). Medical plants of the genus *Betula* – Traditional uses and a phytochemical-pharmacological review. Journal of Ethnopharmacology, 159, 62-83

23. Rogozińska I., Wichrowska D. (2011). Najpopularniejsze dodatki utrwalające stosowane w nowoczesnej technologii żywności. *Inż. Ap. Chem.*, 50, 19-21
24. Sõukand R., Pieroni A., Biró M., Dénes A., Dogan Y., Hajdari A., Kalle R., Reade B., Mustafa B., Nedelcheva A., Quave C., Łuczaj Ł. (2015). An ethnobotanical perspective on traditional fermented plant foods and beverages in Eastern Europe. *J. Ethnopharm.*, 170, 284-296
25. Stawarczyk M. (2015). Soki drzewne. *Aptekarz Polski*, 102, 17-21
26. Svanberg I., Sõukand R., Łuczaj Ł., Kalle R., Zyryanova O., Dénes A., Papp N., Nedelcheva A., Šeškauskaitė D., Kołodziejska-Degórska I., Kolosova V., 2012. Uses of tree saps in northern and eastern parts of Europe. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 81, 343-357
27. Viškelis P., Rubinskienė M. (2011). Beržų sulos cheminė sudėtis. *Sodininkystė ir Daržininkystė*, 30, 75-81
28. Waczyński M., Kujawski W. (2008). Filtracja membranowa – techniki filtracji membranowej w przemyśle spożywczym. *Przem. Ferm. Owoc. Warzyw.*, 52, 5-8
29. Witrowa-Rajchert D. (2001). Procesy membranowe w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 55, 52-55
30. Witrowa-Rajchert D. (2006). Techniki membranowe najnowsze osiągnięcia i perspektywy. *Przem. Spoż.*, 60, 10-15
31. Wiśniewska P., Śliwińska M., Dymerski T., Wardencki W., Namieśnik J. (2015). Application of Gas Chromatography to Analysis of Spirit-Based Alcoholic Beverages. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 45, 201-225
32. Wnorowski A., Bilek M., Stawarczyk K., Gostkowski M., Olszewski M., Wójciak-Kosior M., Sowa I. (2017). Metabolic activity of tree saps of different origin towards cultured human cells in the light of grade correspondence analysis and multiple regression modelling. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 86, 3545
33. Yoon S., Jo J., Kim T. (1992). Utilization and tapping of the sap from birches and maples. *Mokchae Konghak*, 20, 15-20
34. Zyryanova O., Terazawa M., Koike T., Zyryanov V. (2010). White birch trees as resource species of Russia: their distribution, ecophysiological features, multiple utilizations. *Eurasian J. For. Res.*, 13, 25-40