

## Utylizacja odcieków powstających w trakcie procesu fermentacji kapusty głowiastej białej (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*)

Szymon Strnad<sup>1\*</sup>, Paweł Satora<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, ul. Balicka 122, 31-120 Kraków

\* Autor do korespondencji: [szymon.strnad@urk.edu.pl](mailto:szymon.strnad@urk.edu.pl)

### STRESZCZENIE

Przedstawiono przegląd aktualnego stanu badań dotyczących utylizacji odcieków powstających w trakcie fermentacji kapusty z wykorzystaniem drobnoustrojów bakteryjnych oraz drożdżowych. Omówiono udział występujących mikroorganizmów należących do wyżej wymienianych grup w procesie fermentacji kapusty, jak i powstające na drodze ich metabolizmu odcieki oraz potencjalne zagrożenie dla środowiska wynikające ze składu solanki. Przedstawiono także aktualne badania dotyczące problemu utylizacji odcieków oraz perspektywy tych badań.

**Słowa kluczowe:** odcieki, solanka, utylizacja, fermentacja, kapusta kiszona

## Utilization of brine created during the process of white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) fermentation

### ABSTRACT

The article comprises a review of the brine leftovers after the Sauerkraut production process utilization, with the usage of bacteria and yeasts. The role of occurring microorganisms and brine formed due to their metabolism are thoroughly discussed, as well as potential threats to the environment posed by the brine composition are presented. The studies currently considering the brine utilization are given along with the perspectives for future research.

**Keywords:** brine, utilization, fermentation, Sauerkraut

### WSTĘP

#### Fermentacja mlekowa jako sposób utrwalania żywności

Pojęcie fermentacja oznacza szereg enzymatycznych przemian związków organicznych, mających dostarczyć energii w postaci ATP organizmom bytującym w warunkach anaerobowych stale lub przynajmniej okresowo. Natomiast w aspekcie żywności, fermentacja jest technologią wykorzystującą wzrost i aktywność metaboliczną mikroorganizmów do przemian produktów żywnościowych, w celu wydłużenia ich trwałości oraz nadania charakterystycznych cech organoleptycznych [Terefe, 2016]. Podczas procesu fermentacji wzrost mikroorganizmów patogennych i odpowiadających za psucie się żywności jest ha-

mowany przez mikrobiotę właściwą fermentacji, przyczyniając się do wydłużenia trwałości łatwo psujących się produktów, o krótkiej dacie przydatności do spożycia.

Fermentacja mlekowa przebiega dwuetapowo. W pierwszym etapie heterofermentacji powstają, poza kwasem mlekowym, także inne związki (m.in. kwas octowy), po czym następuje faza homofermentatywna stwarzająca optymalne warunki rozwoju dla właściwej mikrobioty, gwarantującej poprawny przebieg procesu [Strnad *et* Satora, 2016]. Powstający w czasie trwania fermentacji kwas mlekowy oraz nieduża ilość kwasu octowego, spadek wartości pH oraz redukcja ilości tlenu przyczyniają się do ograniczenia wzrostu niepożądanych mikroorganizmów mogących przedostać się do naczynia fermentacyjnego i zakłócić prawidłowy przebieg procesu. Istnieje

duża gama produktów żywnościowych przetwarzanych na drodze fermentacji mlekowej, takich jak nabiał, mięso lub owoce oraz warzywa [Libudzisz *et al.*, 2009]. Jest to bardzo popularna metoda konserwacji żywności, w wielu rejonach Europy [Lücke *et Zangerl*, 2014] oraz Azji [Xiong *et al.*, 2013], m.in. ze względu na prozdrowotne właściwości powstających w jej trakcie związków. Przykładem produktu, bardzo popularnego m.in. w Polsce, w Niemczech czy na Bałkanach jest kiszona kapusta bardzo często otrzymywana w gospodarstwach domowych na drodze fermentacji spontanicznej, prowadzonej w kamionkowych garnkach. W regionach wiejskich natomiast, pomniejsi producenci kiszonki wytwarzają kapustę kiszoną w niedużych betonowych silosach, gdzie kapusta ulega fermentacji mlekowej prowadzonej przez rodzimą mikrobiotę bakteryjną.

### Rola bakterii kwasu mlekowego

Za prawidłowy przebieg procesu kiszenia kapusty odpowiedzialne są bakterie mlekowe, kolejno hetero- oraz homofermentatywne zaliczane głównie do gatunków *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* oraz *Lb. brevis*, a także *Lb. paraplantarum* – kulturę coraz powszechniej wykorzystywaną w starterach przeznaczonych do fermentacji indukowanej, ze względu korzystnych cech zyskiwanych przez kiszonkę [Strnad *et Satora*, 2016]. Bakterie te są odpowiedzialne za proces fermentacji, który wywołuje zmiany strukturalne warzywa, nadaje mu konkretne cechy sensoryczne oraz wpływa na kształtowanie się składu solanki koniecznej dla uzyskania pożądanego produktu. Powstający odciek może jednak negatywnie oddziaływać na środowisko naturalne po przedostaniu się do gleby [Jevešnik *et al.*, 2008].

### Obecność i rola grzybów

Ogólnie przyjmuje się, że występowanie grzybów nie jest zjawiskiem pożądanym podczas fermentacji kapusty, ponieważ ich metabolity mogą przyczynić się do pogorszenia właściwości powstającego produktu. Większość niechcianych mikroorganizmów grzybowych ginie w trakcie fazy heterofermentatywnej, ze względu na fakt, że grzyby jako obligatoryjne aeroby wymagają obecności wykorzystywanego w tej fazie tlenu. Mikroorganizmy te postrzegane są jako szkodliwe, kiedy występują w nadmiernej ilości podczas fermentacji kapusty, a ich obecność może nega-



Rys. 1. Drożdże na powierzchni solanki  
[www.davesgarden.com]

tywnie wpływać na wygląd powstającej kiszonki poprzez pojawienie się białawej warstwy na powierzchni kiszonki.

Wspomniane wyżej mikroorganizmy drożdżowe pojawiają się wówczas, gdy obecny cukier zostaje już zużyty, a obojętny lub lekko alkaliczny odczyn wewnątrz naczynia spada w efekcie powstawania kwasu mlekowego. Warstwa ta pojawia się najczęściej w wyniku dostępu tlenu do naczynia fermentacyjnego, gdy temperatura otoczenia utrzymuje się na zbyt wysokim poziomie przez dłuższy czas lub gdy do wykonania nastawu użyta została zbyt mała ilość soli. Dla zdrowia konsumenta ich obecność nie jest wprawdzie szkodliwa, natomiast bardzo negatywnie wpływa na wygląd samej kiszonki i może powodować powstanie wad w jej smaku.

Już od ponad dwudziestu lat podejmowane są próby wykorzystania izolatów drożdży do produkcji związków będących wynikiem ich metabolizmu [Hui *et al.*, 2003]. Wiele gatunków drożdżowych jest zdolnych do asymilacji kwasu mlekowego jako źródła węgla. W przypadku kiszonek zjawisko to jest niepożądane, ponieważ kwas mlekowy obniża pH produktu i tym samym zabezpiecza go przed rozwojem bakterii gnilnych. Z drugiej strony powyższe właściwości drożdży mogą zostać wykorzystane podczas utylizacji powstających odcieków, będących dużym obciążeniem dla środowiska.

### ODCIEKI – ICH POWSTAWANIE I WŁASNOŚCI

W trakcie fermentacji kapusty powstają odcieki, zawierające różne ilości soli, głównie

chlorku sodu. Z uwagi na dowiedzione szkodliwe działanie jej nadmiaru na zdrowie człowieka, prowadzone są badania mające na celu zastąpienie "soli kuchennej", solami potasu lub magnezu. Skład chemiczny odcieków powoduje, że stanowią one zagrożenie dla środowiska, w miejscu wylewania solanki bezpośrednio do gleby [Jevěšník *et al.*, 2008; Strnad *et Satora*, 2016]. Jako odcieki z procesu kiszenia kapusty rozumiemy sok wydzielony z kapusty pod wpływem ugniatania w naczyniu fermentacyjnym lub w bardziej tradycyjnej wersji udeptywania, uprzednio pokrojonej na odpowiednio cienkie paski kapusty, w obecności soli. Takie medium stanowi optymalne środowisko wzrostu dla obecnych na powierzchni kapusty bakterii, obligatoryjnie anaerobowych i zapewniających prawidłowy przebieg fermentacji mlekowej. Na początku fermentacji jednym z głównych produktów metabolizmu bakterii heterofermentatywnych jest tlenek węgla (IV), wydzielany do środowiska i przyczyniający się do powstania warunków beztlenowych. Powstające anaerobowe środowisko przyczynia się do wzrostu mikroflory homofermentatywnej, głównie anaerobowej. Kiszonka trafiająca do konsumentów jest więc bezpośrednim rezultatem działalności mikroorganizmów, a odciek powstający podczas produkcji może stanowić poważne obciążenie dla środowiska. Jest to problem dość kompleksowy, jako że w samej solance występuje duża liczba związków, m.in. wspomniana sól w różnym stężeniu [Strnad *et Satora*, 2016], związki węgla powstałe w trakcie fermentacji (głównie kwasy mlekowy i octowy czy etanol, którego duża ilość świadczy o nadmiernej proliferacji drożdży) oraz pozostałe związki pochodzące z surowca, m.in. substancje powstałe w wyniku rozpadu glukozyolanów.

Ciśnienie osmotyczne wywołane wysokim zasoleniem solanki, po wylaniu jej do gleby, skutkuje znacznie gorszymi warunkami dla rozwoju życia w takim miejscu, natomiast wzrost zakwaszenia wynikający z obecności kwasów organicznych w dużym stopniu wpływa na pogorszenie się jakości gleby. Wykorzystanie w fermentacji soli było jednak do tej pory rozpatrywane przede wszystkim w aspekcie zdrowia konsumenta i jego preferencji smakowych [Wolkers-Rooijackers *et al.*, 2013; Viander *et al.*, 2003], natomiast mniejszy nacisk kładziony jest na badania dotyczące wpływu wspomnianej substancji na środowisko. Niedostatecznie jest również zbadana kwestia również negatywnego działania kwasów organicz-

nych przedostających się do gleby w wyniku nieodpowiedzialnej gospodarki odciekami.

## UTYLIZACJA ODCIEKÓW Z WYKORZYSTANIEM MIKROORGANIZMÓW

Mikroorganizmy mogą zostać z powodzeniem wykorzystane do utylizacji odcieków, już w chwili obecnej istnieje przynajmniej kilka zespołów naukowców zajmujących się utylizacją odcieków poprodukcyjnych. Zarówno bakterie, jak i drożdże są testowane oraz selekcjonowane do bioremediacji odcieków.

### Chemiczna charakterystyka odcieku

Jak wykazały badania Viander *et al.*, [2003] odcieki powstające w procesie fermentacji kapusty są zróżnicowane pod względem zarówno składu, jak i szkodliwości dla środowiska w zależności od momentu powstania solanki w procesie. Solanka z kiszonej kapusty jest substancją mogącą sprawiać problemy w konwencjonalnym oczyszczaniu ścieków z uwagi na wysoką wartość BOD (Biochemical Oxygen Demand) – dochodzącą od 8250 mg/L w przypadku najwcześniejszych powstających odcieków, aż do 28150 mg/L przy odciekach powstających w późniejszej fazie fermentacji [Viander *et al.*, 2003]. Problem stanowi także niskie pH [Pérez-Díaz *et al.*, 2013], wahające się od 3,3–3,8 dla solanki późnej, a osiągające 6,0 dla solanki wczesnej [Pérez-Díaz *et al.*, 2013]. Niski odczyn wynika z obecności kwasów organicznych – w tym ok. 1,5-2,5% [w/v] kwasu mlekowego, który jest obecny w odciekach wczesnych w ilości od 450 mg/L do 18500 mg/L w przypadku późnych odcieków [Pérez-Díaz *et al.*, 2013]. Ponadto odciek jest substancją o mocnym zasoleniu [Pérez-Díaz *et al.*, 2013], sięgającym pod koniec procesu fermentacji 22400–29000 mg/L NaCl w przypadku późnej solanki i mogącym osiągać wartość nawet 45000 mg/L dla solanki wczesnej. Jak zostało to wyżej wspomniane, oprócz NaCl przy fermentacji kapusty wykorzystywana bywa mieszanka soli (KCl lub MgCl<sub>2</sub> z NaCl [Strnad *et Satora*, 2016]) ze stężeniem sięgającym najczęściej do 2,5% [Strnad *et Satora*, 2016], a nawet do 3,33% [Pérez-Díaz *et al.*, 2013]. Wykorzystanie soli innych od NaCl jest jednak trendem nowym, w związku z czym wciąż temat ten jest zgłębiany i poznawany. Pérez-Díaz *et al.* [2013]

podają o braku potwierdzonych informacji dotyczących wykorzystania soli innych od chlorku sodu w czasie prowadzenia badań.

W odcieku ze świeżej fermentowanej kapusty znajduje się także ok. 0,05–0,2% [w/v]  $\text{Ca}^{2+}$  oraz do 0,05% [w/v] glukozy [Pérez-Díaz *et al.*, 2013]. Metodą Kjeldahla oznaczano również azot amonowy i aminowy obecny w ilości zależnej od etapu fermentacji, w której odciek pobrano [Pérez-Díaz *et al.*, 2013]. Solankę cechowało stężenie azotu od 420–600 mg/L w solance wczesnej, do 870–1250 mg/L w solance późnej, obecny był także fosfor od 70–106 mg/L we wczesnym odcieku do 159–264 mg/L w późnym. Po pakowaniu i przygotowaniu kapusty do sprzedaży w odcieku wykrywalne jest również do 1122 ppm benzoenu sodu oraz do 928 ppm siarczynów [Pérez-Díaz *et al.*, 2013]. Benzoenu sodu oznaczany jest jako E211 i cechują go właściwości bakteriostatyczne oraz fungistatyczne, podobnie jak związki siarki oznaczane jako E220–E228. W zależności od natury związku, mogą to być dwutlenek siarki, siarczyny, a także wodorosiarczyny potasu, sodu i wapnia. Grupa związków siarki jest najczęściej stosowana w winiarstwie, tym niemniej  $\text{SO}_2$  znajduje jeszcze zastosowanie w konserwowaniu przetworów owocowo-warzywnych ze względu na swoje silne właściwości przeciwutleniające.

Zmiany w składzie chemicznym solanki – przede wszystkim zmiany w stężeniu soli czy kwasu mlekowego są wynikiem wzrostu mikroorganizmów, zarówno pożądaných i niepożądanych, do których zalicza się mikrobiota grzybowa oraz bakteryjna.

### Grzyby a utylizacja odcieków

Odcieki z kiszzonej kapusty są doskonałym medium dla wzrostu drożdży, a składniki zawarte w płynie oraz poszatkowane liście w naczyniu fermentacyjnym stanowią środowisko optymalne do ich namnażania. Prawie dwie dekady temu w badaniach Min Ho Choi *et Yun Hee Park* [1999] odcieki po produkcji potrawy kimchi, w której skład wchodzi m.in. kiszona kapusta, zawierające nawet ponad 8%, 10% lub 12% NaCl, zostały wytypowane na podstawie przeprowadzonych analiz jako idealne środowisko wzrostu dla osmotolerancyjnego szczepu drożdżowego *Pichia guilliermondii* A9. Wspomniany szczep wykazał najlepszy wzrost (wyrażony jako  $\text{OD}_{540} = \text{ok. } 1,5$  w 24h, co odpowiada ok.  $3,72 \times 10^7$  komórkom)

spośród 70 izolatów pozyskanych z odcieków. W testach porównano przyrost osmotolerancyjnych szczepów *Pichia guilliermondii* A9, *P. guilliermondii* ATCC 6260 oraz *Candida halonitratophila* IFO 1595, *C. versatilis* IFO 1228 i *Zygosaccharomyces rouxii* KFRI 204 w temperaturze 30°C, w odcieku modelowym. Zgodnie z wynikami, zasolone odcieki po produkcji kimchi, po lekkiej modyfikacji wartości pH, są odpowiednim środowiskiem dla hodowli drożdży ze szczepu *P. guilliermondii* A9. Badane szczepy *P. guilliermondii* ATC 6260 i A9 potrzebowały 24 h do uzyskania  $\text{OD}_{540} = \text{ok. } 1,3$  (co odpowiada ok.  $3,22 \times 10^7$  komórkom), podczas gdy pozostałe testowane szczepy na osiągnięcie podobnej gęstości optycznej potrzebowały 48 h i przyrost nie był tak efektywny jak u szczepu *P. guilliermondii* A9 [Min Ho Choi *et Yun Hee Park*, 1999]. Wykazano także brak negatywnego wpływu NaCl w stężeniu ok. 10% na wzrost komórek. Pomimo korzystnemu dla proliferacji drożdży pH 4 w odcieku modelowym, podczas hodowli, ich wzrost był stopniowo hamowany. Dodatki siarczanu amonu lub fosforanu potasu okazały się być niewystarczające, w związku z czym podjęto próbę dodatku soku z chińskiej kapusty. Osiągnięty wówczas lepszy przyrost drożdży potwierdził wpływ braku nie poszczególnych makroelementów, ale źródeł węgla na wzrost drobnoustrojów [Min Ho Choi *et Yun Hee Park*, 1999].

Dwadzieścia lat temu Shih *et Hang* [Hui *et al.*, 2003] donosili także o próbach użycia szczepu drożdży *Rhodotorula rubra* NRRL Y-15596 do produkcji barwników karotenoidowych. W testach przebadane zostały 3 szczepy drożdżowe, spośród których *Rhodotorula rubra* NRRL Y-15596 odpowiedzialna była za wytwarzanie największej ilości karotenoidów, wyrażonych jako  $\beta$ -karoten. Jak podają autorzy, drożdże podczas wzrostu całkowicie neutralizowały odciek i zmniejszały BZT (Biochemiczne Zapotrzebowanie Tlenu) niemal o 70%. Testowane były trzy szczepy z gatunku *Rhodotorula rubra* [Hui *et al.*, 2003], spośród których NRRL Y-15596 charakteryzował się najkorzystniejszym wzrostem biomasy oraz wykazał znacznie większą produkcję karotenoidów. Po hodowli szczepu NRRL Y-15596 pozyskano 130  $\mu\text{g}$  karotenoidów ( $\beta$ -karotenu) z 1 g suchej masy drożdżowej, a odcieki po kiszniu kapusty zostały wytypowane jako optymalne oraz ekonomicznie opłacalne medium do hodowli w/w szczepu z gatunku *R. rubra* do biosyntezy biomasy i karotenoidów.

W podobnym celu wykorzystywane zostały mikroorganizmy należące do innego przedstawiciela ze wspomnianego rodzaju, *Rhodotorula glutinis* DM28, wyizolowane z procesu fermentacji rzodkwi oraz kapusty [Malisorn *et* Suntornsuk, 2009]. Wzrost wspomnianego szczepu i produkcja  $\beta$ -karotenu testowane były, w kolbach Erlenmayera oraz podczas hodowli ciągłej w bioreaktorze z wykorzystaniem rozcieńzonego odcieku pochodzącego z fermentacji rzodkwi. Hodowla prowadzona w bioreaktorze umożliwia wydajniejszą syntezę analizowanych substancji przede wszystkim z uwagi na lepsze natlenienie. Większa wydajność syntezy biomasy w bioreaktorze nie wiązała się jednak ze skuteczną utylizacją obecnych w odcieku kwasów. Prawdopodobnie było to spowodowane ciągłym dostarczaniem wraz z solanką cukrów, będących dla badanego szczepu drożdży lepszym źródłem węgla, niż kwasy organiczne. Ponadto stwierdzono, że badany szczep drożdży nie cechował się tak wysoką osmotolerancją, jak *Pichia guilliermondii* A9 analizowana przez Min Ho Choi *et* Yun Hee Park [1999], jako że dla drobnoustrojów rozwoju komórek zawartość NaCl w solance nie mogła przekraczać 12% [w/v].

Malisorn *et* Suntornsuk [2009] również analizowali możliwość wykorzystania związków odżywczych obecnych w solance z kiszzonej kapusty do wzrostu szczepów drożdżowych z rodzajów *Saccharomyces* sp., *Candida* sp., *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp. i *Trichosporon* sp. Wybrane mikroorganizmy odznaczały się zdolnością utylizacji całości obecnych w odcieku kwasów, pozostawiając po hodowli odciek o odczynie obojętnym oraz praktycznie wolny od związków węgla. Szczepem drożdży najskuteczniej wykorzystującym kwas mlekowy w badaniach Oliva *et* Hang okazał się *Candida utilis* NRRL Y-900, degradowujący 96% kwasu mlekowego [Tso, 2014]. W omawianych badaniach, naukowcom również udało się skutecznie wykorzystać odcieki z kiszzonej kapusty jako medium hodowlane dla szczepu *Candida rugosa* (pozyskiwanie lipazy) i *Candida krusei* (tworzenie glicerolu).

Poza drożdżami, także grzyby strzępkowe mogą zostać wykorzystane do utylizacji odcieków. Hang *et* Woodams [Hui *et al.*, 2003] wykorzystali w tym celu grzyby *Geotrichum candidum* ATCC 34614, mikroorganizmy mogące powodować wady kiszzonek, do pozyskiwania reduktazy diacetylu. Badania pokazały, że enzym ten wykazywał dużą odporność na wahania pH i cechowała go stabilność aż do 40°C, a w temperaturze 50°C nadal

wykazywał aktywność na poziomie 50%. Pierwsze próby wykorzystujące zdolność omawianego drobnoustroju do utylizacji kwasów organicznych z odcieków, miały miejsce już w latach 70-tych ubiegłego wieku [Hui *et al.*, 2003]. Naukowcom udało się obniżyć poziom BZT o 88% oraz potwierdzić przydatność *Geotrichum candidum* z punktu widzenia ekonomicznego do zagospodarowywania odcieków oraz produkcji białek drożdżowych [Hui *et al.*, 2003].

Inne badania tego samego zespołu w latach 70-tych ubiegłego wieku [Hui *et al.*, 2003] sprawdziły wzrost szczepów *Candida utilis* NRRL Y-900, *Kluyveromyces fragilis* NRRL Y-1109 i *Saccharomyces cerevisiae* w różnych mediach. Na podstawie przyrostu biomasy stwierdzono, że odcieki po fermentacji kapusty są bardziej dogodnym środowiskiem do rozwoju drożdży od ekstraktu słodowego oraz bulionu, co związane może być z ich składem, tj. obecnością makro- oraz mikroelementów w najbardziej optymalnej ilości [Hui *et al.*, 2003]. Wykorzystanie szczepu *Candida utilis* NRRL Y-900 zostało sprawdzone także w testach Oliva *et* Hang [1979], które potwierdziły utylizację kwasu mlekowego w odciekach. Wykazane zostało, że drożdże z gatunku *Candida utilis* mogą być z powodzeniem hodowane w systemie ciągłego przepływu z wykorzystaniem solanki jako medium.

Rezultat eksperymentów Hang *et al.* [Hui *et al.*, 2003], mówiący o przydatności odcieków z kiszzonej kapusty jako medium do hodowli mikroorganizmów drożdżowych prowadzi do podobnych wniosków, co testy Schwarz *et* Hang [Hui *et al.*, 2003] Autorzy porównali hodowlę czterech szczepów drożdży z gatunku *Kluyveromyces marxianus*, tj. NRRL Y-1196, NRRL Y-1109, NRRL Y-610 oraz UCD 351 w bulionie Sabouraud oraz w odcieku pofermentacyjnym [Hui *et al.*, 2003]. Obydwa powtórzenia wykonane z użyciem solanki jako medium wykazały lepszy wzrost drożdży. Spośród testowanych szczepów, *K. marxianus* NRRL Y-1196 odznaczył się najbardziej wydajną produkcją reduktazy diacetylu, osiągając maksimum po 36 h hodowli, zaś szczep został wytypowany jako źródło badanego enzymu dla przemysłu.

### Bakterie a utylizacja odcieków

Bakterie w głównej mierze odpowiadają za powstanie kiszzonej kapusty, więc w większości nie są one odpowiedzialne za utylizację solanki *per se*. Odcieki można jednak

wykorzystać do tworzenia nowych i wydajniejszych kultur starterowych wykorzystywanych w produkcji kiszonki na szeroką skalę. Najwięcej doniesień dotyczy wykorzystania bakterii występujących w trakcie następującej w pierwszej kolejności fazy heterofermentatywnej, w tym należących do gatunku *Leuconostoc mesenteroides*, do produkcji dekstranu [Hyun-Yu *et al.*, 2007]. Może on zostać wykorzystany później do produkcji polimerów lub prebiotycznych oligosacharydów. Bakterie kwasu mlekowego z gatunku *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* występujące w solance mogą być równocześnie z powodzeniem używane przy produkcji kwasu polimlekowego stosowanego do otrzymywania biodegradowalnych materiałów opakowaniowych. W badaniach Ling *et al.* [2012] nacisk położony został na poznanie genu u szczepu *L. mesenteroides* ATCC 8293, odpowiadającego w głównej mierze za syntezę dehydrogenazy D-mleczanowej. Testy pozwoliły wykazać, że genem tym jest LEUM 1756 i jest on typowy dla występujących podczas fermentacji kapusty bakterii z rodzaju *Leuconostoc* sp.

Bakterie pozyskane z odcieków mogą być również wykorzystane do pozyskania cennych z punktu widzenia nauki bakteriocyn, np. mikroorganizmy z gatunku *Lactococcus lactis* bywają wykorzystywane do otrzymywania nizyny [Tolonen *et al.*, 2004], która wykazuje działanie synergistyczne z pochodnymi glukozynolanów i odpowiada za inhibowanie wzrostu groźnych patogenów, takich jak *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* oraz drożdży *Candida lambica*. Sama solanka z kiszenia kapusty jest podawana jako medium optymalne do hodowli bakterii wytwarzających cenne bakteriocyny, a odciek po kiszeniu kapusty może być stosowany w celu konstruowania nowych starterów, usprawniających kontrolę nad przebiegiem procesu fermentacji [Tolonen *et al.*, 2004].

Yanping Yang *et al.* [2015] z odcieków pochodzących z mandżurskiej domowej kiszonej kapusty wyizolowali szczep bakteryjny *Leuconostoc citreum* NM105, produkujący egzopolisacharyd (EPS), który może być potencjalnie wykorzystany m.in. w kosmetyce lub produkcji żywności. Analiza składu monosacharydów z użyciem chromatografii gazowej wykazała, że szczep odpowiada za produkcję homopolisacharydu złożonego z jednostek D-glukozy (glukan). Tożsamość oraz masa związku zostały ustalone w oparciu o testy HPSEC (Wysokosprawna Chromatografia

Wykluczania), co potwierdziło jego homogenność i pozwoliło przypisać wiązaniom  $\alpha$ -1-6 w łańcuchu głównym oraz  $\alpha$ -1-2 w rozgałęzieniach stabilność związku, co może być obiecujące jeśli chodzi o właściwości prebiotyczne. Screening szczepów wytwarzających dekstrany o dogodnej strukturze i właściwościach pozwalających na komercyjne wykorzystanie jest bardzo istotny, a użycie tych mikroorganizmów w kulturach starterowych może przyczynić się do możliwości ponownego wykorzystania powstających odcieków. Zaobserwowana mikrostruktura dekstranu może sugerować potencjalne wykorzystanie w celu tworzenia plastycznych błon. Żeby jednak w pełni zrozumieć mechanizm syntezy i szczegóły wykorzystania m.in. w przemyśle żywnościowym, konieczne jest podjęcie dalszych badań.

## PODSUMOWANIE

Fakt niewystarczającej uwagi poświęcanej środowisku naturalnemu może wydawać się niepokojący, ponieważ świat przyrody w chwili obecnej jest zagrożony z wielu stron, co uzasadnia wszelkie działania podjęte w sprawie poznania problemu. Jest to zagadnienie tym bardziej interesujące ze strony naukowej, że mikrobiota obecna w trakcie wytwarzania kiszonki może zostać z powodzeniem wykorzystana w sposób świadomy do produkcji cennych z naukowego punktu widzenia związków chemicznych, przede wszystkim enzymów i białek drożdżowych. Obecne w trakcie fermentacji grzyby drożdżowe, jak zostało wykazane w cytowanych pracach, potrafią wykorzystać jako swoje źródło węgla powstające w trakcie procesu kwasy, mogące przyczyniać się do degradacji gleb. Także bakterie biorące udział w fermentacji, choć nie odpowiadają za degradację powstających kwasów, wytwarzają równie cenne naukowo i znajdujące swoje zastosowanie w różnych aspektach życia związki chemiczne, od żywności po kosmetyki. Natomiast same odcieki natomiast mogą zostać wykorzystane jako finansowo opłacalne podłoże mikrobiologiczne do namnażania wspomnianych wyżej, cennych mikroorganizmów drożdżowych, z uwagi na swój optymalny skład chemiczny.

Należy także zaznaczyć, że przytaczana literatura to jedynie wybrane z pozycji traktujących o szkodliwości kwaśnych odcieków, kwestii ich utylizacji należy się więcej uwagi z racji obecnego stanu środowiska naturalnego. Duża waga

tego problemu wynika z powodu nadmiernego skupienia się na zdrowiu człowieka oraz w pewnym sensie bagatelizowaniu kwestii ochrony środowiska. Wpływ szkodliwości odcieków na stan środowiska wciąż wymaga większej ilości badań poświęconych poznaniu tego problemu dla uświadomienia społeczeństwa o istotności zagadnienia. Aktualnie podkreślany jest brak dostatecznej wiedzy ludzi o szkodliwości powstających w trakcie kiszenia odcieków oraz przywiązanie do starych zwyczajów, między innymi z tego powodu bardzo istotne jest podejmowanie starań o uświadomienie producentów oraz konsumentów. Równocześnie prace dotyczące tematyki pochodzące z wielu różnych miejsc na świecie pokazują, że problem zgubnego wpływu solanki pochodzącej z produkcji dotyczy większego obszaru i nie ogranicza się do jednego kraju, ale dotyczy wielu miejsc na świecie. Większa uwaga poświęcona problemowi będzie zatem korzystna nie tylko ze względu na środowisko, ale przyniesie też korzyści z punktu widzenia ludzkiego zdrowia.

### Podziękowania

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji nr UMO-2014/15/B/NZ9/04527.

### LITERATURA

1. Terefe Netsanet Shireraw. 2016. Food Fermentation. CSIRO Food and Nutrition, 1-2.
2. Strnad S., Satora P. 2016. Mikrobiologiczne aspekty produkcji kiszanej kapusty. Cz. 1. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 7-8, 31-33.
3. Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z. 2009. Mikrobiologia Techniczna. T.2. Mikroorganizmy w biotechnologii, ochronie środowiska i produkcji żywności. PWN Warszawa.
4. Lücke F.-K., Zangerl P. 2014. Food safety challenges associated with traditional foods in German-speaking regions. Food Control, 43, 217-230.
5. Xiong Tao, Xiao Li, Qianqian Guan, Fei Peng, Mingyong Xie. 2013. Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: Growth, acidification and metabolic analyses. Food Control, 41, 122-127.
6. Jevešnik M., Hlebec V., Raspor P. 2008. Survey of safe and hygienic practises among Slovenian sauerkraut growers. Food Control, 20, 677-685.
7. Tao Xiong, Junbo Li, Fan Liang, Yanping Wang, Qianqian Guan, Mingyong Xie. 2016. Effects of salt concentration on Chinese sauerkraut fermentation. LWT - Food Science and Technology, 69, 169-174.
8. Strnad S., Satora P. 2016. Mikrobiologiczne aspekty produkcji kiszanej kapusty. Cz. 2. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 9, 31-32.
9. Wolkers-Rooijackers J.C.M., Thomas S.M., Nout M.J.R. 2013. Effects of sodium reduction scenarios on fermentation and quality of sauerkraut. LWT - Food Science and Technology, 54, 383-388.
10. Viander B., Mäki M., Palva A. 2003. Impact of low salt concentration, salt quality on natural large-scale sauerkraut fermentation. Food Microbiology, 20, 391-395.
11. Pérez-Díaz I.M., Breidt F., Buescher R.W., Arroyo-López, F.N., Jiménez-Díaz R., Fernández A.G., Gallego J.B., Yoon S.S., Johanningsmeier S.D. 2013. 51. Fermented and Acidified Vegetables, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.
12. Min Ho Choi, Yun Hee Park. 1999. Growth of *Pichia guilliermondii* A9, an osmotolerant yeast, in waste brine generated from kimchi production. Bioresource Technology, 70, 231-236.
13. Malisorn C., Suntornsuk W. 2009. Improved  $\beta$ -carotene production of *Rhodotorula glutinis* in fermented radish brine by continuous cultivation. Biochemical Engineering Journal, 43, 27-32.
14. Hui Y.H., Ghazala S., Graham D.M., Murrell K.D., Nip W.-K. 2003. Handbook of Vegetable Preservation and Processing. New York. CRC Press. Technology & Engineering.
15. Oliva R.U, Hang Y.D. 1979. Continuous Removal of Lactic Acid from Wastewater by *Candida utilis*. Applied Microbiology, 38 (5), 1027-1028.
16. Hyun-Ju Eom, Dong Mi Seo, Nam Soo Han. 2007. „=Selection of psychrotrophic *Leuconostoc* spp. producing highly active dextransucrase from lactate fermented vegetables. International Journal of Food Microbiology, 117, 61-67.
17. Ling Li, Hyun-Ju Eom, Jung-Mi Park, Eunyoung Seo, Ji Eun Ahn, Tae-Jip Kim, Jeong Hwan Kim, Nam Soo Han. 2012. Characterization of the major dehydrogenase related to d-lactic acid synthesis in *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ATCC 8293. Enzyme and Microbial Technology, 51, 274-279.
18. Tolonen M., Rajaniemi S., Pihlava J.-M., Johansson T., Saris P.E.J., Ryhänen E.L. 2004. Formation of nisin, plant-derived biomolecules and antimicrobial activity in starter culture fermentations of sauerkraut. Food Microbiology, 21, 167-179.
19. Yanping Yang, Qian Peng, Yanyun Guo, Ye Han, Huazhi Xiao, Zhijiang Zhou. 2015. Isolation and characterization of dextran produced by *Leuconostoc citreum* NM105 from manchurian sauerkraut. Carbohydrate Polymers, 133, 365-372.
20. Tsao G.T., Flickinger M.C., Finn R.K. 2014. Annual Reports on Fermentation Processes. Vol. 7. Harcourt Brace Jovanovich. Academic Press Inc.