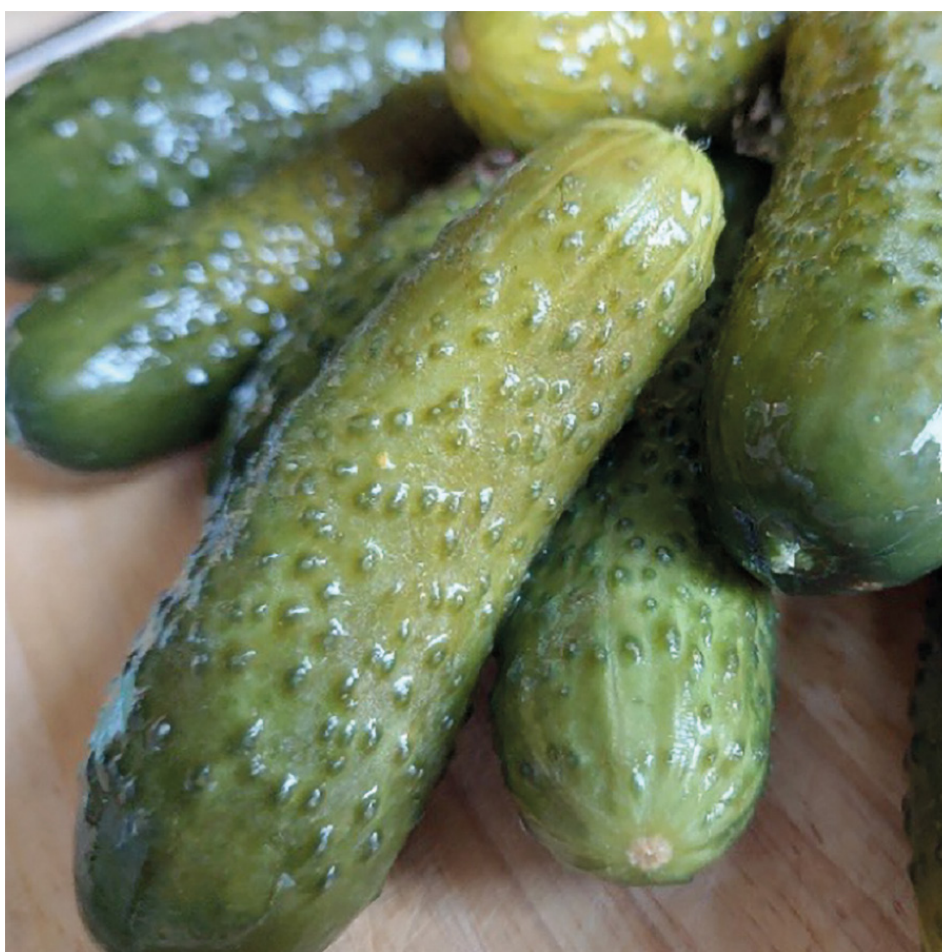




**INSTYTUT BIOTECHNOLOGII
PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO
im. prof. Wacława Dąbrowskiego
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY**

OGÓRKI KISZONE – DIAGNOZA STANU



**BROSZURA ZREALIZOWANA W RAMACH ZADAŃ BADAWCZYCH FINANSOWANYCH
PRZEZ MINISTERSTWO ROLNICTWA I ROZWOJU WSI, ZADANIE NR 5:
„OPRACOWANIE STANDARDÓW RYNKOWYCH DLA FERMENTOWANYCH
PRODUKTÓW WARZYWNYCH”**

**ZAKŁAD TECHNOLOGII FERMENTACJI IBPRS-PIB
WARSZAWA, GRUDZIEŃ 2024**

Warszawa, grudzień 2024

**Zakład Technologii Fermentacji
Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego -
PIB**

**Broszura zrealizowana w ramach zadań badawczych finansowanych przez Ministerstwo
Rolnictwa i Rozwoju Wsi, zadanie nr 5: „Opracowanie standardów rynkowych dla
fermentowanych produktów warzywnych”
OGÓRKI KISZONE- DIAGNOZA STANU**

Autorzy: dr inż. Katarzyna Piasecka-Józwiak
dr inż. Renata Choińska
dr inż. Antoni Miecznikowski
mgr inż. Anna Dworska
mgr inż. Monika Kliszc
mgr inż. Karol Włodarczyk
mgr inż. Juliusz Załuski
mgr Magdalena Kropielnicka
inż. Piotr Pisarek

Wprowadzenie

Ogórki, podobnie jak kapusta należy do najpopularniejszych warzyw kiszonych w Polsce. Kiszenie surowców roślinnych to tradycyjna, bezpieczna metoda przetwarzania żywności. Polega na fermentacji mlekowej czyli beztlenowym przetworzeniu węglowodanów obecnych w surowcach przez bakterie fermentacji mlekowej. Dostęp tlenu jest czynnikiem krytycznym powodującym zagrożenie dla jakości kiszzonek. Efektem fermentacji mlekowej (podczas kiszenia) jest nie tylko utrwalanie, lecz także uzyskanie nowych produktów o innych niż surowiec właściwościach organoleptycznych. O popularności kiszenia ogórków świadczy wpisanie kilku rodzajów kiszonych ogórków na listę produktów tradycyjnych. Ze względu na obecność bakterii fermentacji mlekowej ((Lactic Acid Bacteria - LAB) metabolizujących glukozę drogą homofermentacji i heterofermentacji, oprócz kwasu mlekowego powstają m.in. niewielkie ilości etanolu, kwasu octowego, kwasu propionowego, dwutlenek węgla, związki zapachowe i inne, mające wpływ na jakość i trwałość kiszzonek. Grupa LAB obejmuje m.in. rodzaje (zgodnie z nową nomenklaturą): *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Weissella*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactiplantibacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Secundilactobacillus*, *Lentilactobacillus*.

W trakcie procesu kiszenia, w wyniku obniżenia pH, konkurencji o niezbędne składniki odżywcze i antagonistycznym właściwościom LAB zahamowany zostaje wzrost organizmów

chorobotwórczych i innych, powodujących zepsucie produktu. Ponadto, w związku z obniżeniem pH środowiska, dochodzi do następstwa gatunków bakterii dominujących w kiszonce. W pierwszych godzinach fermentacji dominują bakterie z rodzajów *Leuconostoc* i *Lactobacillus*, w dalszych etapach z rodzaju *Pediococcus* oraz gatunek *Lactolactibacillus plantarum*. Jakość kiszonek warzywnych, otrzymanych w wyniku naturalnej fermentacji mlekowej, jest zależna w znacznym stopniu od mikrobioty naturalnie obecnej w surowcu/ogórkach, w tym drobnoustrojów niepożądanych w procesie kiszenia (np.: bakterie z rodzaju *Enterobacteriaceae*, pleśnie). Nieprawidłowy przebieg kiszenia skutkujący złą jakością ogórków kiszonych, może być związany również z użyciem do kiszenia nieodpowiedniej odmiany ogórków, ich świeżości, niewłaściwego nawożenia i okresu zbiorów. Ponadto, jakość kiszonki kształtowana jest przez dodatki takie jak sól i przyprawy, które oprócz nadawania smaku, stwarzają sprzyjające warunki do selekcji mikroorganizmów. Do wad kiszonek powstałych w wyniku niewłaściwego następstwa gatunków bakterii podczas kiszenia zalicza się nadmierną kwasowość produktu. Z kolei odkwaszenie może być spowodowane rozwojem drożdży i pleśni np. *Candida mycoderma*, *Geotrichum candidum*, *Debaromyces* i *Pichia* oraz z gatunków *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida utilis*. Za obniżenie jakości kiszonek mogą być również odpowiedzialne bakterie mlekowe takie jak *Lactobacillus buchneri* i/lub *Lactobacillus parafarraginis*, które mogą być naturalnie obecne w środowisku podczas fermentacji. Gatunki te prowadząc fermentację wtórną przyczyniają się do podwyższenia pH, co z kolei umożliwia wzrost mikroorganizmów zdolnych do przekształcania kwasu mlekowego w kwas octowy, propionowy i/lub masłowy. Często spotykane zjawisko „mięknienia ogórków” może być wynikiem rozwoju mikroorganizmów o aktywności celulolitycznej i pektynolitycznej m.in. bakterii z rodzajów *Bacillus*, gatunku *Lactobacillus buchneri*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia* i *Erwinia*; pleśni z gatunków *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*. W ogórkach może wystąpić zjawisko „gazowania” spowodowane aktywnością drożdży *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Torulopsis*, a także bakterii grupy coli.

W przypadku kiszenia dużej ilości surowca zaleca się stosowanie wyselekcjonowanych kultur starterowych, które w porównaniu z prowadzeniem fermentacji spontanicznej, zapewnia właściwy rozwój mikroflory odpowiedzialnej za fermentację i cechy sensoryczne oraz stałą jakość i bezpieczeństwo mikrobiologiczne kiszonek.

Podstawowe parametry jakości ogórków kiszonych określa Polska Norma PN-A-77701:1997 Ogórki kwaszone i przeciery z ogórków kwaszonych. Należy w tym miejscu dodać, że określenie ogórki kwaszone i ogórki kiszone odnosi się do tych samych produktów, oba określenia są poprawne. W PN jest określona zawartość soli na poziomie 12-25 g/l. Sól jest dodawana w celu

zapobiegania rozwojowi niepożądanych mikroorganizmów oraz dla uzyskania odpowiedniego smaku. Zalecane spożycie soli ograniczone jest do dawki 5 g na dzień (tj. < 2 g sodu) (WHO global sodium benchmarks for different food categories. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO). W zaleceniach WHO kiszunki znalazły się w kategorii 16b spośród tych produktów spożywczych, które w największym stopniu przyczyniają się do spożycia sodu, jako punkt odniesienia dla tej kategorii przyjęto 550 mg soli na 100g.

Źródła literaturowe

- Chabłowska, B., Piasecka-Jóźwiak, K., Rozmierska, J., & Szkudzińska-Rzeszowiak, E. (2012). Ukierunkowana fermentacja mlekowa ogórków z upraw ekologicznych przy zastosowaniu wyselekcjonowanych kultur starterowych bakterii fermentacji mlekowej. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 57(3), 31-36.
- Gorzelany, J., Matłok, N., Migut, D., Cebulak, T. (2014b). Quality of dill pickled cucumbers depending on the variety and chemical composition of pickle brine. *TEKA. Commission of motorization and energetics in agriculture*, 4(14), 19-22.
- Fleming, H. P. (1984). Developments in cucumber fermentation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Biotechnology*, 34(4), 241-252.
- Fleming, H. P., McFeeters, R. F., & Daeschel, M. A. (1992). Fermented and acidified vegetables. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, DC, 929-952.
- Franco, W., Pérez-Díaz, I. M., Johanningsmeier, S. D., & McFeeters, R. F. (2012). Characteristics of spoilage-associated secondary cucumber fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), 1273-1284.
- McFeeters, R. F., Balbuena, M. B., & Fleming, H. P. (1995). Softening rates of fermented cucumber tissue: effects of pH, calcium, and temperature. *Journal of Food Science*, 60(4), 786-788.
- Klewicka, E., Motyl, I., Libudzisz, Z. (2004). Antagonistyczna aktywność bakterii *Lactobacillus brevis* Lock 0944 w fermentowanym soku buraczanym. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo – Warzywny*, 12, 34-35
- Lazar, Z., Piegza, M., Walczak, E., Barszczewski, W., & Robak, M. (2013). Mikroflora drożdżowa naturalnie fermentowanych warzyw. *Acta Scientiarum Polonorum: Biotechnologia*, 12(1).
- Medina, E., Pérez-Díaz, I. M., Breidt, F., Hayes, J., Franco, W., Butz, N., & Azcarate-Peril, M. A. (2016). Bacterial ecology of fermented cucumber rising pH spoilage as determined by nonculture-based methods. *Journal of food science*, 81(1), M121-M129.
- Moore, J. F., DuVivier, R., & Johanningsmeier, S. D. (2022). Changes in the free amino acid profile of pickling cucumber during lactic acid fermentation. *Journal of Food Science*, 87(2), 599-611.
- Nilchian, Z., et al. "Improvement of fermented cucumber characteristics by starter culture of *Lactobacillus plantarum*, *L. bulgaricus* and *S. thermophiles*." (2016): 31-40.
- Pérez-Díaz, I. M., Hayes, J. S., Medina, E., Webber, A. M., Butz, N., Dickey, A. N., ... & Azcarate-Peril, M. A. (2019). Assessment of the non-lactic acid bacteria microbiota in fresh cucumbers and commercially fermented cucumber pickles brined with 6% NaCl. *Food microbiology*, 77, 10-20.
- Singh, A. K., & Ramesh, A. (2008). Succession of dominant and antagonistic lactic acid bacteria in fermented cucumber: insights from a PCR-based approach. *Food microbiology*, 25(2), 278-287.

Shukla, R., & Goyal, A. (2014). Probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* CRA3: a new isolate from fermented cucumber. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 6, 11-21.

Stoll, D. A., Müller, A., Meinhardt, A. K., Dötsch, A., Greiner, R., Kulling, S. E., & Huch, M. (2020). Influence of salt concentration and iodized table salt on the microbiota of fermented cucumbers. *Food microbiology*, 92, 103552.

Wrzodak, A. (2024). Produkty żywnościowe kwaszone w polskiej tradycji. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego*, 117(3), 63-76.

Material badawczy

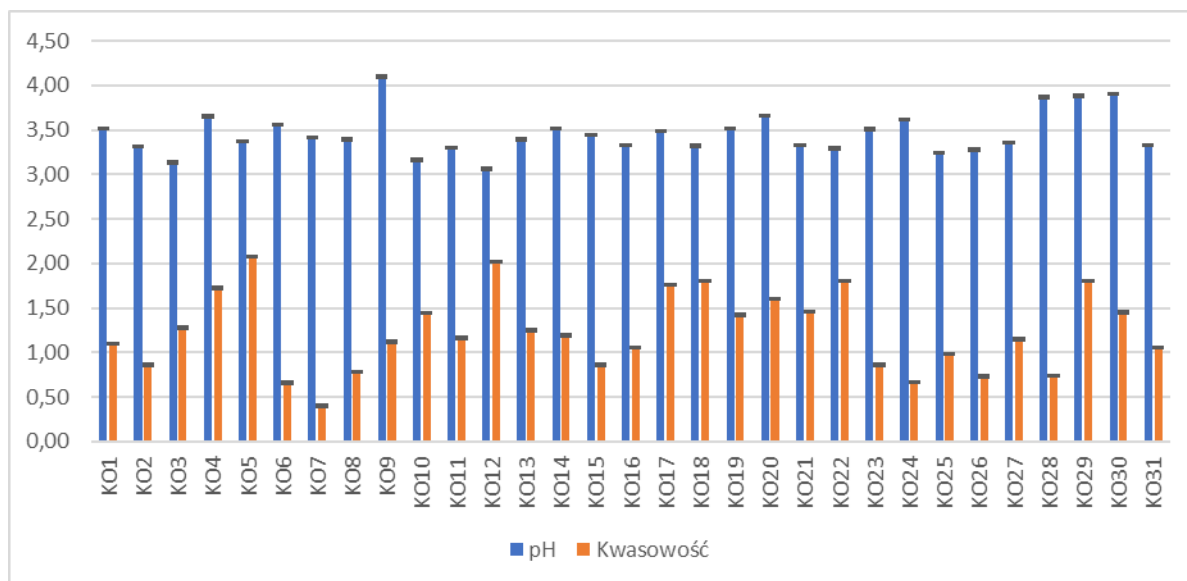
W ramach realizacji zadania 5 zgromadzono 31 próbek kiszonych ogórków dostępnych na rynku krajowym. Do badań wytypowano kiszonki ogórka siewnego (*Cucumis sativus* L.). Kiszonki zostały zakupione losowo w sieciach sklepowych, lokalnych bazarach z różnych województw m.in.: mazowieckiego, zachodniopomorskiego, lubelskiego.

Metodyka

Odczyn pH badanych próbek oznaczono metoda potencjometryczną, kwasowość ogólną metodą wg. Gawęckiego i in. [1990]. Jakość mikrobiologiczną próbek oceniano na podstawie ogólnej liczby bakterii zgodnie z normą PN-EN ISO 4833-1:2013-12, liczby bakterii kwasu mlekowego zgodnie z normą PN-ISO 15214:2002 oraz liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* zgodnie z normą PN-ISO 21528-2:2005. Identyfikacji genetycznej wyizolowanego DNA dokonano poprzez sekwencjonowanie nowej generacji (NGS). Analizę chromatograficzną zawartości kwasów organicznych tj.: kwasu mlekowego, octowego, propionowego, masłowego przeprowadzono na podstawie metodyki opracowanej w Zakładzie Technologii Fermentacji IBPRS–PIB, analizę amin biogennych dokonano zgodnie z metodyką stosowaną w Zakładzie Bezpieczeństwa i Analizy Chemicznej Żywności IBPRS–PIB.

Wyniki

pH próbek kiszonych ogórków kształtowało się na poziomie zróżnicowanym i mieściło się w większości przypadków w zakresie pożądanym dla kiszonych ogórków dobrej jakości tj. między 3,2 a 3,8. Spośród 31 badanych próbek, trzy charakteryzowały się wartością pH poniżej dolnej wymaganej granicy a cztery wartością pH powyżej górnej wymaganej granicy (Rysunek 1).



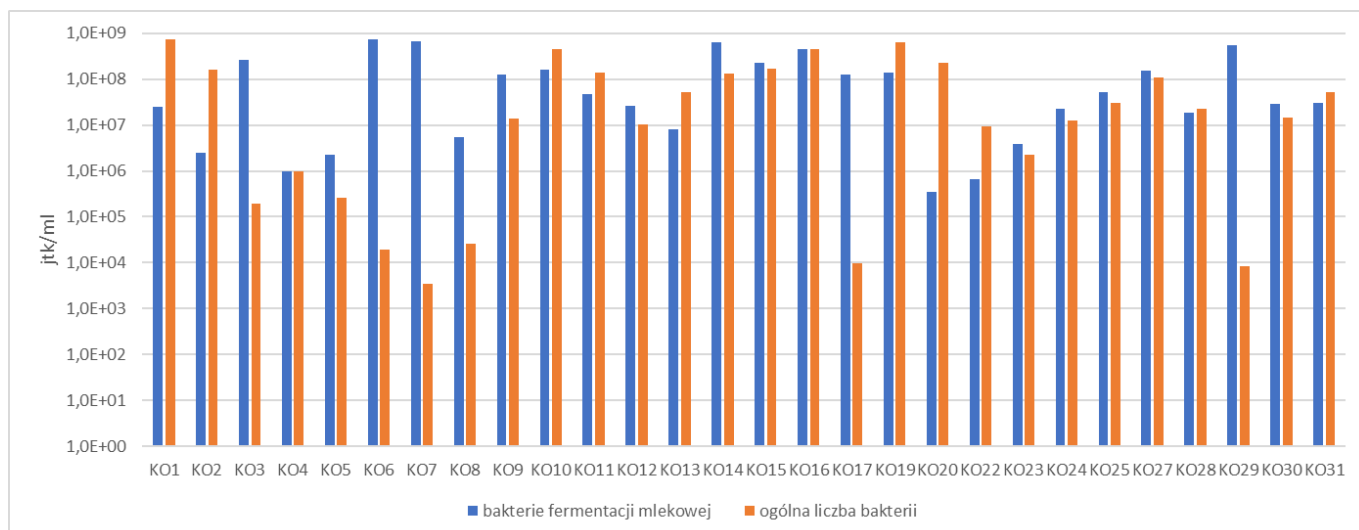
Rysunek 1. pH i kwasowość (%) badanych próbek kiszonych ogórków.

Kwasowość ogólna kiszonych ogórków, za wyjątkiem jednej próbki, znajdowała się na wymaganym dla kiszzonek poziomie, tj. powyżej 0,7 %. Wartość pH oraz kwasowość kiszzonek warzywnych ustalana jest podczas fermentacji mlekowej jako wynik aktywności metabolicznej obecnej mikroflory epifitycznej zależnej od zawartości dostępnych węglowodanów i stanowi wskaźnik jakości przebiegu procesu kiszenia. W wyniku procesu fermentacji, bakterie mlekowe na drodze rozkładu węglowodanów syntezują kwasy organiczne, głównie kwas mlekowy, które są w głównej mierze odpowiedzialne za obniżenie pH i wzrost kwasowości. Poza kwasem mlekowym powstają: kwas octowy, kwas propionowy i ewentualnie kwas masłowy. Analiza próbek pod względem zawartości kwasów organicznych, wykazała obecność wszystkich w/w kwasów w szerokim zakresie stężeń, wskazując na duże zróżnicowanie próbek dostępnych na rynku (Tabela 1).

Tabela 1. Zakres stężeń kwasów organicznych w próbkach kiszonych ogórków.

	Kwas mlekowy [mg/l]	Kwas octowy [mg/l]	Kwas propionowy [mg/l]	Kwas masłowy [mg/l]
Zakres stężeń	2384 – 10 569	299 - 3741	60 - 395	69- 3953

Analiza mikrobiologiczna kiszzonek umożliwiła stwierdzenie, ogólna liczba bakterii zawierała się w przedziale 10^3 – 10^8 jtk/ml, a liczba bakterii fermentacji mlekowej była na poziomie 10^6 jtk/ml i wyższym (Rysunek 2). Ponadto, badania wykazały brak obecności drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*.



Rysunek 2. Wyniki jakościowej analizy mikrobiologicznej próbek kiszonych ogórków dostępnych na rynku krajowym.

W celu określenia składu populacyjnego bakterii obecnych w kiszonkach przeprowadzona została identyfikacja genetyczna mikrobioty bakteryjnej wybranych próbek przy wykorzystaniu sekwencjonowania nowej generacji. Dominującą grupę bakterii stanowiła rodzina *Lactobacillaceae*, stanowiąca od 60 do 98 % liczebności względnej populacji bakterii zidentyfikowanych w badanych próbkach. Pozostałe zidentyfikowane rodziny w zależności od próbki to: *Trichocoleusaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Methanomicrobiaceae*, *Streptococcaceae*, *Erwiniaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Yersiniaceae* (Tabela 2). Na poziomie rodzaju zidentyfikowano 23 grup bakterii, z których w większości próbek w znacznych ilościach występowały m.in: *Latilactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Levilactobacillus*, *Lentilactobacillus*, *Secundilactobacillus*, *Pediococcus*, *Weissella*, *Lactococcus*. Zawartość bakterii z rodzaju: *Erwinia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Kluyvera*. zostały zidentyfikowane w pojedynczych przypadkach.

Tabela 2. Skład mikrobioty bakteryjnej próbek kiszonych ogórków.

Rodzina	Rodzaj	Gatunek
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Latilactobacillus</i>	<i>Latilactobacillus sakei</i>
		<i>Latilactobacillus curvatus</i>
		<i>Latilactobacillus graminis</i>
		<i>Latilactobacillus spp.</i>
	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc gelidum</i>
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
		<i>Leuconostoc suonicum</i>
		<i>Leuconostoc spp.</i>
	<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus fabri fermentans</i>
		<i>Lactiplantibacillus spp.</i>
	<i>Levilactobacillus</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
		<i>Levilactobacillus parabrevis</i>
		<i>Levilactobacillus spp.</i>
	<i>Lentilactobacillus</i>	<i>Lentilactobacillus kisonensis</i>
		<i>Lentilactobacillus rapi</i>
		<i>Lentilactobacillus buchneri</i>
		<i>Lentilactobacillus spp.</i>
	<i>Secundilactobacillus</i>	<i>Secundilactobacillus silagei</i>
		<i>Secundilactobacillus spp.</i>
	<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus parvulus</i>
<i>Pediococcus cellicola</i>		
<i>Pediococcus ethanolidurans</i>		
<i>Pediococcus spp.</i>		
<i>Weissella</i>	<i>Weissella confusa</i>	
	<i>Weissella spp.</i>	
<i>Trichocoleusaceae</i>	<i>Trichocoleus</i>	<i>Trichocoleus desertorum</i>
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter mori</i>
		<i>Enterobacter spp.</i>
	<i>Kluyvera</i>	<i>Kluyvera intermedia</i>
	<i>Leclercia</i>	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
	<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter spp.</i>
<i>Methanomicrobiaceae</i>	<i>Methanofollis</i>	<i>Methanofollis spp.</i>
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>
		<i>Lactococcus spp.</i>
<i>Desulfurococcaceae</i>	<i>Ignicoccus</i>	<i>Ignicoccus pacificus</i>
<i>Erwiniaceae</i>	<i>Erwinia</i>	<i>Erwinia spp.</i>
<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Pleomorphochaeta</i>	<i>Pleomorphochaeta multiformis</i>
<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>
<i>Selenomonadaceae</i>	<i>Pectinactus</i>	<i>Pectinatus sottacetoni</i>
Inne	Inne	Inne

Ważnym parametrem jakości kiszonki jest jej stopień zasolenia, warunkujący rozwój prawidłowej mikroflory. Zalecane stężenie soli, z punktu widzenia procesu fermentacji, powinno mieścić się w zakresie od 2,0 do 2,5 %, przy czym, obecne trendy żywieniowe propagują zmniejszenie udziału soli w diecie. Natomiast zgodnie z Polską Normą zawartość soli w kiszonych ogórkach została określona od 1,2 do 2,5 %. Oznaczona zawartość soli w badanych próbkach mieściła się w zakresie od 1,5 do 3,5 % i w kilku próbkach przekraczała wymagany zakres.

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy dużą wagę przykładana się obecnie do zawartości amin biogennych w produktach fermentowanych, ze względu na ryzyko zdrowotne związane ze spożywaniem produktów z podwyższoną zawartością amin biogennych. Przeprowadzona została analiza poziomu 9 najczęściej występujących amin biogennych, tj.: histaminy, putrescyny, kadaweryny, tyraminy, tryptaminy, spermidyny, agmatyny, 2-fenyletyloaminy i sperminy (Tabela 3). Analiza amin biogennych wykazała, że dominującym związkami były putrescyna. Kiszonki charakteryzowały się również znaczną ilością tyraminy, kadaweryny i nieco niższą histaminy. Suma w/w czterech amin biogennych (tzw. indeks BAI) zawierała się w zakresie od 96 do 397, w niektórych przypadkach była powyżej oszacowanej górnej granicy toksyczności. Zalecane jest zatem monitorowanie zawartości amin biogennych, jako markera stanu higieny kiszonek.

Tabela 3. Zawartość amin biogennych w próbkach kiszonych ogórków.

agmatyna [mg/kg]	putrescyna [mg/kg]	tryptamina [mg/kg]	histamina [mg/kg]	2- fenyletyloamina [mg/kg]	kadaweryna [mg/kg]	tyramina [mg/kg]	spermidyna [mg/kg]	spermina [mg/kg]
< 0,2	48 - 221	0,77 - 15	0,87 - 34	<0,35 - 7	<0,06 - 75	7,9 - 56	3,5 - 12	<0,08

Ocena sensoryczna badanych kiszonek wykazała w większości przypadków brak obcych nut i typowy dla kiszonek smak, zapach oraz teksturę.

Wnioski

1. Na podstawie oceny fizyko-chemicznej stwierdzono, że w większości badanych próbek kiszonych ogórków, oznaczone wartości pH, kwasowości, zawartości soli mieściły się w granicach zawartych w Polskiej Normie. Natomiast zawartość soli w kilku badanych próbkach przekraczała zalecany poziom 2,5 % i sięgała 3,5 %.
2. W większości próbek zawartości kwasu octowego była na niskim poziomie w porównaniu do kwasu mlekowego i nie przekraczała 1 %.
3. Analiza genetyczna mikrobiomu bakteryjnego próbek kiszonych ogórków dostępnych na rynku, wykazała dominację bakterii z rodziny *Lactobacillaceae* oraz bioróżnorodność gatunkową produktów i zróżnicowanie pod względem liczebności względnej (udział procentowy w populacji bakterii) poszczególnych gatunków.

4. Na podstawie oznaczonego udziału poszczególnych grup bakterii mlekowych w danym produkcie można wnioskować, że badane kiszonki różniły się pod względem stopnia ukiszenia (etapie procesu fermentacji).
5. Bioróżnorodność gatunkowa kiszzonek miała wpływ na różnice w oznaczonych parametrach fizyko-chemicznych, w tym zawartości kwasów organicznych i amin biogennych.
6. Dominującą aminą biogenną w badanych kiszzonekach była putrescyna determinująca wysoką wartość BAI. Zalecane jest zatem monitorowanie zawartości amin biogennych, jako markera stanu higieny kiszzonek.
7. Bioróżnorodność populacji bakteryjnej badanych kiszzonek sprawia, że wyznaczenie prostych korelacji pomiędzy oznaczanymi parametrami a jakością kiszzonek, a następnie standardów (zakresów poszczególnych wyróżników jakości) wymaga zbadania bardzo dużej liczby prób.



**INSTYTUT BIOTECHNOLOGII
PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO
im. prof. Wacława Dąbrowskiego
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY**

ZAKŁAD TECHNOLOGII FERMENTACJI

ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa
tel. 22 606 36 36
mail: zf@ibprs.pl

