

BARBARA SIONEK, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA,
IZABELA PASTERNOK

PRZEŻYWALNOŚĆ BAKTERII O WŁAŚCIWOŚCIACH PROBIOTYCZNYCH W KIELBASACH SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH W CZASIE CHŁODNICZEGO PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Celem pracy było określenie wzrostu i przeżywalności trzech szczepów bakterii probiotycznych w czasie długiego przechowywania chłodniczego oraz ocena wpływu tych bakterii na jakość sensoryczną kielbasy wieprzowej surowo dojrzewającej. Przygotowano trzy warianty kielbas, każdy z dodatkiem innego szczepu bakterii fermentacji mlekowej. Zastosowano szczep probiotyczny *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 oraz dwa szczepy potencjalnie probiotyczne: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12 (Chr. Hansen) i *Lactobacillus acidophilus* Bauer. Kielbasy przechowywane przez 230 dni w temperaturze 4 – 6 °C poddano ocenie mikrobiologicznej i sensorycznej. Liczbę bakterii mlekowych (LAB) oznaczano po fermentacji i po 30, 60, 90, 150, 180 i 230 dniach. Ocenę sensoryczną przeprowadzono metodą Ilościowej Analizy Opisowej (QDA).

Liczba bakterii kwasu mlekowego w badanych kielbasach wynosiła od 10^8 do 10^9 jtk/g. Próbkę kielbas z dodatkiem szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0900 i *B. animalis ssp. lactis* Bb-12 po fermentacji i po 230 dniach przechowywania charakteryzowały się wysoką liczbą bakterii kwasu mlekowego. Po 90 dniach zaobserwowano znaczące (o 3 rzędy logarytmiczne) zmniejszenie liczby bakterii w przypadku kielbasy z dodatkiem szczepu *Lb. acidophilus* Bauer. Przeżywalność tych bakterii w kielbasach zależała od czasu przechowywania. Badane kielbasy charakteryzowały się wysoką jakością sensoryczną w całym okresie przechowywania. We wszystkich próbkach, po 230 dniach przechowywania populacja bakterii mlekowych wynosiła ponad 10^6 jtk/g, co wskazuje na ich przydatność do procesów technologicznych i przechowywania. Najniższą przeżywalnością w okresie przechowywania charakteryzował się szczep *Lb. acidophilus* Bauer, natomiast przeżywalność dwóch pozostałych szczepów była podobna, utrzymywała się na poziomie 10^8 jtk/g kielbasy.

Słowa kluczowe: probiotyki, kielbasy surowo dojrzewające, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, przechowywanie, przeżywalność

Dr inż. B. Sionek, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, mgr inż. I. Pasternok, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: barbara_sionek@sggw.pl

Wprowadzenie

Produkty fermentowane są poszukiwanym rodzajem żywności z uwagi na ich walory prozdrowotne i smakowe. Wzrastająca świadomość konsumentka wyraża się m.in. poszukiwaniem produktów żywnościowych naturalnych, bezpiecznych, o właściwościach prozdrowotnych, zredukowanej zawartości soli, azotynów i azotanów [6, 20, 23]. Obecnie coraz większą uwagę zwraca się na rolę i znaczenie bakterii probiotycznych, które stanowią naturalną mikroflorę jelitową i wywierają korzystny wpływ na organizm. Dodatek bakterii probiotycznych do produktów żywnościowych wpływa korzystnie na organizm człowieka poprzez stymulację systemu immunologicznego, działanie antybakteryjne na szczepy chorobotwórcze, obniżanie poziomu cholesterolu, [16]. Właściwości probiotyczne mogą być przypisane do określonego szczepu danego gatunku [18]. Bakterie probiotyczne hamują rozwój flory patogennej i ograniczają procesy psucia się żywności. Zapewniają w ten sposób stabilizację biologiczną produktu w czasie procesów technologicznych, jak i podczas przechowywania. Efekty prozdrowotne żywności probiotycznej wynikają ze zmiany mikroflory przewodu pokarmowego, dlatego podstawowym zagadnieniem jest ich przeżywalność w czasie pasażu przez układ pokarmowy [3]. Czynniki, które wpływają na przeżywalność bakterii w środowisku są: pH, temperatura przechowywania, obecność konkurencyjnych mikroorganizmów, inhibitory wzrostu (np. NaCl) [20].

Jako probiotyki najczęściej stosowane są w przemyśle spożywczym bakterie z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, izolowane z przewodu pokarmowego człowieka [3]. Bakterie kwasu mlekowego (LAB, ang. *Lactic Acid Bacteria*) pełnią podstawową rolę w procesie fermentacji mięsa. Chronią one produkt przed rozwojem niepożądanego mikroflory i przyczyniają się do zwiększenia jego trwałości. Głównym produktem fermentacji mlekowej jest kwas mlekowy. Bakterie kwasu mlekowego są w większości względnie beztlenowcami, choć szczepy *Bifidobacterium* są wrażliwe na obecność tlenu w środowisku. Zależnie od szczepu, bakterie kwasu mlekowego należą do mezo- lub termofili [4]. Optymalne pH dla ich rozwoju wynosi 4,0 - 4,5. Zastosowanie bakterii probiotycznych w fermentowanych wyrobach mięsnych przyczynia się do tworzenia korzystnego smaku i zapachu oraz stabilizacji barwy [22].

W przypadku produktów mięsnych proces fermentacji i dojrzewania jest utrudniony. Wynika to z małej zawartości glukozy, niskiego pH i aktywności wody oraz wysokiej zawartości NaCl [7]. Ponadto, w przypadku mięsa nierozdrobnionego procesy dyfuzji są zróżnicowane, a zaszczepienie kulturami bakterii może być nierównomierne. Dodatkowym utrudnieniem jest dobór odpowiednich warunków fermentacji. Wyższa temperatura sprzyja rozwojowi drobnoustrojów probiotycznych, natomiast niższa temperatura i wydłużony czas fermentacji korzystnie wpływają na walory smakowe. Produkty mięsne z dodatkiem probiotyków pojawiły się na rynku niemieckim i japońskim w roku 1998 [2]. Do tej pory brak jest standardów oraz zasad dotyczących

fermentacji i dojrzewania wędlin surowych z dodatkiem drobnoustrojów probiotycznych. Podstawowe zagadnienia obejmują charakterystykę i przygotowanie surowców mięsnych oraz wybór odpowiednich szczepów bakterii probiotycznych, a także ocenę wpływu probiotyków na jakość produktu i jego walory zdrowotne. Innym problemem jest współwystępowanie innych szczepów bakterii w produktach mięsnych. Z tego powodu do oceny przeżywalności drobnoustrojów probiotycznych konieczna jest pełna identyfikacja szczepów bakterii kwasu mlekowego [8]. Według wytycznych FAO/WHO szczepy bakterii mogą być uznane za probiotyczne, gdy podczas badań klinicznych udowodniony zostanie korzystny wpływ na zdrowie oraz gdy ich liczba w 100 g porcji żywności będzie wynosić co najmniej 10^6 jtk/g [10]. Według niektórych autorów, w celu uzyskania efektu prozdrowotnego produktu żywnościowego konieczna jest liczba bakterii na poziomie 10^8 - 10^{10} komórek w 1 g produktu [11, 16].

Celem pracy była ocena wzrostu i przeżywalności trzech szczepów bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych oraz określenie ich wpływu na jakość sensoryczną kielbasy wieprzowej surowo dojrzewającej w czasie długotrwałego przechowywania (230 dni) w temperaturze 4 °C.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły kielbasy wieprzowe surowo dojrzewające z dodatkiem bakterii fermentacji mlekowej. Zastosowano szczep probiotyczny *Lactobacillus casei* LOCK 0900 (zgłoszenie patentowe nr P-382760) oraz dwa potencjalnie probiotyczne: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12 (Chr. Hansen) i *Lactobacillus acidophilus* Bauer, pochodzący z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej (zdeponowany w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu pod numerem B/00019). Probiotyczne szczepy bakterii powinny spełniać aspekty bezpieczeństwa, wykazywać zdolność do przeżycia i namnażania w przewodzie pokarmowym, charakteryzować się przydatnością do procesów technologicznych i przechowywania. Istotnym zagadnieniem jest wykazanie korzystnego wpływu na zdrowie człowieka [6, 18].

Liczba bakterii probiotycznych w hodowli wyjściowej, która służyła do zaszczerpienia badanych prób kielbasy wieprzowej, wynosiła około 10^9 jtk/cm³ w zależności od zastosowanego szczepu.

Proces produkcji kielbas surowo dojrzewających przeprowadzano w Katedrze Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Surowiec stanowiły polędwice wieprzowe (80 %) oraz słonina (20 %). Mięso peklowano na sucho 24 h w temp. 2 °C mieszanką peklującą o składzie: 20 g soli morskiej, 9,7 g peklosoli, 0,3 g azotanu(V) sodu w stężeniu 2,8 % w stosunku do masy mięsa. Następnie mięso było rozdrabniane w wilku laboratoryjnym i mieszane z wcześniej pokrojoną i zamrożoną (-19 °C) słoniną. Do zapeklowanego farszu dodawano 0,6 %

glukozy, po czym dodano zawiesinę odpowiedniego szczepu bakterii probiotycznych. W ten sposób otrzymano trzy warianty kielbas, każdy z dodatkiem innego szczepu bakterii fermentacji mlekowej.

Kielbasy poddawano fermentacji w temp. 16 °C i wilgotności względnej powietrza 75 - 85 % przez trzy dni. Po tym czasie produkt wędzono w temp. 27 - 30 °C, a następnie poddawano dojrzewaniu właściwemu przez 3 tygodnie w temp. 16 °C. Zapakowane próżniowo kielbasy przechowywano przez 230 dni bez dostępu światła w temp. 4 °C.

W próbkach kielbas monitorowano wzrost i przeżywalność bakterii fermentacji mlekowej, a kielbasy poddawano analizie sensorycznej z zastosowaniem metody Ilościowej Analizy Opisowej (QDA).

Ocenę liczby bakterii przeprowadzano po zakończonym dojrzewaniu (dzień 0) oraz podczas przechowywania po 30, 60, 90, 150, 180 i 230 dniach. Liczbę bakterii po zakończeniu inkubacji oznaczano metodą płytkową przez posiew wgłębny na podłożu MRS (Biokar Diagnostics, Francja) lub BSM (Sigma Aldrich, Niemcy) w zależności od stosowanego szczepu bakterii. Wyniki podano w jednostkach tworzących kolonie w 1g produktu (jtk/g). Posiewy inkubowano w temp. 37 °C przez 48 h.

Analizę sensoryczną metodą QDA wykonywał zespół przeszkolony zgodnie z wymaganiami normy PN-EN ISO 8586-2:2008 [19]. Wybrano 14 wyróżników jakości sensorycznej i oceny ich intensywności nanoszono na niestrukturyzowaną skalę graficzną (0-10 j.u.). Ocenę przeprowadzano po 30, 60, 150, 180 i 230 dniach. Oceniane wyróżniki to: intensywność zapachu wędzankowego, intensywność zapachu tłuszczowego, intensywność zapachu ostrego, intensywność zapachu innego, rozdrobnienie tkanki mięsnej, zwięzłość (wsad), tłuszcz "widoczny", soczystość, intensywność smaku wędzankowego, intensywność smaku tłuszczu, intensywność smaku słonego, intensywność smaku kwaśnego, intensywność smaku innego, jakość ogólna.

Analizę statystyczną przeprowadzono w celu oceny zależności między czasem przechowywania a przeżywalnością badanego szczepu bakterii. Zastosowano analizę korelacji i regresji liniowej. Opracowanie statystyczne wyników oznaczeń mikrobiologicznych wykonano w programie Microsoft Excel oraz Statgraphics v. 5.1.

Wyniki i dyskusja

Kielbasy surowo dojrzewające mogą stanowić dostateczny nośnik drobnoustrojów probiotycznych, mimo tego że wyroby mięsne nie są tak dobrym środowiskiem dla ich rozwoju jak mleko. Z drugiej jednak strony mięso w czasie pasażu przez układ pokarmowy pełni funkcję protekcyjną dla bakterii probiotycznych. Twierdzi się, że chroni bakterie probiotyczne przed wpływem żółci [9, 14]. Bakterie probiotyczne dodane w procesie produkcji wędlin fermentowanych powinny wykazywać zdolność do przetrwania w warunkach procesu technologicznego [23].

Aby zwiększyć namnażanie i przeżywalność bakterii probiotycznych, do produktów mięsnych dodaje się mono- i polisacharydy na poziomie 0,4 - 0,8 % [16, 21]. W badanych próbkach kielbas z dodatkiem 0,6 % glukozy, po procesie dojrzewania w temp. 16 °C przez 21 dni liczba bakterii kwasu mlekowego była duża i wynosiła: 9,20, 9,22 i 8,70 log jtk/cm³ odpowiednio w próbkach z dodatkiem szczepów: *Lactobacillus acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12 i *L. casei* ŁOCK 0900 (tab. 1). Podobne wyniki liczby bakterii probiotycznych w poledwicach surowo dojrzewających uzyskały Neffe i Kołożyn-Krajewska [17]. Wykazano, że dodatek glukozy do poledwic wieprzowych przed procesem fermentacji korzystnie wpływał na wzrost i rozwój bakterii kwasu mlekowego, w tym szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0900 i *Lb. casei* ŁOCK 0908. Liczba bakterii kwasu mlekowego w próbkach z dodatkiem 0,2 % glukozy wynosiła 10⁸ jtk/g i była wyższa o jeden rząd logarytmiczny w porównaniu z próbami bez glukozy [17].

Procesy fermentacji i dojrzewania produktów mięsnych pozwalają na uniknięcie wysokotemperaturowej obróbki cieplnej, co umożliwia dobrą przeżywalność bakterii w farszu kielbas surowych [5]. Zastosowana temperatura procesu dojrzewania (16 °C) mogła stwarzać dobre warunki rozwoju bakterii mlekowych, w tym szczepów probiotycznych [1, 2]. Próbkę kielbas po zakończeniu dojrzewania i 7,5 miesiąca (230 dni) przechowywania, w warunkach beztlenowych, w temp. 4 °C, z dodatkiem szczepu *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12 charakteryzowały się dużą ogólną liczbą bakterii kwasu mlekowego (tab. 1). Podobnie w pracy Neffe i Kołożyn-Krajewskiej [17] wykazano, że bakterie probiotyczne *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 i *L. casei* ŁOCK 0908 rozmnażają się i przeżywają w poledwicach przechowywanych w temp. 4 °C w opakowaniach próżniowych przez 6 miesięcy.

Podczas przechowywania przeżywalność szczepów *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12 i *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 była na podobnym poziomie około 10⁷-10⁸ jtk/g (tab. 1). W przypadku szczepu *B. animalis subsp. lactis* Bb-12 oraz *L. casei* ŁOCK 0900 nie było istotnej zależności liniowej między liczbą przeżywających bakterii a czasem przechowywania ($p > 0,05$). Współczynnik korelacji liniowej pomiędzy czasem przechowywania a przeżywalnością: $r = -0,53$, zarówno dla *B. animalis subsp. lactis* Bb-12, jak i *L. casei* ŁOCK 0900, wskazuje, że zależności te były umiarkowane.

Jedynie w przypadku szczepu *Lactobacillus acidophilus* Bauer po 90 dniach zaobserwowano znaczące (o 3 rzędy logarytmiczne), w porównaniu z wartością po fermentacji, zmniejszenie liczby bakterii. Współczynnik korelacji $r = -0,95$ wskazuje na stosunkowo mocną i istotną ($p < 0,01$) zależność liniową między czasem przechowywania a przeżywalnością szczepu *Lactobacillus acidophilus* Bauer. Wartość p-value wyniosła 0,0012, co świadczy o statystycznie istotnym obniżeniu liczby bakterii *L.*

acidophilus Bauer w czasie przechowywania. Jaworska i wsp. [13] także wykazali nieznaczne obniżenie liczby bakterii kwasu mlekowego w tym *L. acidophilus*. Bauer w polędwicach fermentowanych po 180 dniach przechowywania z 7,95 do 7,00 log jtk/g w próbach bez dodatku glukozy i z 7,69 do 7,53 log jtk/g w próbach z dodatkiem 0,3 % glukozy [13]. Obniżenie liczby bakterii mogło być spowodowane nagromadzeniem kwasu mlekowego, który hamował rozwój bakterii mlekowych. Poszczególne szczepy bakterii mlekowych wytwarzają różne ilości kwasu mlekowego, co powinno być uwzględniane przy ich wyborze [15]. Ponadto, wytwarzanie kwasu mlekowego przez bakterie mlekowe zależy od średnicy kiełbasy, co związane jest z dostępnością tlenu [12].

Tabela 1. Liczba bakterii kwasu mlekowego w próbkach kiełbas surowo dojrzewających po procesie dojrzewania i przechowywaniu [log jtk/g].

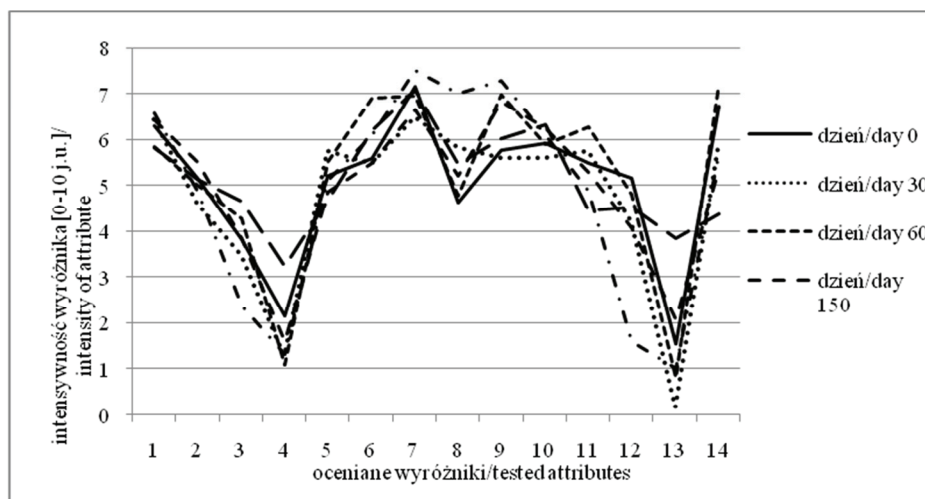
Table 1. Count of lactic acid bacteria in samples of dry fermented sausages after ripening and during storage [log cfu/g].

Czas przechowywania [dni] Storage period [days]	Kiełbasy z dodatkiem szczepów probiotycznych Sausages with probiotic strains added		
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> Bauer	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. Bb-12	<i>Lactobacillus casei</i> ŁOCK 0900
0	9,20 ± 0,62	9,22 ± 1,15	8,70 ± 1,19
30	8,93 ± 1,08	8,40 ± 0,68	8,39 ± 0,13
60	8,35 ± 0,68	8,08 ± 0,27	8,17 ± 0,0
90	8,51 ± 0,32	8,41 ± 0,48	8,65 ± 0,63
150	6,89 ± 0,13	8,09 ± 0,02	7,22 ± 0,04
180	6,63 ± 0,04	7,67 ± 0,14	8,08 ± 0,09
230	6,82 ± 0,26	8,49 ± 0,10	8,15 ± 0,08
p	< 0,01	> 0,10	> 0,10
Współczynnik korelacji r Correlation coefficient r	-0,95*	-0,53	-0,53

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation ; * wartość założonego poziomu istotności p = 0,01; n = 10.

Badane próbki kielbas po okresie przechowywania spełniały kryterium minimum probiotycznego (populacja probiotyków ponad 10^6 jtk/g). Wszystkie badane szczepy bakterii wykazały zdolność do przeżywania do ostatniego dnia badań w liczbie 10^6 - 10^8 jtk/g.



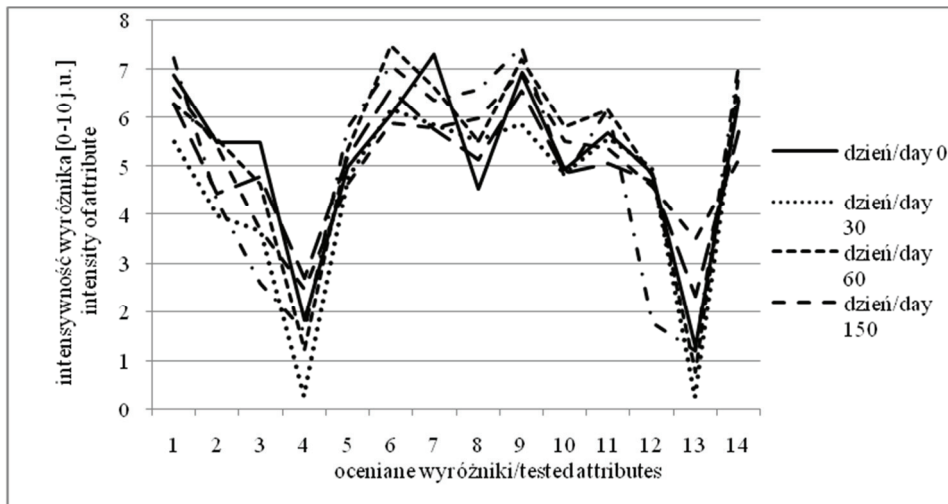
Objaśnienia: / Explanatory notes:

Zapach / Smell: 1 – wędzony / like smoked bacon; 2 – zjełczały / rancid; 3 – ostry / pungent; 4 – inny / other; 5 – rozdrobnienie tkanki mięsnej / finely chopping of muscle tissue; 6 – zwięzłość / compactness; 7 – tłuszcz "widoczny" / "visible" fat; 8 – soczystość / juiciness; Smak / Flavour: 9 – wędzony / like smoked bacon; 10 – zjełczały / rancid; 11 – słony / salty; 12 – kwaśny / sour; 13 – inny / other; 14 – jakość ogólna / overall quality.

Rys. 1. Wpływ czasu przechowywania na jakość sensoryczną kielbasy surowo dojrzewającej z dodatkiem szczepu *Lactobacillus casei* LOCK 0900.

Fig. 1. Effect of storage time duration on sensory quality of raw (dry) fermented sausages with added *Lactobacillus casei* LOCK 0900.

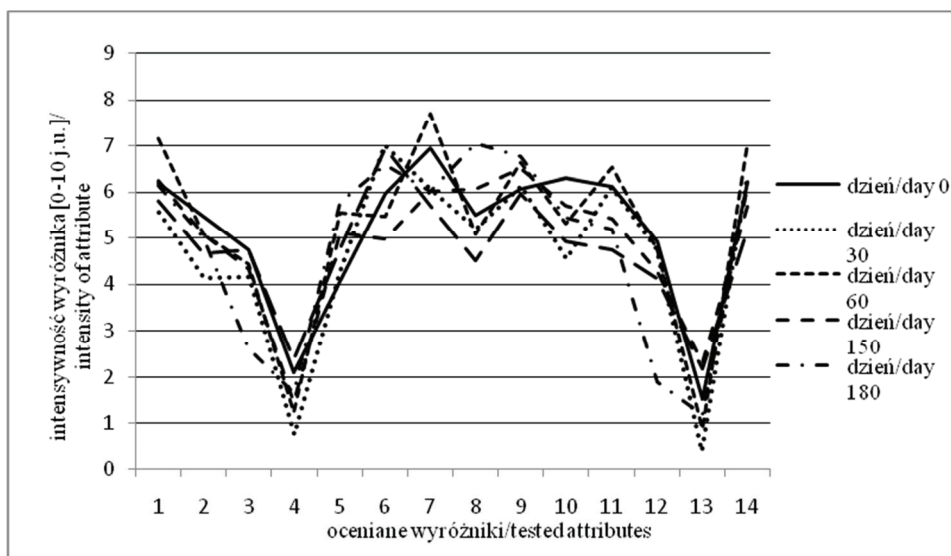
Prawidłowo przeprowadzony proces produkcji pozwala na uzyskanie wyrobów mięsnych charakteryzujących się korzystnymi cechami sensorycznymi. We wszystkich badanych kielbasach wysoko oceniono smak i zapach wędzony. Może to być wynikiem zastosowanej temperatury dojrzewania i dodatku bakterii probiotycznych. Największe zmiany w wyczuwalnym zapachu wędzonym odnotowano w przypadku kielbas z dodatkiem *Lactobacillus casei* LOCK 0900 (rys. 1). Wyróżniki uznane za negatywne, czyli: smak gorzki, zapach ostry, zapach inny, były słabo wyczuwalne we wszystkich badanych próbkach. Intensywność smaku kwaśnego została oceniona jako nisko wyczuwalna. Warto zauważyć, że w 180. dniu przechowywania stwierdzono gwałtowne zmniejszenie intensywności smaku kwaśnego we wszystkich badanych próbkach (rys. 1, 2 i 3).



Objaśnienia jak pod rys. 1 / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Wpływ czasu przechowywania na jakość sensoryczną kielbasy surowo dojrzewającej z dodatkiem szczepu *Lactobacillus acidophilus* Bauer.

Fig. 2. Effect of storage time duration on sensory quality of raw (dry) fermented sausages with added *Lactobacillus acidophilus* Bauer.



Objaśnienia jak pod rys. 1 / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 3. Wpływ czasu przechowywania na jakość sensoryczną kielbasy surowo dojrzewającej z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12.

Fig. 3. Results of sensory analysis of fermented sausages with *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12 during storage.

Wszystkie badane próbki kielbas charakteryzowały się wysoką jakością ogólną, co więcej, wyróżnik ten kształtował się na podobnym poziomie w całym okresie przechowywania. Można wnioskować, że dodatek szczepów probiotycznych i potencjalnie probiotycznych pozytywnie wpływa na jakość ogólną wyrobu mięsnego.

Wnioski

1. Liczba bakterii trzech zastosowanych szczepów bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych w kielbasach wieprzowych przechowywanych w temp. 4 - 6 °C przez 230 dni była powyżej minimum potrzebnego do uznania produktu za probiotyczny (10^6 jtk/g) zgodnie z wymaganiami FAO/WHO, co wskazuje na ich przydatność do procesów technologicznych i przechowalniczych.
2. Najmniejszą przeżywalnością w czasie przechowywania charakteryzował się szczep potencjalnie probiotyczny *Lactobacillus acidophilus* Bauer, natomiast przeżywalność dwóch pozostałych szczepów: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12 i *Lactobacillus casei* LOCK 0900 była podobna (10^8 jtk/g kielbasy).
3. Badane próby kielbas z dodatkiem bakterii probiotycznych charakteryzowały się wysoką jakością sensoryczną zarówno po fermentacji, jak i w ciągu 230 dni przechowywania chłodniczego.
4. Wieprzowa kielbasa dojrzewająca z dodatkiem bakterii o właściwościach probiotycznych jest ich dobrym nośnikiem przez cały okres przechowywania (230 dni) w temp. 4 - 6 °C, a szczepami szczególnie przydatnymi do produkcji są: *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12.

Literatura

- [1] Ammor M.S., Mayo B.: Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Sci.*, 2007, **76** (1), 138-146.
- [2] Arihara K.: Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Sci.*, 2006, **74** (1), 219-229.
- [3] Bielecka M.: Żywność probiotyczna. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka* 2002, **4** (1), 27-32.
- [4] Bystron J., Molenda J.: Rola bakterii kwasu mlekowego w utrwalaniu fermentowanych przetworów mięsnych. *Życie Weter.*, 2004, **79** (12), 688-690.
- [5] Cegińska A., Masłowska K.A.: Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w przetwórstwie mięsa. *Med. Weter.*, 2009, **65** (11), 735-738.
- [6] Chen M. F.: The mediating role of subjective health complaints on willingness to use selected functional foods. *Food Qual. Prefer.*, 2011, **22** (1), 110-118.
- [7] De Vuyst L., G. Falony G., Leroy F.: Probiotic in fermented sausages. *Meat Sci.*, 2008, **80** (1), 75-78.
- [8] Dolatowski Z. J., Kołożyn-Krajewska D.: Bakterie probiotyczne w produktach mięsnych. *Przem. Spoż.*, 2010, **3** (64), 21-25.

- [9] Ganzle M.G., Hertel C., Vossen J.M., Hammes W.P.: Effect of bacteriocin producing lactobacilli on the survival of *Escherichia coli* and *listeria* in a dynamic model of the stomach and the small intestine. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **48** (10), 21-35.
- [10] Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report a Joint FAO/WHO Working Group, 2002.
- [11] Heller K.J.: Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005, **73** (2), 374-379.
- [12] Hugas M., Monfort J.M.: Bacterial starter cultures for meat fermentation. *Food Chem.*, 1997, **59** (4), 547-554.
- [13] Jaworska D., Neffe K., Kolożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.: Survival during storage and sensory effect of potential probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus* Bauer and *Lactobacillus casei* Bif3^{IV} in dry fermented pork loins. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2011, **46** (12), 2491-2497.
- [14] Klingberg T.D., Budde B.B.: The survival and persistence in the human gastrointestinal tract of five potential probiotic lactobacilli consumed as freeze-dried cultures or as probiotic sausage. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **109** (1-2), 157-159.
- [15] Kolożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.J.: Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochem.*, 2012, **47** (12), 1761-1772.
- [16] Libudzisz Z.: Bakterie fermentacji mlekowej. W: Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z.: *Mikrobiologia techniczna. Mikroorganizmy w biotechnologii, ochronie środowiska i produkcji żywności.* Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2008, ss. 25 -58.
- [17] Neffe K., Kolożyn-Krajewska D.: Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w dojrzewających produktach mięsnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5** (72), 167-177.
- [18] Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z.: Probiotyki – historia i mechanizmy działania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **4** (71), 5-19.
- [19] PN-EN ISO 8586-2:2008. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Część 2: Eksperti oceny sensorycznej.
- [20] Saarela M., Mogensen G., Fonden R., Matto J., Mattila-Sandholm T.: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.*, 2000, **84** (3), 197-215.
- [21] Työppönen S, Petäjä E., Mattila-Sandholm T.: Bioprotectives and probiotics for dry sausages. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **83** (3), 233-244.
- [22] Wójciak K., Dolatowski Z. J., Okoń A.: The effect of probiotic strains on oxidative stability of cured pork meat products. *Fleischwirtschaft*, 2012, **1**, 100-104.
- [23] Zhang W., Xiao S., Samaraweera H., Lee E.J., Ahn D.U.: Improving functional value of meat products. *Meat Sci.*, 2010, **6** (1), 15-31.
- [24] Ziarno M., Zaręba D.: Charakterystyka komercyjnych kultur startowych stosowanych w przetwórstwie mięsa. *Med. Weter.*, 2008, **64** (9), 1078-1082.

SURVIVAL OF BACTERIA WITH PROBIOTIC PROPERTIES IN DRY FERMENTED SAUSAGES DURING REFRIGERATED STORAGE

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the growth and survival of three probiotic bacteria strains during long-term refrigerated storage and to assess the impact of those bacteria on the sensory quality of dry fermented pork sausages. Three variants of sausages were prepared, each type with a different strain of milk fermentation bacteria. There were applied: a *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic strain and two potentially probiotic strains: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb-12 (Chr. Hansen) and *Lactobacillus acidophilus* Bauer. the scope of the research experiment, it was planned to analyze three types of sau-

sage samples, each type with one of the three probiotic strains added: *Lactobacillus casei* LOCK 0900 (Patent Claim No P-382760), *Bifidobacterium animalis subsp.* Bb-12 (Chr. Hansen), and *Lactobacillus acidophilus* Bauer. The sausages stored for 230 days at a temperature between 4 and 6 °C were microbiologically and sensory analyzed. The count of lactic acid bacteria (LAB) was determined immediately after the fermentation and 30, 60, 90, 150, 180, and 230 days thereafter. The sensory quality was performed using a method of Quantitative Descriptive Analysis (QDA).

The count of lactic acid bacteria in the sausages studied was between 10^8 and 10^9 CFU/g. The samples of sausages with the added strains of *Lb. casei* LOCK 0900 and *B. animalis ssp. lactis* Bb-12, after fermentation and after the 230 day-storage period were characterized by a high count of lactic acid bacteria. On the 90th day, a significant decrease (by 3 logarithmic orders) was reported in the count of those bacteria in the case of the sausages with the *Lb. acidophilus* Bauer strain added. The survival rate of those bacteria in the sausages depended on the storage time. The sausages analyzed were characterized by a high sensory quality over the entire period of storage. After the 230-day storage, in all the samples analyzed, the count of lactic acid bacteria was above 10^6 CFU/g; this confirms the usefulness of those bacteria in technological processes and long-term storage. The *Lb. acidophilus* Bauer strain was characterized by the lowest survival rate during storage while the survival rates of the two other strains was similar and remained at a level 10^8 CFU/g of sausage.

Key words: probiotics, dry fermented sausages, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, storage, survival ☒