

ANNA OKOŃ, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI

**PROTEOLIZA BIAŁEK W WĘDLINACH SUROWO
DOJRZEWAJĄCYCH Z UDZIAŁEM SZCZEPU PROBIOTYCZNEGO
LACTOBACILLUS CASEI LOCK 0900**

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900 na proteolizę białek w polędwicach surowo dojrzewających.

Materiał badawczy stanowiły polędwice wieprzowe surowo dojrzewające z udziałem probiotyku. Ocenę przemian wykonano bezpośrednio po dojrzewaniu i po 2 miesiącach chłodniczego przechowywania. Przygotowano trzy warianty badawcze: próbę kontrolną bez probiotyku, próbę z probiotykiem oraz próbę z probiotykiem i askorbinianem sodu. Oznaczono: indeks proteolityczny; zawartość azotu rozpuszczalnego w wodzie; wolne aminokwasy; peptydy rozpuszczalne w wodzie; dokonano oceny aktywności przeciwutleniającej produktów proteolizy białek wobec kationorodnika ABTS⁺.

Obecność szczepu probiotycznego podczas dojrzewania polędwic surowo dojrzewających wpłynęła na zahamowanie szybkości przemian proteolitycznych w czasie przechowywania. Najwyższy indeks proteolityczny po 2 miesiącach chłodniczego przechowywania stwierdzono w próbie kontrolnej (10,96 %) i był on wyższy o 0,51 % od próby z probiotykiem i askorbinianem sodu (P2), i o 0,52 % od próby z probiotykiem (P1). W próbach z dodatkiem probiotyku po 2 miesiącach chłodniczego przechowywania oznaczono mniej wolnych aminokwasów (28,61 - 28,71 mg/g) w porównaniu z próbą kontrolną (29,02 mg/g). Próba kontrolna zawierała więcej peptydów po dojrzewaniu (2,85 mg/g) i po przechowywaniu (3,78 mg/g) w porównaniu z próbami z dodatkiem probiotyku (odpowiednio po dojrzewaniu 2,35 - 2,53 mg/g i po przechowywaniu 3,24 - 3,44 mg/g). Po dojrzewaniu najwyższą aktywnością przeciwrodnikową charakteryzowały się ekstrakty wodne peptydów w próbach z udziałem probiotyku (1,4 - 1,70 mg Troloxu/mg peptydów), natomiast najniższą wolne aminokwasy w próbie kontrolnej (0,03 mg Troloxu/mg aminokwasów).

Słowa kluczowe: polędwice dojrzewające, probiotyk, produkty proteolizy, aktywność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

Proteoliza jest jednym z najważniejszych biochemicznych procesów w produktach mięsnych surowo dojrzewających, w których następują przemiany i rozkład białek.

Mgr inż. A. Okoń, prof. dr hab. Z. J. Dolatowski, Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

łek, głównie pod wpływem enzymów endogennych i egzogennych pochodzenia mikrobiologicznego, do polipeptydów, peptydów i aminokwasów [17, 25]. W pierwszym etapie dojrzewania wyrobu mięsnego następuje rozluźnienie struktur miofibrylarnych pod wpływem enzymów endogennych, których aktywność jest uzależniona od wielu czynników m.in.: temperatury, wartości pH, zawartości soli, aktywności wody [22, 24]. Wkład mikroorganizmów w proteolizę nierozdrobnionych produktów mięsnych nie jest w pełni poznany [7, 20, 21]. Rodriguez i wsp. [17] wykazali dużą aktywność proteolityczną izolowanej mikroflory zasiedlającej surowo dojrzewające szynki. Stwierdzili oni, że przebadana mikroflora (86 preparatów: ziarniaki G(+) (48), pleśnie (18) i drożdże (20)) wykazuje wysoką degradację powyżej 50 % miozyny w bulionie. Fadda i wsp. [3] oraz Sanza i wsp. [20, 21] wykazali działanie proteolityczne bakterii *L. sakei*, *L. curvatus*, *L. casei*, które przejawia się jako wzrost zawartości wolnych aminokwasów. Zaobserwowali oni również istotny wzrost zawartości kwasu glutaminowego, alaniny i leucyny w przypadku działania proteolitycznego *L. sakei*; a także kwasu glutaminowego i alaniny w przypadku działania *L. curvatus* oraz argininy i kwasu glutaminowego w przypadku działania *L. casei*. Toldrá i wsp. [24] podkreślają główną rolę endogennych enzymów w procesie dojrzewania, ponieważ uważają, że jest zbyt mała liczba drobnoustrojów wewnątrz tkanki mięśniowej do wytworzenia odpowiedniej ilości enzymów.

Celem podjętych badań było określenie wpływu szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900 na proteolizę białek w polędwicach surowo dojrzewających.

Material i metody badań

Produkcję wyrobu surowo dojrzewającego z wykorzystaniem bakterii probiotycznych wykonano w Katedrze Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Badano polędwicę wieprzową i szczep probiotyczny bakterii *Lactobacillus casei* LOCK 0900. Użyte w doświadczeniu bakterie probiotyczne pochodziły z kolekcji Katedry Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Surowiec do badań stanowiły polędwice wieprzowe, wolne od wad jakościowych, wykrawane ze sztuk tej samej rasy o zbliżonej masie przyżyciowej (około 120 kg) otrzymane z zakładu mięsnego „Cio-czek”. Z tusz wieprzowych po 24 h od uboju wykrawano polędwice i dzielono na części, a następnie peklowano metodą „na sucho” mieszanką peklującą (20 g soli morskiej; 9,7 g peklosoli i 0,3 g azotanu sodu) w stężeniu 2,8 % w stosunku do masy mięsa. Następnie do prób mięsnych dodawano glukozę w ilości 6 g/kg mięsa oraz szczep bakterii *Lb. casei* LOCK 0900 w stężeniu 2 ml/kg mięsa (zawierający w 1 ml 10^8 - 10^9 jtk bakterii probiotycznych). Przygotowano trzy warianty prób:

- K1 - próba z glukozą, bez dodatków bakterii probiotycznych,

- P1 - próba z glukozą i szczepem bakterii *Lb. casei* ŁOCK 0900,
- P2 - próba z glukozą, askorbinianem sodu i szczepem bakterii *Lb. casei* ŁOCK 0900.

Próby polędwic poddawano 3-tygodniowemu dojrzewaniu w temp. 16 - 18 °C i wilgotności 70 - 80 %. Podczas procesu dojrzewania próby były wędzone zimnym dymem (30 °C/30 min).

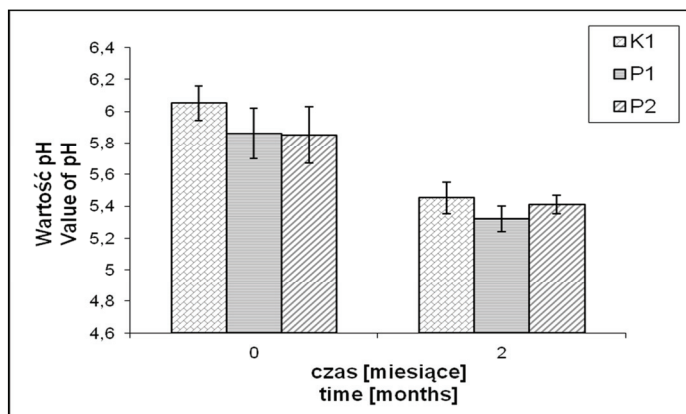
Wyroby poddawano badaniom laboratoryjnym bezpośrednio po dojrzewaniu oraz po 2 miesiącach chłodniczego przechowywania (4 °C). Przebadano dwie serie produktów. Badania wykonano w trzech powtórzeniach w odniesieniu do każdego oznaczenia w serii.

Oznaczano kwasowość ogólną zgodnie z PN [12]. Pomiary wykonywano przy użyciu pH-metru cyfrowego CPC-501 (Elmetron) i elektrody zespolonej ERH-111 w wyciągu wodnym produktu. Określano frakcje azotu metodą Kjeldahla, tj.: azot ogólny zgodnie z PN [11], azot niebiałkowy wg Roseiro i wsp. [18], azot rozpuszczalny w wodzie wg Wanga [25] oraz określano indeks proteolityczny. W badaniach oznaczano także zawartość wolnych aminokwasów wg Mikami i wsp. [6] i metodą ninhydrynową [1] przez pomiar absorbancji za pomocą spektrofotometru Nicole Evolution 300 (Thermo Elektron Corporation) przy długości fali $\lambda = 570$ nm. Przeprowadzono analizę jakościową i ilościową wolnych aminokwasów w jednej serii produktów bezpośrednio po dojrzewaniu i przechowywaniu. Wolne aminokwasy oznaczano metodą chromatografii jonowymiennej przy użyciu analizatora aminokwasów AAA 400, firmy INGOS. Zawartość peptydów rozpuszczalnych w wodzie oznaczano metodą spektrofotometryczną wg Lowry'ego i wsp. [5] przy długości fali $\lambda = 750$ nm. W produktach proteolizy białek określano aktywność przeciwutleniającą wobec kationorodnika ABTS⁺ (2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)) metodą spektrofotometryczną [15]. Wyniki przedstawiono jako aktywność przeciwutleniającą w mg Troloxu/g produktu oraz przeliczono na aktywność peptydów i aminokwasów (mg Troloxu/mg peptydów i mg Troloxu/mg aminokwasów).

Wyniki i dyskusja

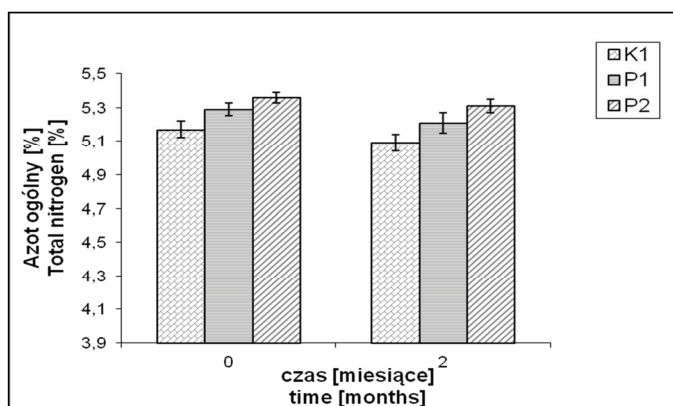
Wykazano wpływ dodatku probiotyku oraz okresu chłodniczego przechowywania na zmiany wartości pH (rys. 1). W próbach z probiotykiem oznaczono niższe wartości pH bezpośrednio po dojrzewaniu polędwic (5,85 - 5,86) i po okresie 2-miesięcznego chłodniczego ich przechowywania (5,32 - 5,41), w porównaniu z próbą kontrolną (odpowiednio 6,05 i 5,45).

Bezpośrednio po dojrzewaniu zawartość azotu ogólnego w próbach polędwic kształtowała się na poziomie 5,17 - 5,36 % (rys. 2). Po 2 miesiącach chłodniczego przechowywania we wszystkich próbach nastąpiło zmniejszenie zawartości azotu ogólnego o ok. 0,5 % oraz zachowanie relacji wartości między badanymi próbkami.



Rys. 1. Wartość pH połędwic surowo dojrzewających.

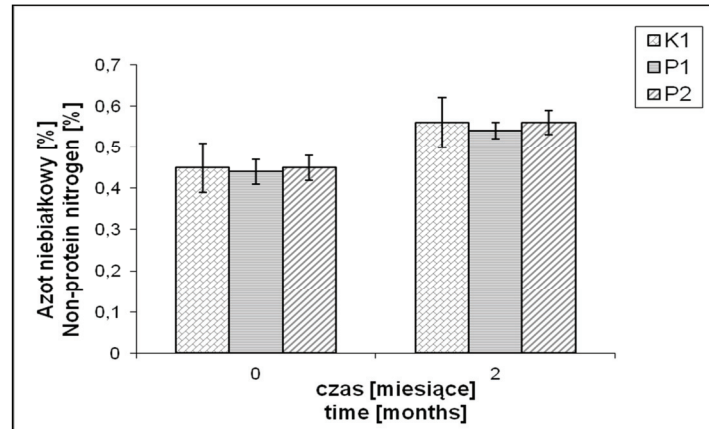
Fig. 1. Value of pH in raw-ripening pork loins.



Rys. 2. Zawartość azotu ogólnego w połędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 2. Content of total nitrogen in raw-ripening pork loins.

Wyniki badań zawartości azotu niebiałkowego w próbach bezpośrednio po dojrzewaniu były zbliżone i przybierały wartości z przedziału 0,44 - 0,45 % (rys. 3). We wszystkich wariantach połędwic po okresie chłodniczego przechowywania stwierdzono zwiększenie zawartości azotu niebiałkowego. Największy wzrost wartości tego parametru po 2 miesiącach przechowywania wystąpił w próbie kontrolnej (K1) oraz w próbie z dodatkiem probiotyku i askorbinianu sodu (P2); wynosił on 0,11 %.



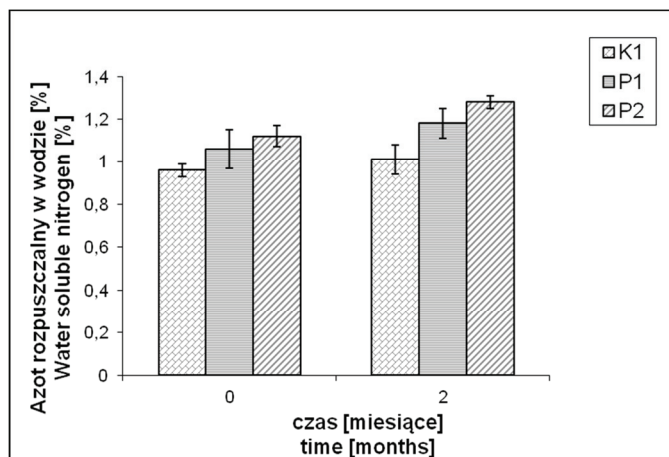
Rys. 3. Zawartość azotu niebiałkowego w polędwiczki surowo dojrzewających.

Fig. 3. Content of non-protein nitrogen in raw-ripening pork loins.

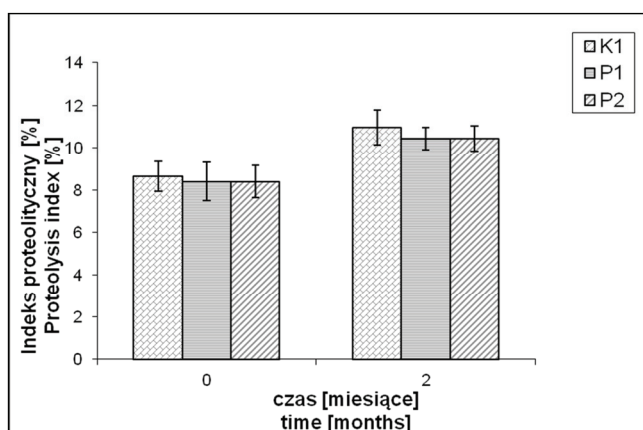
Obserwowany wzrost zawartości azotu niebiałkowego bezpośrednio po dojrzewaniu polędwic jest wynikiem nagromadzenia się produktów hydrolizy białek, przede wszystkim w wyniku aktywności proteolitycznej enzymów tkanki mięśniowej, o czym informują i inni autorzy [23, 24]. O'Halloran i wsp. [9] zaobserwowali wpływ niskiego pH mięsa wołowego na aktywność i uwalnianie katepsyny B i katepsyny L z lizosomów. Podobne tendencje wykazali również Berge i wsp. [2], określając aktywność enzymów lizosomalnych i degradację białek miofibrylarnych na podstawie obniżenia wartości pH po wstrzyknięciu kwasu mlekowego do mięsa wołowego. Sugeruje się, że niskie pH surowca może sprzyjać uwolnieniu katepsyn z lizosomów i wzrost ich aktywności [2, 9]. Zmiany aktywności poszczególnych katepsyn (B, L i H) w czasie dojrzewania szynek hiszpańskich zaobserwowali również Parreño i wsp. [10]. Natomiast Pomponio i wsp. [13], oceniając inną grupę egzogennych enzymów tkanki mięśniowej, zaobserwowali zmniejszenie aktywności kalpain wraz ze wzrostem kwasowości mięsa w czasie przechowywania poubojowego.

Analizując zawartość azotu rozpuszczalnego w wodzie po dojrzewaniu polędwic (rys. 4), zaobserwowano najniższą jego wartość w próbie kontrolnej (0,96 %), a najwyższą w próbie z probiotykiem i askorbinianem sodu (1,12 %). Najmniejsze zmiany azotu rozpuszczalnego w wodzie podczas przechowywania stwierdzono w próbie kontrolnej (0,05 %). Natomiast największe zmiany po przechowywaniu zaobserwowano w próbie z probiotykiem i askorbinianem sodu (0,16 %).

Wyniki indeksu proteolitycznego (rys. 5), który charakteryzuje szybkość zachodzących przemian proteolitycznych, wykazały zbliżone wartości we wszystkich wariantach badawczych bezpośrednio po dojrzewaniu (ok. 8,4 %) i po przechowywaniu (ok. 10,4 %).



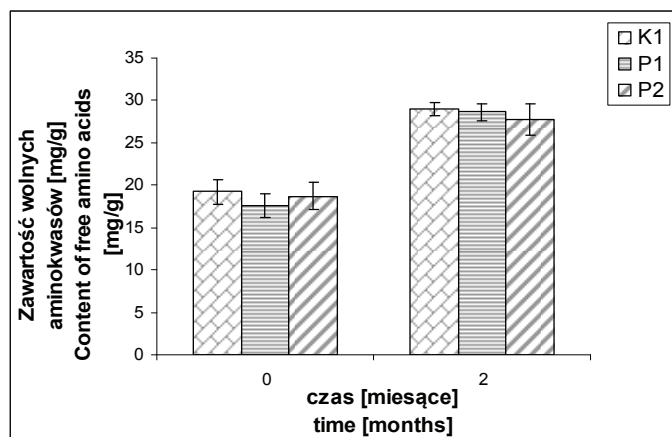
Rys. 4. Zawartość azotu rozpuszczalnego w wodzie z polędwic surowo dojrzewających.
 Fig. 4. Content of water soluble nitrogen in raw-ripening pork loins.



Rys. 5. Indeks proteolitycznych polędwic surowo dojrzewających.
 Fig. 5. Proteolysis index in raw-ripening pork loins.

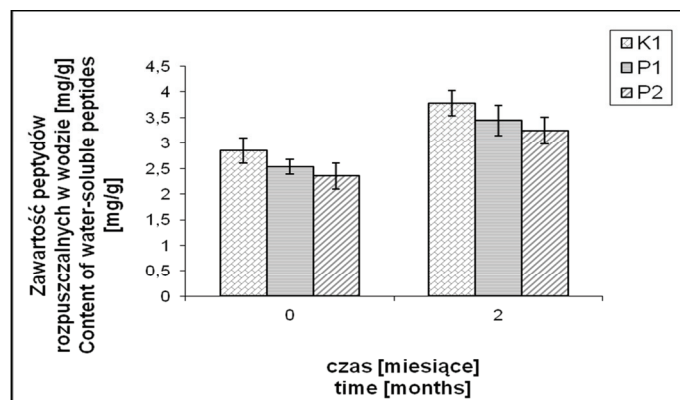
Zawartość wolnych aminokwasów po dojrzewaniu i po przechowywaniu była zróżnicowana w poszczególnych wariantach badawczych polędwic (rys. 6). Po 2-miesięcznym przechowywaniu największą zawartość wolnych aminokwasów oznaczono w próbie kontrolnej (19,23 mg/g), a najmniejszą w próbie z dodatkiem szczepu *Lb. casei* LOCK 0900 (17,60 mg/g). Największy przyrost zawartości wolnych aminokwasów podczas przechowywania zaobserwowano w próbie z dodatkiem probiotyku (o 11,00 mg/g), zaś najmniejszy w próbie z dodatkiem probiotyku i askorbinianu sodu (o 9,01 mg/g). Na zawartość aminokwasów w produkcie duży wpływ ma szybkość ich degradacji przez odpowiednie enzymy, których działanie ogranicza z kolei zwiększanie

zawartości soli kuchennej oraz niska aktywność wody [4, 19]. W prowadzonych badaniach obserwowano systematyczny ubytek wody we wszystkich próbach. Spowodowało to wzrost udziału soli kuchennej, która mogła hamować działanie aminopeptydaz. Tendencja ta wystąpiła zwłaszcza w próbie z probiotykiem (P1). Podobne zależności zaobserwowali Flores i wsp. [4], Toldrá i wsp. [24], Ruiz-Ramirez i wsp. [19] oraz Schivazappa i wsp. [22].



Rys. 6. Zawartość wolnych aminokwasów w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 6. Content of free amino acids in raw-ripening pork loins.

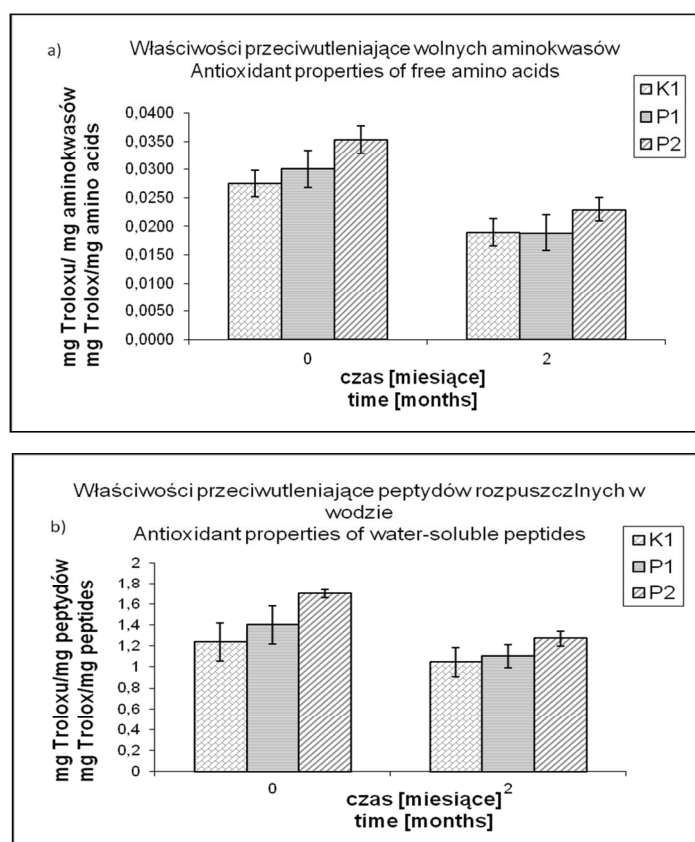


Rys. 7. Zawartość peptydów w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 7. Content of peptides in raw-ripening pork loins.

Zawartość peptydów rozpuszczalnych w wodzie w czasie przechowywania prób polędwic przyrastała we wszystkich wariantach badawczych (rys. 7). Największą zawartość peptydów bezpośrednio po dojrzewaniu oznaczono w próbie kontrolnej

(2,85 mg/g), a najmniejszą w próbie z dodatkiem szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0900 i askorbinianu sodu (2,35 mg/g). Jest możliwe, że było to wynikiem działania kalpain podczas dojrzewania, które do aktywności wymagają niskiego zakwaszenia (optymalne pH 7,0 - 7,5) [8, 24]. W próbie kontrolnej wartość pH była największa, dlatego prawdopodobnie aktywność tych enzymów zwiększyła się, czego efektem było zwiększenie zawartości peptydów rozpuszczalnych w wodzie. Po przechowywaniu największą zawartość peptydów rozpuszczalnych w wodzie zaobserwowano w próbie kontrolnej (3,78 mg/g); była ona większa o 0,34 mg/g od próby z probiotykiem (P1) i o 0,54 mg/g od próby z probiotykiem i askorbinianem sodu (P2).



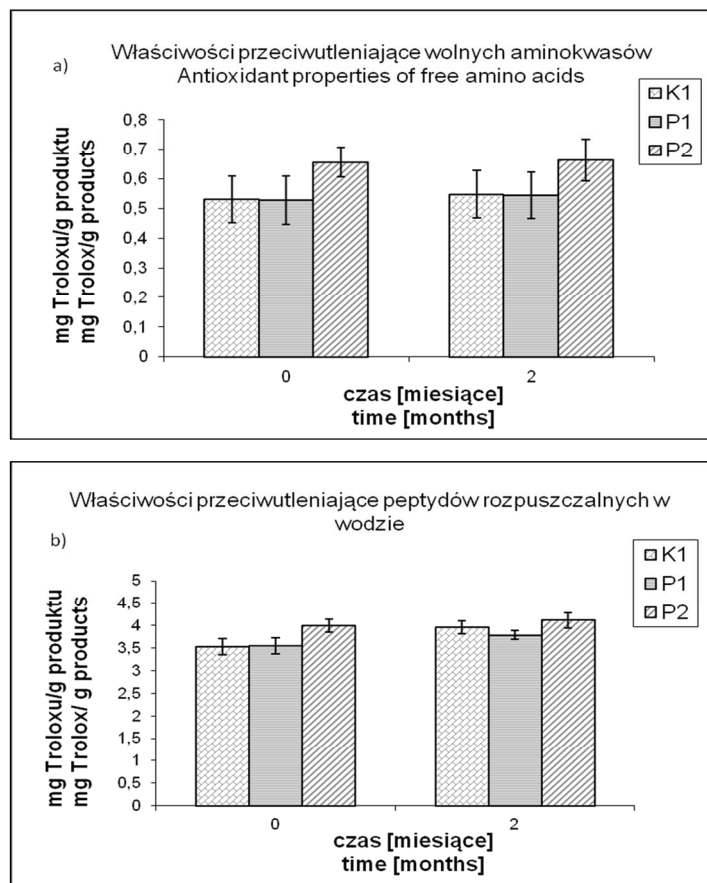
Rys. 8. Wygaszanie kationorodnika ABTS przez produkty proteolizy białek polędwicy surowo dojrzewających: a) właściwości przeciwutleniające wolnych aminokwasów b) właściwości przeciwutleniające peptydów rozpuszczalnych w wodzie.

Fig. 8. Extinction of ABTS⁺ cation radical by proteolysis products of proteins in raw-ripening loins: a) antioxidant properties of free amino acids; b) antioxidant properties of water-soluble peptides.

Produkty proteolizy białek ocenianych prób polędwic po dojrzewaniu i chłodniczym przechowywaniu charakteryzowały się różną aktywnością przeciwrodnikową wobec kationorodnika ABTS⁺ (rys. 8). Bardzo słabą aktywność peptydów stwierdzono w próbie kontrolnej bezpośrednio po dojrzewaniu (1,24 mg Troloxu/mg peptydów) i po chłodniczym przechowywaniu (1,05 mg Troloxu/mg peptydów) w porównaniu z próbami z probiotykiem (odpowiednio: 1,4 - 1,7 i 1,1 - 1,27 mg Troloxu/mg peptydów). Zdolność wygaszania wolnych rodników przez wolne aminokwasy była mniejsza w porównaniu z peptydami i kształtowała się we wszystkich próbach na poziomie 0,03 - 0,04 mg Troloxu/mg aminokwasów bezpośrednio po dojrzewaniu, natomiast podczas przechowywania zmniejszała się i po 2 miesiącach osiągnęła poziom 0,019 - 0,230 mg Troloxu/mg aminokwasów.

Zdolność wygaszania wolnych rodników przez produkty proteolizy białek analizowano również na podstawie ich zawartości w gramie produktu (mg Troloxu/g produktu). Aktywność przeciwrodnikowa produktów proteolizy białek bezpośrednio po dojrzewaniu i po chłodniczym przechowywaniu polędwic była zróżnicowana w poszczególnych próbach (rys. 9). Najwyższą aktywność przeciwrodnikową wolnych aminokwasów po dojrzewaniu stwierdzono w próbie z probiotykiem i askorbinianem sodu (0,66 mg Troloxu/g produktu), najniższą natomiast w próbie kontrolnej (0,53 mg Troloxu/g produktu). Najwyższą aktywność przeciwrodnikową peptydów rozpuszczalnych w wodzie po dojrzewaniu zaobserwowano w próbie z probiotykiem i askorbinianem sodu (4,0 mg Troloxu/g produktu), najniższą natomiast w próbie kontrolnej (3,53 mg Troloxu/g produktu). Aktywność przeciwrodnikowa wolnych aminokwasów i peptydów po 2-miesięcznym przechowywaniu, obliczana na gram produktu, wzrosła we wszystkich wariantach badawczych. Najniższą aktywnością wolnych aminokwasów po przechowywaniu charakteryzowała się próba z probiotykiem (0,54 mg Troloxu/g produktu), a najwyższą próba z probiotykiem i askorbinianem sodu (0,66 mg Troloxu/g produktu). Po przechowywaniu najwyższą zdolnością do wygaszania wolnych rodników przez peptydy charakteryzowała się próba z probiotykiem i askorbinianem sodu (4,12 mg Troloxu/g produktu), zaś najniższą próba z probiotykiem (3,79 mg Troloxu/g produktu).

Analizując profil wolnych aminokwasów bezpośrednio po dojrzewaniu polędwic stwierdzono większą zawartość tyrozyny i alaniny w próbach z probiotykiem (odpowiednio 0,37 mg/g; 0,95-0,98 mg/g) w porównaniu z próbą kontrolną (odpowiednio 0,32 mg/g; 0,94 mg/g) (tab. 1). Natomiast po 2 miesiącach chłodniczego przechowywania zaobserwowano większą zawartość alaniny i mniejszą tyrozyny w próbie kontrolnej (odpowiednio 1,24 mg/g i 0,37 mg/g), w porównaniu z próbami z probiotykiem (odpowiednio 1,17-1,22 mg/g i 0,39-0,42 mg/g). W próbach z probiotykiem (P1 i P2) po dojrzewaniu oznaczono również fosfoserynę (0,02 mg/g) oraz w próbie z probiotykiem i askorbinianem β -alaninę (0,12 mg/g), których nie stwierdzono w próbie



Rys. 9. Wygaszanie kationorodnika ABTS przez produkty proteolizy białek w 1 gramie polędwicy surowo dojrzewających: a) właściwości przeciwutleniające aminokwasów, b) właściwości przeciwutleniające peptydów rozpuszczalnych w wodzie.

Fig. 9. Extinction of ABTS^{•+} cation radical by proteolysis products of proteins in 1 gram of raw-ripening loins: a) antioxidant properties of free amino acids; b) antioxidant properties of water-soluble peptides.

kontrolnej (K1). Bezpośrednio po dojrzewaniu i po przechowywaniu zaobserwowano także większą zawartość argininy (0,41 - 0,43 mg/g) w próbach z probiotykiem (P1 i P2) w porównaniu z próbą kontrolną (odpowiednio 0,23 mg/g i 0,15 mg/g), więc można przypuszczać, że ich większe stężenie jest wynikiem działania enzymów zastosowanych bakterii probiotycznych. Sanz i wsp. [20] stwierdzili działanie proteolityczne bakterii *Lactobacillus casei* CRL 705 na podstawie degradacji białka sarkoplazmatycznego i miofibrylarnego. Zaobserwowali, że w wyniku degradacji białek przez szczep bakterii *Lactobacillus casei* CRL 705 powstało szczególnie dużo kwasu gluta-

minowego i argininy, co potwierdzono w niniejszych badaniach. Z kolei Rimaux i wsp. [16] wykazali degradację argininy przez szczep *Lactobacillus sakei* CTC 494. *Lactobacillus sakei*, występując w fermentowanych naturalnie mięsnych produktach, wykazuje zdolność do degradacji argininy, która stanowi dla nich źródło energii. Arginina prawdopodobnie ulega degradacji do cytruliny, następnie do ornityny, a końcowym produktem jest amoniak i ATP [14]. W badaniach własnych po dojrzewaniu i przechowywaniu stwierdzono większe nagromadzenie ornityny (0,44 mg/g i 0,68 mg/g) i cytruliny (0,18 mg/g i 0,12 mg/g) oraz mniejszą zawartość argininy (0,23 mg/g i 0,15 mg/g) w próbie kontrolnej, w porównaniu z próbami z probiotykiem, odpowiednio ornityna (0,07 - 0,34 mg/g i 0,24 - 0,43 mg/g), cytrulina (0,11 - 0,14 mg/g i 0,10 - 0,15 mg/g) i arginina (0,41 - 0,43 mg/g i 0,41 - 0,43 mg/g). Otrzymane wyniki mogą wskazywać na brak lub ograniczoną zdolność do degradacji argininy w badanych próbach przez szczep probiotyczny *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900. Oznaczona zawartość mocznika w próbach, jako produktu degradacji aminokwasów po dojrzewaniu i przechowywaniu, była największa w próbie kontrolnej (odpowiednio 3,59 mg/g i 5,15 mg/g). Otrzymane zależności potwierdzają większą degradację aminokwasów w próbie kontrolnej niż w próbach z probiotykiem. Można sądzić, że jest to wynikiem działania innych gatunków drobnoustrojów, które zostały wyeliminowane w próbach z probiotykiem.

Tabela 1

Profil wolnych aminokwasów [mg/g] po dojrzewaniu w połówkach surowo dojrzewających, jednej serii badawczej.

Profile of free amino acids [mg/g] after aging in raw-ripening loins, of one research batch.

Aminokwas Amino acid	Próba / Sample					
	K1		P1		P2	
	Po dojrzewaniu After aging	Po 2 miesiącach przechowywania 2 months after storage	Po dojrzewaniu After aging	Po 2 miesiącach przechowywania 2 months after storage	Po dojrzewaniu After aging	Po 2 miesiącach przechowywania 2 months after storage
Ala	0,94	1,24	0,98	1,17	0,95	1,22
Arg	0,23	0,15	0,43	0,41	0,41	0,43
β-ala	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00
Citr	0,18	0,12	0,14	0,10	0,11	0,15
Gaba	0,17	0,67	0,06	0,32	0,04	0,29

c.d. Tab. 1

Gly	0,64	0,78	0,61	0,72	0,48	0,67
His	0,37	0,44	0,35	0,39	0,31	0,40
Ile	0,47	0,64	0,45	0,55	0,36	0,53
Glu	1,09	0,48	0,6	1,08	0,45	0,60
Leu	0,83	1,10	0,77	0,92	0,62	0,86
Lys	1,45	1,87	1,41	1,69	1,19	1,51
Met	0,30	0,39	0,30	0,34	0,24	0,32
Orn	0,44	0,68	0,34	0,43	0,07	0,24
Phe	0,44	0,58	0,41	0,48	0,32	0,43
PhSer	0,00	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00
Pro	0,53	0,61	0,51	0,53	0,53	0,62
Ser	0,48	0,57	0,36	0,60	0,27	0,43
Tau	0,36	0,50	0,39	0,56	0,45	0,59
Thr	0,49	0,60	0,42	0,57	0,37	0,47
Tyr	0,32	0,37	0,37	0,39	0,37	0,42
Urea	3,59	5,15	3,06	4,45	2,41	4,40
Val	0,69	0,86	0,62	0,73	0,56	0,70
1mHis	1,11	1,29	1,27	1,29	1,28	1,36
Suma/ Total	15,12	19,05	13,87	17,72	11,93	16,64

Oznaczenia / Designations:

Ala – alanina / alanine; arg – arginina / arginine; β -ala – β -alanina / β -alanine; Citr – cytrulina / citruline; Gaba – kwas γ -aminomasłowy / γ -aminobutyric acid; Gly – glicyna / glycine; His – histydyna / histidine; Ile – izoleucyna / isoleucine; Glu – kwas glutaminowy / glutamic acid; Leu – leucyna / leucine; Lys – lizyna / lysine; Met – metionina / methionine; Orn – ornityna / ornithine; Phe – fenyloalanina / phenylalanine; Paser – fosfoseryna / phosphoserine; Pro – prolina / proline; Ser – seryna / serine; Tau – tauryna / taurine; Thr – treonina / threonine; Tyr – tyrozyna / tyrosine; Urea – mocznik / urea; Val – walina / valine; 1mHis – 1-metylohistydyna / 1-methylhistidine;

Zastosowany szczep bakterii probiotycznych w polędwicach wieprzowych surowo dojrzewających wpłynął na ograniczenie szybkości proteolizy białek oraz ilości nagromadzonych w nich peptydów rozpuszczalnych w wodzie. Peptydy wykazywały większą aktywność wygaszania wolnych rodników w porównaniu z próbą kontrolną. Dalsze poznanie mechanizmów przemian w produkcie wymaga kontynuacji badań.

Wnioski

1. Zastosowanie bakterii probiotycznych zmniejsza zakres przemian proteolitycznych zachodzących podczas dojrzewania i przechowywania polędwic wieprzowych.

2. W badanym okresie przechowywania we wszystkich próbach stwierdzono mniejszą aktywność przeciwnadkwasotworczą produktów proteolizy białek, co może wskazywać na blokowanie lub rozpadowanie się aktywnych grup w okresie chłodniczego składowania polędwicy.

Literatura

- [1] Bailey J.L.: Techniques in protein chemistry. Amsterdam : Elsevier Pub. Co., 1962. pp. 73-80.
- [2] Berge P., Ertbjerg P., Larsen L.M., Astruc T., Vignon X., Møller A.: Tenderization of beef by lactic acid injected at different times *post mortem*. Meat Sci., 2001, **57**, 347-357.
- [3] Fadda S., Sanz Y., Vignolo G., Aristoy M.C., Oliver G., Toldrá F.: Hydrolysis of pork muscle sarcoplasmic proteins by *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*. Appl. Environ. Microbiol., 1999, **65**, 578-584
- [4] Flores M., Aristoy M.C., Toldra F.: Curing agents affect aminopeptidase activity from porcine skeletal muscle. Zeitschrift für Lebensmittel, Untersuchung und Forschung, 1997, **205**, 343-346.
- [5] Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 1951, **193**, 265-275.
- [6] Mikami M., Nagao M., Sekikawa M., Miura H., Hongo Y.: Effect of electrical stimulation in peptide and free amino acid contents of beef homogenate and sarcoplasm during storage. Jap. Anim. Technol., 1994, **65**, 1034-1043.
- [7] Molina I., Toldrá F.: Detection of proteolytic activity in microorganism isolated from dry-cured ham. J. Food Sci., 1992, **56** (6), 1308-1310.
- [8] Nowak M.: Rola kalpain w procesie kruszenia mięsa. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **1** (42), 5-17.
- [9] O'Halloran G.R., Troy D.J., Buckley D.J., Reville W.J.: The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolysing muscle. Meat Sci., 1997, **47**, 187-210.
- [10] Parreño M., Cussó R., Gil M., Sárraga C.: Development of cathepsin B, L and H activities and cystatin-like activity during two different manufacturing processes for Spanish dry-cured ham. Food Chem., 1994, **49**, 15-21.
- [11] PN-75/A 04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [12] PN-ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH (metoda odwoławcza).
- [13] Pomponio L., Ertbjerg P., Karlsson A.H., Costa L.N., Lametach R.: Influence of early pH decline on calpain activity in porcine muscle. Meat Sci., 2010, **85**, 110-114.
- [14] Poolman B., Driessen A.J.M., Konings W.N.: Regulation of arginine-ornithine exchange and the arginine deiminase pathway in *Streptococcus lactis*. J. Bacteriol., 1987, **169**, 5597-5604.
- [15] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidants activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, 1999, **26**, 1231-1237.
- [16] Rimaux T., Vrancken G., Pothakos V., Maes D., De Vuyst L., Leroy F.: The kinetics of the arginine deiminase pathway in the meat starter culture *Lactobacillus sakei* CTC 494 are pH-dependent. Food Microbiol., 2011, **28** (3), 597-604.
- [17] Rodriguez M., Núñez F., Cordoba J.J., Bermudez M.E., Asensio M.A.: Evaluation of proteolytic activity of micro-organisms isolated from dry cured ham. J. Appl. Microbiol., 1998, **85**, 905-912.
- [18] Roseiro L.C., Santos C., Sol M., Borges M.J., Anjos M., Gonçalves H., Carvalho A.S.: Proteolysis in Painho de Portalegre dry fermented sausage in relation to ripening time and salt content. Meat Sci., 2008, **79**, 784-794 .

- [19] Ruiz-Ramirez J., Arnau J., Serra X., Gou P.: Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 579-587.
- [20] Sanz Y., Fadda S., Vignolo G., Aristoy M.C., Oliver G., Toldrá F.: Hydrolytic action of *Lactobacillus casei* CRL 705 on pork muscle sarcoplasmic and myofibrillar proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3441-3448.
- [21] Sanz Y., Fadda S., Vignolo G., Aristoy M.C., Oliver G., Toldrá F.: Hydrolysis of muscle myofibrillar proteins by *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **53**, 115-125.
- [22] Schivazappaa C., Degni M., Nanni Costa L., Russo V., Buttazzoni L., Virgili R.: Analysis of raw meat to predict proteolysis in Parma ham. *Meat Sci.*, 2002, **60**, 77-83.
- [23] Sentandreu M.A., Coulis G., Ouali A.: Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Food Sci. Technol.*, 2002, **13**, 400-421.
- [24] Toldra F., Rico E., Flores J.: Activities of pork muscle proteases in model cured meat systems. *Biochimie.*, 1992, **74**, 291-296.
- [25] Wang F.S.: Lipolytic and proteolytic properties of dry-cured boneless hams ripened in modified atmospheres. *Meat Sci.*, 2001, **59**, 15-22.

PROTEOLYSIS OF PROTEINS IN RAW-RIPENING MEAT PRODUCTS USING *LACTOBACILLUS CASEI* LOCK 0900 PROBIOTIC STRAIN

Summary

The objective of the research performed was to determine the effect of *Lactobacillus casei* LOCK 900 probiotic strain on the proteolysis of protein in raw-ripening pork loins.

The research material consisted of raw-ripening pork loins with the use of probiotic strain of *Lactobacillus casei* LOCK 900. Changes were assessed immediately after the completed aging and 2 months after cool storage. Three loin variants were prepared for investigation: a control sample without the probiotic, a sample with the probiotic, and a sample with the probiotic and sodium ascorbate added. There were determined: proteolysis index, water content of water-soluble nitrogen, free amino acid, water-soluble peptides; the antioxidant activity of protein proteolysis products towards ABTS⁺ cation radical was assessed.

The presence of probiotic strain during the aging process of raw-ripening pork loins caused the rate of proteolytic changes during cool storage to be suppressed. The highest proteolysis index was found 2 months after cool storage in the control sample (10.96 %) and it was higher by 0.51 % compared to the sample with the probiotic and sodium ascorbate (P2) and by 0.52 % compared to the sample with the probiotic (P1). In the samples containing the probiotic added, 2 months after cool storage, the determined amount of free amino acids was lower (28.61 - 28.71 mg/g) compared to the control sample (29.02 mg/g). The control sample contained more peptides after aging (2.85 mg/g) and after storage (3.78 mg/g) versus the samples with the probiotic added (2.35 - 2.53 mg/g after aging and 3.24 - 3.44 mg/g after storage, respectively). After aging, the aqueous extracts of peptides in the samples with the probiotic were characterized by the highest antiradical activity of (1.4 - 1.7 mg Trolox/mg of peptides), and the free amino acids in the control sample were characterized by the lowest antiradical activity (0.03 mg Trolox/mg of amino acids).

Key words: raw-ripening loins, probiotic, products of proteolysis, antioxidant activity 