

WPŁYW PROBIOTYKÓW NA WYBRANE PARAMETRY FIZYKOCHEMICZNE I MIKROBIOLOGICZNE SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH BALERONÓW PODCZAS PRZECHOWYWANIA

Justyna Libera¹, Barbara Sionek², Zbigniew J. Dolatowski¹

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

²Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Streszczenie. Celem badań była ocena wybranych parametrów jakościowych baleronów surowo dojrzewających zawierających probiotyki *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, *Lactobacillus acidophilus* Bauer oraz *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 po 90-dniowym przechowywaniu. Zakres badań obejmował wyprodukowanie baleronów i ocenę wpływu czasu przechowywania w temperaturze $4 \pm 1^\circ\text{C}$ na właściwości fizykochemiczne i mikrobiologiczne. Przygotowano cztery warianty badawcze: C (*L. casei*), CA (*L. casei* + *L. acidophilus*), CB (*L. casei* + *B. animalis*) i CAB (*L. casei* + *L. acidophilus* + *B. animalis*). Oznaczono wartość pH, potencjał oksydacyjno-redukcyjny, wskaźnik TBARS, całkowitą zmianę barwy (ΔE^*_{ab}) oraz ogólną liczbę bakterii (OLD) i liczbę bakterii kwasu mlekowego (LAB). Analiza wartości pH baleronów wykazała różnice między wariantami badawczymi podczas przechowywania. W próbach zawierających bakterie z rodzaju *Lactobacillus* (C i CA) stwierdzono spadek wartości pH, z kolei w próbach zawierających *Bifidobacterium* (CB i CAB) obserwowano wzrost tych wartości. Mieszanka probiotyków *L. casei* i *L. acidophilus* ograniczała zmiany oksydacyjne tłuszczu podczas przechowywania i stabilizowała barwę wyrobów. Przeprowadzone badania wykazały, że w produkcji wędzonek surowo dojrzewających zawierających duże ilości tłuszczu śródmięśniowego (baleron) można wykorzystać bakterie probiotyczne jako kultury startowe.

Słowa kluczowe: bakterie probiotyczne, przechowywanie, balerony surowo dojrzewające

WSTĘP

Fermentacja jest jedną z najstarszych metod konserwowania żywności i polega na konwersji mono- i disacharydów do kwasów organicznych, prowadzonej przy udziale bakterii. Znalazła ona szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, ponieważ poza efektem utrwalającym kształtuje wartość odżywczą i cechy sensoryczne produktów, tj. smak, zapach, konsystencję czy barwę. W przetwórstwie mięsa bakterie fermentacji mlekowej stanowią mikroflorę środowiskową surowców mięsno-tłuszczowych oraz dodawane są w formie kultur startowych w produkcji fermentowanych kiełbas i wędzonek (salami, chorizo, szynka i polędwica) [Lücke 2000, Neffe i Kołożyn-Krajewska 2010, Bedia i in. 2011, Wójciak i in. 2012]. Nie znaleziono natomiast informacji na temat ich stosowania w produkcji wędlin bogatych w tłuszcz śródmięśniowy, np. baleronu. Duża, tj. ok. 20% zawartość tłuszczu w karkówce ogranicza możliwości adaptacji kultur startowych oraz przyspiesza procesy oksydacyjne zachodzące w trakcie przechowywania takich przetworów. Optymalizacja parametrów technologii fermentacji baleronów polega na doborze odpowiednich drobnoustrojów i stworzeniu warunków do ich rozwoju podczas dojrzewania. Skład szczepionki wpływa na czas dojrzewania, trwałość produktu oraz umożliwia powstanie produktu o akceptowanych i powtarzalnych cechach sensorycznych [Arihara i in. 1998, Ammor i Mayo 2007, Ziarno i Zaręba 2008].

W przetwórstwie mięsa podejmowane są próby wyprodukowania produktów o właściwościach prozdrowotnych. W tym celu wykorzystuje się np. bakterie probiotyczne jako kultury startowe w produkcji wędlin dojrzewających [Neffe i Kołożyn-Krajewska 2010, Okoń i Dolatowski 2012, Wójciak i in. 2012, Skwarek i Dolatowski 2013]. W skład szczepionek probiotycznych wchodzi przede wszystkim bakterie z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, posiadające udokumentowany, korzystny wpływ na organizm człowieka [Gajewska i Błaszczuk 2012]. Probiotyki wykorzystywane w produkcji fermentowanych wędlin muszą adaptować się do warunków panujących w takich przetworach mięsnych, tj. do wysokiego poziomu mikroflory środowiskowej, niewielkiej ilości węglowodanów i składników mieszanki peklującej [Arihara i in. 1998, Corral i in. 2013].

Celem badań było określenie wpływu bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900, *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 na wybrane parametry fizykochemiczne i mikrobiologiczne surowo dojrzewających baleronów po procesie fermentacji i 90-dniowym okresie ich chłodniczego przechowywania.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał doświadczalny stanowił baleron surowo dojrzewający, wyprodukowany w warunkach półtechnicznych Katedry Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Bakterie probiotyczne i potencjalnie probiotyczne użyte do produkcji pochodziły z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej: *Lactobacillus casei* LOCK 0900 (zgłoszenie

patentowe nr P-382760) i *Lactobacillus acidophilus* Bauer oraz z kolekcji Chr. Hansen: *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12. Drobnoustroje aktywowano w Katedrze Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Proces ożywienia zamrożonych hodowli bakterii probiotycznych obejmował dwa etapy. W pierwszym etapie do 5 ml bulionu MRS przenoszono rozmrożony szczep i poddawano inkubacji przez 24 godziny w 37°C. Otrzymaną w pierwszym etapie hodowlę bakterii odwirowywano (5 min., 10 000 obr./min), zlewano bulion MRS i dodawano 10 ml bulionu spożywczego. Zawiesinę bakterii ponownie inkubowano w 37°C przez 24 godziny w celu otrzymania hodowli wyjściowej drobnoustrojów. Liczba bakterii probiotycznych w hodowli wyjściowej, która służyła do zaszczepienia wytwarzanych eksperymentalnie baleronów, wynosiła około $9,0 \log \text{ jtk} \cdot \text{ml}^{-1}$ w zależności od zastosowanego szczepu.

Surowcem do produkcji baleronu była karkówka wieprzowa pozyskiwana z tuczników rasy Wielka Biała Polska, wolna od wad jakościowych. Mięso wychładzane przez 24 godziny od uboju do temperatury 7°C dzielono na porcje o masie ok. 1 kg i nacierano mieszanką peklującą o składzie 99% NaCl, 0,5% NaNO₂ i 0,5% NaNO₃. Użyto 30 g mieszanki peklującej na 1 kg mięsa, a czas peklowania wynosił 72 godziny. Po tym czasie mięso nacierano mieszanką składającą się z askorbinianu sodu (0,5 g·kg⁻¹) i glukozy (12 g·kg⁻¹). Następnie w powierzchnię mięsa wcierano zawiesinę bakterii probiotycznych w ilości 2 ml na 1 kg mięsa (liczba bakterii około $9,3 \log \text{ jtk} \cdot \text{kg}^{-1}$). Przygotowano cztery warianty badawcze: C, CA, CB i CAB o różnym składzie szczepów bakteryjnych (tab. 1). Mieszanki bakterii dla wariantów CA, CB i CAB (zawierających dwa lub trzy probiotyki) przygotowywano bezpośrednio przed zaszczepieniem mięsa. W tym celu łączono dwie lub trzy zawiesiny odpowiednich hodowli wyjściowych ($9,0 \log \text{ jtk} \cdot \text{ml}^{-1}$) w stosunku 1 : 1 lub 1 : 1 : 1. Po delikatnym wymieszaniu pobierano odpowiednią ilość mieszanki (2 ml·kg⁻¹) i poprzez wmasowanie na powierzchni szczepiono mięso. Następnie balerony poddawano dojrzewaniu przez 21 dni w komorze dojrzewalniczej o temperaturze 15–16°C i wilgotności względnej 75–80%. Po zakończeniu fermentacji baleron zapakowano próżniowo w woreczki polietylenowe i składowano w chłodni (4 ± 1°C) przez 90 dni.

Tabela 1. Warianty badawcze baleronów surowo dojrzewających

Table 1. Variants research of dry-cured pork necks

Warianty Variants	Badane szczepy bakterii zastosowane do produkcji baleronu Tested bacteria strains for dry-cured pork necks production		
	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK 0900	<i>Lactobacillus acidophilus</i> Bauer	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB12
C	+	–	–
CA	+	+	–
CB	+	–	+
CAB	+	+	+

Finalne produkty, bezpośrednio po fermentacji oraz po 90 dniach chłodniczego przechowywania, poddano wybranym ocenom fizykochemicznym. Określono zmienność wartości: pH, potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (ORP), wskaźnika utlenienia

tłuszczu (TBARS), całkowitej zmiany barwy baleronów (ΔE^*) w systemie CIE $L^*a^*b^*$. Po 90 dniach przechowywania dokonano również oceny mikrobiologicznej, oznaczając liczbę bakterii tlenowych (OLD) i bakterii kwasu mlekowego (LAB, *lactic acid bacteria*).

Wartość pH oznaczano w przesączu wydzielonym z homogenatu 10 g rozdrobnionego mięsa z 50 cm³ zimnej wody destylowanej. Pomiaru dokonywano w temperaturze 20°C, używając elektrody zespolonej ERH-111 i pH/konduktometru CP-501 (Elmetron) [PN ISO 2917:2001].

Potencjał oksydacyjno-redukcyjny (ORP) oznaczano w przesączu uzyskiwanym z homogenatu 10 g rozdrobnionego mięsa z 50 cm³ zimnej wody destylowanej. Pomiaru dokonywano w temperaturze 20°C, używając elektrody zespolonej ERPt-13 i pH/konduktometru CP-501 (Elmetron). Wartości wyrażone w mV przeliczano względem standardowej elektrody wodorowej na wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego.

Wskaźnik TBARS oznaczano w przesączu uzyskiwanym z homogenatu 5 g rozdrobnionego mięsa, 20 cm³ zimnego kwasu nadchlorowego i 400 µl alkoholowego roztworu butylohydroksytoluenu. Do 2,5 cm³ przesączu dodawano 2,5 cm³ wodnego roztworu kwasu 2-tiobarbiturowego (odczynnik TBA) i ogrzewano w łaźni wodnej przez 60 minut. Po schłodzeniu do temperatury pokojowej dokonywano pomiaru absorbancji przy długości fali 532 nm, wykorzystując spektrofotometr Nicolet Evolution 300 (Thermo Elektron Corp.) wobec próbki odniesienia, zawierającej 2,5 cm³ 4-procentowego roztworu kwasu nadchlorowego i 2,5 cm³ odczynnika TBA. Wyniki wyrażano w miligramach MDA (dialdehyd malonowy) w 1 kg produktu, zgodnie z zależnością [Pikul i in.1989]:

$$\text{TBARS} = 5,5 \cdot A$$

gdzie: A – wartość absorbancji badanej próby,

5,5 – współczynnik przeliczeniowy wyliczony z krzywej standardowej i stosowanych rozcieńczeń.

Pomiaru parametrów barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ dla części mięśniowej dokonywano na świeżo przeciętej powierzchni plastra baleronu. W tym celu krojono baleron na plastry o grubości 10 mm, które do pomiaru wybierano losowo. Do pomiaru użyto spektrofotometru sferycznego X-RiteColor 8200 (X-Rite Inc.) ze szczeliną pomiarową Ø 13 mm. Zastosowano iluminat D₆₅ (widmo światła słonecznego) dla pola widzenia 10° i wzorzec bieli o parametrach: $L^* = 95,87$, $a^* = -0,49$ i $b^* = 2,39$. Określono również całkowitą zmianę barwy baleronów w czasie, zgodnie z zależnością [CIE 2004]:

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

gdzie: ΔL^* – różnica jasności barwy przed i po przechowywaniu,

Δa^* – różnica udziału składowej barwy czerwonej,

Δb^* – różnica udziału składowej barwy żółtej.

Ogólną liczbę drobnoustrojów (OLD) i liczbę bakterii kwasu mlekowego (LAB) oznaczano metodą płytkową przez posiew wgłębny na podłożu wybiórczym MRS (Biokar Diagnostics) lub BSM (Sigma Aldrich) w zależności od zastosowanego szczepu bakterii.

W tym celu rozdrobnioną próbkę mięsa o masie 5 g homogenizowano z 45 cm³ wody peptonowej przez 120 sekund, wykorzystując stomacher 80 (Seward-Lab System), i wykonywano wiele rozcieńczeń dziesiętnych. Pobierano po 1 cm³ próbki z odpowiednich rozcieńczeń i nanoszono na jałowe płytki Petriego. Następnie płytki zalewano upłynnionym agarem i poddawano inkubacji przez 48 godzin w temperaturze 37°C. Do odczytu wybierano płytki, na których liczba kolonii znajdowała się w przedziale 15–300 jtk. Wyniki podano w jednostkach tworzących kolonie w 1 g produktu [jtk·g⁻¹].

Wyniki poddano dwuczynnikowej analizie wariancji, uwzględniając wpływ probiotycznej kultury startowej i czasu przechowywania na zmiany wybranych parametrów fizykochemicznych i mikrobiologicznych. Istotność różnic wartości średnich weryfikowano testem *t*-Tukeya, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Analizy przeprowadzono w trzech równoległych powtórzeniach.

WYNIKI I DYSKUSJA

Stwierdzono wpływ zarówno zastosowanych do badań drobnoustrojów, jak i czasu chłodniczego składowania eksperymentalnie wytwarzanych baleronów na zmienność ich kwasowości czynnej (tab. 2). W próbkach zawierających *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 obserwowano istotnie wyższe od pozostałych wartości pH. Najniższą kwasowość czynną zarówno po fermentacji (5,72), jak i po 90-dniowym przechowywaniu (6,02) stwierdzono w próbce CB (*L. casei* + *B. animalis*). W produktach zawierających pojedynczy szczep *L. casei* (C) wartości pH były niskie, zarówno po fermentacji (5,45), jak i po przechowywaniu (5,28). Nieco wyższe wartości pH obserwowano w próbce CA

Tabela 2. Wartości parametrów fizykochemicznych wariantów C, CA, CB, CAB w zależności od czasu przechowywania

Table 2. The values of physico-chemical properties of variants C, CA, CB, CAB depending on the storage period

Warianty Variants	Czas [dni] Time [days]	Wartość pH pH value	ORP [mV]	TBARS [mg MDA·kg ⁻¹]
		$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
C	0	5,45 ± 0,01 ^{AA}	306 ± 5,5 ^{AA}	0,42 ± 0,02 ^{abA}
	90	5,28 ± 0,03 ^{dB}	343 ± 5,1 ^{cB}	0,55 ± 0,03 ^{dB}
CA	0	5,50 ± 0,02 ^{aC}	280 ± 4,8 ^{bC}	0,40 ± 0,02 ^{aC}
	90	5,39 ± 0,04 ^{dD}	283 ± 5,5 ^{cC}	0,48 ± 0,03 ^{dD}
CB	0	5,72 ± 0,04 ^{bE}	273 ± 5,5 ^{bD}	0,50 ± 0,03 ^{eE}
	90	6,02 ± 0,05 ^{fF}	313 ± 1,7 ^{eE}	0,71 ± 0,02 ^{eF}
CAB	0	5,60 ± 0,03 ^{cG}	272 ± 12,8 ^{bF}	0,46 ± 0,02 ^{bcG}
	90	5,72 ± 0,05 ^{gH}	289 ± 10,1 ^{dF}	0,53 ± 0,04 ^{dH}

$\bar{x} \pm SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe; wartości średnie oznaczone tą samą małą literą (warianty badawcze) oraz tą samą dużą literą (czas składowania) w każdej kolumnie nie różnią się istotnie statystycznie ($p \leq 0,05$) / mean value ± standard deviation; mean values marked by the same lowercase letter (variants research) and the same capital letter (storage period) in each column are not significantly different ($p \leq 0,05$).

zawierającej mieszaninę *L. casei* i *L. acidophilus* – odpowiednio 5,50 i 5,39. Wyniki te są zbliżone do wartości kwasowości czynnej stwierdzanych przez Zdolec i innych [2008] w kiełbasach zaszczipionych *Lactobacillus sakei* po 4-tygodniowej fermentacji (pH w przedziale 5,28–5,33). Niższe wartości pH podają Skwarek i Dolatowski [2013], którzy po 28-dniowej fermentacji szynek surowo dojrzewających inokulowanych probiotycznym szczepem *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 oznaczyli ich pH na poziomie 5,10, a po 5-miesięcznym przechowywaniu 5,29.

Oceniając zmienność wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (ORP) wykazano, że wariant C, tj. z dodatkiem *L. casei*, charakteryzował się najwyższą wartością tego wyróżnika zarówno po fermentacji (306 mV), jak i po 90 dniach przechowywania (343 mV). Najniższą wartość ORP po fermentacji stwierdzono w dwóch wariantach: CA 280 mV i CAB 272 mV, zawierających bakterie *Lactobacillus acidophilus* Bauer. Wartości te po 90-dniowym przechowywaniu nie wzrosły istotnie ($p \leq 0,05$), co świadczy o stabilności właściwości redukujących. Można zatem przypuszczać, iż metabolity wytwarzane przez ten drobnoustrój chronią lipidy przed utlenianiem podczas chłodniczego przechowywania. Zależność tę potwierdzają wyniki przechowalnicze wskaźnika utleniania tłuszczu TBARS, które dla wariantów CA i CAB były najniższe. Niekorzystne procesy utleniania postępowały we wszystkich próbkach w miarę upływu czasu. Balerony wyprodukowane z dodatkiem bakterii *L. acidophilus* wykazywały największą stabilność oksydacyjną podczas przechowywania. W próbkach CA i CAB zawierających te drobnoustroje stwierdzono niewielki wzrost stężenia związków reagujących z kwasem 2-tiobarbiturowym. W próbce CA (*L. casei* + *L. acidophilus*) wartość TBARS zwiększyła się z poziomu 0,40 mg MDA·kg⁻¹ po fermentacji do 0,48 mg MDA·kg⁻¹ po przechowywaniu, a w próbce CAB (*L. casei* + *L. acidophilus* + *B. animalis*) z 0,46 do 0,53 mg MDA·kg⁻¹. W wariantcie C (*L. casei*) stwierdzono większe zmiany oksydacyjne po 90-dniowym przechowywaniu. Z kolei najwyższy wzrost wartości wskaźnika TBARS, tj. z poziomu 0,50 mg MDA·kg⁻¹ po fermentacji do 0,71 mg MDA·kg⁻¹ po przechowywaniu, stwierdzono w wariantcie CB, wywarzanym z udziałem *L. casei* i *B. animalis*. Znacznie większe wartości wskaźnika TBARS wykazują autorzy badający kiełbasy zaszczipione bakteriami z rodzaju *Lactobacillus* [Ruiz-Moyano i in. 2011]. Stwierdzili oni w kiełbasach z *L. fermentum* po 48-dniowej fermentacji 6,15 mg MDA·kg⁻¹. Bozkurt i Erkmen [2002] obserwowali podobny poziom wtórnych produktów oksydacji tłuszczów wynoszący odpowiednio 6,7 mg MDA·kg⁻¹ i 7,2 mg MDA·kg⁻¹ w kiełbasach produkowanych z dodatkiem *L. plantarum*, zarówno po 15-dobowej fermentacji i po 48-dniowym ich przechowywaniu. Wysokie wartości TBARS wynikają przypuszczalnie ze zwiększonej ilości nadtlenu wodoru wytwarzanego przez bakterie środowiskowe, który intensyfikuje procesy oksydacyjne [Ammor i Mayo 2007, Wójciak i in. 2012].

Nie stwierdzono wpływu zastosowanych do badań drobnoustrójów na zmianę jasności barwy eksperymentalnie wytwarzanych baleronów. Obserwowano jedynie wpływ czasu chłodniczego składowania na zmianę parametru L^* . W wariantach CB (*L. casei* + *B. animalis*) i CAB (*L. casei* + *L. acidophilus* + *B. animalis*) stwierdzono obniżenie wartości parametru L^* o ok. 5 jednostek w porównaniu do wartości mierzonych bezpośrednio po procesie fermentacji. W baleronach produkowanych z dodatkiem bakterii *L. casei* i *L. acidophilus* (C i CA) nie wykazano zmian w jasności zachodzących pod-

czas przechowywania. Otrzymane wartości kształtowały się na poziomie zbliżonym do podawanego w literaturze dla wędzonek dojrzewających [Lorenzo i Purriño 2013, Stadnik i in. 2014]. We wszystkich ocenianych próbkach baleronu stwierdzono stabilność wartości składowych barwy czerwonej i żółtej po przechowywaniu, w porównaniu do wartości mierzonych bezpośrednio po zakończeniu fermentacji. Wartości parametru a^* baleronów zawierających w kulturze startowej bifidobakterie (CB i CAB) były niższe od pozostałych o ok. 2–4 jednostki, zarówno po fermentacji, jak i po przechowywaniu. Wartości parametru b^* były zbliżone we wszystkich wariantach i zawierały się w przedziale 6,7–8,3 po fermentacji oraz w przedziale 6,5–9,2 po 90-dniowym składowaniu (tab. 3). Lorenzo i Purriño [2013] obserwowali podobne wartości tego parametru (7,7–8,6) w dojrzewającym produkcie mięsnym *Lacón* podczas 84-dniowego dojrzewania.

Tabela 3. Zmienność parametrów barwy wyznaczona dla wariantów C, CA, CB, CAB w zależności od czasu przechowywania

Table 3. The variability of colour parameters determined for variants C, CA, CB, CAB depending on the storage period

Warianty Variants	Czas [dni] Time [days]	Parametr L^* Parameter L^*	Parametr a^* Parameter a^*	Parametr b^* Parameter b^*	ΔE^*_{ab}
		$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
C	0	38,16 \pm 0,82 ^{aA}	12,64 \pm 0,90 ^{aA}	7,71 \pm 0,12 ^{abcA}	1,59
	90	37,14 \pm 0,89 ^{bcA}	11,44 \pm 0,32 ^{cA}	7,93 \pm 0,18 ^{cA}	
CA	0	40,70 \pm 3,77 ^{abB}	12,81 \pm 0,24 ^{abB}	7,68 \pm 0,67 ^{adB}	1,31
	90	39,40 \pm 1,41 ^{bbB}	12,67 \pm 0,36 ^{dB}	7,71 \pm 0,48 ^{dB}	
CB	0	41,13 \pm 1,66 ^{aC}	10,67 \pm 0,58 ^{bcC}	8,26 \pm 0,14 ^{bdC}	5,32
	90	36,24 \pm 1,10 ^{cdD}	8,79 \pm 0,50 ^{eD}	9,17 \pm 0,75 ^{fC}	
CAB	0	39,45 \pm 1,06 ^{aE}	10,41 \pm 0,71 ^{bE}	6,68 \pm 0,40 ^{cdD}	5,56
	90	33,92 \pm 0,81 ^{df}	10,92 \pm 0,47 ^{eE}	6,47 \pm 0,07 ^{gd}	

$\bar{x} \pm SD$ – wartość średnia \pm odchylenie standardowe; wartości średnie oznaczone tą samą małą literą (warianty badawcze) oraz tą samą dużą literą (czas składowania) w każdej kolumnie nie różnią się istotnie statystycznie ($p \leq 0,05$) / mean value \pm standard deviation; mean values marked by the same lowercase letter (variants research) and the same capital letter (storage period) in each column are not significantly different ($p \leq 0,05$).

Ocena zmienności wartości parametru ΔE^*_{ab} , świadcząca o ogólnej trwałości barwy wykazała, że dodatek bifidobakterii do kultury startowej wpłynął na zmianę barwy baleronów przechowywanych przez 90 dni. Całkowita różnica barwy próbek zawierających szczep *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 (CB i CAB) wynosiła odpowiednio 5,3 i 5,6. W próbkach niezawierających tego szczepu (C i CA) wartości parametru ΔE^*_{ab} były niższe (tj. 1,6 i 1,3), co świadczy o większej stabilności barwy tych baleronów podczas przechowywania.

Wyniki analizy mikrobiologicznych baleronów przeprowadzone po 90-dniowym przechowywaniu wykazały wysoką liczbę bakterii mlekowych (w tym szczepów probiotycznych) oraz wysoką ogólną liczbę drobnoustrojów (tab. 4). Ogólna liczba drobnoustrojów (OLD) we wszystkich badanych wariantach była na podobnym poziomie zawierającym się w przedziale 7,3–7,9 log jtk·g⁻¹.

Tabela 4. Liczba bakterii kwasu mlekowego (LAB) i ogólna liczba drobnoustrojów (OLD) w wariantach C, CA, CB, CAB po przechowywaniu

Table 4. Count of lactic acid bacteria (LAB) and total viable count (TVC) of variants C, CA, CB, CAB after storage period

Warianty Variants	LAB (log jtk·g ⁻¹)	OLD (log jtk·g ⁻¹)
	LAB (log cfu·g ⁻¹)	TVC (log cfu·g ⁻¹)
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
C	6,94 ± 0,02 ^a	7,41 ± 0,45 ^a
CA	7,02 ± 0,22 ^a	7,94 ± 0,55 ^a
CB	7,33 ± 0,07 ^b	7,42 ± 0,20 ^a
CAB	8,16 ± 0,15 ^c	7,27 ± 0,19 ^a

$\bar{x} \pm SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe; wartości średnie oznaczone tą samą małą literą (warianty badawcze) oraz tą samą dużą literą (czas składowania) w każdej kolumnie nie różnią się istotnie statystycznie ($p \leq 0,05$) / mean value ± standard deviation; mean values marked by the same lowercase letter (variants research) and the same capital letter (storage period) in each column are not significantly different ($p \leq 0,05$).

Liczba bakterii mlekowych (LAB) we wszystkich ocenianych baleronach wynosiła od 6,9 do 8,2 log jtk·g⁻¹. Nie stwierdzono istotnych różnic w liczebności bakterii kwasu mlekowego w próbkach C i CA. Istotnie wyższą liczbę bakterii mlekowych obserwowano w próbkach baleronów z dodatkiem szczepu *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 (CB i CAB). Podobnie wysoką liczebność bakterii mlekowych wykazują inni autorzy. W badaniach kiełbas zaszczepionych bakteriami z rodzaju *Lactobacillus fermentum* HL57 Ruiz-Moyano i inni [2011] stwierdzili poziom bakterii kwasu mlekowego wynoszący 8,0 log jtk·g⁻¹ po 48 dniach fermentacji. Nieco wyższe wartości (7,9–8,6 log jtk·g⁻¹) odnotowano po 21-dniowej fermentacji w polędwicy z probiotycznymi bakteriami *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 [Neffe i Kołozyn-Krajewska 2010]. Niskie pH oraz wysoka liczba bakterii LAB, dzięki wytwarzaniu substancji o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, będących produktami ich metabolizmu, mogą hamować rozwój flory patogennej [Dobson i in. 2012].

WNIOSKI

1. Zastosowanie mieszaniny bakterii probiotycznych, jako kultury startowej do produkcji surowo dojrzewających baleronów, spowodowało zmiany kwasowości czynnej tych produktów, zarówno bezpośrednio po zakończeniu fermentacji, jak i po 90-dniowym okresie przechowywania. Włączenie *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 do kultury startowej wpłynęło na wzrost wartości pH baleronów.

2. Wykorzystanie mieszaniny szczepów bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 i *Lactobacillus acidophilus* Bauer w procesie fermentacji surowo dojrzewających baleronów ograniczyło zmiany oksydacyjne tłuszczu podczas przechowywania i stabilizowało barwę wyrobów.

3. W surowo dojrzewających baleronach wyprodukowanych przy udziale probiotycznego szczepu *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 stwierdzono największą liczbę bakterii kwasu mlekowego.

LITERATURA

- Ammor M.S., Mayo B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Sci.* 1 (76), 138–146.
- Arihara K., Ota H., Itoh M., Kondo Y., Sameshima T., Yamanaka H., Akimoto M., Kanai S., Miki T., 1998. *Lactobacillus acidophilus* Group Lactic Acid Bacteria Applied to Meat Fermentation. *J. Food Sci.* 63 (3), 544–547.
- Bedia M., Méndez L., Bañón S., 2011. Evaluation of different starter cultures (*Staphylococci plus Lactic Acid Bacteria*) in semi-ripened Salami stuffed in swine gut. *Meat Sci.* 87, 381–386.
- Bozkurt H., Erkmen O., 2002. Effects of starter cultures and additives on the quality of Turkish style sausage (sucuk). *Meat Sci.* 61, 149–156.
- CIE, 2004. Technical Report: Colorimetry nr 15, 3rd edition, International Commission on Illumination, Washington, <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/003/cie.15.2004.pdf> (data dostępu: 10.05.2014).
- Corral S., Salvador A., Flores M., 2013. Salt reduction in slow fermented sausages affects the generation of aroma active compounds. *Meat Sci.* 93, 776–785.
- Dobson A., Cotter P.D., Ross R.P., Hill C., 2012. Bacteriocin production: a probiotic trait? *Appl. Environ. Microbiol.* 78 (1), 1–6.
- Gajewska J., Błaszczuk M.K., 2012. Probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej (LAB). *Post. Microbiol.* 51 (1), 55–65.
- Lorenzo J.M., Purriños L., 2013. Changes on physico-chemical, textural, proteolysis, lipolysis and volatile compounds during the manufacture of dry-cured “Lacón” from Celta pig breed. *J. Biol. Sci.* 13 (4), 168–182.
- Lücke F.K., 2000. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Sci.* 56, 105–115.
- Neffe K., Kołożyn-Krajewska D., 2010. Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w dojrzewających produktach mięsnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 5 (72), 167–177.
- Okoń A., Dolatowski Z.J., 2012. Proteoliza białek w wędlinach surowo dojrzewających z udziałem szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 6 (85), 138–151.
- Pikul J., Leszczyński D.E., Kummerow F.A., 1989. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.* 37, 1309–1313.
- PN ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH. Metoda odwoławcza.
- Ruiz-Moyano S., Martín A., Benito M.J., Hernández A., Casquete R., Córdoba M., 2011. Application of *Lactobacillus fermentum* HL57 and *Pediococcus acidilactici* SP979 as potential probiotics in the manufacture of traditional Iberian dry-fermented sausages. *Food Microbiol.* 28, 839–847.
- Skwarek M., Dolatowski Z.J., 2013. Wpływ bakterii probiotycznych na właściwości reologiczne szynek surowo dojrzewających. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 3 (88), 73–82.
- Stadnik J., Stasiak D.M., Dolatowski Z.J., 2014. Proteolysis in dry-aged loins manufactured with sonicated pork and inoculated with *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic strain. *Int. J. Food Sci. Technol.* 49, 2578–2584.
- Wójciak K.M., Dolatowski Z.J., Kołożyn-Krajewska D., Trząskowska M., 2012. The effect of the *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic strain on the quality of dry-fermented sausage during chilling storage. *J. Food Quality* 35, 353–365.
- Zdolec N., Hadžiosmanović M., Kozaciński L., Cvrtila Ž., Filipović I., Škrivanko M., Leskovar K., 2008. Microbial and physicochemical succession in fermented sausages produced with bacteriocinogenic culture of *Lactobacillus sakei* and semi-purified bacteriocin mesentericin Y. *Meat Sci.* 80, 480–487.

Ziarno M., Zaręba D., 2008. Charakterystyka komercyjnych kultur startowych stosowanych w przetwórstwie mięsa. *Medycyna Wet.* 64 (9), 1078–1082.

EFFECT OF PROBIOTIC BACTERIA ON SELECTED PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PARAMETERS OF DRY-CURED PORK NECKS DURING STORAGE

Summary. The objective of the research study was to assess the quality properties of dry-cured pork necks inoculated with *Lactobacillus casei* LOCK 0900, *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 probiotic strains, after 90 days of storage. The range of the analysis conducted production pork necks and assessment of the impact of storage conditions at $4 \pm 1^\circ\text{C}$ on the physicochemical and microbiological properties. Four types of samples were prepared: C (*L. casei*), CA (*L. casei* + *L. acidophilus*), CB (*L. casei* + *B. animalis*) i CAB (*L. casei* + *L. acidophilus* + *B. animalis*). The pH value, oxidation-reduction potential, TBARS index, total colour change (ΔE^*_{ab}), total viable count (OLD) and lactic acid bacteria (LAB) were determined. The pH values analysis showed the differences between variants research during storage. It was found the decrease of pH value in samples with *Lactobacillus* bacteria (C and CA), while increase these values in samples containing *Bifidobacterium* (CB and CAB). The changes of colour and fat oxidation during storage were limited by mixture of probiotics *L. casei* and *L. acidophilus*. The study showed that for manufacture of dry-cured meat products with large amounts of intramuscular fat (pork neck) can be used probiotic bacteria as starter culture.

Key words: probiotic bacteria, storage, dry-cured pork necks