

ANNA OKOŃ, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI

WPLYW BAKTERII PROBIOTYCZNYCH NA PROFIL WOLNYCH AMINOKWASÓW I CECHY SENSORYCZNE POŁĘDWIC WIEPRZOWYCH SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH PODCZAS PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu probiotycznych szczepów bakterii na profil wolnych aminokwasów i wyróżniki sensoryczne polędwic surowo dojrzewających.

Materiał doświadczalny stanowiły polędwice wieprzowe surowo dojrzewające z udziałem szczepów probiotycznych (*Lactobacillus casei* LOCK 0900, *Lb. acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium bifidum*), oceniane bezpośrednio po dojrzewaniu oraz po 2 i 4 miesiącach chłodniczego przechowywania. Przygotowano cztery warianty doświadczalne: próbę kontrolną bez probiotyku, próbę ze szczepem *Lb. casei* LOCK 0900, próbę ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer oraz próbę ze szczepem *Bifidobacterium bifidum*. W badaniach określono poziom peptydów, profil wolnych aminokwasów oraz dokonano oceny sensorycznej.

Stwierdzono, że dodatek bakterii probiotycznych wpłynął na wyróżniki jakości sensorycznej produktu. Próba kontrolna charakteryzowała się niższą jakością sensoryczną w czasie całego okresu przechowywania w porównaniu z próbkami z probiotykami. Bezpośrednio po dojrzewaniu najwyżej oceniono polędwicę ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (9 j.u.), natomiast po 2 i 4 miesiącach przechowywania – polędwicę z dodatkiem *Lb. acidophilus* Bauer (odpowiednio: 9,2 j.u.; 8,94 j.u.). W czasie chłodniczego przechowywania najwyżej oceniono wyróżnik: „smak mięsa suszonego” w próbce ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (po dojrzewaniu – 3,97 j.u., po 2 miesiącach – 4,11 j.u. oraz po 4 miesiącach – 4,61 j.u.), która charakteryzowała się również dużą zawartością kwasu glutaminowego (odpowiednio: 0,49 1,15 i 1,39 mg/g). Stwierdzono statystycznie istotny wzrost zawartości wolnych aminokwasów w próbce kontrolnej po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania – z 19,24 do 28,74 mg/g. Próba ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer zawierała więcej peptydów: po dojrzewaniu – 3,99 mg/g, po 2 miesiącach – 3,95 mg/g i po 4 miesiącach – 3,43 mg/g, w porównaniu z próbą kontrolną (odpowiednio: 3,53 mg/g, 3,9 mg/g oraz 3,36 mg/g).

Słowa kluczowe: polędwice dojrzewające, probiotyki, aminokwasy, ocena sensoryczna

Wprowadzenie

Cechy sensoryczne dojrzewających produktów mięsnych są wynikiem szeregu reakcji zachodzących w czasie dojrzewania: proteolizy, lipolizy i innych przemian [17, 27]. Jakość sensoryczna produktów dojrzewających zależy w dużej mierze od parametrów procesu technologicznego, właściwości surowca mięsnego oraz oksydacji podczas dojrzewania i przechowywania [28]. Na smak mięsa wpływają uwarunkowania genetyczne (gatunek, rasa i płeć) i czynniki środowiskowe (wiek, sposób odżywiania i stres) [6, 24]. Candogan i wsp. [5] ustalili, że większy wpływ na zmiany proteolityczne i związany z nimi profil sensoryczny w dojrzewających wołowych kielbasach ma etap procesu dojrzewania oraz jego parametry niż zastosowane drobnoustroje. Zmiany proteolityczne wpływają na tworzenie smaku, aromatu i tekstury produktu oraz na jego trwałość przechowalniczą. Wolne aminokwasy uczestniczą w tworzeniu aromatu produktu oraz są prekursorami innych cech sensorycznych. W czasie dojrzewania obserwuje się wzrost zawartości wolnych aminokwasów powstałych w wyniku degradacji krótkołańcuchowych peptydów, a ich maksymalny poziom jest związany przede wszystkim z okresem i parametrami technologicznymi fermentacji [2, 7]. W tym etapie obserwuje się największy wzrost liczby drobnoustrojów, co może sugerować, że mikroflora ma wpływ na powstawanie niskocząsteczkowych związków białkowych [26]. Ilość wolnych aminokwasów służy jako wskaźnik jakości produktu. Ma również wpływ na obecność związków odpowiedzialnych za bezpieczeństwo zdrowotne i cechy sensoryczne [25].

Producenci kultur starterowych do wyrobów surowo dojrzewających skupili się obecnie na drobnoustrojach, które syntetyzują duże ilości związków zapachowych i smakowych w celu nadania określonych właściwości sensorycznych i przyspieszenia procesu dojrzewania [9, 12]. Mało poznany jest udział bakterii kwasu mlekowego w tworzeniu aromatu i proteolizy białek mięśniowych. Obserwowany wzrost niskocząsteczkowych peptydów i wolnych aminokwasów jest przede wszystkim skutkiem działania enzymów tkankowych [8, 15, 29]. Wpływ probiotycznych kultur bakterii na przemiany proteolityczne i właściwości sensoryczne fermentowanych produktów mięsnych jest w fazie badań.

Celem pracy było określenie wpływu probiotycznych szczepów bakterii (*Lactobacillus casei* LOCK 0900, *Lb. acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium bifidum*) w połączeniach surowo dojrzewających na poziom peptydów, profil wolnych aminokwasów i wyróżniki jakości sensorycznej produktu.

Materialy i metody badań

W warunkach półtechnicznych Katedry Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wykonano produkcję polędwicy surowo doj-

rzewającej z wykorzystaniem bakterii probiotycznych. W badaniach zastosowano szczepy: *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum*. Bakterie probiotyczne pochodziły z kolekcji Katedry Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. 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(V) sodu) w ilości 2,8 % w stosunku do masy mięsa. Następnie dodawano glukozę w ilości 6 g/kg mięsa oraz odpowiedni szczep bakterii probiotycznych w liczbie 10^6 jtk/g produktu (tab. 1). Przygotowane próby poddawano trzytygodniowemu dojrzewaniu w temp. $16 \div 18$ °C i wilgotności $70 \div 80$ %. Podczas dojrzewania polędwice wędzono zimnym dymem (30 °C/30 min). Wyrобы badano bezpośrednio po dojrzewaniu oraz po 2 i 4 miesiącach chłodniczego przechowywania (4 °C). Zrobiono dwie serie produktów, każdy wyróżnik oceniono trzykrotnie.

Tabela 1. Warianty doświadczenia.
Table 1. Variants of the experiment.

Próba Sample	Mieszanka peklująca [%] Curing salt[%]	Glukoza [g/kg] Glucose [g/kg]	<i>Lb. casei</i> ŁOCK 0900	<i>Lb. acidophi-</i> <i>lus</i> Bauer	<i>Bifidobacterium</i> <i>bifidum</i>
K	2,8	6	-	-	-
P1	2,8	6	+	-	-
P2	2,8	6	-	+	-
P3	2,8	6	-	-	+

W próbach oznaczano: potencjał oksydacyjno-redukcyjny (ORP) – pomiar ORP prowadzono według metody podanej przez Nam i Ahn [14], kwasowość ogólną – zgodnie z PN [20] – pomiaru dokonywano przy użyciu pH-metru cyfrowego CPC-501 (Elmetron) i elektrody zespolonej ERH-111 w wyciągu wodnym produktu. Zawartość wolnych aminokwasów oznaczano metodą ninhydrynową [3, 13], pomiar absorbancji – za pomocą spektrofotometru Nicole Evolution 300 (Thermo Elektron Corporation) przy $\lambda = 570$ nm. Analizę jakościową i ilościową wolnych aminokwasów wykonywano metodą chromatografii jonowymiennej, przy użyciu analizatora aminokwasów AAA 400 firmy INGOS (Centralne Laboratorium Agroekologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie). Zawartość peptydów rozpuszczalnych w wodzie oznaczano metodą spektrofotometryczną wg Lowry’ego i wsp. [10] – pomiar absorbancji przy $\lambda = 750$ nm. Polędwice poddawano analizie sensorycznej z zastosowaniem metody Ilościowej Analizy Opisowej (QDA) [19, 21]. Analizę QDA wykonywał 10-osobowy

zespół, przeszkolony zgodnie z wymaganiami normy PN-ISO 8586-2:1996 [22]. Do analizy sensorycznej wybrano 4 wyróżniki zapachu (suszonego mięsa, ostry, starego tłuszczu, inny), 7 wyróżników smaku (suszonego mięsa, słony, gorzki, przechowalniczy, piekący, kwaśny, inny). W ocenie sensorycznej określano jakość ogólną produktu. Intensywność wybranych wyróżników jakości sensorycznej zaznaczano na niestrukturowanej skali graficznej (0 ÷ 10 j.u.) z oznaczeniami na obu jej biegunach:

- ocena zapachu i smaku („niewyczuwalny” – „bardzo intensywny”),
- ocena jakości ogólnej („zła – „bardzo dobra”).

Dokonano statystycznej charakterystyki próby (wartości średnie, odchylenia standardowe) i przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA; istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi określano na poziomie $p = 0,05$ testem Tukeya.

Wyniki i dyskusja

Najwyższą wartość pH bezpośrednio po dojrzewaniu (tab. 2) zaobserwowano w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (5,94), natomiast najniższą – w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (5,72). Po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania nastąpiło obniżenie wartości pH we wszystkich próbach o ok. 0,5 jednostki, przy czym wartość pH w próbach K i P1 kształtowała się na poziomie ok. 5,3, natomiast w próbach P2 i P3 były na poziomie 5,4. Po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania najwyższą kwasowością charakteryzowała się próba ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (5,42), natomiast najniższą – próba kontrolna (5,87). Nastąpiło obniżenie wartości pH po dwóch miesiącach przechowywania (tab. 2). Zaobserwowana zmiana wynikała z zachodzących procesów fermentacyjnych i nagromadzenia związków zakwaszających w produkcie (kwas mlekowy, octowy i inne). Lücke [11] stwierdził, że etap, od którego wartość pH podczas fermentacji przestaje się obniżać i zaczyna rosnąć, zależy w dużej mierze od jakości surowca, typu technologii oraz dynamiki rozwoju mikroorganizmów determinowanej parametrami technologicznymi.

Wartość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (tab. 3) bezpośrednio po dojrzewaniu była najwyższa w próbie kontrolnej (381,5 mV), a najniższa – w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (316,5 mV). W próbach z dodatkiem szczepu bakterii probiotycznych oznaczono niższą wartość potencjału redox w całym okresie przechowywania, w porównaniu z próbą kontrolną. Wartością najniższą potencjału w czasie całego okresu przechowywania charakteryzowała się próba ze szczepem bakterii *Lb. acidophilus* Bauer (odpowiednio: po dojrzewaniu – 316,5, po 2 miesiącach – 329,5, po 4 miesiącach – 328,95).

W badaniach zawartości peptydów rozpuszczalnych w wodzie (rys. 1) największą ich ilość bezpośrednio po dojrzewaniu oznaczono w próbie z dodatkiem szczepu *Lb. acidophilus* Bauer (3,56 mg/g), *Lb. casei* ŁOCK 0900 (3,54 mg/g) oraz w próbie kontrolnej (3,53 mg/g), zaś najmniejszą – w próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium*

bifidum (3,37 mg/g). Prawdopodobnie było to wynikiem działania kalpain, w pierwszym etapie zmian poubojowych mięsa, które do swojej aktywności wymagają wysokiego pH ($7,0 \div 7,5$) [15, 29].

Tabela 2. Wartość pH polędwic surowo dojrzewających.
Table 2. pH of raw-ripening pork loins.

Próba / Sample	pH					
	Czas przechowywania [miesiące] / Storage time [months]					
	0		2		4	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
K	5,88	0,04	5,30	0,06	5,87	0,13
P1	5,80	0,08	5,29	0,03	5,70	0,16
P2	5,94	0,10	5,36	0,09	5,42	0,07
P3	5,72	0,06	5,41	0,02	5,52	0,07

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 3.

Tabela 3. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny (ORP) polędwic surowo dojrzewających.
Table 3. Oxidation-reduction potential (ORP) of raw-ripening pork loin.

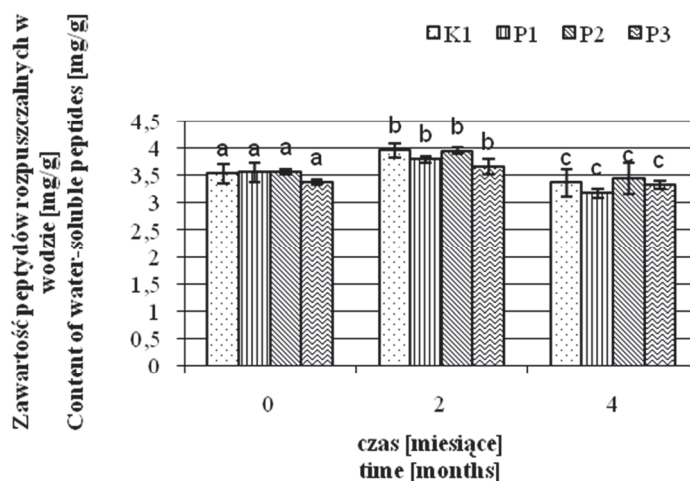
Próba / Sample	ORP [mV]					
	Czas przechowywania [miesiące] / Storage time [months]					
	0		2		4	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
K	381,5	13,85	338,1	12,2	372,6	7,1
P1	359,1	5,54	334,5	12,7	366,5	15,8
P2	316,5	6,23	329,5	13,1	328,95	8,01
P3	337,0	4,15	330,5	6,1	372,1	7,44

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 3.

Największą zawartość peptydów rozpuszczalnych w wodzie po 2 miesiącach chłodniczego przechowywania zaobserwowano w próbie kontrolnej (3,95 mg/g) i w próbie z dodatkiem szczepu *Lb. acidophilus* Bauer (3,94 mg/g), natomiast najmniejszą – w próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium bifidum* (3,6 mg/g). Po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania zaobserwowano zmniejszenie zawartości peptydów we wszystkich badanych wariantach polędwic. Największą zawartość peptydów oznaczono w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (3,43 mg/g), a naj-

mniejszą – w próbie ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 (3,1 mg/g). Nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic pod względem zawartości peptydów w badanych polędwicach.



Objaśnienia:/ Explanatory notes:

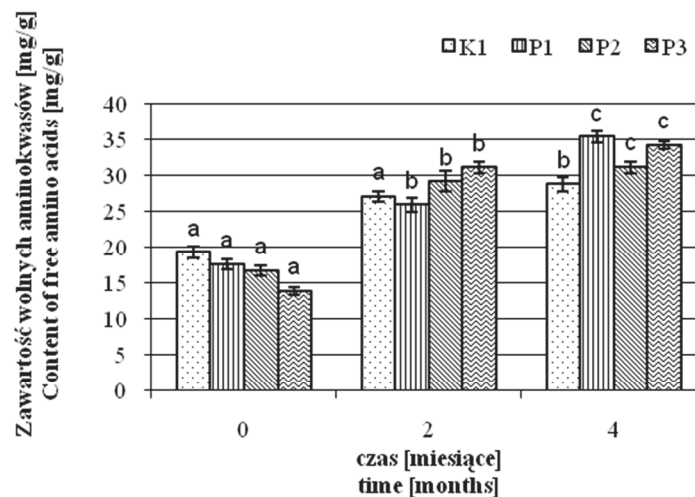
a, b, c- wartość oznaczone tymi samymi literami w obrębie tego samego czasu przechowywania nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / values within the same storage period and denoted by the same letters do not differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Rys. 1. Zawartość peptydów w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 1 Content of peptides in ripening pork loins.

Po dojrzewaniu zaobserwowano największą zawartość wolnych aminokwasów w próbie kontrolnej (19,24 mg/g), natomiast najmniejszą – w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (13,77 mg/g) (rys. 2). Po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania odnotowano wzrost zawartości wolnych aminokwasów we wszystkich próbach, przy czym największy stwierdzono w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (z 13,77 do 31,05 mg/g) oraz w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (z 16,71 do 29,11 mg/g). Natomiast po czterech miesiącach największą zawartość wolnych aminokwasów zaobserwowano w próbie ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 (35,34 mg/g) oraz w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (34,2 mg/g). Tak duży, statystycznie istotny wzrost zawartości wolnych aminokwasów po 2 miesiącach w próbie P2 i P3, świadczy o dużej intensywności zmian proteolitycznych, z udziałem wprowadzanych drobnoustrojów, zachodzących w wymienionych próbach. Wpływ na to mogła mieć taka sama w obu próbach wartość pH (ok. 5,4). O'Halloran i wsp. [16] obserwowali wyższą aktywność i uwalnianie katepsyny B i katepsyny L z lizosomów pod wpływem niskiego pH mięsa wołowego. Podobne tendencje zaobserwowali rów-

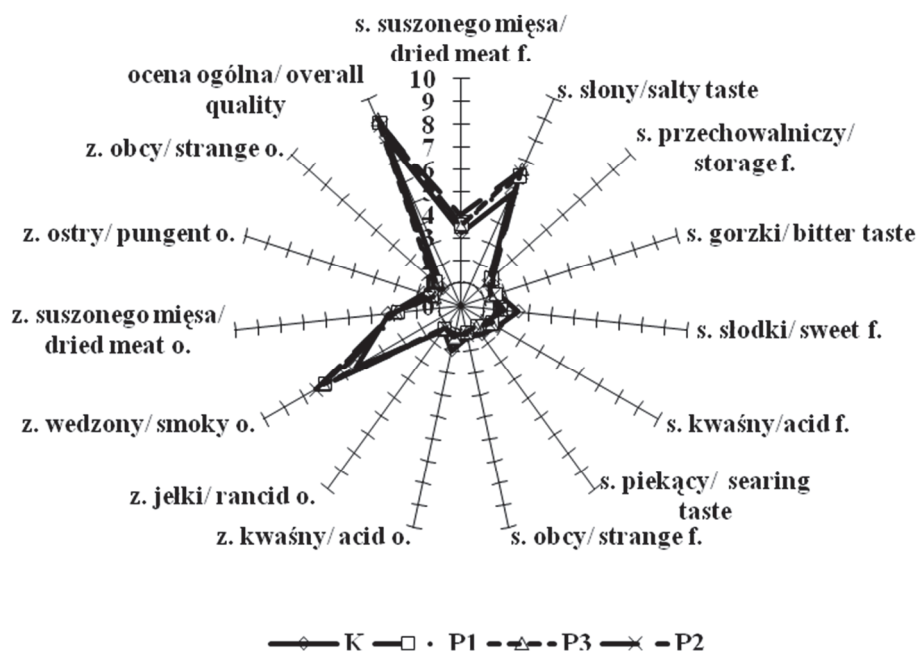
niez Berge i wsp. [4], którzy wykazali, że spadek wartości pH po wstrzyknięciu kwasu mlekowego do mięsa wołowego spowodował wzrost aktywności enzymów lizosomalnych i degradację białek miofibrylarnych. Sugeruje się, że niskie pH surowca stwarza dobre warunki do uwolnienia katepsyn z lizosomów i wzrostu ich aktywności [4, 16]. Zmiany aktywności poszczególnych katepsyn (B, L i H) w czasie dojrzewania szynek hiszpańskich zaobserwowali Parreño i wsp. [18], którzy wykazali, że najdłużej wykazują aktywność katepsyny B i L. Zhao i wsp. [30] dowiedli, że na aktywność katepsyn L i B w szynkach Jinhua istotny wpływ mają: temperatura, zawartość soli i wartość pH. Natomiast Pomponio i wsp. [23] ocenili inną grupę egzogennych enzymów tkanki mięśniowej i zaobserwowali obniżenie aktywności kalpain wraz ze wzrostem kwasowości mięsa w czasie przechowywania poubojowego. Zróżnicowane wartości wolnych aminokwasów w próbach mogą świadczyć o różnicach w czasie proteolizy białek, wywołanych inną mikroflorą produktu. Casaburi i wsp. [7] zaobserwowali różne zawartości wolnych aminokwasów w kiełbasach z różnymi kulturami bakterii. Podobne obserwacje podkreślają również Martín i wsp. [12], którzy analizowali aktywność proteolityczną szczepu *Penicillium chrysogenum* Pg222 oraz *Debaryomyces hansenii* Dh345 na podstawie produktów hydrolizy białek miofibrylarnych w surowo dojrzewających połówkach wieprzowych. Wykazali, że szczep *P. chrsogenum* Pg222 przejawiał większą aktywność proteolityczną, określaną na podstawie zawartości peptydów i wolnych aminokwasów, w porównaniu ze szczepem *D. hansenii* Dh345.



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

Rys. 2. Zawartość wolnych aminokwasów w połówkach surowo dojrzewających.

Fig. 2. Content of free amino acids in ripening pork loins.



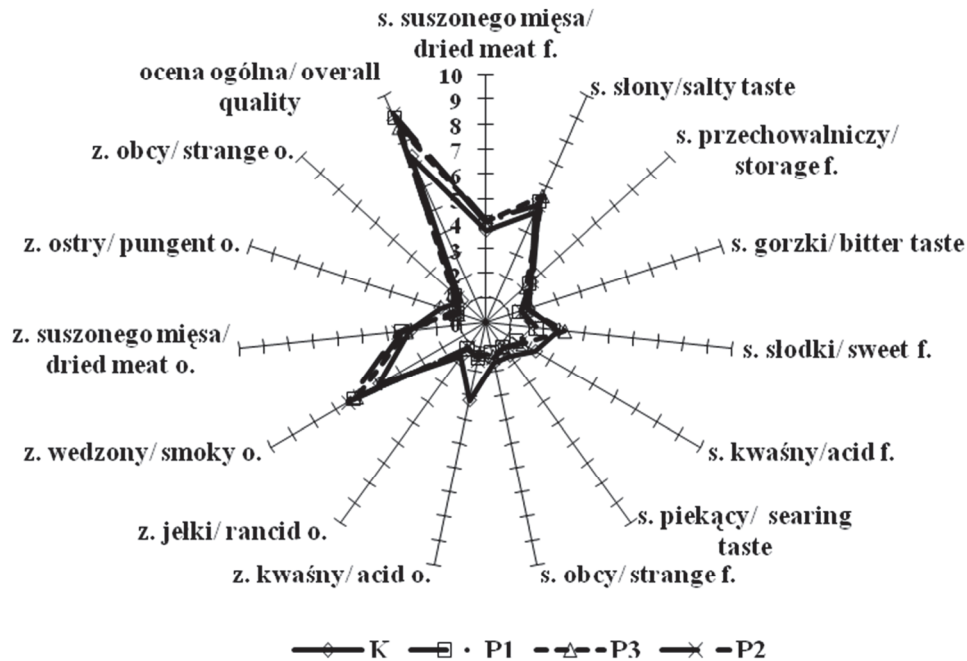
Objaśnienia: / Explanatory notes:

s – smak / f. flavour; z – zapach / o. – odour.

Rys. 3. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych połówiec wieprzowych surowo dojrzewających, po dojrzewaniu.

Fig. 3. Assessment results of intensity of sensory traits indicators of raw ripening pork loins after ripening.

W ocenie jakości sensorycznej połówiec surowo dojrzewających bezpośrednio po dojrzewaniu (rys. 3) najwyższą ocenę ogólną przyznano próbom ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (9 j.u.), natomiast najniższą – próbom kontrolnym (8,1 j.u.). Najwyższa ocena ogólna próby ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* prawdopodobnie wynikała z największego w niej udziału kwasu glutaminowego (6,35 %) (rys. 8). Po 2 i 4 miesiącach chłodniczego przechowywania (rys. 3 i 4) najwyższe oceny ogólne zostały przyznane próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (odpowiednio: 9,2 i 8,94 j.u.) zaś najniższe – próbie kontrolnej (odpowiednio: 7,3 i 7,1 j.u.). Po 2 i 4 miesiącach przechowywania próba ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer charakteryzowała się również najwyższym udziałem kwasu glutaminowego (po 2 miesiącach – 5 %, po 4 miesiącach – 7,92 %).

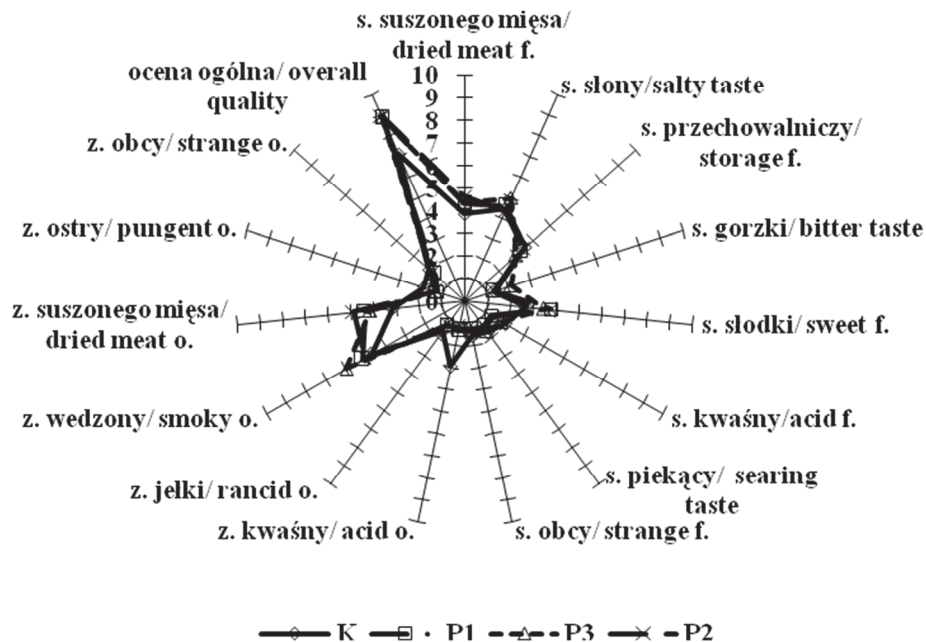


Objaśnienia jak na rys. 3. / Explanatory notes as in Fig. 3.

Rys. 4. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych połówiec wieprzowych surowo dojrzewających, po 2 miesiącach przechowywania.

Fig. 4. Assessment results of intensity of sensory traits indicators intensity of ripening pork loins after 2-month storage.

Wyniki własne porównano z danymi przedstawionymi przez innych autorów i stwierdzono, że na jakość ogólną wyrobów surowo dojrzewających wpływa procentowy udział kwasu glutaminowego w próbce [6, 24]. W czasie przechowywania zaobserwowano istotne różnice wartości wyróżników smaku. Stwierdzono wzrost intensywności odczuwanego smaku słodkiego po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania połówicy ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* z 1,62 do 3,48 j.u. oraz połówicy ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 z 1,7 do 3,78 j.u. Intensywność smaku słodkiego istotnie wzrosła w próbce ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania z 1,9 do 3,78 j.u. Zjawisko to można wytłumaczyć wzrostem zawartości takich aminokwasów, jak: alanina, seryna, histydyna i glicyna (rys. 6). Potwierdza to również intensywność odczuwanego smaku słonego, która istotnie zmalała we wszystkich wariantach połówicy probiotycznych po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania, na co wpływ miał wzrost zawartości wolnych aminokwasów (rys. 5).



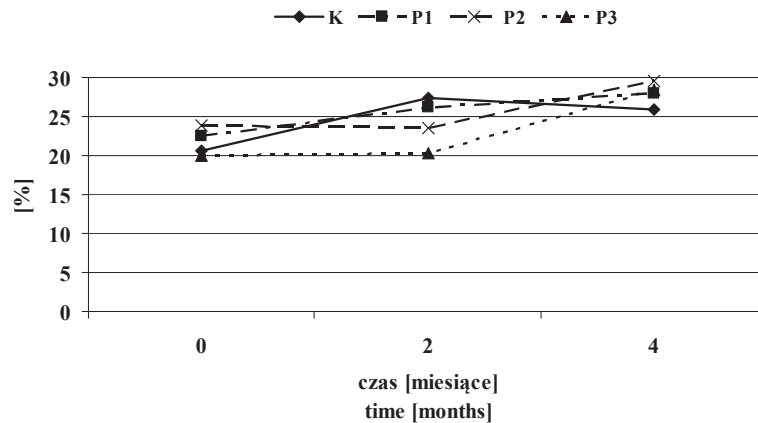
Objaśnienia jak na rys. 3. / Explanatory notes as in Fig. 3.

Rys. 5. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych polędwicz wieprzowych surowo dojrzewających, po 4 miesiącach przechowywania.

Fig. 5. Assessment results of intensity of sensory traits indicators of ripening pork loins after 4-month storage.

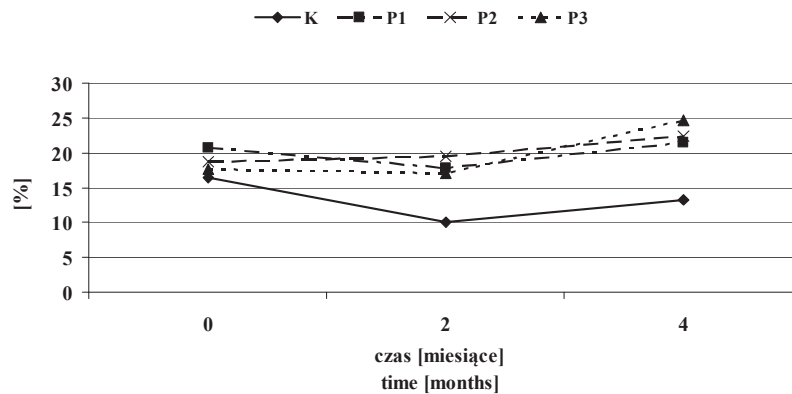
Do aminokwasów kształtujący smak słodki należą: alanina, histydyna, tyrozyna, seryna, prolina oraz glicyna [1, 2, 17, 27]. Procentowy udział aminokwasów kształtujących smak słodki w badanych próbach bezpośrednio po dojrzewaniu (rys. 6) był największy w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (23,8 %), natomiast najmniejszy – w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (19,9 %). Po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania stwierdzono największy wzrost udziału aminokwasów „słodkich” w próbie kontrolnej – z 20,52 do 27,4 %, natomiast w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer odnotowano zmniejszenie z 23,8 do 23,5%. Po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania zaobserwowano odwrotną zależność i największy wzrost w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* – z 20,3 do 28,44 % oraz w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer – z 23,5 do 29,5 %, zaś w próbie kontrolnej zmniejszenie – z 27,4 do 25,8 %. Wykazano statystyczny wzrost intensywności odczuwanego smaku mięsa suszonego w polędwicy ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania – z 3,5 do 4,35 j.u. oraz między próbą kontrolną i polędwicą ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer – odpowiednio: 3,84

i 4,61 j.u. Wzrost odczuwanego smaku suszonego mięsa po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania jest wynikiem obniżenia aktywności wody w produkcie oraz nagromadzenia się wolnych aminokwasów. Wyższą oceną smaku suszonego mięsa charakteryzowały się również próby (P2 i P3) z większym udziałem kwasu glutaminowego (rys. 8) i aminokwasów słodkich (rys. 6).



Rys. 6. Udział wolnych aminokwasów kształtujących „smak słodki” w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 6. Percent content of free amino acids that contribute to “sweet flavour” of ripening pork loins.

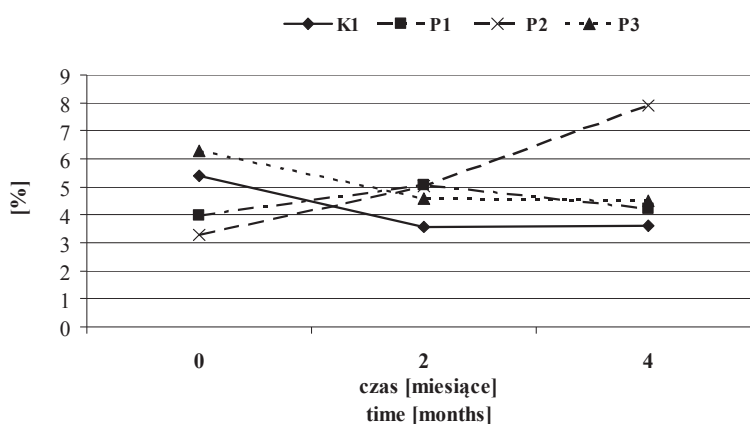


Rys. 7. Udział wolnych aminokwasów kształtujących „smak gorzki” w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 7. Percent content of free amino acids that contribute to “bitter flavour” of ripening pork loins.

Za charakterystyczny mięsny, bulionowy smak i zapach odpowiedzialny jest kwas glutaminowy [6, 8]. Udział tego aminokwasu w polędwicach ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (rys. 8) systematycznie wzrastał w czasie przechowywania –

z 3,28 % bezpośrednio po dojrzewaniu do 5,04 % po 2 miesiącach oraz do 7,92 % po 4 miesiącach. Największy udział kwasu glutaminowego bezpośrednio po dojrzewaniu zaobserwowano w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (6,35 %). Po dwóch miesiącach przechowywania w próbie ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 oraz w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer udział kwasu glutaminowego wynosił ok. 5 %. Po czterech miesiącach stwierdzono największy udział aminokwasów kształtujących smak mięsny w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (7,92 %).



Rys. 8. Udział wolnych aminokwasów kształtujących smak mięsny („umami”) w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 8. Percent content of free amino acids that contribute to flavour of meat (“umami”) in ripening pork loins.

Odczuwany smak gorzki bezpośrednio po dojrzewaniu najwyżej oceniono w próbie kontrolnej (1,71 j.u.), natomiast najniżej – w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (1,4 j.u.). Po 2 i 4 miesiącach chłodniczego przechowywania najwyższą intensywność smaku gorzkiego odnotowano w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (1,8 i 2,12 j.u.), natomiast najniższą – po 2 miesiącach w próbie ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 (1,45 j.u.) oraz po 4 miesiącach w próbie kontrolnej (1,32 j.u.). Nie wykazano jednak statystycznie istotnych różnic pod względem intensywności odczuwanego smaku gorzkiego. Intensywność smaku gorzkiego kształtowała się we wszystkich próbach w czasie całego okresu przechowywania na poziomie ok. 2 j.u. Za kształtowanie się smaku gorzkiego odpowiedzialne są wolne aminokwasy, takie jak: walina, metionina, izoleucyna, fenyloalanina i arginina oraz peptydy [1, 17, 27]. Zaobserwowano, że procentowy udział wolnych aminokwasów kształtujących smak gorzki (rys. 7) po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania zmniejszył się we wszystkich próbach w ogólnej ilości wolnych aminokwasów, w porównaniu z ich wartością po doj-

rzewaniu, z wyjątkiem próby ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer, w której odnotowano wzrost z 18,7 do 19,5 %. Po 4 miesiącach przechowywania zwiększył się udział aminokwasów gorzkich we wszystkich próbach. Najmniejsze ilości hydrofobowych aminokwasów w stosunku do pozostałych, odpowiedzialnych za tworzenie smaku gorzkiego, zaobserwowano w próbie kontrolnej (po dojrzewaniu – 16,4 %, po 2 miesiącach – 10 %, po 4 miesiącach – 13,2 %), natomiast największy – w próbie ze szczepem *Lb. casei* LOCK 0900 (po dojrzewaniu 20,6 %), w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer – po 2 miesiącach (19,5 %), a w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* – po 4 miesiącach (24,6 %). Ocena sensoryczna smaku gorzkiego nie korespondowała z udziałem aminokwasów gorzkich. Może to być spowodowane blokowaniem ich wpływu przez większy udział aminokwasów słodkich i kwasu glutaminowego w badanych próbach. Udział aminokwasów kształtujących smak słodki oraz smak mięsny korzystnie wpływał na odbieranie wrażeń sensorycznych prób w czasie przechowywania. Udział tych aminokwasów wynosił ok. $26,03 \div 27,14$ % bezpośrednio po dojrzewaniu, $24,92 \div 31,28$ % po 2 miesiącach przechowywania oraz $32,15 \div 37,44$ % po 4 miesiącach, natomiast w próbie kontrolnej poziom ten był niższy i wynosił odpowiednio: 25,93, 30,97 i 29,51%.

Stwierdzono również, że wysoki poziom kwasu glutaminowego i alaniny pozytywnie wpływał na sensoryczny odbiór prób. Podobne tendencje zaobserwowali Casaburi i wsp. [7], którzy określili zmiany zawartości wolnych aminokwasów w kielbasach ze szczepami *Staphylococcus xylosus* oraz *Lactobacillus curvatus* i wykazali największe zawartości kwasu glutaminowego oraz alaniny w czasie dojrzewania.

Wnioski

1. Zastosowanie bakterii probiotycznych do produkcji polędwic surowo dojrzewających wpłynęło na zwiększenie udziału peptydów i wolnych aminokwasów w gotowym wyrobie mięsny. Skutkowało to wzrostem ocen sensorycznych produktu, także w czasie chłodniczego przechowywania.
2. Zwiększenie intensywności wyróżników sensorycznych, takich jak smak mięsny czy smak słodki oraz zmiany w udziale peptydów i aminokwasów wskazuje na istotny udział probiotyków w proteolizie mięsa podczas fermentacji i przechowywania. Uzyskane wyniki badań wskazują na zasadność zastosowania bakterii probiotycznych jako kultur starterowych do produkcji wyrobów surowo dojrzewających.

Literatura

- [1] Ana San G., Hisayuki U.: Amino acid sensing in the gastrointestinal tract. Amino Acids. Springer-Verlag 2012.
- [2] Aro Aro J.M., Nyam-Osor P., Tsuji K., Shimada K-i., Fukushima M., Sekikawa M.: The effect of starter cultures on proteolytic changes and amino acid content in fermented sausages. Food Chem., 2010, **119** (1), 279-285.
- [3] Bailey J.L.: Techniques in protein chemistry. Elsevier Pub. Co., Amsterdam 1962, pp. 73-80.
- [4] 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.
- [5] Candogan K., Wardlaw F.B., Acton J. C.: Effect of starter culture on proteolytic changes during processing of fermented beef sausages. Food Chem., 2009, **116** (3), 731-737.
- [6] Careri M., Mangia A., Barbieri G., Bolzoni L., Virgili R., Parolari G.: Sensory property relationships to chemical data of italian-type dry-cured ham. J. Food Sci., 1993, **58**, 968-972.
- [7] Casaburi A., Aristoy M.C., Cavella S., Di Monaco R., Ercolini D., Toldra F., Villani F.: Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of vallo di diano (Southern Italy) as affected by use of starter cultures. Meat Sci., 2007, **76**, 295-307.
- [8] Flores M., Aristoy M.C., Antequera T., Barat J.M., Toldrá F.: Effect of brine thawing/salting on endogenous enzyme activity and sensory quality of Iberian dry-cured ham. Food Microbiol., 2012, **29** (2), 247-254.
- [9] Flores M., Toldrá F.: Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. Trends Food Sci. Technol., 2011, **22** (2 - 3), 81-90.
- [10] 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.
- [11] Lücke F.K.: Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Sci., 2000, **56** (2), 105-115.
- [12] Martín A., Asensio M.A., Bermúdez M.E., Córdoba M.G., Aranda E., Córdoba J.J. : Proteolytic activity of *Penicillium chrysogenum* and *Debaryomyces hansenii* during controlled ripening of pork loins. Meat Sci. 2002, **62** (1), 129-137.
- [13] Mikami M., Nagao M., Sekikawa M., Miura H., Hongo Y.: Effect of electrical stimulation in peptide and free amino acid content of beef homogenate and sarcoplasm during storage. Jap. Animal Technol., 1994, **65**, 1034-1043.
- [14] Nam K.C., Ahn D.U.: Effects of ascorbic acid and antioxidants on the color of irradiated ground beef. J. Food Sci. 2003, **68** (5), 1686-1690.
- [15] Nowak M.: Rola kalpain w procesie kruszenia mięsa. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **1** (42), 5-17.
- [16] 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.
- [17] Ottinger H., Soldo T., Hofmann T.: Discovery and structure determination of a novel maillard-derived sweetness enhancer by application of the comparative taste dilution analysis (cTDA). J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 1035-1041.
- [18] 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.
- [19] PN-ISO 11035:1999. Analiza sensoryczna. Identyfikacja i wybór deskryptorów do ustalania profilu sensorycznego z użyciem metod wielowymiarowych.
- [20] PN-ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH (metoda odwoławcza).
- [21] PN-ISO 6658:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.

- [22] PN-ISO 8586-2:1996. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających – Eksperci.
- [23] 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.
- [24] Rivas-Cañedo A., Fernández-García E., Nuñez M.: Volatile compounds in dry-cured Serrano ham subjected to high pressure processing. Effect of the packaging material. *Meat Sci.*, 2009, **82 (2)**, 162-169.
- [25] Roseiro L.C., Gomes A., Gonçalves H., Sol M., Cercas R., Santos C.: Effect of processing on proteolysis and biogenic amines formation in a Portuguese traditional dry-fermented ripened sausage “Chouriço Grosso de Estremoz e Borba PGI”. *Meat Sci.*, 2010, **84 (1)**, 172-179.
- [26] Salgado A., García Fontán M. C., Franco I., López M., Carballo J.: Biochemical changes during the ripening of *Chorizo de cebolla*, a Spanish traditional sausage. Effect of the system of manufacture (homemade or industrial). *Food Chem.*, 2005, **92 (3)**, 413-424.
- [27] Soldo T., Blank I., Hofmann T.: (+)-(*S*)-Alapyridaine – a general taste enhancer ? *Chem. Senses.*, 2003, **28**, 371-379.
- [28] Soto E., Hoz L., Ordóñez J.A., Hierro E., Herranz B., López-Bote C., Cambero M.I.: Volatile profile and sensory characteristics of dry-cured loins as affected by feeding level in the period previous to the late fattening phase and by rearing system of iberian pigs. *J. Muscle Foods*, 2010, **21**, 636-657.
- [29] Toldra F., Rico E., Flores J.: Activities of pork muscle proteases in model cured meat systems. *Biochimie*, 1992, **74**, 291-296.
- [30] Zhao G.M., Zhou G.H., Wang Y.L., Xu X.L., Huan Y.J., Wu J.Q.: Time-related changes in cathepsin B and L activities during processing of Jinhua ham as a function of pH, salt and temperature. *Meat Sci.*, 2005, **70 (2)**, 381-388.

EFFECT OF PROBIOTIC BACTERIA ON FREE AMINO ACID PROFILE AND SENSORY TRAITS OF RAW-RIPENING PORK SIRLOIN DURING STORAGE

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of probiotic bacteria strains on a free amino acid profile and sensory indicators of raw ripening sirloins.

The research material consisted of raw ripening pork sirloins with probiotic strains (*Lb. casei* LOCK 0900, *Lb. acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium bifidum*); the material was assessed immediately after ripening and after 2- and 4-month cold storage. Four experimental sample variants were prepared: control sample without any probiotic strain, sample with *Lb. casei* LOCK 0900 strain, sample with *Lb. acidophilus* Bauer strain, and sample with *Bifidobacterium bifidum* strain. The analyses comprised the determination of the level of peptides and of the profile of free amino acids, and the sensory assessment.

It was found that the addition of probiotic bacteria affected sensory quality indicators of the product. The control sample was characterized by a lower sensory quality during the entire storage period compared to the samples with probiotics. Immediately after ripening, the sirloin sample with *Bifidobacterium bifidum* strain (9 j.u.) was rated as the best, and after 2- and 4- month storage, the sirloin sample with *Lb. acidophilus* Bauer strains (9.2 and 8.94 j.u., respectively). During cold storage, the best rated was the “taste of dried meat” indicator of the sample with a *Lb. acidophilus* Bauer (3.97 j.u. strain after ripening and 4.11 j.u. after 2 months, and 4.61 j.u. after 4 months); also, that sample was characterized by a high content of glutamic acid (0.49 mg/g, 1.15 mg/g, and 1.39 mg/g, respectively). Furthermore, a statistically

significant increase, from 19.24 mg/g to 28.74 mg/g, was found in the content of free amino acid in the control sample after 4-month refrigerated storage. The sample with *Lb. acidophilus* Bauer strain contained more peptides: after ripening: 3.99 mg/g, after 2 months: 3.95 mg/g, and after 4 months: 3.43 mg/g compared to the control sample (after ripening: 3.53 mg/g, after 2 months: 3.9 mg/g, and after 4 months of storage 3.36 mg/g, respectively).

Key words: ripening sirloin, probiotics, amino acids, sensory assessment ☒