

Probiotinių kultūrų fermentuotuose mėsos gaminiuose įtaka produkto saugai

G. Garmienė, A. Šalaševičienė, A. Baltušnikienė, A. Šarkinas

KTU Maisto institutas, Taikos pr. 92, LT-51180 Kaunas; Antanas_Sarkinas@ktu.lt

Ištirtos probiotinių pienarūgščių kultūrų naudojimo fermentuotų dešrų gamyboje galimybės ir jų įtaka gaminio kokybei bei saugumui. Fermentuotų dešrų modelinės sistemos pagamintos tokios sudėties: liesa jautiena bei kiauliena ir kiaulienos lašiniai lygiomis dalimis. Pirmoji ir trečioji fermentuotų dešrų modelinės sistemos pagamintos su nitritine druska (2,5 %), o pirmoji ir antroji – su Bitec LS25 plus mišiniu, į kurio sudėtį įeina *Lactobacillus sake* LS25.

Įvertinta Bitec LS25 plus mišinio įtaka pienarūgščių bakterijų, koliforminių bakterijų skaičiaus, nitritų ir biogeninių aminų kiekio pokyčiams. Nustatyta, kad *Lactobacillus sake* LS25 paspartina terpės pH kritimą jau pirmosiomis dešrų brendimo paromis, skatina pienarūgščių bakterijų skaičiaus didėjimą.

Lactobacillus sake LS25 naudojimas leidžia išvengti koliforminių bakterijų skaičiaus šuolio brendimo pradžioje, kuris aiškiai pastebimas dešrose be pienarūgščių bakterijų.

Brandinimo metu buvo pastebėtas ($p < 0,05$) nitritų koncentracijos mažėjimas dešroje su *Lactobacillus sake* LS25, nitritinės druskos skilimo procesas yra intensyvesnis brandinimo pradiniam etape.

Brandinimo metu įvertintas biogeninių aminų putrescino, tiramino ir histamino pokytis. Proceso pabaigoje didžiausia putrescino (135 mg/kg), tiramino (84,1 mg/kg) ir histamino (155,3 mg/kg) koncentracija nustatyta fermentuotų dešrų modelinėje sistemoje be *Lactobacillus sake* LS25.

Raktažodžiai: biogeniniai aminai, putrescinas, tiraminas, histaminas, nitritai, *Lactobacillus sake* LS25.

Įvadas

Amino junginių kiekis maisto produktuose priklauso nuo maisto produktų sudėties, technologinių parametrų, kurie turi įtakos mikrofloros augimui maisto žaliavų ar produktų laikymo metu, įvairių maisto priedų, temperatūros, drėgumo, brandinimo sąlygų bei pakavimo subtilybių [1].

Biogeniniai aminai – įprasti maisto produktuose vykusių kitimo procesų junginiai. Jie dažniausiai susidaro mikroorganizmams dekarboksiliniant (atskeliant karboksi grupę) aminorūgštis. Maža šių junginių koncentracija įprastai nesukelia vartotojams jokio pavojaus. Tačiau, jei suvartojamos didelės biogeninių aminų dozės arba sutrinka natūralus šių junginių katabolizės mechanizmas organizme, – pastebimi intoksikacijos reiškiniai: galvos ir žarnyno skausmas, vidurių laisvėjimas, perštėjimas burnoje ir gerklėje, lūpų tinimas, kraujospūdžio didėjimas, kūno temperatūros kilimas, o atskirais atvejais – hemoragijos smegenyse bei širdies ritmo sutrikimas [2].

Literatūroje biogeniniai aminai minimi ir kitu aspektu, jie gali būti maisto produktų mikrobinio užterštumo rodiklis [3]. Nefermentuotuose maisto

produktuose atitinkama aminų koncentracija gali būti kaip mikrobinio užterštumo indikatorius. Tokių biogeninių aminų kaip histamino, tiramino, putrescino ir kadaverino koncentracija didėja laikant žuvį ar mėsą, ir tai glaudžiai susiję su mikrobinio užterštumo didėjimu ir juslinių produkto rodiklių pokyčiu. Fermentuotuose produktuose biogeninių aminų koncentracija priklauso nuo produkto sudėties, higienos sąlygų gaminant produktą, panaudotų raugo kultūrų ar paties gamybinio proceso, kurio metu skatinamas dekarboksilazę išskiriančių mikroorganizmų augimas [4].

Mūsų darbo tikslas yra nustatyti probiotinių kultūrų įtaką biogeninių aminų susidarymui fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brendimo metu.

Tyrimo objektai ir metodai

Pagamintos trys fermentuotų dešrų modelinės sistemos pagal receptūrą: liesa jautiena bei kiauliena ir kiaulienos lašiniai lygiomis dalimis. Pirmoji ir trečioji fermentuotų dešrų sistemos pagamintos su nitritine druska (2,5 %), o pirmoji ir antroji – su *Lactobacillus sake* LS25, dedant į faršą 50 g mišinio Bitec LS25 plus 100 g žaliavos.

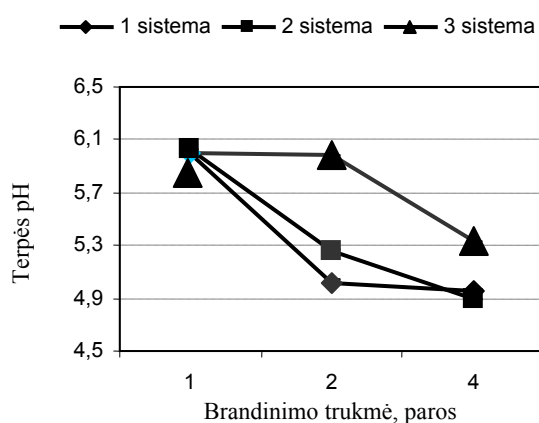
Nitratų ir nitritų kiekis, terpės pH, vandens aktyvumas, mikrobiologiniai rodikliai nustatyti įprastiniais mėsos produktų tyrimo metodais. Tirta 1-ą, 2-ą ir 4-ą fermentuotų dešrų modelinių sistemų brandinimo paras.

Biogeninių aminių: tiramino, putrescino ir histamino sililinių junginių kiekybinė analizė atlikta efektyviosios skysčių atvirkštinių fazių chromatografijos metodu su ultravioletine detekcija esant 254 nm bangos ilgiui. Tam biogeniniai aminai ekstrahuojami praskiesta perchloro rūgštimi. Ekstrakto dalis derivatizuojama dansilchlorido reagentu (5-dimetilamino-1-naftalen-sulfonchloridas).

Tyrimų kartotinumai 3–5 kartai, pateikiamos vidutinės reikšmės.

Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

Fermentuotų dešrų modelinių sistemų brandinimo metu stebėtas terpės pH ir vandens



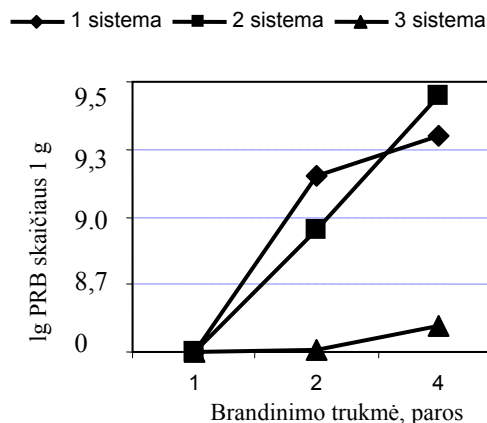
1 pav. Terpės pH kitimas fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brandinimo metu

Pienarūgščių bakterijų skaičius 1-oje ir 2-oje sistemose buvo $1,3 \times 10^9$ ir $0,9 \times 10^9$ KSV/g bei $1,6 \times 10^9$ ir $1,9 \times 10^9$ KSV/g atitinkamai 2-ą ir 4-ą brandinimo parą. Fermentuotų dešrų sistemose gauti statistiškai patikimi rezultatų reikšmių skirtumai ($p < 0,05$) 3-ą ir 4-ą brandinimo parą, lyginant juos su 3-ios sistemos rodikliais, kurie buvo $1,7 \times 10^7$ ir $2,0 \times 10^8$ KSV/g, atitinkamai 2-ą ir 4-ą brandinimo parą. Pastebėtas nemažas ($p < 0,05$) kiekybinis PRB mikroorganizmų skaičiaus šuolis 2-ą ir 4-ą fermentuotų dešrų brandinimo parą (2 pav.).

Bendras mikroorganizmų skaičius 1-oje ir 2-oje sistemose 4-ą brandinimo parą ($2,0 \times 10^9$ ir $1,7 \times 10^9$ KSV/g atitinkamai) buvo žymiai didesnis

aktyvumo kitimas. Ketvirtą brandinimo parą nustatytos mažiausios, lyginant su pradiniais duomenimis, pH reikšmės visose fermentuotų dešrų modelinėse sistemose. Stebėtas skirtingas terpės pH kitimas modelinėse sistemose: intensyviausias pH postūmis rūgščios terpės link vyko 1-oje ir 2-oje sistemose, antrąją brandinimo parą jose identifikuotos mažiausios ($p < 0,05$) pH vertės – 5,02 ir 5,26, taip pat ir ketvirtąją brandinimo parą – 4,96 ir 4,90 lyginant jas su 3-ios fermentuotų dešrų modelinės sistemos rodikliais (1 pav.). Vandens aktyvumo (a_w) tyrimo duomenys parodė, kad reikšmingų skirtumų mėginių grupėse nebuvo.

Fermentuotų dešrų modelinėse sistemose buvo atliktas bendro mikroorganizmų skaičiaus (BMS), koliforminių bakterijų ir pienarūgščių bakterijų (PRB) kiekybinis įvertinimas (2 pav.).



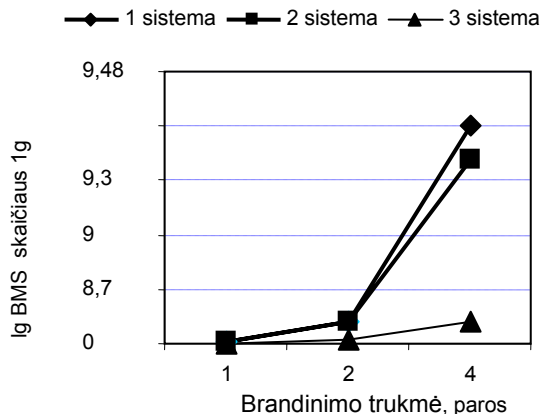
2 pav. Pienarūgščių bakterijų (PRB) skaičiaus kitimas fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brandinimo metu

($p < 0,05$) lyginant su 3-ios sistemos (pagamintos be raugų kultūros) duomenimis ($2,0 \times 10^8$ KSV/g). Pastebėtas bendro mikroorganizmų skaičiaus didėjimas 2-ą ir 4-ą fermentuotų dešrų brandinimo parą (3 pav.).

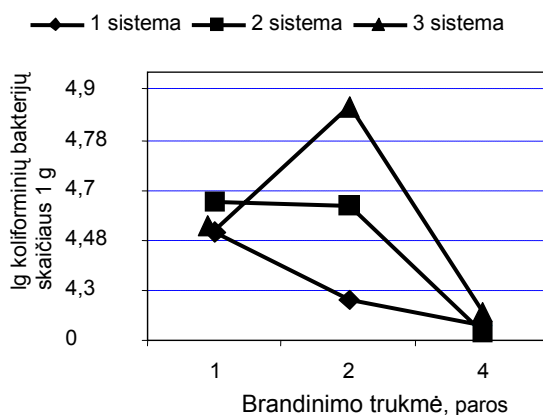
Po vienos brandinimo paros koliforminės bakterijos buvo rastos visuose trijų fermentuotų dešrų sistemų mėginiuose: $3,2 \times 10^4$, $4,1 \times 10^4$ ir $3,3 \times 10^4$ KSV/g atitinkamai). Tačiau tolimesniame dešrų brandinimo etape 3-je fermentuotų dešrų sistemoje (be bioraugų kultūros) buvo pastebėtas koliforminių bakterijų augimas: 2-ą parą jų skaičius siekė $7,0 \times 10^4$ KSV/g lygį, lyginant su 1-os ir 2-os fermentuotų dešrų sistemų rezultatais (4 pav.).

Ketvirtą brandinimo parą koliforminių bakterijų skaičius 1-oje, 2-oje ir 3-oje fermentuotų dešrų

sistemose buvo atitinkamai $4,3 \times 10^3$, $2,2 \times 10^3$ ir $8,5 \times 10^3$ KSV/g.



3 pav. Bendro mikroorganizmų skaičiaus (BMS) kitimas fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brandinimo metu

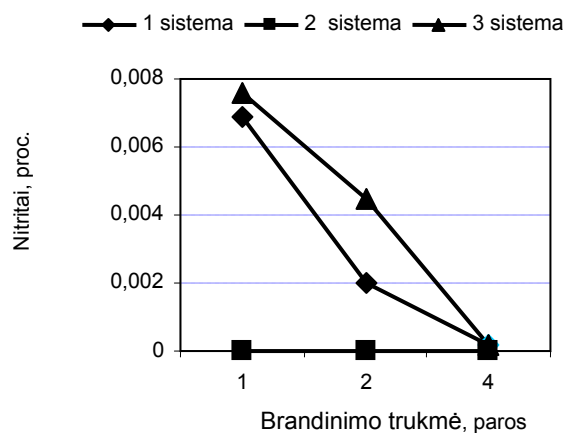


4 pav. Koliforminių bakterijų skaičiaus kitimas fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brandinimo metu

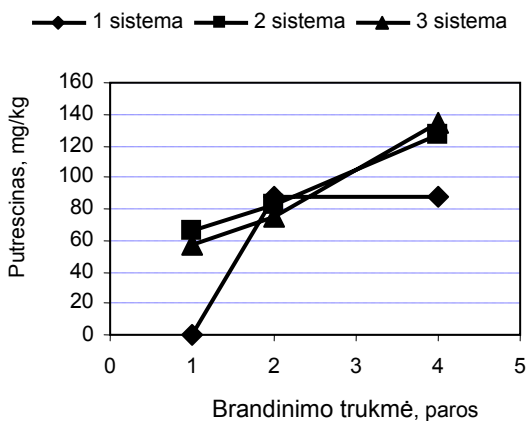
Nitritų skilimas modelinėse fermentuotų dešrų sistemose, dalyvaujant *Lactobacillus sake* LS25, buvo vienas kiekybiškai svarbesnių tyrimų šiame eksperimente. Dešrų brandinimo metu pastebėtas gerokas ($p < 0,05$) nitritų koncentracijos sumažėjimas 1-oje ir 3-oje sistemose (5 pav.).

Putrescinas, tiraminas ir histaminas yra vieni iš labiausiai dominuojančių biogeninių aminių fermentuotuose maisto produktuose. Jų susidarymo intensyvumas ir kiekis dažnai priklauso nuo

pusgaminių ingredientų ar technologinių jo apdorojimo ypatybių. Todėl šiame eksperimente sudarydami įvairias fermentuotų dešrų modelines sistemas (su nitritais ir be jų, su raugo kultūra ir be jos) atlikome biogeninių aminių kiekybinį įvertinimą brandinimo metu. Pastebėtas biogeninių aminių koncentracijos augimas visose fermentuotų dešrų modelinėse sistemose visu brandinimo laikotarpiu (6–8 pav.).



5 pav. Nitritų kiekio kitimas fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brandinimo metu



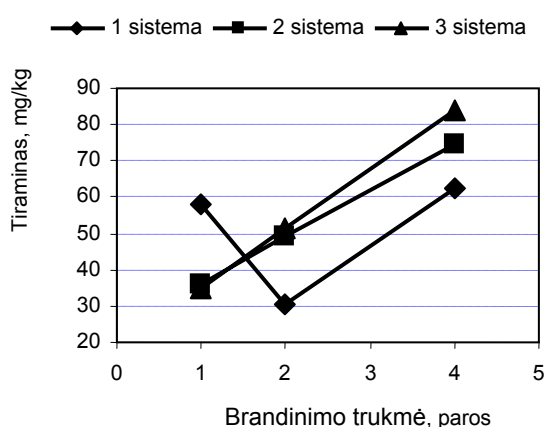
6 pav. Putrescino kiekio kitimas fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brandinimo metu

Didžiausia putrescino koncentracija (135 mg/kg) nustatyta 3-je fermentuotų dešrų modelinėje sistemoje (be *Lactobacillus sake* LS25) brandinimo proceso pabaigoje. Putrescino koncentracija didėjo ($p < 0,05$) 2-oje ir 3-oje fermentuotų dešrų modelinėje sistemoje visu brandinimo laikotarpiu. Tuo tarpu 1-oje sistemoje nustatytas putrescino kiekis (87 mg/kg) antrą brandinimo parą toliau nekito ir liko stabilus iki brandinimo proceso pabaigos (6 pav.).

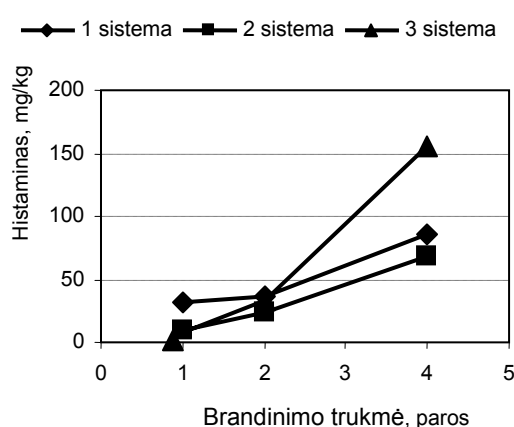
Didžiausia tiramino koncentracija (84,1 mg/kg) nustatyta 3-je fermentuotų dešrų modelinėje sistemoje (be *Lactobacillus sake* LS25) brandinimo proceso pabaigoje. Gerokai tiramino koncentracija didėjo ($p < 0,05$) 2-oje ir 3-oje fermentuotų dešrų

modelinėje sistemoje visu brandinimo laikotarpiu. Kiek skirtingas tiramino kitimas buvo stebėtas 1-oje fermentuotų dešrų sistemoje. Tiramino kiekis brandinimo laikotarpiu buvo: 58,3 (1 para), 30,4 (2 para) ir 62,2 mg/kg (4 para) (7 pav.).

Histamino susidarymo procesai buvo labai panašūs visose fermentuotų dešrų modelinėse sistemose pirmąsias dvi brandinimo paras. Tačiau ketvirtąją fermentuotų dešrų brandinimo parą stebėtas histamino kiekybinis šuolis (iki 155,3 mg/kg) 3-je sistemoje. Tuo tarpu 1-oje ir 2-oje sistemose histamino koncentracija siekė 85 ir 68,1 mg/kg lygį brandinimo proceso pabaigoje (8 pav.).



7 pav. Tiramino kiekio kitimas fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brandinimo metu



8 pav. Histamino kiekio kitimas fermentuotų dešrų modelinėse sistemose brandinimo metu

Rezultatų apibendrinimas

Tyrimo metu nustatytas intensyvesnis terpės pH kitimas fermentuotų dešrų, pagamintų su *Lactobacillus sake* LS25, sistemose.

Fermentuotų dešrų modelinėse sistemose su *Lactobacillus sake* LS25 nustatytas gerokai mažesnis bendras mikroorganizmų ir koliforminių bakterijų skaičius. Tai rodo, kad pienarūgščių bakterijų kultūros užtikrina palankios mikrofloros mėsos gaminyje išsigalėjimą ir saugų mikrobiologiniu požiūriu mėsos produkto gamybos procesą.

Fermentuotų dešrų modelinėse sistemose su *Lactobacillus sake* LS25 pastebėtas intensyvesnis nitritinio priedo skilimas. Tai yra tas veiksnys, kuris užtikrina cheminio rizikos veiksnio – nitritinės druskos – mažėjimą fermentuotų dešrų modelinėse sistemose ir cheminių ingredientų atžvilgiu saugaus produkto gamybą.

Fermentuotų dešrų modelinėse sistemose su *Lactobacillus sake* LS25 pastebėtas mažesnis biogeninių aminių, putrescino, tiramino ir histamino kiekis brandinimo laikotarpiu. Akivaizdu, kad *Lactobacillus sake* LS25 naudojimas fermentuotų dešrų gamybos procese užtikrina biogeninių aminių prevenciją ir kancerogeninių junginių atžvilgiu saugaus produkto gamybą.

Išvados

1. Gauti nauji mokslo duomenys apie probiotinių pienarūgščių bakterijų kultūrų *Lactobacillus sake* LS25 (Bitec LS25 plus) įtaką mikrobiologiniams (bendro mikroorganizmų skaičiaus, pienarūgščių bakterijų skaičiaus, koliforminių bakterijų skaičiaus), fizikiniams (terpės pH, vandens aktyvumo) ir cheminiams (nitrito kiekio kitimas)

rodikliams modelinėse fermentuotų dešrų sistemose.

2. Nustatyta, kad probiotinės pienarūgštės bakterijos *Lactobacillus sake* LS25, įeinančios į Bitec LS25 plus sudėtį, užtikrina koliforminių bakterijų skaičiaus stabilizavimą modelinės fermentuotų dešrų sistemos brendimo pradiniam etape.
3. *Lactobacillus sake* LS25 kultūros panaudojimas užtikrina stabilų nitritų mažėjimą fermentuotų dešrų modelinėje sistemoje, stabdo biogeninių aminių formavimąsi.

Literatūra

1. Draisci R., Volpe G., Lucentini L., Cecilia A., Federico R. and Palleschi G. Determination of biogenic amines with an electrochemical biosensor and its application to salted anchovies // Food Chemistry. 1998. Vol. 62, No 2. P. 225–232.
2. Fogel W. A. Histamine metabolism in mammals: physiology and pathology // COST 922 “Health Implications of Dietary Amines”. 1st Workshop on Amines and Food Safety. Book of Abstracts. 2003. P. 38–39.
3. Kalač P., Križek M. Content of polyamines in various foods // COST 922 “Health Implications of Dietary Amines”. 1st Workshop on Amines and Food Safety. Book of Abstracts. 2003. P. 18–19.
4. Stratton J. E., Hutkins R. W., Taylor S. L. Biogenic amines in cheese and other fermented foods: a review // J. Food Protection. 1991. Vol. 54. P. 460–470.

Padėka. Dėkojame Valstybiniam mokslo ir studijų fondui, kuris rėmė šį darbą.

Pateikta spaudai 2005-07

G. Garmienė, A. Šalaševičienė, A. Baltušnikienė, A. Šarkinas

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF PROBIOTIC CULTURES ON THE SAFETY OF FERMENTED MEAT PRODUCTS

Summary

The production of fermented foods is based on the use of starter cultures, for instance, lactic acid bacteria, to initiate rapid acidification of the raw material. Recently, new started cultures of lactic acid bacteria with industrially important functionality are being developed. Examples are lactic bacteria that produce antimicrobial substances, sugar polymers, sweeteners, aromatic compounds, vitamins, or those having probiotic properties.

The study was undertaken to explore the possibilities of interpolating the probiotic concept into the product range of fermented sausages. The considerable influence of the starter culture *Lactobacillus sake* LS25 on the microbiological, physical and chemical traits of the dry

fermented sausages was observed. The quantitative significant increase in the number of lactic acid bacteria was determined during ripening (day 2 and day 4) in fermented sausage with probiotic starter cultures.

The use of *Lactobacillus sake* LS25 makes it possible to avoid the increase in coliform bacteria count at the initial stages of ripening in fermented sausage. The sausage with natural lactic acid bacteria microflora showed its depressing influence on coliforms only on the fourth day of ripening, when the lactic acid bacteria count became equal to the amount in fermented sausage batches with *Lactobacillus sake* LS25.

The use of *Lactobacillus sake* LS25 suppresses the biogenic amine formation in fermented sausage during ripening: the quantities of putrescine, tyramine and histamine were 87.0, 62.2 and 68.1 mg/kg, respectively. The amounts of biogenic amine in fermented sausage were twice as lower as those made without *Lactobacillus sake* LS25.

The use of *Lactobacillus sake* LS25 induces the faster nitrite salt cleavage in fermented sausage at the first stages of ripening. A slower process was observed in fermented sausage systems made without *Lactobacillus sake* LS25. The concentration of nitrite salt became similar to those made with *Lactobacillus sake* LS25 on the fourth day of ripening.

Keywords: biogenic amine, putrescine, tiramine, histamine, nitrite salt. *Lactobacillus sake* LS25.

Г. Гармене, А. Шалашевичене, А. Балтушникене, А. Шаркинас

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ НА БЕЗОПАСНОСТЬ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ

Резюме

Исследовали модельные системы ферментированных колбас из говядины, свинины и сала, смешанных в равных частях. Первая и вторая модельные системы содержали *Lactobacillus sake* LS25 в составе смеси Bitec LS25 plus, первая и третья – нитритную соль.

Рост количества молочнокислых бактерий в первой и второй системах (с *Lactobacillus sake* LS25) проходил быстрее по сравнению с третьей. Различия в значении a_w между группами колбас были незначительными.

Процесс снижения значения pH и роста количества молочнокислых бактерий в первой и второй системах оказал влияние на развитие колиформных бактерий. На начальных этапах созревания колиформные бактерии были обнаружены примерно в одинаковых количествах в колбасах всех вариантов. В первой и второй системах их количество и далее не превышало начального уровня и постепенно снижалось в процессе созревания. В третьей модельной системе (без *Lactobacillus sake* LS25) не установлена задержка размножения колиформных бактерий, их количество стремительно увеличивалось до вторых суток, только в дальнейшем

начался процесс их отмирания. Через 4 суток количество колиформных бактерий сравнилось во всех трех системах ферментированных колбас. Таким образом, внесение закваски *Lactobacillus sake* LS25 позволяет избежать размножения колиформных бактерий на начальном этапе созревания ферментированных колбас. Аналогичное воздействие *Lactobacillus sake* LS25 в исследованных системах отмечено и на содержание нитритных солей. Гистамин, тирамин и пугресцин обычно являются доминирующими среди биогенных аминов,

обнаруживаемых во время созревания ферментированных колбас. Их количество нарастало во всех модельных системах ферментированных колбас, и через четверо суток наибольших значений достигло в варианте без закваски молочнокислых бактерий. Таким образом, применение пробиотической культуры молочнокислых бактерий *Lactobacillus sake* LS25 (входящей в состав Bitec LS25 plus) оказало положительное воздействие на созревание ферментированных колбас.