

## SENZORICKÉ HODNOCENÍ FERMENTOVANÝCH SALÁMŮ HERKULES S PŘÍDAVKEM PROBIOTICKÉHO KMENE *Lactobacillus casei* 01

R. Burdychová, H. Šulcerová

Došlo: 7. července 2009

### Abstract

BURDYCHOVÁ, R., ŠULCEROVÁ, H.: *The sensory evaluation of fermented sausages Herkules with probiotic strain Lactobacillus casei 01*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2009, LVII, No. 5, pp. 57–64

The aim of this work was to monitor quantitative and qualitative representation of probiotic strain *L. casei* 01 (Sacco, Italy) in dry fermented sausages „Herkules“ taken from two different producers (A and B). Negative control sausages without probiotics were also made at both producers, to monitor the differences between pH profiles of and lactic acid bacteria counts during fermentation and storage of dry sausages. The second objective of this study was to determine sensory quality of probiotic sausages in comparison with non-probiotic controls.

The counts of *L. casei* and LAB in all sausages significantly ( $P < 0,01$ ) increased during fermentation and storage period. Probiotic *L. casei* was well adapted to dry sausages environment and reached  $10^6$  CFU/g in both producers. No differences between pH profiles of probiotic sausages and controls without probiotics were observed.

It was observed that all probiotic sausages had sensory properties near the traditional products.

fermented sausages Herkules, probiotics, *L. casei* 01 sensory quality

Zrání zahrnuje komplex procesů odbourávání a přeměny jednotlivých složek díla, které rozhodují o údržnosti, textuře, chuti, vůni a vybarvení hotových výrobků (Ingr, 2004). Fermentace je nejdůležitější fází zrání, neboť zde probíhá většina fyzikálních, biochemických a mikrobiálních přeměn (VILLANI a kol., 2007), a to pokles pH, změny původní mikroflóry, redukce dusičnanů na dusitany a dále až na oxid dusnatý, tvorba nitrosomyoglobinu, solubilizace a gelifikace myofibrilárních a sarkoplasmatických bílkovin, proteolýza, lipolýza, oxidativní změny a dehydratace (CASABURI a kol., 2007).

Rozkladné produkty lipolýzy a proteolýzy se podílejí na charakteristické chuti a textuře fermentovaných výrobků (DIAZ a kol., 1997). Bílkoviny jsou štěpeny působením proteáz, stoupá tak obsah volných aminokyselin, a ty mohou být dále přeměňovány na těkavé organické kyseliny a aldehydy, což přispívá ke tvorbě aroma. Současně vzniká i amoniak a aminy, čímž roste pH v pozdějších fázích zrání a sušení salámů.

Působením vysoké koncentrace soli i snižováním pH dochází k denaturaci bílkovin. Denaturace změní orientaci funkčních skupin bílkovin, vytvoří se intermolekulární vazby, což vede k tvorbě žádoucí struktury masných výrobků.

Tuky podléhají oxidaci a hydrolýze. Lipázy obsažené v mase i lipázy mikrobiální odštěpují z tuků mastné kyseliny, které pak podléhají oxidaci. Produkty štěpení tuků a oxidace mastných kyselin (především karbonylové sloučeniny) mají velmi intenzivní aroma a jsou kladně hodnoceny zejména u dlouhozrajících salámů.

Pokud jsou do díla přidány sacharidy, jsou přednostně využívány mikroorganismy za vzniku kyseliny mléčné, čímž dochází k okyselení výrobku, které má vliv na barvu a texturu (PIPEK, 1998). Přídavek sacharidů do díla tepelně neopracovaných salámů určuje rychlost a intenzitu fermentace (STEINHAUSER a kol., 1995). Sacharidy kromě jiného otupují slanost a zaokrouhlují chuť.

Pro zajištění správného a rychlého průběhu zrání se do díla fermentovaných salámů přidávají starto-

vací kultury. Prioritní význam mají bakterie mléčného kvašení, především zástupci rodů *Lactobacillus* a *Pediococcus*. Hitem posledních let je používat při výrobě masných výrobků probiotické kmeny. Probiotické mikroorganismy jsou definovány jako nepatogenní mikroorganismy, které, pokud jsou přijímány v určitém množství, vyvolávají pozitivní vliv na zdraví a fyziologii člověka (OUWEHAND a SALMINEN; 1998). Vysoké počty těchto bakterií by měly být konzumovány pro zajištění mikrobiální rovnováhy ve střevě, pro zvýšení jejich prospěšných aktivit a pro potlačení škodlivých mikroorganismů (OUWEHAND a kol., 2002). Fermentované masné výrobky nejsou tepelně opracovány, proto se objevují názory, že by mohly být vhodným nosičem pro probiotické mikroorganismy. Navíc již byly vybrány a používány pro výrobu fermentovaných masných výrobků probiotické kultury, které nemění technologické ani senzorycké požadavky (AMMOR a MAYO; 2007).

různých výrobců (A a B). Tab. I udává přehled označení vzorků a použitých kombinací kmenů.

Zamíchané dílo bylo naraženo do naturinových střev, které byly vloženy do forem a klimatizovány na 26–27 °C pět hodin. V dalším kroku byly salámy vyjmuty z forem, omyty a zauzeny v udírně při 26–24 °C po dobu šesti dnů a poté dány do zrací komory k dosoušení při 11–13 °C (relativní vlhkost vzduchu 75 %) po dobu 28 dnů.

### Mikrobiologická analýza

Výrobky byly analyzovány v den výroby (den 0), 7, 14, 28 a 49 dnů po výrobě. Příprava vzorků pro analýzu a příslušná ředění byla provedena dle ČSN EN ISO 8261. Pro stanovení mezofilních bakterií mléčného kvašení (BMK) byl použit MRS agar (Noack, Francie) dle ČSN ISO 15214. Selektivní stanovení probiotického kmene *L. casei* 01 bylo provedeno dle BURDYCHOVÉ a kol. (2008).

I: Označení analyzovaných vzorků fermentovaných salámů Herkules od dvou výrobců

Označení vzorků	Výrobce	Kmeny použité při výrobě salámů
1	A	<i>Pediococcus pentosaceus</i> AS-3/100 <i>L. casei</i> 01
2	A	<i>Pediococcus pentosaceus</i> AS-3/100
3	B	<i>Pediococcus pentosaceus</i> AS-3/100 <i>L. casei</i> 01
4	B	<i>Pediococcus pentosaceus</i> AS-3/100

Probiotický kmen by měl být schopen přizpůsobit se podmínkám fermentovaných salámů a stát se dominantní ve finálním výrobku, neboť fermentované masné výrobky obsahují přirozeně vysoké pozadí konkurenční mikroflóry. Použitý probiotický kmen by také neměl negativně ovlivňovat chuť a vůni výrobků (KLINGBERG a kol., 2005).

Cílem této práce bylo ověřit použití probiotického kmene *Lactobacillus casei* 01 (Sacco, Itálie) pro výrobu fermentovaných salámů Herkules z hlediska senzorycké jakosti výrobků.

## MATERIÁL A METODY

### Výroba fermentovaných salámů

Dílo pro výrobu fermentovaných salámů Herkules bylo připraveno smícháním 1/3 hovězího, 1/3 vepřového masa, 1/3 vepřového sádla, 4% kuchyňské soli, 6,6% dextrosy, 2,4% dusitanové solící směsi, 0,65% E316, 8,8% směsi koření (pepř černý mletý, hřebíček mletý, glutaman, česnek granulovaný, hořčičná mouka), 0,25 % startovací kultury (*Pediococcus pentosaceus* AS-3/100, Chr. Hansen, Dánsko) a 0,40% probiotického kmene *L. casei* 01 (Sacco, Itálie). U kontrolních výrobků nebyly použity probiotické mikroorganismy. Stejně výrobky byly vyrobeny u dvou

### Senzorycké hodnocení

Senzorycké hodnocení provádělo deset školených hodnotitelů Ústavu technologie potravin MZLU v Brně, v prostoru senzorycké laboratoře (odpovídá normě ISO 8589). K hodnocení byly použity grafické nestrukturované stupnice (AMBROSIADIS *et al.*, 2004), které byly vymezeny krajními body v rozsahu 0 až 10 bodů, kde 1 bod = 1 cm. Posuzovatelé hodnotili následující deskriptory: vzhled, příjemnost vůně, intenzitu vůně, příjemnost chuti, intenzitu chuti, slanost, dále pak přítomnost kyselých, kovových, sladkých a hořkých chutí (SPAZIANI *et al.*, 2009).

### Statistické zpracování

Výsledky senzoryckého hodnocení byly statisticky vyhodnoceny pomocí programu Unistat Ltd. metodou analýzy rozptylu a následným mnohonásobným porovnáním Tukey testem ( $P < 0,01$ ).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

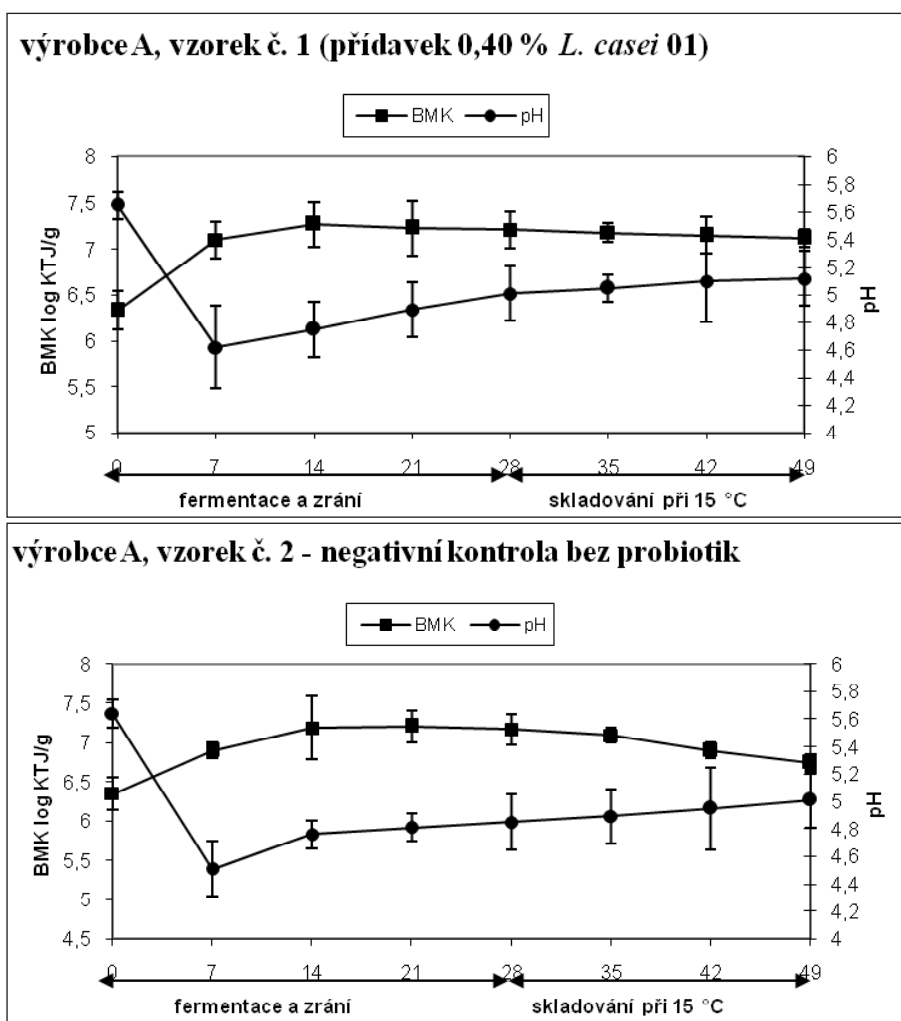
Přídavek probiotik do fermentovaných masných výrobků není snadnou záležitostí, jelikož se zvolené probiotikum musí vyrovnat s vysokým obsahem soli, tuku, nízkou aktivitou vody a nízkou hodnotou pH. Negativně mohou též působit startovací bakterie, protože mohou výrazně snižovat životaschopnost probiotických kmenů (VUYST a kol., 2008).

V průběhu celé doby minimální trvanlivosti probiotických salámů Herkules obou výrobců (výrobky č. 1 a 3) bylo dosaženo hodnot počtu *L. casei* řádově  $10^6$  KTJ/g. K podobným výsledkům dospěl i ANDERSEN (1998), který uvádí, že probiotikum *L. casei* ve spojitosti se startovací kulturou obsahující *Staphylococcus carnosus* a *Pediococcus pentosaceus* uspokojujivě přežívalo výrobní proces.

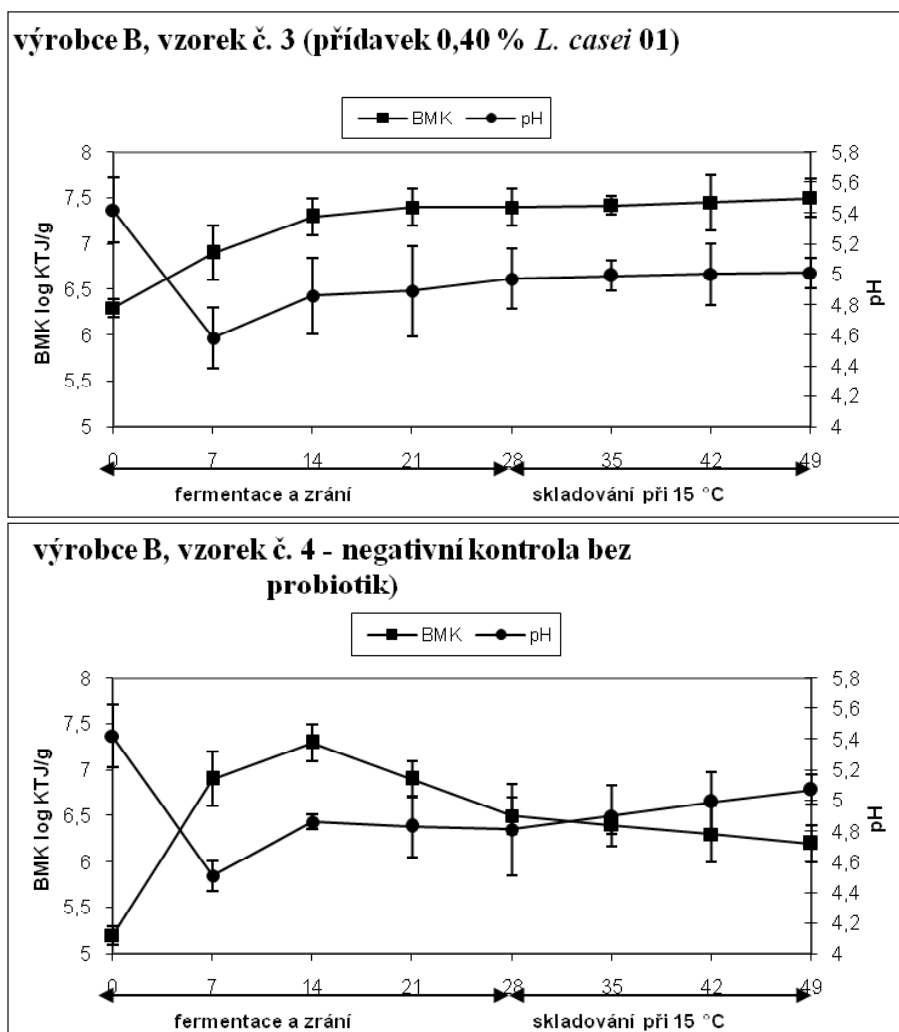
U všech sledovaných výrobků došlo při porovnání hodnoty počtu bakterií mléčného kvašení (BMK) v den výroby a na konci doby minimální trvanlivosti k nárůstu ( $P < 0,05$ ) počtu bakterií mléčného kvašení (BMK), s čímž souvisí pokles pH výrobků. Snížení pH hraje důležitou úlohu pro zajištění zdravotní nezávadnosti fermentovaných salámů a rovněž při tvorbě textury a barvy fermentovaných salámů (JOHANSSON *et al.* (1994). Hodnota pH výrobků nejvíce klesala během prvních sedmi dnů po výrobě, po sedmi dnech od výroby začalo pH mírně stoupat, což mohlo být způsobeno tvorbou dusíkatých látek, které vznikají enzymatickou aktivitou mikroorganismů působících na myofibrilární proteiny

masa (AMBROSIADIS a kol., 2004). Proteolýzou mohly vnikat i peptidy, aminokyseliny a amoniak, které se také podílejí na zvýšení pH (SCHILLINGER a LÜCKE, 1989; RACCACH a TILLEY (2006). pH profily salámů s probiotiky i negativních kontrol bez probiotik byly téměř shodné. Výsledky jsou uvedeny na Obr. 1 a 2. U všech výrobků byla zjištěna závislost počtu BMK na pH ( $r = -0,32$ ;  $P < 0,05$ ).

Senzorické hodnocení salámů bylo prováděno na začátku a na konci doby minimální trvanlivosti salámů Herkules (21 dnů). Fermentované salámy byly skladovány při  $15^{\circ}\text{C}$ . Vývoj deskriptorů u výrobku č. 1 (probiotický Herkules, výrobce A) a č. 2 (negativní kontrola bez probiotik) je uveden na Obr. 3. U vzorku č. 1 byly všechny deskriptory na začátku a na konci doby minimální trvanlivosti salámů hodnoceny téměř srovnatelně, rozdíl byl zaznamenán pouze u deskriptoru vůně, tento rozdíl byl statisticky nevýznamný ( $P < 0,01$ ). V porovnání s negativní kontrolou (vzorek č. 2) byly hlavní rozdíly zaznamenány v textuře na skusu, která byla u probiotického salámu tvrdší. U vzorku č. 3 (pro-



1: Změny počtu BMK a hodnoty pH během fermentace a zrání a skladování salámů Herkules v průběhu doby jejich minimální trvanlivosti. Vzorek č. 1 (přídavek probiotického kmene *L. casei* 01), vzorek č. 2 (negativní kontrola bez probiotik), výrobce A.



2: Změny počtu BMK a hodnot pH během fermentace a zrání a skladování salámů Herkules v průběhu doby jejich minimální trvanlivosti. Vzorek č. 3 (přídavek probiotického kmene *L. casei* 01), vzorek č. 4 (negativní kontrola bez probiotik), výrobce B.

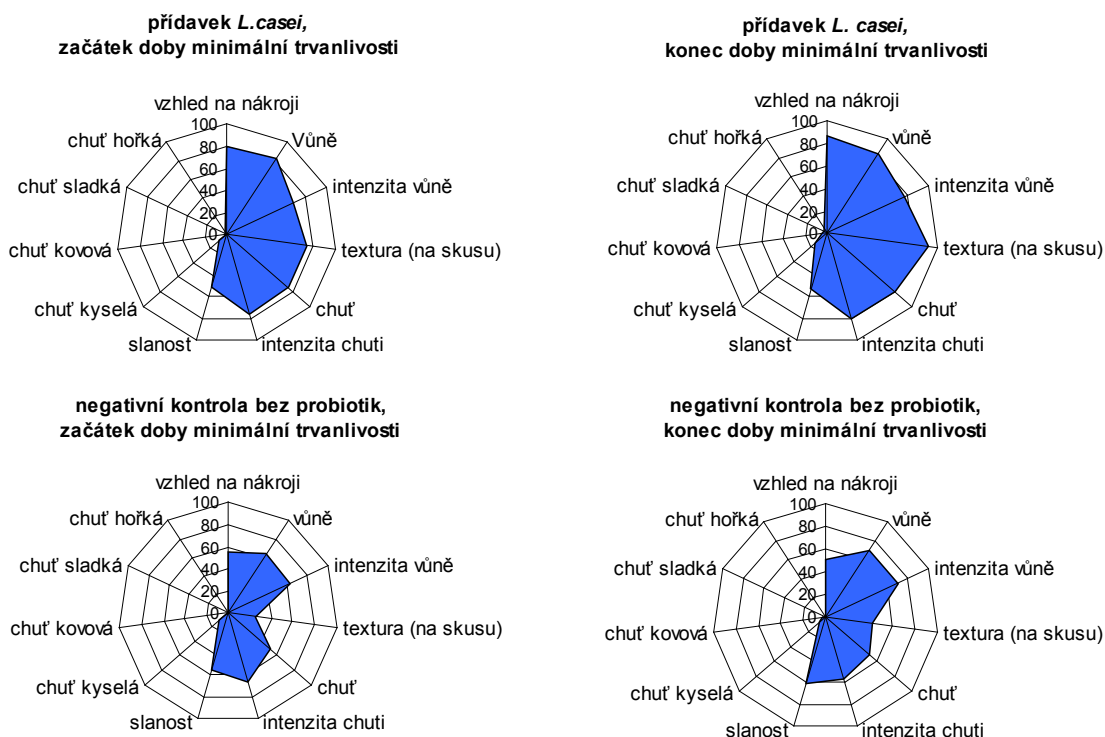
biotický Herkules, výrobce B) byly všechny deskriptory na začátku a na konci doby trvanlivosti hodnoceny téměř srovnatelně. Při hodnocení vzorku bez přídavku probiotik (negativní kontrola, vzorek č. 4) byly všechny deskriptory na začátku a na konci doby minimální trvanlivosti salámů hodnoceny srovnatelně, výraznější rozdíl byl zaznamenán pouze v textuře na skusu, tento rozdíl byl statisticky nevýznamný ( $P < 0,01$ ). V porovnání s probiotickým salámem (vzorek č. 3) byly všechny deskriptory hodnoceny jako výraznější, textura na skusu byla tvrdší. Výsledky jsou uvedeny na Obr. 4.

Pro zjištění statistického rozdílu mezi vzorky v jednotlivých deskriptorech na začátku a na konci doby trvanlivosti salámů bylo použito mnohonásobné porovnání vzorků Tukey testem. Při porovnání vzorků č. 1 a 2 byl zjištěn rozdíl ( $P < 0,01$ ) mezi deskriptory vůně, intenzita vůně a textura na skusu. Při porovnání vzorků č. 3 a 4 byl rozdíl ( $P < 0,01$ ) zaznamenán u deskriptorů vzhled na nákreji a textura na skusu.

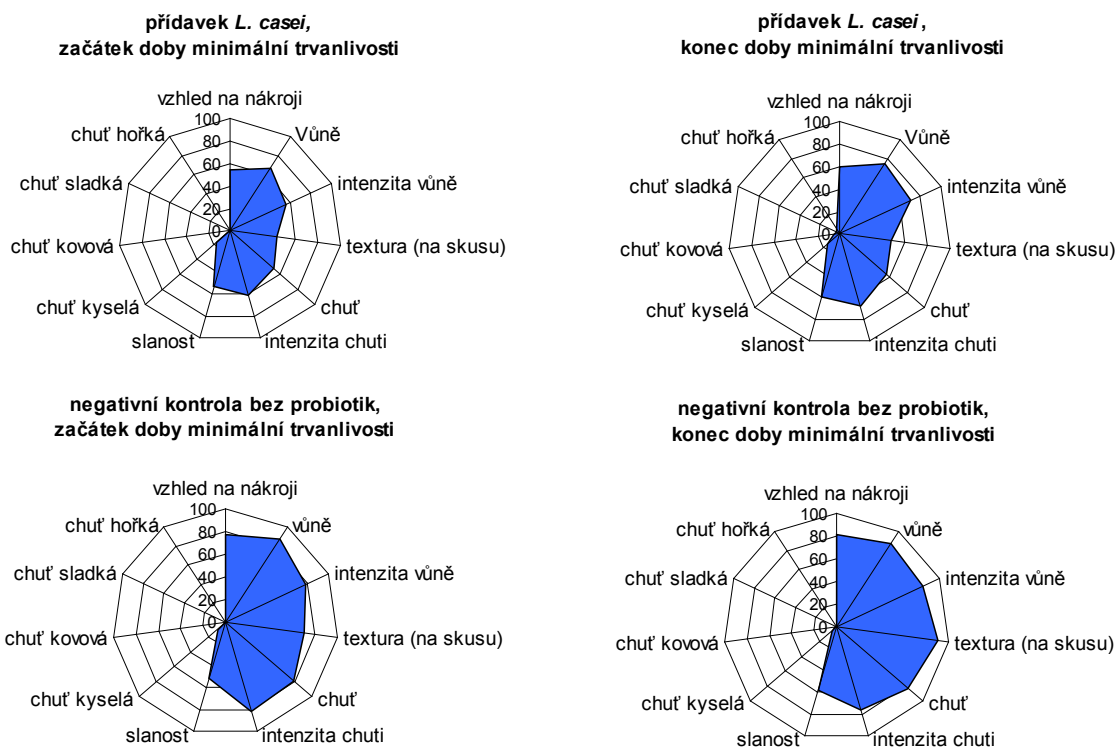
## ZÁVĚR

Lze konstatovat, že přídavek probiotického kmene *L. casei* 01 (Sacco, Itálie) do fermentovaných salámů Herkules ovlivnil texturu na skusu a vzhled na nákreji, tedy především konzistenci výrobků a měl vliv také na vůni a intenzitu vůně salámů. Rozdíly v konzistenci byly nalezeny i mezi výrobci, kde byly u probiotických salámů zaznamenány i rozdíly v chuti. Rozdíly v konzistenci výrobků byly zaznamenány i u negativních kontrol bez přídavku probiotik, na senzorickej jakost salámů měla tedy pravděpodobně vliv i technologie výroby, případně jakost použité suroviny.

Podle vyhlášky č. 264/2003 Sb. by měla být konzistence salámů Herkules pružná až tuhá, vzhled na nákreji lesklý, hladký, jemné zrnění, vůně a chuť příjemná aromatická po použitých surovinách, přísadách a kouři, průměrně až výrazně slaná, výrazněji kořeněná; a na skusu výrobek vláčný až křehký. Tyto požadavky byly u všech salámů Herkules dodrženy po celou dobu minimální trvanlivosti (21 dnů).



3: Senzorická analýza salámu Herkules, vzorek č. 1 nahoře (přídavek 0,40 % probiotického kmene *L. casei* 01), vzorek č. 2 dole (negativní kontrola bez probiotik), výrobce A. Hodnocení bylo prováděno na začátku (vlevo) a na konci doby trvanlivosti výrobků (21 dnů, vpravo)



4: Senzorická analýza salámu Herkules, vzorek č. 3 nahoře (přídavek 0,40 % probiotického kmene *L. casei* 01), vzorek č. 4 dole (negativní kontrola bez probiotik), výrobce B. Hodnocení bylo prováděno na začátku (vlevo) a na konci doby trvanlivosti výrobků (21 dnů, vpravo).

## SUMMARY

The development of new probiotic meat products presupposes the application of probiotic bacteria with at minimum resistance to sodium chloride and grow and activity during fermentation and ripening of meat products. For meat products, no standards still do not exist, but to provide health benefits, the same criterion as for milk products ( $10^6$  cfu/g) is required. It becomes important therefore, that suitable techniques are developing to accurately enumerate the counts of probiotic bacteria, in the presence of starter cultures, in meat products.

In this study, we tested probiotic *L. casei* 01 strain (Sacco, Italy) to be used in production of typical czech fermented sausage "Herkules" (probiotic Herkules). The aim of this work was to monitor quantitative and qualitative representation of this probiotic strain in dry fermented sausages taken from two different producers (A and B). Negative control sausages without probiotics were also made at both producers, to monitor the differences between pH profiles of and lactic acid bacteria counts during fermentation and storage of dry sausages.

The counts of *L. casei* and LAB in all sausages significantly ( $P < 0,01$ ) increased during fermentation and storage period. Probiotic *L. casei* was well adapted to dry sausages environment and reached  $10^6$  CFU/g in both producers. No differences between pH profiles of probiotic sausages and controls without probiotics were observed.

*L. casei* was detected at concentration of  $10^6$  CFU/g in both testing probiotic batches after seven days of sausages production and stay at this level during the whole fermentation and ripening period (data not shown).

pH profiles of control and probiotic batches were almost the same. During the first seven days of ripening, the pH of all sausages decreased ( $P < 0,05$ ) to about 4.2–4.5 due to production of lactic acid and other organic acids by lactic acid bacteria (LAB). Low pH is important for inhibition of the growth of contaminant microorganisms in raw material. After seven days of ripening, pH increased ( $P < 0,05$ ) due to decomposition of acids to become almost constant at the level of 4.7–5.0.

The second objective of this study was to determine sensory quality of probiotic sausages in comparison with non-probiotic controls. When producing probiotic meat products, the sensory aspects of the end-products have to be near the traditional products. Therefore, a primary requirement remains the sensory and technological aspects of the end product. Negative side effects on the overall quality of the obtained fermented meats can not be tolerated and evaluation is primordial. It was observed that all probiotic sausages had sensory properties near the traditional products (samples 1 and 3).

fermentované salámy Herkules, probiotika, *L. casei* 01, senzorická jakost

## LITERATURA

- AMBROSIADIS, J., SOULTOS, N., ABRAHIM, A., BLOUKAS, J. G., 2004: Physicochemical, microbiological and sensory attributes for the characterization of Greek traditional sausages. *Meat Science*, 66: 279–287.
- 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 science*, 76: 138–146.
- ANDERSEN, L., 1998: Fermented dry sausages produced with the admixture of probiotic cultures. *International Commitment of Meat Science and Technology, Anais*: 826–827.
- BURDYCHOVÁ, R., DOHNAL, V., HOFERKOVÁ, P., 2008: Biogenic amines reduction by probiotic *L. casei* during ripening of fermented sausages. *Supplement Chemické listy*. sv. 102, č. 1, 601–604. ISSN 0009-2770.
- CASABURI, A., ARISTOY, M. C., CAVELLA, S., DI MONACO, R., ERCOLINI, D., TOLDRA, F., VILLANI, F., 2007: Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of vallo di diano (Southern Italy) as affected by use of starter cultures. *Meat Science*. 76: 295–307.
- DE VUYST, L., FALONY, G., LEROY, F., 2008: Probiotics in fermented sausages. *Meat Science*, 80: 75–78.
- DIAZ, O., FERNANDEZ, M., GARCIA, DE FERNANDO, G. D., DE LA HOZ, L., ORDONEZ, J. A., 1997: Proteolysis in dry fermented sausages: the effect of selected exogenous proteases. *Meat Science*. 46: 115–128.
- INGR, I., 2004: *Produkce a zpracování masa*, 202 s., MZLU Brno, skriptum, ISBN 80-7157-719-7.
- JOHANSSON, G., BERDAGUÉ, J.-L., LARSSON, M., TRAN, N., BORCH, E., 1994: Lipolysis, proteolysis and formation of volatile components during ripening of a fermented sausage with *Pediococcus pentosaceus* and *Staphylococcus xylosum* as starter cultures. *Meat Science*, 38: 203–218.
- KLINGBERG, T. D., AXELSSON, L., NATERSTAD, K., ELSSER, D., BUDDE, B. B., 2005: Identification of potential probiotic starter cultures for

- Scandinavian-type fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 419–431.
- OUWEHAND, A. C., 2002: Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 82: 279–289.
- OUWEHAND, A. C., SALMINEN, S. J., 1998: The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. *International Dairy Journal* 8: 749–758.
- PIPEK, P., 1998: Technologie masa II. VŠCHT v Praze, 360 s., ISBN 80-7192-283-8.
- RACCACH, M., TILLEY, H. R., 2006: Thermal inactivation of frozen thawed traditional meat starter culture, *Pediococcus pentosaceus*, in a meat model system. *Meat Science*, 72: 751–756.
- SCHILLINGER, U., LÜCKE, F.-K., 1989: Inhibiting salmonellae growth in fresh spreadable Mettwurst. *Fleischwirtschaft*, 69: 879–82.
- SPAZIANI, M., DEL TORRE, M., STECCHINI, M. L., 2009: Changes of physiochemical, microbial, and textural properties during ripening of Italian low-acid sausages. Proteolysis, sensory and volatile profiles. *Meat Science*, 81: 77–85.
- STEINHAUSER, L. a kol., 1995: Hygiene a technologie masa, 644 s. LAST, ISBN 80-900260-4-4
- VILLANI, F., CASABURI, A., PENNACCHIA, C., FILOSA, L., RUSSO, F., ERCOLINI, D., 2007: The microbial ecology of the *Soppressaata* of Vallo di Diano, a traditional dry fermented sausage from Southern Italy, and in vitro and in situ selection of autochthonous starter cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 5453–5463.

## Adresa

Ing. Radka Burdychová, Ph.D., Ing. Hana Šulcerová, Ph.D., Ústav technologie potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: burdycho@node.mendelu.cz

