

**СУРОВОСУШЕН ФЕРМЕНТИРАЛ СУДЖУК С ПРОБИОТИЧЕН ЩАМ  
*LACTOBACILLUS PLANTARUM* LBRZ12**

**Росица Денкова, Запряна Денкова, Иван Мургов, Богдан Горанов, Радосвета Николова**  
*Университет по хранителни технологии, Катедра „Микробиология”, бул. „Марица” 26,  
Пловдив 4002, България, e-mail: rositsa\_denkova@mail.bg*

**DRIED FERMENTED SAUSAGE WITH PROBIOTIC STRAIN *LACTOBACILLUS*  
*PLANTARUM* LBRZ12**

**Rositsa Denkova , Zapryana Denkova, Ivan Murgov, Bogdan Goranov, Radosveta Nikolova**  
*University of Food Technologies, Department of “Microbiology”, 26 “Maritsa” Blvd., 4002  
Plovdiv, Bulgaria, e-mail: rositsa\_denkova@mail.bg*

**ABSTRACT**

The probiotic strain *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 is added as a starter culture at different concentrations (from 0% to 1.5% ) to realize the targeted fermentation in the production of dried fermented sausage at 10-12°C. The changes in the physico-chemical and microbiological parameters in the maturation process of the product have been monitored. It has been found that the introduction of the probiotic strain leads to reduction of the number of viable cells of the pathogens as well as significant reduction of the total microbial insemination. Thus, the microbiological safety of the sausage, that retains high concentration of viable cells of the probiotic strain *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 (over  $10^{10}$  cfu/g), is ensured.

**I. Въведение**

Все повече нараства интересът към разработването на нови храни, съдържащи пробиотични микроорганизми като бифидобактерии и млечнокисели бактерии. Пробиотиците са живи микроорганизми, които оказват благоприятен ефект върху здравето на човека, ако бъдат приети в определени количества. Влагането на такива функционални култури води до получаването на храни, които притежават органолептични, технологични и хранителни предимства, но и оказват благоприятен ефект върху здравето на гостоприемника (Sidira et al., 2014). Пробиотиците се използват широко в млечните продукти, но приложението им в месни храни все още се проучва. Месото обикновено се нагрива преди консумация, при което се убиват пробиотичните бактерии, но сушените ферментирани колбаси са преработени чрез ферментация, без нагриване, и могат да бъдат добра среда за приложение на пробиотиците в месни продукти [Erkkilä et al., 2001]. Освен това матрицата на колбаса предпазва пробиотичните лактобацили и повишава преживяемостта им през стомашно-чревния тракт [Klingberg и Budde, 2006; Radulović et al., 2011].

Традиционните колбаси обикновено са произведени чрез спонтанна ферментация, а качеството и безопасността на крайните продукти не са гарантирани (Simion et al., 2014). Микрофлората на спонтанно ферментиралите колбаси съдържа нежелани микроорганизми като хетероферментативни бактерии, продуценти на биогенни амини и патогени. Тяхното присъствие и дейност във ферментиралите колбаси се потиска чрез внасянето на стартерни култури, които допринасят за по-бързото повишаване на киселинността, денитрификация и стандартизация на сензорните характеристики на крайните продукти (Zdolec et al., 2008). Въпреки че хранителните консерванти са широко използвани за потискане на нежеланите микроорганизми и удължаване на срока на годност се наблюдава засилване на интереса към използването на защитни култури млечнокисели бактерии. Биологичното консервиране е доказан полезен метод за избягването на прекалената употреба на хранителни добавки (Sidira

et al., 2014). Стартерните култури, съдържащи селектирани микроорганизми с подходящи метаболитни активности и добра способност за внасяне в колбаси позволят развитието на подобрени сензорни качества, както и гарантирането на продукти с възпроизводими органолептични и хигиенни свойства с по-кратък срок на зреене (Nedelcheva et al., 2010; Simion et al., 2014). Млечнокиселите бактерии играят важна роля в месната ферментация, тъй като те индуцират промените във вкуса и текстурата, като едновременно с това имат и консервиращ ефект, което води до увеличаване на срока на годност на продукта. Консервиращият ефект се дължи и на продуцирането на бактериоцини. Добавянето на чиста култура на жизнеспособен бактериоцин-продуциращ щам млечнокисели бактерии е пример за биологично консервиране (Urso et al., 2006). Промените в суровината, предизвиквани от растежа и развитието на млечнокиселите бактерии осигурява сензорните характеристики и подобрява безопасността, стабилността и срока на годност на продуктите, които допринасят за развитието на аромата, цвета и текстурата на ферментиралите колбаси (Danilović et al., 2011).

При месната ферментация с млечнокиселите бактерии се цели, (I) да се подобри безопасността чрез инактивиране на патогенни микроорганизми; инхибират патогенните бактерии в месните храни, а също патогените в стомашно-чревния тракт [Holko et al., 2013]. (II) да се подобри стабилността на продукта и срока на годност чрез инхибиране на нежелани промени, предизвикани от сапрофитни микроорганизми или абиотични реакции, и (III) да се осигури разнообразие чрез модификация на суровината, за да се получат нови сетивни свойства (Ammor et al., 2005).

Концентрации на млечнокиселите бактерии над  $10^7$  CFU/g в тези видове продукти се достигат в края на процеса. Видове от род *Lactobacillus* като *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* се използват като стартерни култури във ферментиралите колбаси [Rubio et al., 2013].

Целта на изследването е включване на пробиотичния щам *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 като стартерна култура в различни концентрации (от 0% до 1,5%) в производството на суровосушен ферментирал суджук при температура на ферментация 10 - 12°C и проследяване на изменението във физикохимичните и микробиологични показатели в процеса на зреене на продукта.

## II. Материали и методи

**Микроорганизми:** Използван е пробиотичен щам *Lactobacillus plantarum* LBRZ12, изолиран от спонтанно ферментирали зеленчуци.

### Хранителни среди:

LAPTg10-агар

РСА-агар

Brilliant Green Phenol Red Lactose Sucrose Agar

Chapman agar

Mac Conkey agar

**Определяне съдържанието на влага (Йоргова, 2000)**

**Определяне на киселинността (Йоргова, 2000)**

**Микробиологичен анализ**

Ферментиралите колбаси се подлагат на микробиологичен анализ за проследяване на динамичните промени в популациите от микроорганизми, отговорни за зреенето, но също и за определянето на микробиологичното им качество и безопасност. 25 г от всяка проба се смесват с 225 мл физиологичен разтвор и се хомогенизира добре. Приготвят се допълнителни десетократни разреждания и в двукратни повторения се провеждат следните анализи а) ОМЧ (общо микробно число) се определя чрез посев на РСА-агар, а петритата се

инкубират за 24 часа при 30°C; б) Концентрация на жизнеспособните клетки на млечнокисели бактерии се определя чрез посев на LAPTg10-агар и петритата се инкубират при 30°C в продължение на 72 часа; в) общ брой ентеробактерии и *E.coli* - на Mac Conkey агар и петритата се инкубират при 37°C в продължение на 24-48 часа; г) фекални ентерококи на канамицин ескулин агар (Oxoid) и петритата се инкубират при 42°C в продължение на 24 часа; д) *S. aureus* се определя на среда Chapman agar и петритата се инкубират при 37°C в продължение на 24-48 часа; е) *Salmonella* sp. на Brilliant Green Phenol Red Sucrose Lactose агар и петритата се инкубират при 37°C в продължение на 24-48 часа; ж) дрожди и плесени на малц екстракт агар и петритата се инкубират при 25°C в продължение на 48-72 часа.

### III. Резултати и обсъждане

Приготвени са 4 партии суровосушен суджук със стартерна култура пробиотичния щам *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 за осъществяване на целенасочен ферментационен процес при температура 10 - 12°C: Проба 1 с 0,5% суспензия на *Lactobacillus plantarum* LBRZ12; Проба 2 с 1% суспензия на *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 и Проба 3 с 1,5% суспензия на *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 и проба 4 - Контрола без включване на *Lactobacillus plantarum* LBRZ12. Използваната стартерна култура на *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 е свежа 24-часова суспензия с концентрация  $2,5 \times 10^{14}$  cfu/cm<sup>3</sup>.

Проследено е изменението на физикохимичните и микробиологичните показатели на получените 4 партии в процеса на зреене на колбасите (Табл. 1 и Табл. 2). Обогащаването на Проба 1, Проба 2 и Проба 3 с *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 не променя значително киселинността на колбасите (Табл. 1).

И четирите партии отговарят на изискванията за микробиологична чистота на храни (Табл. 2). При всички тях в процеса на ферментация се увеличава концентрацията на жизнеспособни клетки на млечнокиселите бактерии и се понижава концентрацията на *E.coli* и колиформите. Наблюдаваната редукция е по-голяма при вариантите с включване на *Lactobacillus plantarum* LBRZ12, което убедително доказва консервиращото действие на използвания щам, независимо от прилаганата концентрация (Табл. 2).

Табл. 1. Физикохимична характеристика на четирите партии суровосушен суджук

Проба	Контрола			Проба 1 с 0,5 %			Проба 2 с 1 %			Проба 3 с 1,5 %		
	1 ден	15 ден	30 ден	1 ден	15 ден	30 ден	1 ден	15 ден	30 ден	1 ден	15 ден	30 ден
Сухо вещество, %		70	71		75	77		67	72		65	71
Титруема киселинност, °Т	24	33	34	24	32	33	24	29	33	24	32	33

Матрицата на суровосушения суджук е подходяща среда за развитието на пробиотичния щам *Lactobacillus plantarum* LBRZ12, чиято концентрация в процеса на зреене достига стойности от порядъка на  $10^{10} - 10^{11}$  cfu/cm<sup>3</sup> (Табл. 2). Получените 3 партии с включване на *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 представляват функционални храни, които могат да доставят на организма жизнеспособни клетки на пробиотични бактерии, които да изпълнят своята профилактична и здравословна роля.

Табл. 2. Микробиологична характеристика на четирите партии суровосушен суджук

Проба	Контрола			Проба 1 с 0,5 %			Проба 2 с 1 %			Проба 3 с 1,5 %			
	1 ден	15 ден	30 ден	1 ден	15 ден	30 ден	1 ден	15 ден	30 ден	1 ден	15 ден	30 ден	
Общ брой мезофилни аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми, cfu/g	4x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>5</sup>	~6x10 <sup>2</sup>	4x10 <sup>3</sup>	Под 10	~6x10 <sup>2</sup>	4x10 <sup>3</sup>	Под 10	Под 10	4x10 <sup>3</sup>	Под 10	5,3x10 <sup>3</sup>	
Специфични микроорганизми, cfu/g	<i>E. coli</i>	500	50	50	500	Под 10	Под 10	500	Под 10	Под 10	500	Под 10	Под 10
	Колиформи	2,5x10 <sup>3</sup>	500	50	2,5x10 <sup>3</sup>	Под 10	Под 10	2,5x10 <sup>3</sup>	Под 10	Под 10	2,5x10 <sup>3</sup>	Под 10	Под 10
	<i>Salmonella</i> sp.	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf
	<i>Staph. aureus</i>	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf	Nf
Млечнокисели бактерии, cfu/g	2,3x10 <sup>3</sup>	4,5x10 <sup>7</sup>	2,3x10 <sup>6</sup>	4,5x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>10</sup>	7,2x10 <sup>10</sup>	5x10 <sup>7</sup>	2,5x10 <sup>10</sup>	3x10 <sup>11</sup>	5,3x10 <sup>7</sup>	8,6x10 <sup>10</sup>	6x10 <sup>11</sup>	
Плесени и дрожди, cfu/g	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	Под 10	

#### IV. Заключение

Внасянето на новоизолирания пробиотичен щам *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 редуцира броя на живите клетки на патогенните микроорганизми и значително намалява общата микробна осемененост, обезпечавайки микробиологичната безопасност на суровосушените ферментирани суджуци и техния по-дълъг срок на съхранение. Всички партии запазват висока концентрация на жизнеспособни клетки на пробиотичния щам *Lactobacillus plantarum* LBRZ12 (над 10<sup>10</sup> cfu/g), превръщайки ги във функционални храни.

#### Литература

1. Erkkilä S, Suihko ML, Eerola S, Petäjä E, Mattila-Sandholm S. Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Int J Food Microbiol* 2001; **64**: 205-210.
2. Klingberg TD, Budde BB. The survival and persistence in the human gastrointestinal tract of five potential probiotic lactobacilli consumed as friez-dried culture or as probiotic sausage. *Int J Food Microbiol* 2006; **109**: 157- 159.
3. Radulović Z., Živković D., Mirković N., Petrušić M., Stajić S., Perunović M., Paunović D. (2011). Effect of probiotic bacteria on chemical composition and sensory quality of fermented sausages. 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11). *Procedia – Food Science* 1 (2011) 1516 – 1522.
4. Zdolec N., Hadziosmanovic M., Kozacinski L., Cvrtila Z., Filipovic I., Skrivanko M., Leskovar K. (2008). Microbial and physicochemical succession in fermented sausages produced with bacteriocinogenic culture of *Lactobacillus sakei* and semi-purified bacteriocin mesenterocin Y. *Meat Science* 80 (2008) 480–487.
5. Ammor S., Dufour E., Zagorec M., Chaillou S., Chevallier I. (2005). Characterization and selection of *Lactobacillus sakei* strains isolated from traditional dry sausage for their potential use as starter cultures. *Food Microbiology* 22, 529–538.

6. Holko I., Hrabě J., Šalaková A., Rada V. (2013). The substitution of a traditional starter culture in mutton fermented sausages by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*. *Meat Science* 94, 275–279.
7. Rubio R., Aymerich T., Bover-Cid S., Guàrdia M. D., Arnau J., Garriga M. (2013). Probiotic strains *Lactobacillus plantarum* 299V and *Lactobacillus rhamnosus* GG as starter cultures for fermented sausages. *LWT - Food Science and Technology* 54 (2013) 51-56.
8. Ёоргова К. В. (2000) Ръководство за упражнения по технология на месните продукти. Акад. Изд. на УХТ.
9. Urso R., Rantsiou K., Cantoni C., Comi G., Cocolin L. (2006). Technological characterization of a bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* and its use in fermented sausages production. *International Journal of Food Microbiology* 110, 232–239.
10. Danilović B., Joković N., Petrović L., Veljović K., Tolinački M., Savić D. (2011). The characterisation of lactic acid bacteria during the fermentation of an artisan Serbian sausage (Petrovska Klobasa). *Meat Science* 88, 668–674.
11. Sidira M., Karapetsas A., Galanis A., Kanellaki M., Kourkoutas Y. (2014). Effective survival of immobilized *Lactobacillus casei* during ripening and heat treatment of probiotic dry-fermented sausages and investigation of the microbial dynamics. *Meat Science* 96, 948–955
12. Simion A. M., Vizireanu C., Alexe P., Franco I., Carballo J. (2014). Effect of the use of selected starter cultures on some quality, safety and sensorial properties of Dacia sausage, a traditional Romanian dry-sausage variety. *Food Control* 35, 123-131.
13. Sidira M., Galanis A., Nikolaou A., Kanellaki M., Kourkoutas Y. (2014). Evaluation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 protective effect against spoilage of probiotic dry-fermented sausages. *Food Control* 42, 315-320.
14. Nedelcheva, P., Z. Denkova, P. Denev, A. Slavchev, A. Krastanov (2010). Probiotic strain *Lactobacillus plantarum* NBIMCC 2415 with antioxidant activity as a starter culture in the production of dried fermented meat products, *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* vol. 24, 1, 1624-1630.