

PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA

## EFEKTYWNOŚĆ SZCZEPU BAKTERII *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 W ZAKRESIE REDUKCJI AZOTANÓW(V) W ŚRODOWISKU MIĘSNYM

### Streszczenie

Celem pracy było określenie efektywności szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) w środowisku mięsnym. Materiał do badań stanowił szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365, wyizolowany z kiełbasy suszonej. Efektywność bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) badano w modelowym farszu mięsnym, do którego wprowadzono azotan(V) sodu na poziomie 100 mg/kg. W pracy porównano dwa sposoby namnażania szczepu bakterii. W pierwszym sposobie bakterie standardowo namnażano na białkowym podłożu TSB. W drugim bakterie namnażano na podłożu TSB i dodatkowo zastosowano stymulowanie komórek bakterii, które polegało na wprowadzeniu azotanu(V) sodu na określonym poziomie do podłoża. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono istotny wpływ sposobu namnażania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 na aktywność bakterii w zakresie redukcji azotanów w farszu mięsnym poddawanym obróbce cieplnej. W przypadku wariantu, w którym zastosowano stymulowanie komórek bakterii w trakcie namnażania, szczep charakteryzował się wysoką aktywnością już w pierwszym etapie obróbki cieplnej (20 °C). Po zakończeniu etapu obróbki przebiegającej w temperaturze 45 °C stwierdzono 100-procentową redukcję azotanów(V). W przypadku szczepu namnażanego standardowo nie stwierdzono aktywności bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) w farszu mięsnym w temp. 20 °C.

**Słowa kluczowe:** mięso, peklowanie, bakterie denitryfikujące, redukcja azotanów(V)

### Wprowadzenie

Restrykcyjne zasady higieny wprowadzone w zakładach mięsnych przyczyniły się do poprawy jakości mikrobiologicznej surowca mięsnego stosowanego do produk-

---

Mgr inż. P. Szymański, Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa  
Kontakt: piotr.szymanski@ipmt.waw.pl

cji wędlin. Z uwagi na bezpieczeństwo mikrobiologiczne produktów jest to działanie pozytywne, ale może mieć negatywny wpływ na przebieg procesu technologicznego, głównie procesu peklowania mięsa. Nadmierna „jałowość” surowca mięsnego, a tym samym odmienne właściwości biochemiczne farszów mięsnych mogą przyczynić się do zmiany przebiegu reakcji chemicznych zachodzących w mięsie podczas peklowania.

W latach 70. XX w. Cassens i wsp. [3] dowiedli, że 1 ÷ 10 % azotanu(III) dodanego do mięsa może przekształcić się w azotany(V). Niektórzy badacze wskazują, że ilość azotanów(III), która utlenia się podczas peklowania mięsa jest większa i wynosi 10 ÷ 40 % [7]. Nie jest ostatecznie wyjaśnione, w wyniku jakich reakcji chemicznych w produktach peklowanych azotanami(III) tworzą się często znaczne ilości azotanów(V). Wiadomo natomiast, że ogólny bilans azotanów(III) dodanych do mięsa podczas peklowania może być różny i zależny od wielu czynników, tj. właściwości biochemicznych mięśni, warunków przeprowadzanego procesu technologicznego, mikroflory mięsa czy użycia substancji wspomagających ten proces [2, 3, 4, 7]. Można przypuszczać, że ograniczenie dostępnego azotanu(III), spowodowane utlenianiem go do azotanu(V), podczas peklowania mięsa może mieć istotny wpływ na efektywność procesu i stabilność barwy produktów mięsnych poddanych obróbce cieplnej.

W Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego podjęto prace dotyczące zbadania, czy wzbogacenie naturalnej mikroflory mięsa o wybrane szczepy bakterii denitryfikujących będzie miało istotny wpływ na efektywność procesu peklowania mięsa za pomocą azotanów(III). W pierwszym etapie badań określono warunki i oddziaływanie wybranych substancji dodatkowych stosowanych w produkcji farszów mięsnych na aktywność wybranego do badań szczepu bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365. Badania przeprowadzono w układzie modelowym, w płynnym podłożu białkowym TSB. Stwierdzono, że badany szczep charakteryzuje się aktywnością w stosunkowo szerokim zakresie temperatury (15 ÷ 40 °C), w którym jest zdolny przeprowadzać redukcję azotanów(V) i azotanów(III). Szybkość działania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) w obecności chlorku sodu i wielofosforanów była wystarczająca przy zastosowaniu odpowiednio wysokiej liczby komórek bakterii ( $10^7$  kom/g). Wraz ze wzrostem liczby bakterii w układzie modelowym obserwowano obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska. Stwierdzone właściwości biochemiczne szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 wskazują na możliwość zastosowania go w procesie peklowania mięsa azotanem(III) [18].

Warunki środowiskowe w mięsie tj. dostępność składników odżywczych, aktywność wody i pH różnią się od tych w płynnym podłożu białkowym. Dlatego celem niniejszej pracy była ocena efektywności szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) w środowisku mięsnym.

## Material i metody badań

Material do badań stanowił szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 pochodzący z kolekcji kultur bakteryjnych *The American Type Culture Collection*. Szczep wyizolowano z kielbasy suszonej. Efektywność bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) badano w modelowym, drobno rozdrobnionym farszu mięsnym o następującym składzie: mięsień półbłoniasty (*m. semimembranosus*) z szynki wieprzowej – 100,0 kg, woda/lód –20,0 kg, chlorek sodu – 2,20 kg, glukoza – 0,20 kg. Do farszu wprowadzano azotan(V) sodu na poziomie 100 mg/kg. Poziom wprowadzonego azotanu(V) sodu do farszu został ustalony na podstawie badań wstępnych [17, 18]. Mięso do badań pozyskano z rozbioru przemysłowego przeprowadzane go w przedsiębiorstwie Polish Farm Meat Zakłady Mięsne "STANISŁAWÓW" w Stanisławowie. Surowiec pochodził z półtuszy wychłodzonych, 48 h po uboju i wolny był od wad jakościowych. Produkcję doświadczalną prowadzono w hali półtechnicznej Oddziału Technologii Mięsa i Tłuszczu IBPRS w Warszawie.

W pracy zastosowano dwa sposoby namnażania bakterii. Pierwszym sposobem bakterie standardowo namnażano w płynnym białkowym podłożu TSB (Difco, USA,  $\text{pH}_{\text{podłoża}} = 7,30 \pm 0,20$ ) w ciągu 20 h, w temp. 30 °C. Drugim – w podłożu TSB i dodatkowo zastosowano stymulowanie komórek bakterii, które polegało na wprowadzeniu do podłoża azotanu(V) sodu na poziomie 100 mg/l. W obu przypadkach komórki bakterii z trzeciego pasażu były odwirowywane. Otrzymana biomasa bakteryjna zawieszana była w roztworze soli fizjologicznej i w takiej formie wprowadzana do farszu. W roztworze z bakteriami, które poddawano stymulacji, oznaczano pozostałość azotanów (V) i (III). Stwierdzono, że w założonych warunkach namnażania bakterii zawartość azotanów (V) i (III) w badanym roztworze kształtowała się poniżej progu wykrywalności metody (<5 mg/l) [11, 15]. Liczba początkowa bakterii *S. carnosus* ATCC51365 w farszu mięsnym wynosiła  $10^7$  kom/g, a jej poziom został określony w badaniach modelowych [17].

Farszem napełniano puszki i po zamknięciu przetrzymywano w temp. 4 °C przez 24 h. Następnie poddawano go obróbce cieplnej prowadzonej etapami po dwie godziny tak, aby temperatura w centrum konserwy wynosiła odpowiednio: 20, 40, 45 °C, a następnie do uzyskania wewnątrz 70 °C. Obróbkę cieplną konserw prowadzono w kotle warzelnym Brokelmann typu B. 2001/E. Temperatura środowiska (wody) i wewnątrz konserw mierzona była w sposób ciągły przy użyciu termopar zespolonych z panelem sterującym Ellab typu ctf84. Zastosowane parametry obróbki cieplnej farszu ustalono na podstawie wcześniejszych badań [18] oraz uwzględniono normalne warunki przemysłowe (czas i temperaturę), w jakich prowadzone są poszczególne etapy produkcyjne (peklowanie, osadzanie, osuszanie, parzenie i wędzenie) wędlin poddawanych obróbce cieplnej.

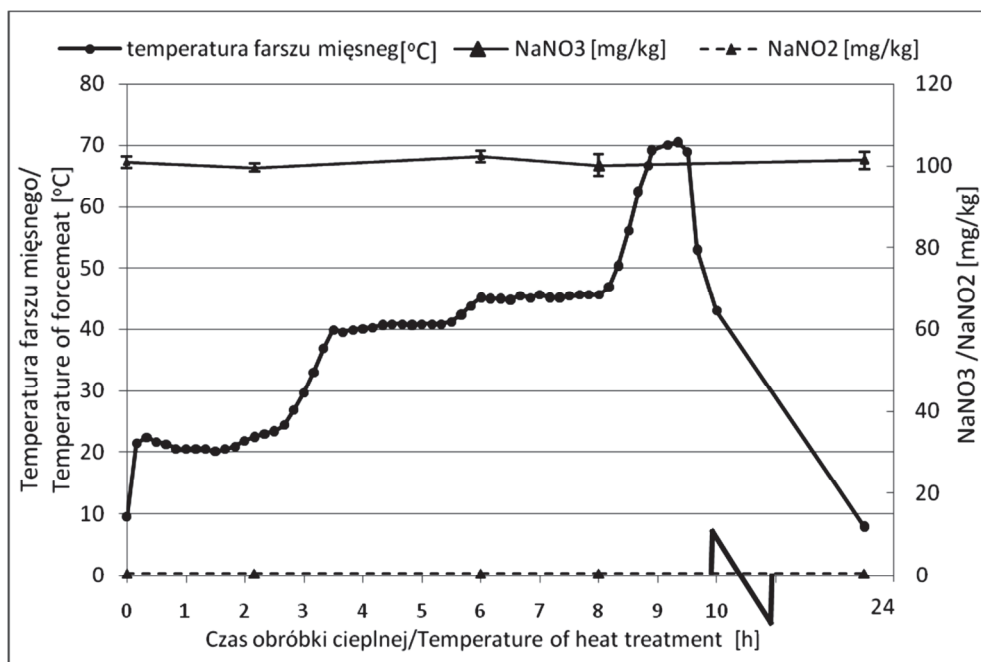
Do badań pobrano próbki farszu mięsnego: bezpośrednio po wymieszaniu składników, po 24 h przechowywania w temp. 4 °C, po zakończeniu poszczególnych etapów obróbki cieplnej, po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu. W próbkach oznaczano: zawartość azotanów(V) i (III) [11] z modyfikacją [15], wartość pH [12], potencjał redox (w aparacie Metter Delta 350 z elektrodą InLab Redox Pro; pomiar wykonywano w roztworze przygotowanym przez zhomogenizowanie 10 g farszu mięsnego z 50 ml wody destylowanej; czas homogenizacji – 1 min, prędkość obrotowa noży – 1400 obr./min) oraz liczbę *Staphylococcus* (podłoże medium 110, składnik selektywny – chlorek sodu) i ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych OLD (podłoże TSA) – metodą płytkową. Farsz mięsny po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu (produkt gotowy) poddawano wzrokowej ocenie barwy. Mierzono także wyciek soku mięsnego powstałego podczas obróbki cieplnej. Wariant kontrolny nie zawierał dodatku szczepu bakteryjnego. Badania przeprowadzono w pięciu równoległych powtórzeniach.

Do statystycznego opracowania wyników zastosowano program Statgraphics Plus 4.1. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic między wartościami średnimi analizowano testem Fishera. Wszystkie próby testowano na poziomie istotności  $p = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Nie wykazano istotnych różnic ( $p \leq 0,05$ ) pod względem badanych parametrów farszów mięsnych bezpośrednio po wymieszaniu składników i po 24 h przechowywania w temp. 4 °C. W dalszej części pracy parametry początkowe farszów podawane będą w odniesieniu do farszów mięsnych po 24-godzinnym okresie przechowywania w warunkach chłodniczych.

W trakcie przeprowadzanej obróbki cieplnej i po jej zakończeniu nie stwierdzono redukcji azotanu(V) sodu dodanego do farszu mięsnego (rys. 1). Zawartość azotanów(V) w trakcie całego procesu kształtowała się na zbliżonym poziomie i wynosiła około 100 mg/kg w przeliczeniu na azotan(V) sodu. Nie zaobserwowano również w środowisku azotanów(III), które mogłyby powstać ze zredukowanego azotanu(V). Początkowa ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych mierzona w farszu mięsnym kształtowała się na poziomie 4,76 log jtk/g. Poziom ten można uznać za normalny i zgodny z aktualnymi wymaganiami dotyczącymi kryteriów higieny mięsa przetwarzanego w zakładach produkcyjnych [14]. Zgodnie z tymi wymaganiami ogólna liczba bakterii tlenowych w mięsie mielonym na poziomie  $5,0 \times 10^5$  jtk/g (5,70 log jtk/g) jest zadowalająca.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Linie przerywane na wykresie obrazują zmiany zawartości azotanów(III) (wyrażone jako NaNO<sub>2</sub>) powstałych ze zredukowanego azotanu(V) sodu przez bakterie / Dashed lines on the graph illustrate changes in content of nitrates(III) (expressed as NaNO<sub>2</sub>) produced from bacteria-reduced sodium nitrate(V). Na wykresie graficznie naniesiono wartości  $\bar{x} \pm SD$  / Mean values plotted on the graph are  $\bar{x} \pm SD$ .

Rys. 1. Przemiany azotanu(V) sodu w środowisku mięsnym.

Fig. 1. Transformations of sodium nitrate(V) in meat.

Wyższe wartości (5,19 log jtk/g) ogólnej liczby drobnoustrojów w mięsie wieprzowym po 3 dniach od uboju uzyskali Kajak i wsp. [8].

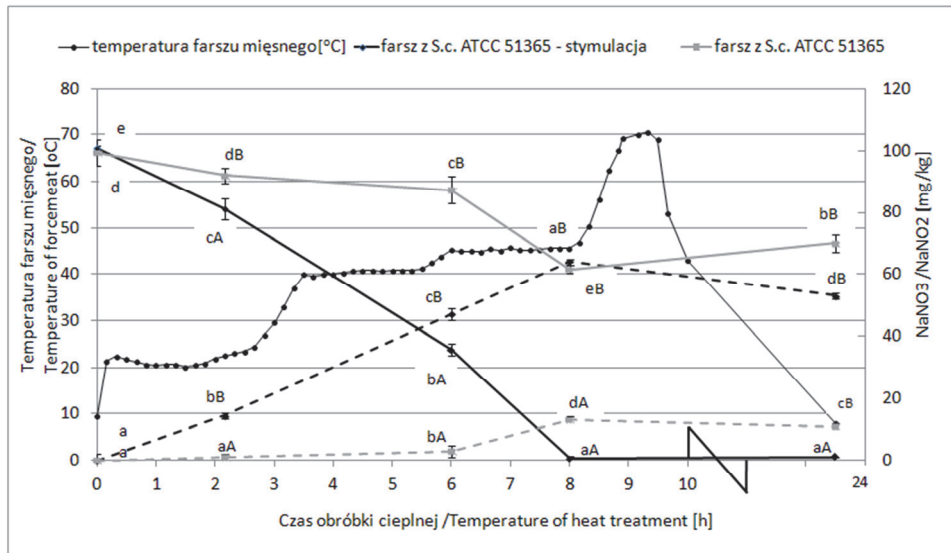
Bakterie *Staphylococcus* wchodzące w skład naturalnej mikroflory farszu mięsnego oznaczono na poziomie 3,13 log jtk/g. Podczas przeprowadzanej obróbki cieplnej farszu ogólna liczba komórek bakterii tlenowych i *Staphylococcus* utrzymywała się na zbliżonym poziomie do osiągnięcia i przetrzymania farszu przez dwie godziny w temp. 45°C. W wyższych zakresach temperatury nie pobierano próbek do badań mikrobiologicznych, niemniej przypuszczać można, że temperatura destrukcyjna dla komórek bakterii powodowała stopniowe obniżanie ogólnej liczby bakterii w mięsie. Po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu produktów doświadczalnych stwierdzono ogólną liczbę drobnoustrojów na poziomie 3,18 log jtk/g, a bakterii *Staphylococcus* – 1,30 log jtk/g. Zbliżone wyniki OLD (2,64 ÷ 3,66 log jtk/g) w parzonych produktach mięsnych po wytworzeniu otrzymali Ciegielska-Radziejewska i wsp. [5].

Poszczególne gatunki bakterii *Staphylococcus* i szczepy bakterii należące do tego samego gatunku, ale wyizolowane z różnych środowisk, mogą charakteryzować się różnymi właściwościami biochemicznymi, takimi jak: aktywność enzymów reduktazy azotanowej(V) i azotanowej(III), tolerancja wobec temperatury czy niektórych substancji dodatkowych stosowanych w produkcji żywności [6, 9, 10, 18]. Badania Szymańskiego i Kołożyn-Krajewskiej [18] przeprowadzone w układzie modelowym wykazały, że efektywność redukcji azotanów(V) przez wybrane szczepy *Staphylococcus carnosus* zależy od liczby i tempa wzrostu komórek bakterii. Przypuszczać można, że niska efektywność redukcji azotanów(V) przez bakterie *Staphylococcus* z mięsa związana jest ze stosunkowo małą ich liczbą początkową w farszu. Jest prawdopodobne, że szczepy bakterii, które wchodzi w skład mikroflory środowiskowej mięsa, mogą również charakteryzować się niską aktywnością enzymu reduktazy azotanowej(V).

Efekt wzbogacenia naturalnej mikroflory mięsa w szczep bakterii denitryfikujących była częściowa redukcja dodanego do farszu azotanu(V) sodu podczas przeprowadzanej obróbki cieplnej (rys. 2). Obserwowano powstawanie azotanów(III) ze zredukowanego przez bakterie azotanu(V) sodu. Największą 40-procentową redukcję zawartości azotanów(V) stwierdzono po ósmej godzinie obróbki cieplnej, tzn. w temp. 45 °C. W próbach farszu pobranych do analizy stwierdzono, że zawartość azotanu(V) i azotanu(III) sodu wynosiła średnio odpowiednio: 61,6 mg/kg i 13,2 mg/kg.

Statystycznie wykazano, że średnia zawartości azotanu(V) sodu w gotowym produkcie (73,0 mg/kg) była istotnie ( $p \leq 0,05$ ) większa od oznaczonej w farszu w temperaturze 45 °C. Powstały ze zredukowanego azotanu(V) sodu azotan(III) w procesie peklowania mógł ulec ponownemu utlenieniu do azotanu(V).

Stwierdzono istotny ( $p \leq 0,05$ ) wpływ sposobu namnażania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC51365 na aktywność bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) w farszu mięsnym, poddawany obróbce cieplnej (rys. 2). W wariancie doświadczalnym, w którym zastosowano stymulowanie komórek bakterii azotanem(V) sodu w trakcie namnażania, szczep charakteryzował się wysoką aktywnością już w pierwszym etapie obróbki cieplnej (20°C). Po zakończeniu ogrzewania farszu w temp. 45 °C stwierdzono 100-procentową redukcję azotanów(V) (rys. 2). Redukcji azotanu(V) sodu towarzyszyło generowanie azotanów(III). W przypadku szczepu namnażanego pierwszym sposobem nie stwierdzono aktywności bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) w temp. 20 °C. W farszu mięsnym, w którym zastosowano bakterie denitryfikujące poddane stymulacji, nie stwierdzono obecności azotanów(V) po przeprowadzonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu. Azotany(III) powstałe z redukcji dodanego azotanu(V) sodu oznaczono w gotowym produkcie na poziomie 53,5 mg/kg w przeliczeniu na azotan(III) sodu.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Linie przerywane na wykresie obrazują zmiany zawartości azotanów(III) (wyrażone jako NaNO<sub>2</sub>) powstałych ze zredukowanego azotanu(V) sodu przez bakterie / Dashed lines on the graph illustrate changes in content of nitrates(III) (expressed as NaNO<sub>2</sub>) produced from bacteria-reduced sodium nitrate(V). Na wykresie graficznie naniesiono wartości  $\bar{X} \pm SD$  / Values plotted on the graph are  $\bar{X} \pm SD$ . Wartości średnie oznaczone różnymi małymi literami (a-e) w obrębie tej samej próby i dużymi literami (A, B) pomiędzy próbkami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / Mean values followed by different small letters (a-e) within the same sample or by capital letters (A, B) within different samples are significantly different ( $p \leq 0.05$ ).

Rys. 2. Wpływ *Staphylococcus carnosus* ATCC 51365 na przemiany azotanu(V) sodu w środowisku mięsnym.

Fig. 2. Effect of ATCC 51365 *Staphylococcus carnosus* on transformations of sodium nitrate(V) in meat.

Wysoka aktywność szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w redukcji azotanów(V) spowodowana stymulacją może wynikać z syntezy enzymu reduktazy azotanowej(V) przez komórki bakterii już na etapie ich namnażania. Jak podają Neubauer i Gotz [9], produkcja enzymu reduktazy azotanowej(V) przez bakterie *Staphylococcus* zachodzi w beztlenowym lub słabo zaopatrzonym w tlen środowisku, przy jednoczesnym dostępie azotanu(V). W wyrobie gotowym nie stwierdzono resztkowych azotanów(V), które teoretycznie powinny powstać z azotanów(III) obecnych w środowisku w wyniku reakcji dysmutacji. Trudno wyjaśnić to zjawisko. Można przypuszczać, że środowisko mięsne działa na komórki bakterii ochronnie przed niszcącym działaniem ogrzewania. W takim przypadku szczep mógł wykazywać aktywność metaboliczną również w wyższych temperaturach i redukować azotany(V).

Wyniki badań wskazują, że środowisko mięsne oddziałuje hamująco na wzrost liczby komórek bakterii szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365. Liczba komórek bakterii w farszu mięsnym podczas jego ogrzewania utrzymywała się na zbliżonym poziomie –  $10^7$  kom/g do osiągnięcia temperatury 45 °C.

Zjawisko to obserwuje się także podczas produkcji kielbas surowo dojrzewających. Nie stwierdza się wzrostu liczby komórek bakterii *Staphylococcus* dodawanych do farszu kielbasianego. Ich liczba podczas procesu fermentacji zmniejsza się wraz z upływem czasu [1, 16].

W wytworzonych produktach doświadczalnych liczbę *Staphylococcus* oznaczono na stosunkowo niskim poziomie: 1,3 log jtk/g w przypadku wariantu ze stymulacją i 2,0 log jtk/g bez stymulacji komórek bakterii. Taką samą tendencję stwierdzono w przypadku ogólnej liczby drobnoustrojów, jednak najniższy jej poziom w produkcie gotowym – 1,65 log jtk/g stwierdzono w wariacie, w którym zastosowano szczep poddany stymulacji. W farszu, oprócz chlorku sodu, występował w stosunkowo wysokim stężeniu azotan(III) powstały ze zredukowanego azotanu(V) sodu. Wysoce prawdopodobne jest, że azotan(III) i chlorek sodu działały synergistycznie i wpływały hamująco na mikroflorę farszu mięsnego.

Konserwy doświadczalne wytworzone z zastosowaniem bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 charakteryzowały się różową barwą. Potwierdza to udział azotanów(III) powstałych ze zredukowanego azotanu(V) sodu w procesach barwotwórczych zachodzących podczas peklowania mięsa. Wariant kontrolny charakteryzował się szarą barwą. Nie były widoczne obszary, które wskazywałyby na przepeklowanie mięsa.

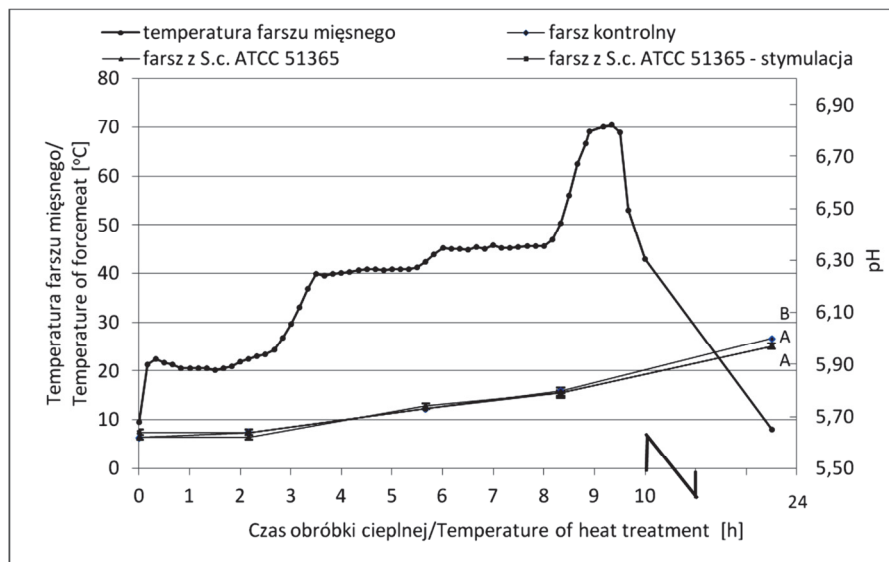
Sposób namnażania bakterii nie różnicował istotnie ( $p \leq 0,05$ ) przebiegu zmian pH farszu mięsnego podczas przeprowadzanego procesu obróbki cieplnej i po wychłodzeniu. Stwierdzono wpływ zastosowanych bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 na poziom kwasowości produktu gotowego (rys. 3). Obniżenie pH produktu w wariantach, w których zastosowano bakterie, było niewielkie, ale statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ).

W przeprowadzonym eksperymencie nie stwierdzono istotnych różnic ( $p \leq 0,05$ ) pod względem ilości wycieku soku mięsnego po obróbce cieplnej pomiędzy wariantami. Wydaje się, że zaobserwowane obniżenie pH farszu nie naruszało naturalnych limitów pojemności buforowej mięsa i nie miało wpływu na jego wodochłonność.

Sposób namnożenia bakterii nie różnicował istotnie ( $p \leq 0,05$ ) przebiegu zmian potencjału redox środowiska mięsnego w początkowej fazie obróbki cieplnej i w gotowym produkcie. Po przetrzymaniu farszu w temp. 45 °C przez dwie godziny stwierdzono, że wartość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska mięsnego, w którym zastosowano szczep bakterii denyfikujących, poddanych stymulacji, była istotnie



wyższa ( $p \leq 0,05$ ) od potencjału redox farszu kontrolnego i od wartości w wariancie, w którym zastosowano szczep bakterii niepoddanych stymulacji (rys. 4).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Na wykresie graficznie naniesiono wartości  $\bar{X} \pm SD$ / Values plotted on the graph are  $\bar{X} \pm SD$ .

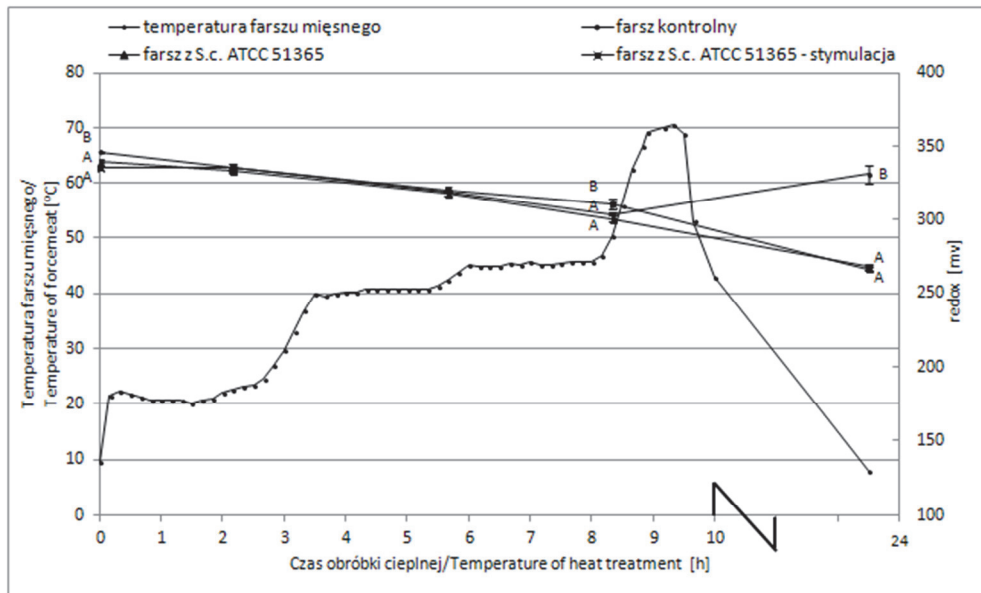
Wartości średnie oznaczone różnymi dużymi literami (A, B) pomiędzy próbkami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / Mean values followed by different capital letters (A, B) within different samples are significantly different ( $p \leq 0.05$ ).

Rys. 3. Zmiany pH farszu mięsnego poddawanego obróbce cieplnej.

Fig. 3. Changes in pH of heat-treated forcemeat.

Można przypuszczać, że zaobserwowana zależność jest wynikiem stosunkowo dużej zawartości azotan(III) powstałego ze zredukowanego azotanu(V) sodu w próbce farszu wzbogaconego w bakterie denitryfikujące poddane stymulacji. Zgodnie z danymi literaturowymi [13], azotan(III) w istotny sposób wpływa na wzrost wartości potencjału redox danego środowiska [13]. Trudno wytłumaczyć to zjawisko, szczególnie biorąc pod uwagę udowodnione przeciwutleniające właściwości azotanów(III).

Wprowadzenie szczepu bakteryjnego do mięsa wpłynęło istotnie ( $p \leq 0,05$ ) na obniżenie potencjału redox farszu modelowego po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu. Obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego, spowodowane aktywnością bakterii denitryfikujących podczas peklowania mięsa, ma wpływ na stabilność barwy produktu mięsnego i zawartość resztkowych azotanów(III).



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

Rys. 4. Zmiany potencjału redox farszu mięsnego poddawane obróbce cieplnej.

Fig. 4. Changes in redox of heat-treated forcemeat.

Przeprowadzone badania wskazują, że aktywność metaboliczna badanych bakterii denitryfikujących była różna w środowisku mięsnym i w płynnym podłożu białkowym (TSB). W doświadczeniach przeprowadzanych w układzie modelowym intensywny wzrost bakterii obserwowano w zakresie temperatur:  $20 \div 40$  °C. Towarzyszyło temu duże obniżenie wartości potencjału redox i pH środowiska [18]. Stwierdzone różnice mogą wynikać m.in. z różnej dostępności składników odżywczych, pH oraz aktywności wody w środowisku mięsnym i w płynnym podłożu białkowym.

## Wnioski

1. Zastosowanie stymulowania komórek bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 azotanem(V) sodu podczas namnażania zwiększyło istotnie ( $p \leq 0,05$ ) efektywność redukcji azotanów(V) w środowisku mięsnym.
2. Sposób namnażania bakterii nie różnicował istotnie ( $p \leq 0,05$ ) przebiegu zmian pH farszu mięsnego podczas przeprowadzanej obróbki cieplnej. W obu przypadkach wprowadzenie szczepu bakteryjnego do mięsa wpłynęło istotnie ( $p \leq 0,05$ ) na obniżenie potencjału redox i pH farszu modelowego po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu.

3. Nie stwierdzono wzrostu liczby komórek bakterii szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w farszu mięsnym poddawanym obróbce cieplnej.
4. Praktyczne zastosowanie bakterii denitryfikujących w produkcji wędlin parzonych wymaga przeprowadzenia dalszych badań, m.in. w zakresie wpływu zastosowania bakterii poddanych stymulacji na cechy jakościowe (trwałość barwy) i bezpieczeństwo zdrowotne (pozostałość resztkowych azotanów (V) i (III)) produktu gotowego.

*Badania zrealizowano w ramach działalności statutowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, Oddziału Technologii Mięsa i Tłuszczu w Warszawie.*

*Praca jest współfinansowana ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.*

### Literatura

- [1] Albin M.: Kultury starterowe jako główny parametr sterowania jakością wędlin dojrzewających. *Gosp. Mięs.* 1999, **4**, 46-47.
- [2] Arneth W.: *Chemische Grundlagen der Umrötung.* *Fleischwirtschaft*, 1998, **8**, 868-874.
- [3] Cassens R.G., Ito I., Lee M., Buege, D.: The use of nitrite in meat. *Bioscience*, 1978, **28 (10)**, 633-637.
- [4] Cassens R.G.: Use of sodium nitrite in cured meats today. *Food Technology*, 1995, **49 (7)**, 72-80.
- [5] Cegielska-Radziejewska R., Kijowski J., Nowak E., Zabielski J.: Wpływ temperatury na dynamikę zmian liczby bakterii w wybranych wędlinach przechowywanych w warunkach handlu hurtowego i detalicznego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **4 (53)**, 80-83.
- [6] Gøtterup J., Olsen K., Knochel S., Tjener K., Stahnke L.H., Møller J.K.S.: Relationship between nitrate/nitrite reductase activities in meat associated staphylococci and nitrosylmyoglobin formation in a cured meat model system. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **120**, 303-310.
- [7] Honikel K.O.: The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 2008, **78**, 68-76.
- [8] Kajak K., Przybylski W., Jaworska D., Rosiak E.: Charakterystyka jakości technologicznej, sensorycznej i trwałości mięsa wieprzowego o zróżnicowanej końcowej wartości pH. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1 (50)**, 31-32.
- [9] Neubauer H., Götz F.: Physiology and interaction of nitrate and nitrite reduction in *Staphylococcus carnosus*. *J. Bacteriology*, 1996, **178**, 2005-2009.
- [10] Pantel I., Lindgren P.E., Neubauer H., Götz F.: Identification and characterization of the *Staphylococcus carnosus* nitrate reductase operon. *Molecular Genetics and Genomics*, 1998, **259**, 105-114.
- [11] PN-EN ISO 12014:2006. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości azotanów i/lub azotynów.
- [12] PN-77/A-82058. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie pH.
- [13] Rodel W.: Potencjał oksydoredukcyjny mięsa i przetworów mięsnych – możliwość zastosowania w praktyce. Publikacja tłumaczona z *Fleischwirtschaft*. *Mięso i Wędliny*. 1999, **7**, 27-29.
- [14] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. *Dz. Urz. UE L 322/12 z 07.12.2007*.

- [15] Siu D., Henshall A.: Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products. *J. Chromat.*, 1998, **804**, 156-160.
- [16] Słowiński M., Jankiewicz L.: Technologia produkcji wędlin. Kiełbasy surowe. Mięso i Wędliny, Polskie Wydawnictwo Fachowe, Warszawa 2004.
- [17] Szymański P.: Badania dotyczące poziomu występowania azotynów i azotanów w wybranych rynkowych produktach mięsnych poddanych obróbce cieplnej – niepublikowane wyniki badań. Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu IBPRS, Warszawa 2010.
- [18] Szymański P., Kołożyn-Krajewska D.: Ocena możliwości zastosowania szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w procesie peklowania mięsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2013, **3 (88)**, 61-72.
- [19] Talon R., Walter D., Chartier S., Barriere C., Montel M.C.: Effect of nitrate and incubation conditions on the production of catalase and nitrate reductase by staphylococci. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **52**, 47-56.

#### EFFECTIVENESS OF BACTERIAL STRAIN OF *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 IN RESPECT OF REDUCTION OF NITRATES (V) IN MEAT

##### S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effectiveness of the *Staphylococcus carnosus* ATCC–51365 bacterial strain in respect of the reduction of nitrates(V) in meat. The research material comprised the strain of *Staphylococcus carnosus* ATCC–51365 denitrifying bacteria isolated from dried sausages. The effectiveness of those bacteria in respect of the reduction of nitrates(V) was studied in a model forcemeat with sodium nitrate(V) added at a level of 100 mg/kg of. In the research study, two methods of multiplying bacteria strains were compared. The first method was used to conventionally multiply bacteria on a TSB protein medium. The second method consisted in that bacteria were multiplied on a TSB medium and, additionally, the bacterial cells were stimulated by sodium nitrate(V) added at a specific level into the medium. On the basis of the research study performed, it was found that the multiplication method of *Staphylococcus carnosus* ATCC–51365 strain had a significant effect on the activity of those bacteria in respect of the reduction of nitrates(V) in the heat-treated forcemeat. In the case of the variant with the stimulation of bacterial cells during their multiplication, the strain discussed was characterized by a high activity already during the first stage of heat treatment (20 °C). A 100 % reduction of nitrates(V) was reported at the end of the treatment stage completed at a temperature of 45 °C. In the case of the strain multiplied conventionally, no activity was reported of bacteria as regards the reduction of nitrates(V) in forcemeat at a temperature of 20 °C.

**Key words:** meat, meat curing, denitrifying bacteria, reduction of nitrates ☒