

PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA

OCENA MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA SZCZEPU BAKTERII *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 W PROCESIE PEKLOWANIA MIĘSA

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wpływu wybranych warunków i oddziaływania substancji dodatkowych stosowanych w produkcji farszów mięsnych na aktywność bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 oraz określenie możliwości zastosowania tego szczepu do poprawy efektywności peklowania mięsa za pomocą azotanów(III). Badania przeprowadzono w układzie modelowym, który stanowiło płynne podłoże białkowe TSB. Stwierdzono, że szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 wykazuje aktywność w szerokim zakresie temperatury (15 - 40 °C) i jest zdolny przeprowadzić redukcję azotanów (V) i (III). Chlorek sodu i wielofosforany działają hamująco na wzrost i aktywność badanego szczepu bakterii oraz wpływają istotnie na obniżenie szybkości redukcji azotanów (V) i (III). Szybkość działania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) wydaje się wystarczająca przy zastosowaniu odpowiednio wysokiej liczby komórek bakterii (10^7 jtk/g). Szczep bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 charakteryzuje się właściwościami biochemicznymi, które wskazują na możliwość jego zastosowania w procesie peklowania mięsa azotanem(III). Praktyczne zastosowanie bakterii denitryfikujących do produkcji wędlin parzonych wymaga przeprowadzenia dalszych badań, m.in. w zakresie wpływu bakterii na trwałość barwy wyrobu i zdrowotność (pozostałość resztkowych azotanów III i V) produktu gotowego.

Słowa kluczowe: mięso, peklowanie, bakterie denitryfikujące

Wprowadzenie

Podstawową reakcją w procesie peklowania, w wyniku której powstaje charakterystyczna barwa mięsa, jest powstawanie nitrozylomioglobiny. Jednym z etapów jej tworzenia są reakcje prowadzące do powstania tlenku azotu z dodanych azotanów(III) [6]. Podczas peklowania azotany(III) biorą udział w wielu konkurencyjnych reakcjach

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 Żywności i Higieny Produkcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

w mięsie [6, 14, 15]. Cassens i wsp. [2, 3] dowiedli, że 1 - 10 % azotanów(III) dodanych do mięsa przekształca się w azotany(V). Honikel [7], na podstawie badań przeprowadzonych przez Dedererra dotyczących pozostałości azotanów (III) i (V) w wybranych produktach mięsnych wyprodukowanych w Niemczech w latach 2003 – 2005, stwierdził, że ilość azotanów(III) przekształcających się w azotany(V) podczas peklowania może być większa i wynosić 10 - 40 %. Nie jest do końca 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 poszczególnych mięśni, warunków przeprowadzanego procesu technologicznego, mikroflory mięsa czy zastosowania substancji wspomagających ten proces [1, 2, 3, 6].

W skład mikroflory mięsa mogą wchodzić różne szczepy bakterii, w tym bakterie denitryfikujące, które przedostają się do mięsa podczas uboju zwierząt i rozbioru tusz. Poprawa poziomu higieny w halach produkcyjnych, jak również stosowana w nich niska temperatura, wpływają korzystnie na jakość zdrowotną surowca, ale równocześnie są przyczyną ograniczenia występowania i rozwoju pożytecznej mikroflory występującej w mięsie [13]. Nadmierna „jałowość” surowca mięsnego, a tym samym potencjalnie odmienne właściwości biochemiczne farszów mogą przyczynić się do zmiany przebiegu reakcji chemicznych zachodzących w mięsie podczas peklowania. Sytuacja ta ma miejsce szczególnie w przypadku produktów peklowanych przy użyciu azotanów(III) i poddanych obróbce cieplnej, gdyż proces ich produkcji jest stosunkowo krótki i może być niewystarczający do odpowiedniego namnożenia się mikroflory mięsa. Wskazywać na to może stosunkowo duża zawartość azotanów(V) w rynkowych produktach mięsnych, peklowanych ww. sposobem [16]. W tej grupie wędlin obserwuje się również wzrost częstotliwości występowania niestabilności barwy. Jest to problem sygnalizowany przez technologów z dużych zakładów mięsnych w Polsce. Można przypuszczać, że ograniczenie podczas peklowania mięsa dostępnego azotanu(III), spowodowane utlenianiem go do azotanu(V), może mieć istotny wpływ na efektywność procesu i stabilność barwy produktu mięsnego poddanego obróbce cieplnej.

Staphylococcus należy do grupy bakterii denitryfikujących. Poszczególne gatunki i szczepy tych bakterii należące do tego samego gatunku, ale wyizolowane z różnych środowisk, w których naturalnie występują, mogą charakteryzować się różnymi właściwościami biochemicznymi: różną aktywnością enzymów reduktazy azotanowej(V) i azotanowej(III), zdolnością do fermentowania cukrów i wytwarzania kwasu mlekowego, tolerancją wobec temperatury czy niektórych substancji dodatkowych stosowanych w produkcji żywności [4, 8, 9, 17].

Celem pracy było zbadanie wpływu wybranych warunków i oddziaływania substancji dodatkowych stosowanych w produkcji farszów mięsnych na aktywność bakte-

rii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 oraz określenie możliwości zastosowania tego szczepu do poprawy efektywności peklowania mięsa za pomocą azotanów(III).

Material i metody badań

Badania prowadzono w układzie modelowym, który stanowiło płynne podłoże białkowe TSB (Difco, USA, $\text{pH}_{\text{podłoża}} = 7,30 \pm 0,20$). W pracy zastosowano szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 (The American Type Culture Collection) wyizolowany z kielbasy suszonej, wytwarzający enzym, reduktazę azotanową(V). Przed każdym doświadczeniem kultura bakteryjna była rozmnażana na płynnym podłożu TSB w ciągu 20 h, w temp. 30 °C. Do poszczególnych doświadczeń pobierano określoną ilość kultury z trzeciego pasażu.

Badano wpływ *S. carnosus* ATCC-51365 na efektywność redukcji azotanu(V) sodu w określonych warunkach (czas, temperatura, liczba początkowa bakterii). Jako substancje dodatkowe zastosowano chlorek sodu i wielofosforany.

Wpływ temperatury określano w doświadczeniu, w którym do próbek z 9 ml podłoża TSB wprowadzano 10^6 jtk/g *S. carnosus* ATCC 51365 oraz azotan(V) sodu w ilości 100 mg/l. Ilość azotanu(V) sodu ustalono na podstawie badań wstępnych [16]. Następnie próbki inkubowano w temp. 4 - 45 °C w ciągu 20 h.

Wpływ czasu inkubacji i początkowej liczby bakterii określano w doświadczeniu, w którym do próbek z 9 ml podłoża TSB wprowadzano 10^6 jtk/g lub 10^7 jtk/g *S. carnosus* ATCC-51365 oraz azotan(V) sodu (100 mg/l), a następnie inkubowano od 0 do 20 h w temp. 30 °C, uznanej we wcześniejszych badaniach za optymalną do redukcji azotanów przez bakterie.

Wpływ chlorku sodu określano w doświadczeniu, w którym użyto podłoża TSB o trzech zawartościach NaCl: 0,5 % (normalna zawartość NaCl w podłożu TSB), 2,0 i 3,0 %. Do próbek z 9 ml każdego podłoża wprowadzano azotan(V) sodu (100 mg/l) oraz bakterie *S. carnosus* ATCC-51365 w ilości 10^7 jtk/g, określonej we wcześniejszych badaniach. Próbki inkubowano od 0 do 20 h w temp. 30 °C.

Wpływ wielofosforanów określano w doświadczeniu, w którym do podłoża TSB o zawartości 2,0 % NaCl (poziom soli normalnie stosowany w produkcji wędlin parzonych) wprowadzano trifosforan sodu (Tari-31) na poziomie odpowiadającym średniej zawartości naturalnego fosforu w mięsie chudym [20] oraz dodatkowo ilość fosforu odpowiadającą fosforowi dodawanemu do wędlin, na trzech różnych poziomach: 0, 1,5, 3,0 g P_2O_5 /l. W efekcie całkowita zawartość fosforu w środowisku modelowym kształtowała się, w zależności od wariantu, na poziomie: 1,2, 4,9, 6,4 g P_2O_5 /l. Do 9 ml takiego podłoża wprowadzano azotan(V) sodu (100 mg/l) oraz bakterie *S. carnosus* ATCC-51365 w ilości 10^7 jtk/g. Próbkę inkubowano od 0 do 20 h w temp. 30 °C.

W każdym z wyżej opisanych doświadczeń przed i po inkubacji wykonywano oznaczenia zawartości azotanów(V) i azotanów(III), początkowej liczby bakterii, pH i potencjału redox. Badania wykonano w trzech równoległych powtórzeniach. Warianty kontrolne nie zawierały dodatku bakterii.

W pracy zastosowano następujące metody analityczne: oznaczenie azotanów (III) i (V) zgodnie z PN-EN ISO [11] z modyfikacją [20], oznaczenie liczby bakterii *Staphylococcus carnosus* metodą płytkową, pomiar potencjału redox i pH (aparat Metter Delta 350 z elektrodą InLab Redox Pro i elektrodą szklano-kalomelową do pomiaru pH).

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

Wyniki i dyskusja

Na podstawie badań w układzie modelowym wykazano, że temperatura inkubacji miała wpływ na efektywność redukcji azotanu(V) sodu przez szczep bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365. Badany szczep bakterii denitryfikujących charakteryzuje się stosunkowo szerokim zakresem temperatury (15 - 40 °C), w którym wykazuje aktywność, a tym samym ma zdolność do redukcji azotanów(V). Zastosowane bakterie redukowały azotany(V) do azotanów(III). Obserwowano również redukcję powstałych azotanów(III) (tab. 1).

Redukcja azotanów(V) przez *Staphylococcus* jest procesem metabolicznym i może mieć dwojaki przebieg. Drobnoustroje asymilują azot azotanowy(V) i wykorzystują go do odbudowy białek ustrojowych albo mogą wykorzystywać azotany w procesie oddychania beztlenowego [10, 12]. Redukcja azotanów(V) przez bakterie zachodzi przy udziale enzymu reduktazy azotanowej(V). Natomiast redukcja azotanów(III) związana jest z produkcją enzymu reduktazy azotanowej(III) przez komórki bakterii. Jak podają Neubauer i Gotz [8], reakcja ta zachodzi wyłącznie w beztlenowym lub słabo zaopatrzonym w tlen środowisku, przy jednoczesnym dostępie azotanu (III) lub (V). Ci sami autorzy twierdzą, że prawdopodobne jest wykorzystywanie azotanów (V) i (III) przez *Staphylococcus* jako akceptorów elektronów w łańcuchu oddechowym, co prowadzić może do generowania tlenu azotu. W przeprowadzonym doświadczeniu najwyższy, całkowity stopień redukcji azotanów(V) przez bakterie obserwowano w zakresie temp. od 20 do 40 °C. Po 20 h inkubacji prowadzonej w temp. 30 °C stwierdzono całkowitą redukcję dodanego azotanu(V) i powstałego azotanu(III), co wskazuje, że takie warunki temperaturowe były optymalne do osiągnięcia wysokiej aktywności kultury bakteryjnej.

Tabela 1

Stopień redukcji azotan(V) sodu przez szczep *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w ciągu 20 h, determinowany temperaturą inkubacji.

Reduction degree of sodium nitrate (V) by *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 strain during 20 h of incubation determined by incubation temperature.

Próba Sample		* <i>Staphylococcus</i> c. ATCC-51365 [log jtk/g]		NaNO ₃ [mg/l]		NaNO ₂ [mg/l]		SR NaNO ₃ [%]	pH		redox [mv]	
Nr	T [°C]	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
K0	-	-	-	98,7	1,9	0,0	0,0	0,0	7,50	0,01	363,5	0,7
K20	30	-	-	100,7	1,1	0,0	0,0	0,0	7,50	0,01	363,8	2,7
1	4	6,48	1,00	93,6	1,7	0,0	0,0	5,2	7,51	0,01	370,7	9,6
2	10	6,52	5,18	96,3	0,8	0,0	0,0	2,4	7,50	0,01	359,3	0,5
3	15	7,08	6,75	80,5	2,6	7,8	0,5	18,4	7,45	0,01	355,0	0,5
4	20	8,04	1,00	0,0	0,0	18,7	2,6	100,0	7,26	0,01	300,6	7,5
5	30	8,23	7,51	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	6,19	0,01	152,3	11,2
6	40	8,00	7,15	0,0	0,0	9,8	2,8	100,0	6,08	0,01	232,3	7,0
7	45	3,73	3,26	91,3	1,5	0,0	0,0	7,5	7,42	0,01	247,1	2,5

Objaśnienia: / Explanatory notes:

K0 – próba kontrolna bez dodatku szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 / the control sample without added *S. carnosus* ATCC-51365 strain; K20 – próba kontrolna bez dodatku szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 inkubowana w ciągu 20 h / the control sample without added *S. carnosus* ATCC-51365 strain incubated for 20 h; SR – stopień redukcji NaNO₃ liczony w stosunku do ilości NaNO₃ oznaczonego w próbce K0 / NaNO₃ reduction degree is calculated based on the amount of NaNO₃ determined in a sample K0; T – temperatura inkubacji / temperature of incubation;

* dodatek szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 na poziomie 6,41 log jtk/g przed inkubacją do próbek 1-7 / *S. carnosus* ATCC-51365 strain added to samples 1-7 at a level of 6.41 log CFU/g prior to incubation.

Efektywność redukcji azotanów(V) przez zastosowaną kulturę była zależna od tempa wzrostu i liczby komórek bakterii mierzonej w próbach po inkubacji. Im wyższa była liczba komórek bakterii, tym stopień redukcji azotanów(V) w próbce był większy (tab. 1). Zależność tę stwierdzili również inni badacze, którzy wskazują, że maksymalną syntezę enzymu reduktazy azotanowej(V) przez stafilokoki obserwuje się w okresie wzrostu wykładniczego bakterii [4, 8, 9]. Nie zaobserwowano natomiast znaczącego wzrostu komórek bakteryjnych w próbach inkubowanych w temp. 4 i 10 °C w stosunku do liczby wprowadzonych bakterii przed inkubacją (6,41 log jtk/g). Nie stwierdzono również znaczącej redukcji azotan(V) sodu w zakresie tych temperatur. W próbach inkubowanych w temp. 45 °C nie obserwowano redukcji azotanów(V). Stwierdzono

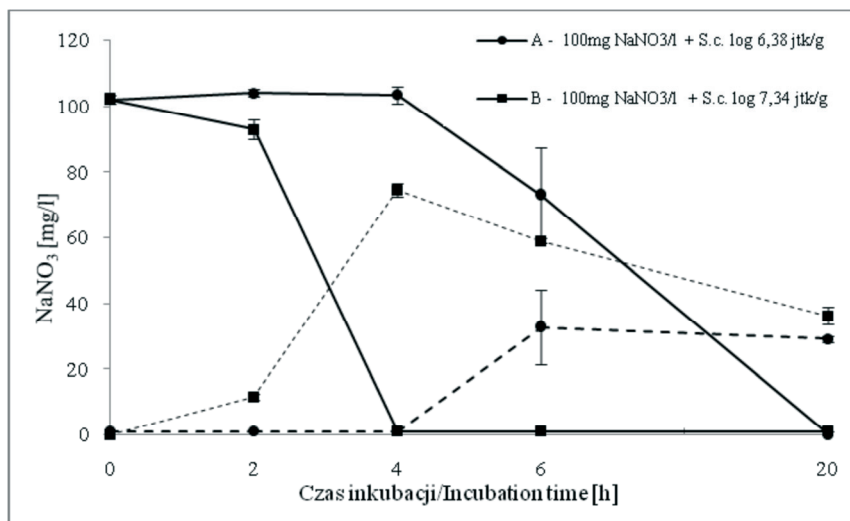
natomiast znaczące obniżenie liczby bakterii po 20 h inkubacji do 3,73 log jtk/g, co wskazuje na destrukcyjne działanie temperatury na komórki bakterii (tab. 1).

W pracy badano również zmiany pH i potencjału redox w próbach inkubowanych w poszczególnych temperaturach. Zaobserwowano wzrost stopnia kwasowości podłoża w czasie namnażania się bakterii, co może wskazywać, że bakterie fermentują glukozę w nim zawartą do kwasu mlekowego. Najniższą wartość pH stwierdzono w próbach inkubowanych w temp. 30 i 40 °C, w których równocześnie obserwowano całkowitą redukcję dodanego azotanu(V). Zaobserwowane obniżanie pH środowiska modelowego w okresie namnażania się bakterii może ograniczyć praktyczne zastosowanie badanego szczepu do produkcji wędlin parzonych. Należy zwrócić uwagę, że potencjalny wzrost kwasowości farszu mięsnego, spowodowany aktywnością wprowadzonych komórek bakterii, może naruszać naturalne limity pojemności buforowej mięsa, co w konsekwencji spowoduje zmniejszenie jego wodochłonności. Ma to szczególne znaczenie w przypadku wytwarzania kiełbas wysoko wydajnych. Istnieje potrzeba zweryfikowania tej tezy, przeprowadzając badania w układzie mięsno-tłuszczowym, gdyż aktywność metaboliczna badanych bakterii denitryfikujących może być różna w płynnym podłożu białkowym i w środowisku mięsnym.

Taką samą tendencję stwierdzono w przypadku zmian potencjału oksydacyjno-redukcyjnego. Wraz ze wzrostem liczby bakterii i stopnia redukcji dodanych azotanów(V) obserwowano obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego. układu modelowego. Prawdopodobnie ma to związek z aktywnością enzymatyczną bakterii podczas ich namnażania. Przypuszczać można, że możliwe obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego farszu mięsnego, spowodowane aktywnością wprowadzonych bakterii, będzie miało swój udział w intensyfikacji procesów barwotwórczych zachodzących podczas peklowania mięsa.

Przeprowadzone badania w układzie modelowym wykazały, że liczba komórek dodanego szczepu i czas inkubacji miały istotny wpływ ($p \leq 0,05$) na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez szczep *S. carnosus* ATCC-51365. Na podstawie analizy statystycznej wykazano, że w próbkach, w których zastosowano większy dodatek kultury bakteryjnej (10^7 jtk/g) istotnie zmniejsza się zawartość azotanu(V) sodu po 2, 4 i 6 h inkubacji ($p \leq 0,05$). Po 20 h inkubacji w próbkach z początkową liczbą bakterii na poziomie 10^6 i 10^7 jtk/g stwierdzono całkowitą redukcję dodanego azotanu(V) sodu (rys. 1). Jak wynika z krzywych opisujących przemiany azotanów(V) w próbkach, w poszczególnych godzinach inkubacji czas istotnie wpłynął na szybkość redukcji azotanów(V) i powstałych azotanów(III), co związane jest najprawdopodobniej z procesem produkcji enzymów przez komórki bakterii. Na podstawie zmian zawartości azotanów (V) i (III) w czasie można stwierdzić, że efektywność działania kultury bakteryjnej była większa w stosunku do azotanów(V) niż do azotanów(III) (rys. 1). Po-

twierdzą to badania Götterupa i wsp. [4], którzy badali zależność pomiędzy azotanem(V) i azotanem(III) a aktywnością reduktazy różnych szczepów *Staphylococcus*.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

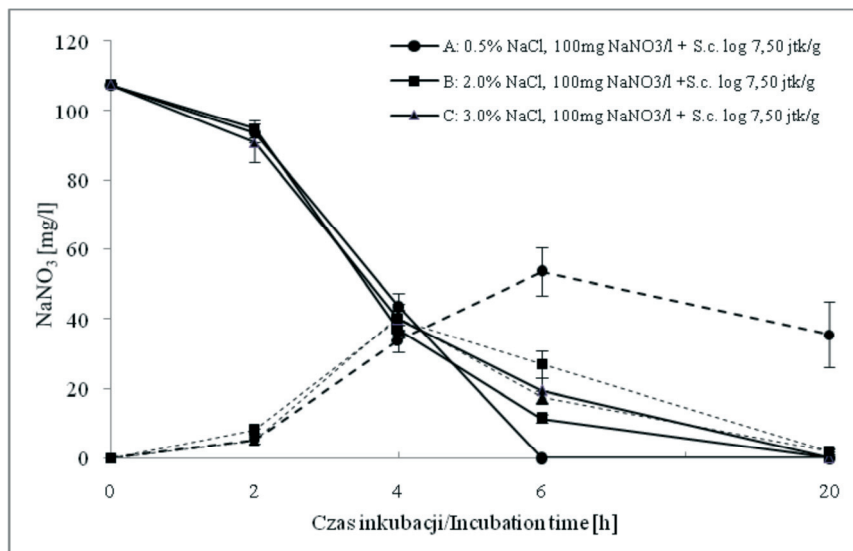
Linie przerywane na wykresie obrazują zmiany zawartości azotanów(III) (wyrażone jako NaNO₂) powstałych ze zredukowanego azotanu(V) sodu przez bakterie / The dashed lines on the graph represent changes in the content of nitrates (III) (calculated as NaNO₂) produced from the reduced nitrate (V) by bacteria.

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

Rys. 1. Wpływ czasu inkubacji i początkowej liczby bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 na szybkość redukcji azotanu(V) sodu w temp. 30 °C.

Fig. 1. Effect of incubation time and initial number of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 bacteria on reduction rate of nitrate (V) at a temperature of 30 °C.

Badania w układzie modelowym wskazują, że chlorek sodu działał hamująco na komórki bakterii badanego szczepu i wpłynął istotnie na obniżenie szybkości redukcji azotanów(V). Średnia zawartość azotanu(V) sodu w próbkach po 6 h inkubacji w temp. 30 °C, była istotnie zróżnicowana w zależności od zawartości chlorku sodu w podłożu ($p \leq 0,05$). Największą średnią zawartość azotanu(V) sodu (19,4 mg/l) oznaczono w próbkach, w których zawartość chlorku sodu w podłożu była na poziomie 3,0 %, natomiast w wariancie, który zawierał najmniej chlorku sodu (0,5 %), nie wykryto azotanu(V) sodu. W wariancie, który zawierał 2,0 % chlorku sodu oznaczono azotan(V) sodu na średnim poziomie – 11,3 mg/l. W próbkach inkubowanych przez 2, 4 i 20 h nie stwierdzono istotnego wpływu zawartości chlorku sodu na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez zastosowaną kulturę bakteryjną.



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

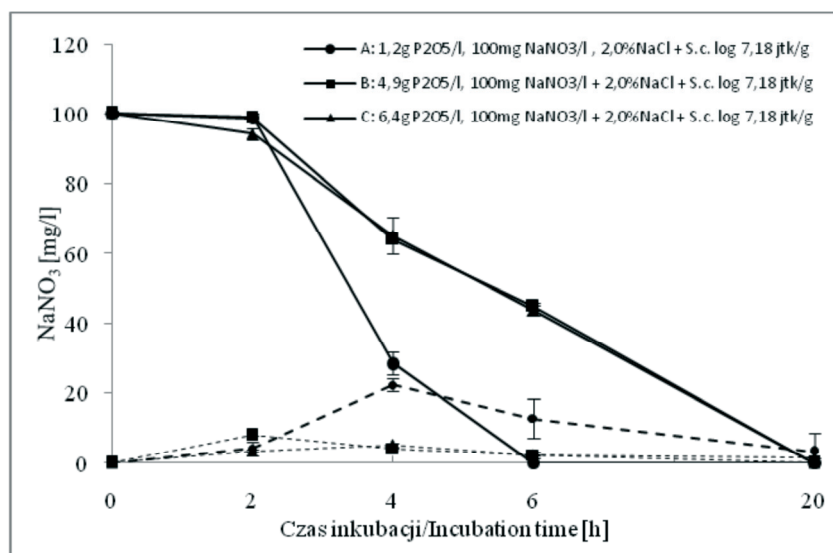
Rys. 2. Wpływ stężenia chlorku sodu na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 podczas inkubacji w temp. 30 °C.

Fig. 2. Effect of sodium chloride concentration on reduction rate of nitrate (V) by *Staphylococcus carnosus* ATCC-51 365 during incubation at a temperature of 30 °C.

Negatywny wpływ chlorku sodu na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez badany szczep może wynikać z hamującego działania tej substancji na komórki bakterii w zastosowanym układzie modelowym. Pomiar liczby bakterii dodanego szczepu w wariantach doświadczalnych, w poszczególnych godzinach inkubacji, wykazał, że średnia liczba komórek bakteryjnych była niższa w wariantach zawierających 2,0 i 3,0 % chlorku sodu niż w próbkach o zawartości 0,5 % NaCl, po 2 i 4 h inkubacji. Średnia liczba komórek bakterii w próbkach zawierających 3,0 % chlorku sodu po 2 i 4 h inkubacji wyniosła kolejno 7,52 log i 7,93 log jtk/g, w próbkach zawierających 2,0 % chlorku sodu – 7,53 log i 7,93 log jtk/g, natomiast w próbkach zawierających 0,5 % chlorku sodu po 2 i 4 h inkubacji oznaczono średnio 8,58 log i 8,08 log jtk/g. We wszystkich badanych próbkach, po 6 i 20 h inkubacji, liczba komórek badanego szczepu kształtowała się na zbliżonym poziomie – 10^8 jtk/g.

Wiadomo, że *Staphylococcus* charakteryzują się wysoką odpornością na sól. Interpretując otrzymane wyniki, należy wziąć pod uwagę, że zastosowany w przeprowadzonych badaniach układ modelowy, zawierał, oprócz soli kuchennej, azotan(V) sodu i azotan(III) powstały w wyniku jego redukcji. Tak więc wysoce prawdopodobne jest, że substancje te, działając synergistycznie, wpływały hamująco na komórki bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC 51365.

Przeprowadzone badania w układzie modelowym wykazały negatywny wpływ wielofosforanów na szybkość redukcji azotanu(V) sodu, co przypuszczalnie spowodowane było ich hamującym działaniem na wzrost bakterii denitryfikujących. W wariantach doświadczalnych, w których zastosowano wyższe dawki wielofosforanów (4,9 i 6,4 g P_2O_5/l) obserwowano, że liczba bakterii po 6 h inkubacji była mniejsza średnio o jeden cykl logarytmiczny od tych, w których fosforan był na poziomie 1,2 P_2O_5 g/l. Stwierdzono, że średnia zawartość azotanu(V) sodu w próbkach inkubowanych przez 4 i 6 h w temp. 30 °C była mniejsza w wariantcie, w którym poziom fosforanów był najmniejszy (1,2 P_2O_5 g/l) w porównaniu z próbkami, w których średnia zawartość fosforanów była na wyższym poziomie (4,9 i 6,4 g P_2O_5/l). Analiza statystyczna wykazała istotność tych różnic przy $p \leq 0,05$. Po 2 i 20 h inkubacji zawartość azotanu(V) sodu była we wszystkich próbach na zbliżonym poziomie.



Objaśnienia jak na rys 1. i 2. / Explanatory notes as in Fig. 1. and Fig. 2.

Rys. 3. Wpływ stężenia wielofosforanów na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 podczas inkubacji w temp. 30 °C.

Fig. 3. Effect of concentration of multi-phosphates on reduction rate of nitrate (V) by *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 during incubation at a temperature of 30 °C.

Znane jest działanie bakteriostatyczne wielofosforanów, szczególnie w stosunku do bakterii Gram-dodatnich [7], do grupy której zalicza się stosowany w pracy szczep bakterii denitryfikujących. Uważa się, że wielofosforany tworzą trwałe, nierozpuszczalne kompleksy z kationami dwuwartościowymi, które nie są przyswajane przez bakterie. Jest to działanie bakteriostatyczne, polegające nie na efekcie toksycznym,

leczyć na rywalizacji o składnik pożywki [7]. Zastosowany w pracy układ modelowy miał na celu stworzenie takich warunków środowiskowych, które m.in. pod względem ilości fosforu byłyby najbardziej zbliżone do środowiska mięsnego. Brakujący w podłożu białkowym fosfor uzupełniono trifosforanem sodu (preparat Tari P 31) ze względu na jego dobrą rozpuszczalność w roztworach wodnych i powszechnie zastosowane w przemyśle mięsnym. Fosfor jest pierwiastkiem naturalnie występującym w mięsie, wchodzi m.in. w skład białek i nukleotydów [6, 19]. Zważywszy na formy, w jakich fosfor naturalnie występuje w mięsie, przypuszczać można, że w farszu mięsnym jego wpływ na komórki bakterii będzie mniej hamujący niż ten zaobserwowany w układzie modelowym. Polifosforan, który stosowany jest powszechnie przy produkcji wędlin parzonych, może również wykazywać słabsze działanie hamujące na komórki bakterii, głównie z powodu reagowania ze składnikami mięsa [7].

Tak jak w przypadku pierwszego eksperymentu, w pozostałych badaniach w układzie modelowym obserwowano tendencję polegającą na tym, że wraz ze wzrostem aktywności bakterii następował wzrost kwasowości podłoża i obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska.

Wnioski

1. Szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 charakteryzuje się aktywnością w stosunkowo szerokim zakresie temperatury (15 - 40 °C), w którym jest zdolny przeprowadzać redukcję azotanów (V) i (III).
2. Chlorek sodu i wielofosforany działają hamująco na wzrost i aktywność bakterii szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 i wpływają istotnie na obniżenie szybkości redukcji azotanów (V) i (III). Szybkość działania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) wydaje się wystarczająca przy zastosowaniu odpowiednio wysokiej liczby komórek bakterii (10^7 jtk/g).
3. Szczep bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 charakteryzuje się takimi właściwościami biochemicznymi, które wskazują na możliwość zastosowania go w procesie peklowania mięsa azotanem(III). Praktyczne zastosowanie bakterii denitryfikujących w produkcji wędlin parzonych wymaga przeprowadzenia dalszych badań m.in. w zakresie wpływu zastosowania bakterii na cechy jakościowe (trwałość barwy) i zdrowotność (pozostałość resztkowych azotanów (V) i (III)) produktu gotowego.

Badania są realizowane 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] Arneth W.: Chemische Grundlagen der Umrötung. Fleischwirtschaft, 1998, **8**, 868-874.
- [2] Cassens R.G., Ito I., Lee M., Buege D.: The use of nitrite in meat. Biosci., 1978, **28 (10)**, 633-637.
- [3] Cassens R.G.: Use of sodium nitrite in cured meats today. Food Technol., 1995, **49 (7)**, 72-80.
- [4] 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. Inter. J. Food Microbiol., 2007, **120**, 303-310.
- [5] Prost E.: Higiena mięsa. Wyd. II. PWRiL, Warszawa 1985, ss. 192-193.
- [6] Honikel K.O.: The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Sci., 2008, **78**, 68-76.
- [7] Kitzman P., Tyszkiewicz I.: Przeprowadzenie prac rozwojowych w zakresie stosowania obniżonych dawek azotynów. Centralny Program Badawczo-Rozwojowy Nr. 10.7 IPMiT, 1990, ss. 27-55.
- [8] Neubauer H., Götz F.: Physiology and interaction of nitrate and nitrite reduction in *Staphylococcus carnosus*. J. Bacteriol., 1996, **178**, 2005-2009.
- [9] 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.
- [10] Pluta A., Zmarlicki S., Gawel J., Ostrowski S.: Zawartość azotanów i azotynów w dojrzewających serach krajowych. Przem. Spoż., 1998, **7-9**, 166-167.
- [11] PN-EN ISO 12014:2006. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości azotanów i/lub azotynów.
- [12] Przybyłowski P.: Występowanie i przemiany azotanów w produktach spożywczych. Przegl. Mlecz., 1984, **8**, 10-12
- [13] Technologia produkcji wędlin. Kiełbasy surowe. Słowiński M., Jankiewicz L. Mięso i Wędliny, Polskie Wydawnictwo Fachowe, Warszawa 2004.
- [14] Słowiński, M.: Czynniki wpływające na efektywność peklowania mięsa. Mięso i Wędliny, 2006, **7**, 29-31.
- [15] Słowiński M.: Peklowanie mięsa – technologia, korzyści i zagrożenia. Mięso i Wędliny, 1997, **7**, 34-37.
- [16] 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.
- [17] 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. Inter. J. Food Microbiol., 1999, **52**, 47-56.
- [18] W. Pezacki (Red.): Technologia mięsa. WNT, Warszawa 1981, ss. 125-126.
- [19] Tyszkiewicz T., Wawrzyniewicz M., Borys A.: Factors influencing physiological phosphorus content in pork meat. Acta Agrophysica 2011, **17 (2)**, 387-393.
- [20] Siu D., Henshall A.: Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products. J. Chromatography, 1998, **804**, 156-160.

**EVALUATION OF POSSIBILITY TO USE *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS*
ATCC-51365 BACTERIAL STRAIN IN MEAT CURING PROCESS**

S u m m a r y

The objective of the research study was to study the effect of some selected conditions and the effect of additives used in the production of meat batters on the activity of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 denitrifying bacteria, as well as to determine the potential possibility of applying the strain discussed to improve the effectiveness of meat curing process by nitrates (III). The study was conducted in a model system that was a TBS liquid protein medium. It was found that the strain of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 denitrifying bacteria exhibited activity in a broad range of temperatures (15 - 40°C) and was capable of carrying out the reduction of nitrates (V) and (III). Sodium chloride and polyphosphates have an inhibiting effect on the growth and bacterial activities of the strain studied, and significantly impact the decrease in the reduction rate of nitrates (V) and (III). With the application of a sufficiently high number of bacterial cells (10^7 cells /g), the activity rate of the *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 strain in reducing nitrates seems to be sufficient. The *Staphylococcus carnosus* ATCC - 51365 bacterial strain is characterized by biochemical properties that suggest the possibility of applying this strain in the process of curing meat using a nitrate (III). The practical application of the denitrifying bacteria to manufacture cured meat products requires further analyses, among other things, an analysis of the effect of bacteria on the colour stability and healthiness (in terms of residues of nitrates (V) and nitrites (III)) of the final product.

Key words: meat, curing, denitrifying bacteria ☒