

ЗНИЖЕННЯ ВМІСТУ НІТРИТУ НАТРІЮ У ВАРЕНИХ КОВБАСАХ ЗА ДОПОМОГОЮ ДЕНІТРИФІКУЮЧИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Л. В. Баль-Прилипко
Б. І. Леонова

Національний університет біоресурсів
і природокористування України, Київ

E-mail: webmed89@mail.ru

Отримано 05.05.2015

Метою роботи було зниження вмісту нітриту натрію у варених ковбасах за допомогою внесення оптимізованої кількості денітрифікуючих мікроорганізмів у складі бактеріального препарату зі збереженням якісних характеристик продукту. Для розроблення біотехнології варених ковбас «Натурель» обрано бакпрепарат на основі нітритредукуючих штамів *Staphylococcus carnosus* і *S. carnosus* ssp. *utilis*. Застосовували загальноприйняті та спеціальні методи досліджень. Вміст загальних пігментів і нітрозопігментів визначали методом, заснованим на екстрагуванні пігментів м'ясопродуктів водним розчином ацетону; стійкість кольору готових виробів оцінювали за різницею оптичної щільності екстрактів нітрозопігментів до і після експозиції (40 хв) зразка під джерелом світла; аналітичну обробку дослідних даних проводили із застосуванням сучасного програмного забезпечення; кількісну оцінку колірних характеристик — у системі RGB з використанням багатофункціонального приладу Epson Stylus TX400. Математичне моделювання здійснювали на основі повного факторного експерименту типу 2^2 , оптимізацію — методом Бокса-Уілсона.

Згідно з отриманими даними застосування бактеріального препарату на основі нітритредукуючих штамів *Staphylococcus carnosus* і *S. carnosus* ssp. *utilis* у біотехнології варених ковбас «Натурель» позитивно впливає на формування комплексу необхідних колірних характеристик готових виробів (дослідні зразки ковбас характеризувалися збільшенням в 1,61 раза індексом червоності порівняно з контролем), інтенсифікує процеси розпаду нітриту натрію та утворення нітрозопігментів, що підвищує стабільність колірних характеристик під час зберігання (стійкість забарвлення дослідних варених ковбас перевищувала контрольні на 19%). Результати проведених досліджень із застосуванням біотехнологічних прийомів ілюструють можливість виробництва варених ковбас із мінімізованих вмістом синтетичних харчових добавок та інгредієнтів.

Ключові слова: варені ковбаси, нітрит натрію, денітрифікуючі мікроорганізми.

Сучасна харчова індустрія характеризується стрімкими темпами розвитку [1, 2]. Щороку з'являються інноваційні технологічні рішення, формуються нові напрями і тренди. В останні роки на тлі сучасних світових підходів до створення здорового харчування гостро постала проблема застосування нітритів у виробництві ковбасних виробів, яка ускладнюється їхньою поліфункціональністю. З одного боку, нітрити справляють позитивний вплив на колір, смак, аромат та стійкість під час зберігання м'ясних продуктів, а з іншого — можуть бути попередниками утворення сильних канцерогенів — нітрозамінів [3]. Наявність вільного нітриту натрію у виробках із м'яса становить деяку небезпеку для здоров'я людини, оскільки нітрити належать до токсичних речовин. Тому питання про можливі шляхи зниження вмісту

нітриту натрію у м'ясних виробках має велике практичне значення. Відсутність на цей час речовин, здатних функціонально замінити нітрит натрію, не дає змоги виключити його з рецептур і потребує проведення робіт з пошуку методів зниження його концентрації у готовій продукції [4, 5].

Матеріали і методи

У ході виконання досліджень застосовували загальноприйняті та спеціальні методи. Аналітичну обробку дослідних даних проводили із застосуванням програмного забезпечення та комп'ютерних технологій. Математичне моделювання здійснювали на основі повного факторного експерименту (ПФЕ) типу 2^2 , оптимізацію кількості внесення бакпрепарату та нітриту натрію до складу

рецептур варених ковбас — методом Бокса–Вілсона. Оброблення отриманих експериментальних даних здійснювали методами математичної статистики за допомогою спеціалізованих пакетів програм Microsoft Office (Excel) та StatSoft STATISTICA 6.1.478 Russian, Enterprise Single User. Коди кольору (координати, що відповідають основним кольорам: червоному, зеленому і синьому) визначали, застосовуючи програмний пакет Adobe Photoshop CS6. Отримані координати кольору системи RGB використовували для розрахунку координат L^* , a^* , b^* (інтенсивність кольору, червоність, насиченість кольору) у міжнародній калориметричній системі CIE. На основі цих значень розраховували колірний тон H (індекс червоності — Redness index), насиченість кольору Chroma C (рівень кольоровості зразка відносно яскравості абсолютно білого об'єкта) за формулами:

$$H = \frac{a}{b}, \quad (1)$$

$$C = a^2 + b^2, \quad (2)$$

де a — координати червоності; b — координати насиченості кольору.

Контрольні та дослідні зразки варених ковбас зберігали в аеробних умовах, при $t = 0-4$ °C, під дією джерела штучного освітлення. Кількість нітрозопігментів визначали екстрагуванням водним розчином ацетону; стійкість кольору — за різницею оптичної щільності екстрактів нітрозопігментів до і після експозиції під джерелом світла.

Результати та обговорення

Схема повнофакторного експерименту передбачала одночасне варіювання всіх досліджуваних факторів у межах двох рівнів: верхнього (Max), що має максимальне значення розглянутого фактора, і нижнього (Min) — мінімальне значення. Інтервали зміни факторів в експерименті подано в табл. 1. Попередньо проведені дослідження та масштабний аналітичний пошук дали змогу визначити діапазон варіювання вхідних параметрів: кількість внесеного нітриту натрію (x_1) змінювали в діапазоні від 2,5 г/100 кг до 7,5 г/100 кг, дозування бактеріального нітритредуючого препарату (x_2) — у межах від 10 г/100 кг до 30 г/100 кг. Критеріями оптимізації (функцій відгуку), що характеризують ефективність використання нітриту в реакції кольороутворення м'ясних продуктів, було обрано: кількість нітрозопігментів (y_1), залишковий вміст нітриту натрію у продукті (y_2), стійкість кольору (y_3).

При цьому було задано сталі (зафіксовані) параметри технологічного процесу, які істотно впливають на розвиток реакцій кольороутворення: температура у камері та час осадки батонів $t = 12$ °C, $\tau = 6$ год. У результаті реалізації двофакторного експерименту отримано адекватні математичні моделі для y_1 , y_2 , y_3 в натуральному (1–3) вигляді. Розрахункові значення критеріїв Фішера і Кохрена є нижчими за критичні 2,77 і 0,48 відповідно, отримані експериментальні дані функції відгуку відтворювані:

$$y_1 = 9,75 + 26,42 x_1 - 2,13 x_1^2 + 0,77 x_2 - 0,02 x_2^2 + 0,05 x_1 \cdot x_2; \quad (1)$$

$$y_2 = 0,46 + 0,6 x_1 + 0,010 x_1^2 - 0,1 x_2 + 0,003 x_2^2 - 0,028 x_1 \cdot x_2; \quad (2)$$

$$y_3 = 14,32 + 12,512 x_1 - 1,12 x_1^2 + 2,61 x_2 - 0,06 x_2^2 + 0,1 x_1 \cdot x_2. \quad (3)$$

Таблиця 1. Параметри повного факторного експерименту типу 2^2

Рівні варіювання	Стандартний масштаб	Кодовані параметри (натуральний масштаб)	
		Кількість нітриту натрію (x_1), г/100 кг	Кількість нітритредуючого бакпрепарату (x_2), г/100 кг
Основний	0	5	20
Верхній	+1	7,5	30
Нижній	-1	2,5	10

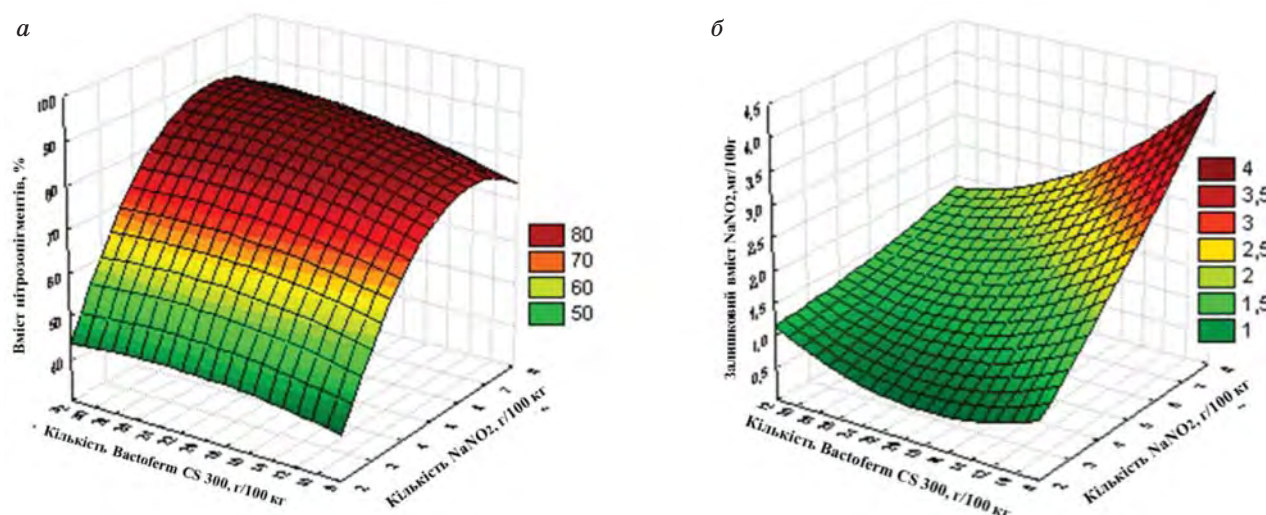


Рис. 1. Поверхні відгуку залежності вмісту: нітрозопігментів (а) та залишкового нітриту натрію (б) у варених ковбасах від дозування нітриту натрію та бакпрепарату на основі нітритредукуючого штаму *S. carnosus ssp. utilis* (ПФЕ типу 2², StatSoft STATISTICA 6.1.478 Russian, Enterprise Single User)

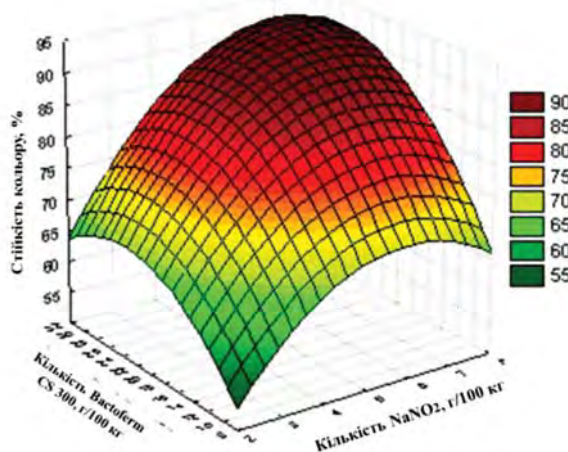


Рис. 2. Поверхня відгуку залежності стійкості кольору варених ковбас від дозування нітриту натрію та бакпрепарату на основі нітритредукуючого штаму *S. carnosus ssp. utilis* (ПФЕ типу 2², StatSoft STATISTICA 6.1.478 Russian, Enterprise Single User)

У наведених вище рівняннях враховано всі можливі комбінації взаємодії факторів. Абсолютна величина кожного коефіцієнта регресії є кількісною мірою впливу кожного з факторів на вихідний параметр (функцію відгуку). Аналіз поверхонь відгуку на рис. 1, 2 щодо взаємодії факторів показує, що нижній рівень x_1 , який становить 33,3% від традиційної дози NaNO_2 (2,5 г/100 кг) за будь-якого значення x_2 , є недостатнім для отримання стабільного кольору (y_3) продукту, оскільки нітрозопігментів (y_1) накопичується не більше 53,1% від загального вмісту пігментів. На основі математичних моделей оптимізовано дозування нітриту натрію та бакпрепарату на основі нітритредукуючого штаму

S. carnosus ssp. utilis залежно від найбільш значущого з погляду технології варених ковбас фактора — стійкості кольору (y_3), а також знайдено значення функцій відгуку для y_1 , y_2 за оптимальних x_1 , x_2 .

Оптимальні значення умов даного експерименту, отримані методом Бокса–Вілсона, мають такі фізичні величини:

- кількість NaNO_2 — 5 г/100 кг;
- кількість нітритредукуючого бакпрепарату — 25 г/100 кг.

Експериментальна перевірка розрахункових оптимальних значень факторів дала змогу підтвердити факт ефективності цих дозувань. Знижена кількість залишкового нітриту ($y_2 = 1,29$ мг/100 г) за високого вмісту

нітрозопігментів ($y_1 = 83,13\%$) та найбільш стійкого забарвлення ($y_3 = 89,19\%$) міститься у зразках у разі внесення $5 \text{ г/100 кг NaNO}_2$ (x_1) та бактеріального препарату на основі нітритредукуючого штаму *S. carnosus* ssp. *utilis* (x_2) у кількості 25 г/100 кг .

У результаті обробки експериментальних даних реалізації повнофакторного експерименту, з погляду формування найкращих колірних характеристик, обґрунтовано можливість зниження дозування нітриту натрію, за одночасного додавання оптимізованої кількості нітритредукуючого бакпрепарату. Відповідно до отриманих даних щодо можливості зниження кількості нітриту натрію у складі рецептур варених ковбас наступним етапом було оцінювання колірних характеристик та вмісту нітрозопігментів у готовій продукції. У зв'язку з тим, що візуальна оцінка кольору є суб'єктивною, практичне значення мають інструментальні дослідження колірних характеристик зразків варених ковбас. Результати подано в табл. 2.

Дослідні зразки варених ковбас характеризуються поліпшеними колірними характеристиками порівняно з контрольними, оскільки у дослідних зразках варених ковбас спостерігалось більш інтенсивне, насичене, червоне забарвлення. Така різниця між якісними властивостями зразків зумовлена, ймовірно, тим, що процес формування кольору (перетворення нітриту натрію на оксид азоту) залежить не лише від концентрації нітриту, але й значною мірою від рН і Eh середовища. Реакції відбуваються повніше за нижчої величини рН, тому для створення відновлювальних умов у контрольні зразки додавали ізоаскорбат натрію, що значно погіршує екологічність готового продукту. Однак використання хімічних добавок не забезпечило створення «ідеальних» умов (рН, Eh) для кольороутворення контрольних зразків, оскільки зрушення активної кислотності у бік кислих значень ($5,0-5,5$) є неприйнятним для

технології варених ковбас унаслідок пропорційного зниження водозв'язувальної здатності (ВЗЗ). У дослідних зразках кольороутворення відбувається за рахунок мікробного відновлення нітриту нітритредуктазою, яку продукує *S. carnosus*. Цей процес не залежить від кислотності середовища. Інтенсивність і характер забарвлення ковбас визначаються також наявністю і кількісним співвідношенням різних форм міоглобіну. Тому для адекватної оцінки забарвлення готових м'ясних продуктів важливим показником є значення індексу червоності (Н), який кількісно характеризує стан м'язового пігменту міоглобіну. Індекс червоності дослідного зразка перевищує аналогічний показник контрольного на 61% . Виявлена тенденція означає, що колір дослідних зразків зумовлений наявністю відновлених форм міоглобіну M_6 та M_6O_2 , зменшення значення Н свідчить про появу окиснених форм пігменту — MM_6 . Розрахунково-експериментальні значення колірних характеристик зразків варених ковбас узгоджуються з даними подальших досліджень щодо вмісту нітрозопігментів та стійкості забарвлення. Актуальним напрямом є визначення зміни колірних характеристик м'ясних продуктів під час зберігання. Цей процес є важливим унаслідок того, що м'ясні вироби експонують у вітринах-холодильниках, де пігменти зазнають впливу сильних окисників світла і повітря. Тому в деяких випадках продукт, навіть якщо він є мікробіологічно безпечним, втрачає товарний вигляд і відповідно є неприйнятним для споживачів за сенсорним сприйняттям забарвлення. Стан гемових пігментів під час зберігання м'ясних продуктів якнайглибше характеризує кількість нітрозопігментів та стійкість кольору. Результати досліджень динаміки зміни кількості нітрозопігментів та стійкості кольору контрольних та дослідних зразків варених ковбас під час зберігання наведено на рис. 3.

Таблиця 2. Аналіз колірних характеристик контрольних та дослідних зразків варених ковбас

Показник	Контроль	Дослід
Інтенсивність кольору (L)	107,58	113,11*
Червоність (a)	4,4	6,2*
Rednex index або індекс червоності (H)	0,458	0,738*
Насиченість кольору (C)	111	109

Примітка: кількісне оцінювання колірних характеристик проводили в системі RGB на Epson Stylus TX400; тут і далі * — $P \leq 0,05$.

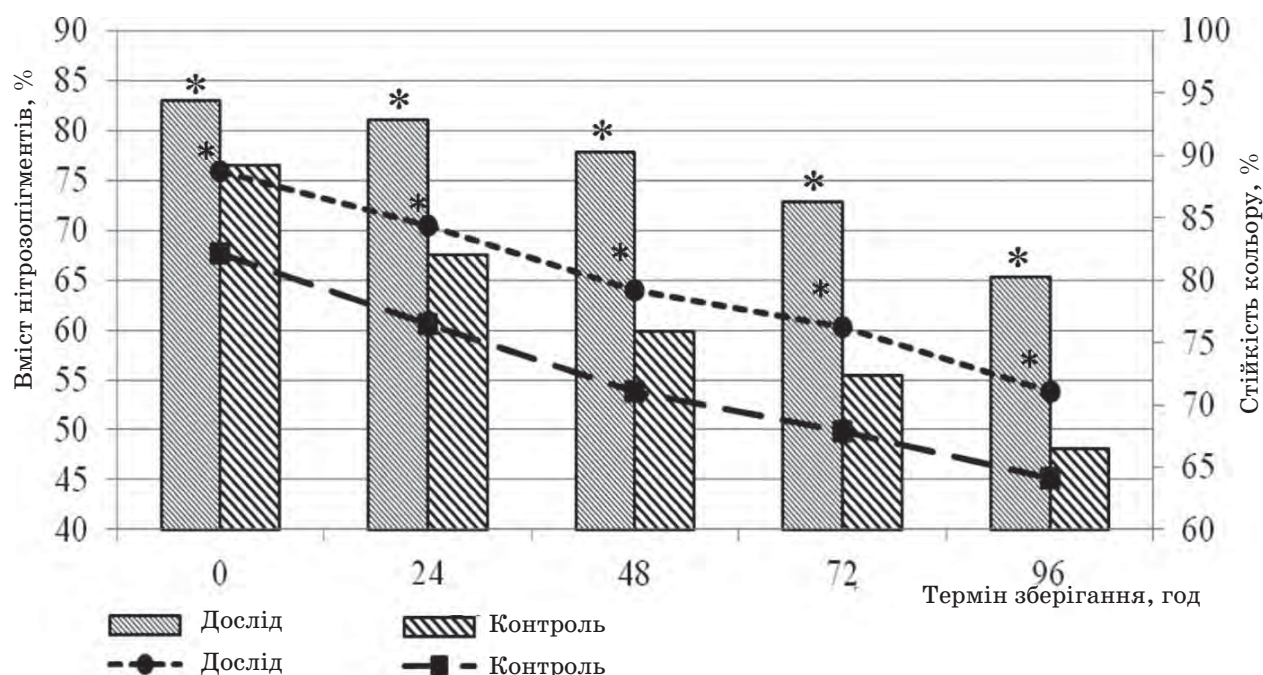


Рис. 3. Динаміка зміни кількості нітрозопігментів і стійкості кольору контрольних та дослідних зразків варених ковбас під час зберігання

Оскільки стійкість забарвлення ковбасних виробів залежить від вмісту нітрозопігментів, динаміка їх зміни має загальний характер. Дослідні зразки варених ковбас характеризувалися стійкішим кольором упродовж усього періоду досліджень порівняно з контролем. Через 96 год зберігання стійкість забарвлення дослідних варених ковбас перевищувала контрольні приблизно на 19%.

Таким чином, на основі експериментальних даних обґрунтовано можливість зниження дозування нітриту натрію (до

5 г/100 кг) за одночасного додавання оптимізованої кількості (25 г/100 кг) бакпрепарату на основі нітритредукуючого штаму *S. carnosus* ssp. *utilis* без погіршення колірних характеристик готових виробів. Застосування бактеріального препарату позитивно впливає на формування комплексу необхідних колірних характеристик готового продукту, інтенсифікує процеси розпаду нітриту натрію та утворення нітрозопігментів, підвищує стабільність кольору під час зберігання і зменшує ризик потрапляння залишкового нітриту натрію в організм людини.

REFERENCES

1. Mashenceva N. G., Horol'skij V. V. Functional starter cultures in the meat industry. *Moskva: DeLi print*. 2008, 336 p. (In Russian).
2. De Vuyst L., Leroy F. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *Luc. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2007, V. 13, P. 194–199.
3. Laptev I. A., Mashenceva N. G., Horol'skij V. V., Semenysheva A. I. i dr. High quality meat products without residual sodium nitrite. *Myasnaya industriya*. 2007, N 12, P. 25–28. (In Russian).
4. Nefedova N. V., Artamonova M. P., Pomiklov A. N. Study of the functional properties of sausages with starter cultures. *Myasnaya industriya*. 2003, N 11, P. 48–49. (In Russian).
5. Hamagaeva I. S., Hamaganova I. V., Darbakova N. V., Zambalova N. A. Effect of propionic acid bacteria culture fluid on the formation of the quality of cooked sausages. *Vse o myase*. 2011, N 5, P. 37–39. (In Russian).

СНИЖЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НИТРИТА НАТРИЯ В ВАРЕННЫХ КОЛБАСАХ С ПОМОЩЬЮ ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Л. В. Баль-Прилипко, Б. И. Леонова

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев

E-mail: webmed89@mail.ru

Целью работы было снижение содержания нитрита натрия в вареных колбасах с помощью внесения оптимизированного количества денитрифицирующих микроорганизмов в составе бактериального препарата с сохранением качественных характеристик продукта. Для разработки биотехнологии вареных колбас «Натурэль» выбран бакпрепарат на основе нитритредуцирующих штаммов *Staphylococcus carnosus* и *S. carnosus* ssp. *utilis*. Применяли общепринятые и специальные методы исследований. Содержание общих пигментов и нитрозопигментов определяли методом, основанным на экстрагировании пигментов мясopодуктов водным раствором ацетона; устойчивость цвета готовых изделий оценивали по разнице оптической плотности экстрактов нитрозопигментов до и после экспозиции (40 мин) образца под источником света; аналитическую обработку опытных данных проводили с применением современного программного обеспечения; количественную оценку цветовых характеристик — в системе RGB с использованием многофункционального прибора Epson Stylus TX400. Математическое моделирование осуществляли на основе полного факторного эксперимента типа 2^2 , оптимизацию проводили методом Бокса–Уилсона.

Согласно полученным данным применение бактериального препарата на основе нитритредуцирующих штаммов *Staphylococcus carnosus* и *S. carnosus* ssp. *utilis* в биотехнологии вареных колбас «Натурэль» положительно влияет на формирование комплекса необходимых цветовых характеристик готовых изделий (опытные образцы колбас характеризовались увеличенным в 1,61 раза индексом красноты по сравнению с контролем), интенсифицирует процессы распада нитрита натрия и образования нитрозопигментов, что повышает стабильность цветовых характеристик при хранении (устойчивость окраски опытных вареных колбас превышала контрольные на 19%). Результаты проведенных исследований с применением биотехнологических приемов иллюстрируют возможность производства вареных колбас с минимизированным содержанием синтетических пищевых добавок и ингредиентов.

Ключевые слова: вареные колбасы, нитрит натрия, денитрифицирующие микроорганизмы.

DECREASING OF SODIUM NITRITE CONTENT IN COOKED SAUSAGES USING DENITRIFYING MICROORGANISMS

L. V. Bal-Prylypko, B. I. Leonova

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

E-mail: webmed89@mail.ru

The purpose of this work was to study reduction of sodium nitrite in cooked sausages by adding of the optimized amount of denitrifying microorganisms to the bacterial preparation maintaining quality characteristics of the product. To develop biotechnology of boiled sausages «Naturel» we selected bacterial preparation based on nitrite-reducing strains of *Staphylococcus carnosus* and *S. carnosus* ssp. *utilis*. It was used generally accepted and special methods. The content of total pigments and nitrozopigments was determined by a method based on the extraction of meat pigments by aqueous acetone; color stability of final products was evaluated as the difference in optical density of nitroso pigment extracts before and after exposure (40 min) of the sample under the light source; analytical processing of the experimental data was carried out using modern software; quantitative evaluation of color characteristics was performed in the RGB using a multifunctional device Epson Stylus TX400. Mathematical modeling was carried out on the basis of full factorial experiment such as 2^2 , the optimization was performed by Box–Wilson.

According to the study, using of the bacterial preparation based on nitrite-reducing strains of *Staphylococcus carnosus* and *S. carnosus* ssp. *utilis* in biotechnology of boiled sausages «Naturel» has a positive effect on the formation of the complex of required color characteristics of final products (for prototypes of sausages the index redness was 1.61 times higher compared to the control). Degradation of sodium nitrite and formation of nitroso pigments were intensified that improved the stability of color during the storage (the index of color fastness of experimental cooked sausages was higher by 19%). The results of performed investigations illustrate the possibility of production of cooked sausages with a minimized content of synthetic food additives and ingredients.

Key words: boiled sausage, sodium nitrite, denitrifying microorganisms.