

EWA STASIUK, PIOTR PRZYBYŁOWSKI

## WPLYW ZMODYFIKOWANEGO SPOSOBU STOSOWANIA $KNO_3$ NA PRZEMIANY AZOTANÓW (V) I (III) PODCZAS DOJRZEWANIA SERA TYKOCIŃSKIEGO

### Streszczenie

W krajowej produkcji serów podpuszczkowych dojrzewających używana jest saletra potasowa jako dodatek do mleka serowarskiego w celu zahamowania rozwoju bakterii fermentacji masłowej oraz bakterii z grupy coli. W niniejszej pracy wyprodukowano w skali przemysłowej ser typu szwajcarskiego - tykociński przy użyciu zmodyfikowanej metody stosowania  $KNO_3$  (dodatek do solanki, a nie do mleka serowarskiego). Najkorzystniejszym wariantem doświadczenia było solenie serów w solance o stężeniu  $KNO_3$  w ilości 0,05–0,10 %. Sery wyprodukowane tą metodą charakteryzowały się niską zawartością azotanów (V) i (III) oraz korzystnymi cechami sensorycznymi. Dodatek  $KNO_3$  do solanki pozwala otrzymać bezazotanową serwatkę, którą można dalej wykorzystać w przemyśle spożywczym.

**Słowa kluczowe:** ser typu szwajcarskiego - tykociński, azotany (V) i (III), serwatka, solanka

### Wprowadzenie

Azotany (V) i (III) należą do grupy związków stanowiących chemiczne zanieczyszczenie żywności. Toksyczność azotanów(V) jest stosunkowo niewielka, natomiast 6-10-krotnie większe działanie toksyczne wykazują azotany(III). Azotany(V) łatwo redukują się do azotanów(III), stąd wynika ich szkodliwe oddziaływanie w żywności [11].

Redukcja azotanów(V) jest procesem metabolicznym i może mieć dwojaki przebieg. Z jednej strony drobnoustroje asymilują azot azotanowy i wykorzystują go do odbudowy białek ustrojowych i składników azotowych komórki. Z drugiej natomiast mogą wykorzystywać azotan(V) jako akceptor elektronów, głównie w warunkach beztlenowych, co nazywane jest procesem oddychania azotanowego. Ten typ metabolizmu prowadzi do nagromadzenia azotanów(III) w przechowywanej żywności [15, 19].

Konieczność limitowania dopuszczalnych dawek azotanów (V) i (III) do żywności dostrzegła Komisja Kodeksu Żywnościowego FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności. Już w 1979 roku Komisja ustaliła dopuszczalne ilości azotanów (III) i (V) (ADI), które człowiek może spożyć w ciągu doby. Dawka  $NaNO_3$  nie może przekraczać 5 mg  $NaNO_3$  (5,95 mg  $KNO_3$  3,6 mg  $NO_3^-$ ) zaś  $NaNO_2$  – 0,2 mg (0,13 mg  $NO_2^-$ ) na kg masy ciała. Człowiek o masie np. 70 kg może więc dziennie przyjąć 252 mg  $NO_3^-$  i 9,1 mg  $NO_2^-$ .

W serach przeznaczonych do konsumpcji Komisja Kodeksu Żywnościowego FAO/WHO ustaliła dopuszczalne poziomy azotanów (III) i (V) w ilości 50 mg  $NaNO_3/kg$  (59,4 mg  $KNO_3/kg$ ; 36,5 mg  $NO_3^-/kg$ ) i 5 mg  $NaNO_2/kg$  (3,3 mg  $NO_2^-/kg$ ).

W Polsce problem ten został uregulowany prawnie rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 roku. W serach przeznaczonych do konsumpcji poziom azotanów nie może przekraczać 50 mg  $NaNO_3/kg$  (36,5 mg  $NO_3^-/kg$ ), zaś azotynów – 2 mg  $NaNO_2/kg$  (1,33  $NO_2^-/kg$ ) [20].

Technologiczny dodatek  $KNO_3$  do mleka serowarskiego (w ilości 0,01–0,02 %) jest stosowany w celu zahamowania rozwoju bakterii z grupy coli (pochodzących najczęściej z reinfekcji mleka) i bakterii fermentacji masłowej podczas dojrzewania serów [7, 8, 9, 17, 18].

W niektórych państwach, takich jak: Francja, Nowa Zelandia czy USA stosowanie saletry potasowej w produkcji serów podpuszczkowych jest prawnie zabronione. Stosuje się tu inne metody, takie jak: baktofugację, mikrofiltrację, dodatek lizozymu czy antybiotyku nizyny. Metody te bardzo korzystnie wpływają na jakość mikrobiologiczną i sensoryczną serów, lecz są znacznie kosztowniejsze niż stosowanie saletry [9, 10, 16, 22].

Dodatek saletry do mleka powoduje, że w serwatce pozostałej po wyrobieniu sera znajdują się też azotany (V) i (III), co może ograniczać jej dalsze stosowanie. Serwatka może być wykorzystana do produkcji niektórych napojów fermentowanych, odżywek dla dzieci, pasz dla zwierząt, do produkcji koncentratów białek serwatkowych (KBS) z tym, że nie może zawierać pozostałości azotanów (V) i (III). Serwatka poddawana fermentacji propionowej może spełniać też rolę naturalnego, biologicznego konserwantu w niektórych artykułach żywnościowych [3].

Ustawodawstwo polskie dopuszcza stosowanie  $KNO_3$  w produkcji serów. Dodatek azotanów do mleka serowarskiego zapobiega niekorzystnym zmianom smakowo-zapachowym w okresie wczesnego, jak i późniejszego dojrzewania serów. Z mleka o wysokiej jakości mikrobiologicznej można otrzymać sery dobrej jakości. W praktyce jednak, pomimo pasteryzacji w temp. 72–75 °C, mleko przeznaczone do produkcji serów często wykazuje obecność bakterii z grupy coli pochodzących z reinfekcji. Dlatego też polskie zakłady mleczarskie stosują, w procesie produkcji serów dojrzewają-

cych podpuszczkowych, dodatek saletry potasowej do mleka w ilości 0,01–0,02 % [4, 5, 11, 16, 19, 23].

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy dodatek saletry potasowej do solanki pozwala równie skutecznie hamować w serach typu szwajcarskiego rozwój bakterii z grupy coli i bakterii fermentacji masłowej, jak w przypadku jej dodania do mleka serowarskiego.

### **Material i metody badań**

Badania przeprowadzono w skali przemysłowej w Zakładzie Mleczarskim „Paślęk ICC SERVY”, w którym wyprodukowano ser podpuszczkowy dojrzewający typu szwajcarskiego - tykociński.

Mleko do produkcji serów pasteryzowano w temp. 72 - 75°C przez 15 - 20 s i następnie magazynowano (12 do 24 h), po czym przed procesem produkcji sera ponownie mleko pasteryzowano w tych samych warunkach.

Zgodnie z założeniem badań ser tykociński wyprodukowano w następujących wariantach doświadczalnych:

- A – sery wyprodukowane z mleka bez dodatku  $\text{KNO}_3$  po prasowaniu umieszczano w solance o stężeniu  $\text{KNO}_3$  – 0,05 %,
- B – sery wyprodukowane z mleka bez dodatku  $\text{KNO}_3$  po prasowaniu umieszczano w solance o stężeniu  $\text{KNO}_3$  – 0,10 %,
- C – sery wyprodukowane z mleka bez dodatku  $\text{KNO}_3$  po prasowaniu umieszczano w solance o stężeniu  $\text{KNO}_3$  – 0,15 %,
- D – sery wyprodukowane z mleka bez dodatku  $\text{KNO}_3$  po prasowaniu umieszczano w solance bez dodatku  $\text{KNO}_3$ ,
- K – sery kontrolne wyprodukowane z mleka, do którego dodano  $\text{KNO}_3$  w ilości 0,01 % i po prasowaniu umieszczano w solance bez dodatku  $\text{KNO}_3$ .

Każdy z powyższych wariantów powtarzano 3-krotnie. Ogółem wyprodukowano 15 partii doświadczalnych sera. Próbkę sera tykocińskiego pobierano z warstwy zewnętrznej (4 cm) i rdzenia bloku, po prasowaniu, soleniu, 4 i 6 tygodniach dojrzewania. Z każdego wariantu doświadczalnego do badań pobierano próbki z 2 bloków sera.

Oznaczenia azotanów (V) i (III) wykonywano zgodnie z metodą podaną w PN-EN ISO 14673-1:2004 [13].

Oznaczenie azotanów (III) polegało na wywołaniu reakcji barwnej pomiędzy azotanami(III) a sulfanilamidem i dwuchlorowodorkiem N-1-naftyloetyleno-dwuaminy. Absorbancję barwnego związku mierzono w spektrofotometrze UNICAM UV/VIS Spektrometer UV2 przy długości fali  $\lambda = 538$  nm. Azotany(V) redukowano w kolumnie kadmowej do azotanów(III) i dalej postępowano, jak w przypadku oznaczania azotanów(III).

Ocenę sensoryczną serów przeprowadził zespół złożony z 5 lub 6 osób. W ocenie sensorycznej uwzględniono następujące wyróżniki jakościowe: kształt, wygląd, konsystencję, oczkowanie, zapach, barwę i smak. Sery kwalifikowano zgodnie z wymogami zawartymi w PN-A-86230:1968 [14].

Do określania zależności między zawartością azotanów (V) i (III) w serze tykocińskim a wariantem doświadczenia, miejscem pobrania próbki, blokiem sera i serią doświadczenia zastosowano trójczynnikiem analizę wariancji z uwzględnieniem interakcji wymienionych czynników. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono stosując program STATISTICA.PL firmy Statsoft Polska.

### Wyniki badań i dyskusja

Zawartość azotanów (V) i (III) w serze tykocińskim podczas 6-tygodniowego dojrzewania przedstawiono w tab. 1. i 2.

W serach, wyprodukowanych z mleka bez dodatku  $KNO_3$ , po prasowaniu zawartość  $NO_3^-$  wahała się od 9,9 do 11,2 mg  $NO_3^-/kg$ , średnio 10,4 mg  $NO_3^-/kg$ , natomiast zawartość azotanów(III) wynosiła średnio 0,21 mg  $NO_2^-/kg$ , wahając się od 0,1 do 0,3 mg  $NO_2^-/kg$  masy sera.

W serach kontrolnych wyprodukowanych z mleka z 0,01 % dodatkiem  $KNO_3$  zawartość azotanów(V) była większa niż w wariantach doświadczalnych A, B, C i D i wynosiła średnio 17,93 mg  $NO_3^-/kg$ , wahając się od 17,1 do 18,3 mg  $NO_3^-/kg$ . Także zawartość azotanów(III) w serach kontrolnych po prasowaniu była większa niż w wariantach doświadczalnych i wynosiła średnio 0,34 mg  $NO_2^-/kg$ , wahając się od 0,2 do 0,5 mg  $NO_2^-/kg$ .

Po soleniu serów w solankach z dodatkiem  $KNO_3$  zawartość azotanów wzrosła w serach wszystkich wariantów doświadczalnych (A, B, C i D). W serach wariantu A (0,05 %  $KNO_3$ ) wyniosła średnio 68,33 mg  $NO_3^-/kg$  w warstwie zewnętrznej i 21,36 mg  $NO_3^-/kg$  w rdzeniu bloku sera. W serach wariantów B (0,10 %  $KNO_3$ ) i C (0,15 %  $KNO_3$ ) po soleniu zawartość azotanów(V) była większa niż w wariantach A i wynosiła odpowiednio 124,23 mg  $NO_3^-/kg$  (B) i 129,80 mg  $NO_3^-/kg$  (C) w warstwie zewnętrznej bloku sera oraz 82,80 mg  $NO_3^-/kg$  (B) i 54,48 mg  $NO_3^-/kg$  (C) w rdzeniu bloku sera.

Mniejszą zawartość azotanów(V) wykazywały sery wariantu D i K po soleniu w solance zakładowej (bez dodatku  $KNO_3$ ). W serach wariantu D zawartość azotanów(V) była najmniejsza i wynosiła średnio 9,03 mg  $NO_3^-/kg$  w warstwie zewnętrznej i 2,98 mg  $NO_3^-/kg$  w rdzeniu bloku sera. Sery kontrolne, wyprodukowane z mleka z 0,01 % dodatkiem  $KNO_3$ , miały zbliżoną zawartość azotanów(V) w warstwie zewnętrznej i rdzeniu bloku, które wynosiły odpowiednio 18,38 mg  $NO_3^-/kg$  i 19,68 mg  $NO_3^-/kg$ .

Tabela 1

Zawartość azotanów(V) w serze tykocińskim podczas 6-tygodniowego dojrzewania.  
Contents of nitrates(V) in Tykocinski cheese during the 6 week period of ripening

W D	B	M P	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mg/kg]															
			po prasowaniu after pressing				po soleniu after salting				po 4 tygodniach after 4 weeks				po 6 tygodniach after 6 weeks			
			Serie badawcze / Research Series															
			I	II	III	$\bar{X}$	I	II	III	$\bar{X}$	I	II	III	$\bar{X}$	I	II	III	$\bar{X}$
A	1	Z	10,0	10,3	11,2	10,4	72,4	71,8	63,4	Z	9,3	11,1	12,0	Z	2,1	1,7	1,6	Z
		R					23,7	22,6	19,9	68,33	1,6	1,8	0,9	10,0	1,0	1,3	1,3	1,82
	2	Z	9,9	10,1	10,9		69,1	74,4	58,9	R	7,2	8,5	11,9	R	2,5	1,7	1,3	R
		R					20,0	23,0	18,9	21,36	1,0	1,4	0,8	1,25	1,9	1,4	0,6	1,25
B	1	Z	10,0	10,3	11,2	10,4	150,6	101,7	125,9	Z	13,0	14,3	14,8	Z	5,5	3,6	3,7	Z
		R					92,8	87,6	65,3	124,2	8,3	11,5	11,4	13,15	1,0	1,3	1,7	4,15
	2	Z	9,9	10,1	10,9		141,7	105,4	120,1	R	10,9	11,5	14,4	R	4,9	4,0	3,2	R
		R					98,2	92,6	60,3	82,80	7,2	8,1	9,7	9,37	0,9	1,5	1,0	1,23
C	1	Z	10,0	10,3	11,2	10,4	139,0	137,4	122,5	Z	25,0	21,1	29,2	Z	9,5	5,5	5,8	Z
		R					64,0	61,8	55,5	129,8	4,8	4,4	4,7	23,20	3,0	2,2	2,1	6,73
	2	Z	9,9	10,1	10,9		130,2	132,2	117,5	R	21,3	18,0	24,6	R	8,7	5,4	5,5	R
		R					59,4	59,9	50,3	58,48	3,9	3,7	3,8	4,22	2,5	1,9	1,8	2,25
D	1	Z	10,0	10,3	11,2	10,4	9,8	9,7	8,5	Z	1,6	1,7	1,7	Z	0,5	0,5	0,5	Z
		R					3,1	3,3	3,0	9,03	1,2	1,3	1,0	1,48	0,3	0,3	0,4	0,45
	2	Z	9,9	10,1	10,9		8,9	9,5	7,8	R 2,98	1,2	1,5	1,2	R	0,4	0,5	0,3	R
		R					2,6	3,2	2,7		0,9	1,1	0,8	1,05	0,2	0,2	0,2	0,27
K	1	Z	18,2	18,3	17,8	17,9	18,3	18,1	17,2	Z	1,7	1,6	1,7	Z	0,3	0,7	0,7	Z
		R					19,1	19,4	18,5	18,38	1,2	1,3	1,4	1,55	0,5	0,6	0,6	0,52
	2	Z	18,1	18,1	17,1		20,2	17,2	19,3	R	1,5	1,3	1,5	R	0,3	0,7	0,4	R
		R					22,0	18,7	20,4	19,68	1,3	1,1	1,0	1,22	0,5	0,5	0,2	0,48

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Z - warstwa zewnętrzna bloku sera / external layer of the cheese block; B – blok sera / cheese block;

R - rdzeń bloku sera / core of the cheese block; WD – wariant doświadczenia / variant of the experiment;

MP – miejsce pobrania / place of sampling.

Jak wynika z przeprowadzonego doświadczenia, istnieje ilościowa granica wnikania jonów azotanowych(V) z solanki do miąższu sera bez względu na wzrastające stężenie azotanów(V) w solance. Była to solanka wariantu B o stężeniu KNO<sub>3</sub> – 0,1 %.

Dalsze zwiększanie stężenia  $KNO_3$  w solance nie powodowało już znaczącego wzrostu zawartości azotanów(V) w serach (sery wariantu C – 0,15 %  $KNO_3$ ).

Zauważono zróżnicowanie zawartości azotanów(V) w zależności od miejsca pobrania próbki z bloku sera. Najwyższe poziomy azotanów(V) występowały w warstwach zewnętrznych sera wariantów A, B, C i D, zaś rdzeń bloku sera zawierał ich dużo mniej (tab. 1).

Kinetyka dyfuzji azotanów(V) do mięszu sera tykocińskiego jest podobna do kinetyki wnikania  $NaCl$  do mięszu sera, którą badał Jakubowski [6]. W przypadku sera tykocińskiego uwidoczniła się również podatność sera na stopień i szybkość dyfuzji, nazwana przez Jakubowskiego „stałą materiałową” danego bloku sera. Stwierdzono wyraźne różnice zawartości azotanów(V) pomiędzy poszczególnymi blokami serów danego wariantu doświadczalnego (np. sery wariantu A I serii: 72,4 i 69,1 mg  $NO_3^-$ /kg, natomiast sery wariantu C I serii: 139,0 i 130,2 mg  $NO_3^-$ /kg) [6, 12].

Zawartość azotanów (III) w serach po soleniu we wszystkich wariantach doświadczalnych była większa niż w serach po prasowaniu. Także i w przypadku azotanów(III) można zauważyć różnicę ich zawartości w poszczególnych warstwach bloku sera. Może świadczyć to o redukcji azotanów(V) (dyfundujących z solanki) do azotanów(III), dlatego też zawartość azotanów(III) w rdzeniu bloków sera była mniejsza (np. w bloku 1 sera wariantu doświadczalnego A serii I, zawartość azotanów(III) w warstwie zewnętrznej wynosiła 1,3 mg/kg, a w rdzeniu bloku 0,4 mg/kg). Średnia zawartość azotanów(III) w serach po soleniu w warstwie zewnętrznej wynosiła odpowiednio: w wariantach A – 0,73 mg  $NO_2^-$ /kg, B – 0,75 mg  $NO_2^-$ /kg, C – 0,64 mg  $NO_2^-$ /kg i D – 0,6 mg  $NO_2^-$ /kg. W rdzeniu bloków sera średnia zawartość azotanów(III) była mniejsza i w poszczególnych wariantach wynosiła: wariant A – 0,33 mg  $NO_2^-$ /kg, B – 0,47 mg  $NO_2^-$ /kg, C – 0,48 mg  $NO_2^-$ /kg i D – 0,25 mg  $NO_2^-$ /kg. Także w serach kontrolnych wyprodukowanych z mleka z dodatkiem 0,01 %  $KNO_3$  po soleniu stwierdzono różnicę pomiędzy warstwą zewnętrzną a rdzeniem sera. Zawartość azotanów(III) w warstwie zewnętrznej serów wariantu K wynosiła średnio 0,57 mg  $NO_2^-$ /kg, a w rdzeniu bloku – 0,42 mg  $NO_2^-$ /kg.

W serze tykocińskim największy ubytek zawartości azotanów(V) następował do 4. tygodnia dojrzewania. W stosunku do poziomu tego związku po soleniu zmniejszenie zawartości wynosiło 80–90 %. Tak intensywna redukcja azotanów(V) nie powodowała jednak znacznego nagromadzenia się jonów azotanowych(III) w mięszu sera.

Po 4 tygodniach dojrzewania zawartość azotanów(V) w warstwie zewnętrznej bloków sera kształtowała się średnio na poziomie: 10,00 mg  $NO_3^-$ /kg w serach wariantu A, 13,15 mg  $NO_3^-$ /kg w serach wariantu B i 23,20 mg  $NO_3^-$ /kg w serach wariantu C. W serach wariantu D i K zawartość azotanów(V) w warstwie zewnętrznej serów była wyraźnie mniejsza i wynosiła 1,48 mg  $NO_3^-$ /kg w wariantach D i 1,55 mg  $NO_3^-$ /kg w wariantach K.

Tabela 2

Zawartość azotanów(III) w serze tykocińskim podczas 6-tygodniowego dojrzewania.  
Contents of nitrates(III) in Tykocinski cheese during the 6 week period of ripening.

W D		NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> [mg/kg]																	
		B	MP	po prasowaniu after pressing				po soleniu after salting				po 4 tygodniach after 4 weeks				po 6 tygodniach after 6 weeks			
				Serie badawcze / Research Series															
				I	II	III	$\bar{X}$	I	II	III	$\bar{X}$	I	II	III	$\bar{X}$	I	II	III	$\bar{X}$
A	1	Z	0,25	0,30	0,20	0,21	1,3	0,4	0,6	Z	1,1	1,2	1,1	Z	0,9	0,4	0,5	Z	
		R					0,4	0,3	0,3	0,73	0,1	0,1	0,4	1,0	0,1	0,3	0,3	0,58	
	2	Z	0,21	0,20	0,10		1,2	0,4	0,5	R	1,0	0,9	0,7	R	0,8	0,5	0,4	R	
		R					0,5	0,2	0,3	0,33	0,2	0,1	0,3	0,20	0,2	0,4	0,2	0,25	
B	1	Z	0,25	0,30	0,20	0,21	0,8	0,9	0,6	Z	1,6	2,2	1,8	Z	0,9	0,7	0,7	Z	
		R					0,4	0,7	0,4	0,75	0,1	0,4	0,3	1,68	0,7	0,5	0,4	0,75	
	2	Z	0,21	0,20	0,10		0,9	0,8	0,5	R	1,4	1,6	1,5	R	0,8	0,8	0,6	R	
		R					0,4	0,6	0,3	0,47	0,2	0,3	0,2	0,25	0,6	0,6	0,3	0,52	
C	1	Z	0,25	0,30	0,20	0,21	0,75	0,8	0,5	Z	2,7	1,8	2,1	Z	0,6	0,9	0,9	Z	
		R					0,55	0,7	0,3	0,64	0,1	0,2	0,7	1,98	0,5	0,1	0,4	0,75	
	2	Z	0,21	0,20	0,10		0,7	0,7	0,4	R	1,9	1,6	1,8	R	0,5	0,9	0,7	R	
		R					0,5	0,6	0,2	0,48	0,1	0,2	0,5	0,30	0,3	0,1	0,4	0,30	
D	1	Z	0,25	0,30	0,20	0,21	0,8	0,6	0,5	Z	0,1	0,2	0,3	Z	0,1	0,4	0,3	Z	
		R					0,4	0,2	0,3	0,60	0,0	0,1	0,3	0,18	0,0	0,3	0,2	0,23	
	2	Z	0,21	0,20	0,10		0,7	0,6	0,4	R	0,1	0,2	0,2	R	0,1	0,3	0,2	R	
		R					0,3	0,1	0,2	0,25	0,0	0,1	0,2	0,12	0,0	0,2	0,1	0,13	
K	1	Z	0,50	0,30	0,35	0,34	0,7	0,9	0,3	Z	0,3	0,1	0,3	Z	0,1	0,4	0,2	Z	
		R					0,5	0,7	0,2	0,57	0,0	0,0	0,3	0,23	0,0	0,3	0,1	0,22	
	2	Z	0,40	0,20	0,30		0,6	0,7	0,2	R	0,3	0,1	0,3	R	0,1	0,3	0,2	R	
		R					0,4	0,6	0,1	0,42	0,0	0,0	0,3	0,10	0,0	0,3	0,1	0,13	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Z - warstwa zewnętrzna bloku sera / external layer of the cheese block; B – blok sera / cheese block;

R - rdzeń bloku sera / core of the cheese block; WD – wariant doświadczenia / variant of experiment;

MP – miejsce pobrania / place of sampling.

W rdzeniu bloku sera zawartość azotanów(V) była wyraźnie mniejsza niż w warstwach zewnętrznych i wynosiła: wariant A – 1,25 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg, wariant B – 9,37 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg i wariant C - 4,22 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg. W serach wariantu D i K zawartość azota-



nów(V) w rdzeniu bloku była podobna do zawartości w warstwie zewnętrznej i wynosiła: w wariacie D – 1,05 mg  $NO_3^-$ /kg i 1,22 mg  $NO_3^-$ /kg w wariacie K.

W czasie dojrzewania serów śledzono również dynamikę przemian azotanów(V) do azotanów(III). Zawartość azotanów(III) w serach po 4 tygodniach dojrzewania była większa w wariantach doświadczalnych A, B i C, a mniejsza w D i K. W wariantach doświadczalnych A, B i C średnia zawartość azotanów(III) w warstwie zewnętrznej bloku wynosiła odpowiednio: 1,0 mg  $NO_2^-$ /kg, 1,68 mg  $NO_2^-$ /kg i 1,98 mg  $NO_2^-$ /kg. W rdzeniu bloku sera zawartość azotanów(III) była zdecydowanie mniejsza i w wariantach A, B i C wynosiła odpowiednio: 0,20 mg  $NO_2^-$ /kg, 0,25 mg  $NO_2^-$ /kg i 0,30 mg  $NO_2^-$ /kg. Zawartość azotanów(III) w serach kontrolnym i wariantu D wynosiła odpowiednio: 0,23 mg  $NO_2^-$ /kg w warstwie zewnętrznej i 0,1 mg  $NO_2^-$ /kg w rdzeniu sera oraz 0,18 mg  $NO_2^-$ /kg i 0,12 mg  $NO_2^-$ /kg.

Zawartość azotanów (III) w serze kontrolnym K była mniejsza od zawartości azotanów(III) w serach wariantów A, B i C, ale nie na tyle, jak by to mogło wynikać z różnicy zawartości azotanów(V) w tych serach. Można to tłumaczyć tym, że zawartość azotanów(III) w serze w dużo większym stopniu zależy od aktywności oksydazy ksantynowej i aktywności bakterii redukujących azotany(V) niż od ilości azotanów występujących w mięszu sera. Tempo redukcji azotanów(V) zależy również od warunków panujących w dojrzewalni serów, szczególnie od temperatury dojrzewania.

Po 6 tygodniach dojrzewania serów następowało dalsze wyrównywanie się stężeń jonów  $NO_3^-$  (analogicznie do wyrównywania się stężeń NaCl) w mięszu serów wszystkich wariantów doświadczalnych.

Po 6 tygodniach dojrzewania pozostałości azotanów(V) w serach wyprodukowanych wg wariantów A, B i C wynosiły w warstwie zewnętrznej odpowiednio: od 1,3 do 2,1 mg  $NO_3^-$ /kg (średnio – 1,82 mg  $NO_3^-$ /kg), od 3,2 do 5,5 mg  $NO_3^-$ /kg (średnio – 4,15 mg  $NO_3^-$ /kg) i od 5,4 do 9,5 mg  $NO_3^-$ /kg (średnio – 6,73 mg  $NO_3^-$ /kg). W rdzeniu bloków serów pozostałości te były mniejsze i wynosiły średnio w serach wariantów A, B i C: 1,25 mg  $NO_3^-$ /kg, 1,23 mg  $NO_3^-$ /kg i 2,25 mg  $NO_3^-$ /kg. Wartości te nie przekraczają krajowych norm, które dopuszczają obecność 50 mg  $NaNO_3$ /kg oraz 2 mg  $NaNO_2$ /kg sera przeznaczonego do konsumpcji.

W serach wariantów kontrolnego K i wariantu D pozostałości azotanów po 6 tygodniach dojrzewania były małe. W wariacie K azotany(V) były na poziomie: 0,52 mg  $NO_3^-$ /kg w warstwie zewnętrznej i 0,48 mg  $NO_3^-$ /kg w rdzeniu bloku, a w wariacie D: odpowiednio 0,45 mg  $NO_3^-$ /kg i 0,27 mg  $NO_3^-$ /kg.

Pozostałości azotanów(III) w serach tych wariantów również były małe i wynosiły średnio w obu wariantach 0,22–0,23 mg  $NO_2^-$ /kg w warstwie zewnętrznej i 0,13 mg  $NO_2^-$ /kg w rdzeniu bloku. Niewielką zawartość jonów  $NO_2^-$  w serach wariantów D i K można tłumaczyć zachodzącymi przemianami fizykochemicznymi i biochemicznymi w mięszu sera.



Zawartości azotanów (V) i (III) w krajowych serach dojrzewających wyprodukowanych tradycyjną metodą dodatku  $\text{KNO}_3$  (do mleka serowarskiego) były niejednokrotnie badane, a wyniki tych badań nie wykazują znaczących różnic, w stosunku do serów wyprodukowanych niniejszą metodą [2, 7, 11, 15, 16, 17, 18, 19].

Przeprowadzono trójczynnиковą analizę wariancji, której celem było określenie wpływu takich czynników, jak:

- 1) wariant doświadczenia, blok sera i miejsce pobrania próbki oraz
- 2) serię doświadczenia, wariant doświadczenia i miejsce pobrania próbki na zawartość azotanów (V) i (III) w dojrziałych serach (tab. 3).

Tabela 3

Wyniki trójczynnиковej analizy wariancji.  
Results of a three-factor analysis of variance.

Ser Cheese	Źródło zmienności Source of variation	Wartość testu F / Value of test F	
		azotany(V)	azotany(III)
Tykociński	Wariant doświadczenia	71,23674*	19,41765*
	Blok sera	0,74003	0,93003
	Miejsce pobrania próbki	80,76346*	33,4815*
	Interakcja: wariant x blok	0,16131	0,13886
	Interakcja: wariant x miejsce	23,47166*	2,81916*
	Interakcja: blok x miejsce	0,00034	0,10334
	Interakcja: wariant x blok x miejsce	0,00452	0,02260
Tykociński	Seria doświadczenia	41,1436*	9,6211*
	Wariant doświadczenia	559,5374*	137,0888*
	Miejsce pobrania próbki	634,3661*	236,3774*
	Interakcja: seria x wariant	17,9582*	14,3518*
	Interakcja: seria x miejsce	25,2714*	0,4104
	Interakcja: wariant x miejsce	184,3609*	19,9033*
	Interakcja: seria x wariant x miejsce	9,8813*	14,6026*

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\* - zależność statystycznie istotna przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  / statistically significant dependence at a significance level of  $\alpha = 0.05$

Stwierdzono, że największym źródłem zmienności w obydwu przypadkach były: miejsce pobrania próbki i wariant doświadczenia (odpowiednio  $F = 80,76346^*$  i  $F = 71,23674^*$  oraz  $F = 634,3661^*$  i  $F = 559,5374^*$ ). Statystycznie nieistotny okazał się wpływ bloku sera ( $F = 0,74003$  i  $F = 0,93003$ ), natomiast zauważono wpływ serii

doświadczalnej, chociaż w mniejszym stopniu niż pozostałych czynników, przy założonym poziomie istotności  $\alpha=0,05$  ( $F = 41,1436^*$ ).

Podobne relacje wykazano w analizie wariancji uwzględniającej wpływ wyżej wymienionych czynników na zawartość azotanów(III) w dojrzałych serach. Największym źródłem zmienności było miejsce pobrania próbki i wariant doświadczenia ( $F = 33,48116^*$  i  $F = 19,41765^*$  oraz  $F = 236,3774^*$  i  $F = 137,0888^*$ ). Blok sera nie miał statystycznie istotnego wpływu na pozostałości azotanów(III) w mięszu sera ( $F = 0,93003$ ), natomiast istotne były różnice zawartości azotanów(III) pomiędzy poszczególnymi seriami badawczymi ( $F = 9,6211^*$ ).

Stwierdzono także istotne współdziałanie tych czynników na pozostałości azotanów (V) i (III) w dojrzałych serach. Największy wpływ na zawartość azotanów (V) i (III) miało współdziałanie wariantu doświadczalnego i miejsca pobrania próbki (odpowiednio  $F = 23,47166^*$  i  $F = 2,81916^*$ ).

Przeprowadzono też ocenę sensoryczną serów (tab. 4), która wykazała, że sery wyprodukowane zmodyfikowaną metodą stosowania saletry potasowej klasyfikowane były głównie jako wyroby klasy I i II. Sery II serii wariantu C zostały zdyskwalifikowane ze względu na nietypowy, bardzo słodki smak oraz nieprawidłowe oczkowanie (liczna orzeszyna). Natomiast sery wyprodukowane tradycyjnie, czyli sery wariantu K były klasyfikowane jako klasa II w przypadku serii I oraz poza klasą w serii II i III, ze względu na obcy, nieprzyjemny zapach i pikantny, gorzki smak [21].

Tabela 4

Wyniki oceny sensorycznej dojrzałego sera tykocińskiego.  
Sensory evaluation results of the ripe Tykocinski cheese.

Wariant doświadczalny Variant of the experiment	Klasa serów / Class of cheeses		
	Seria I / Series I	Seria II / Series II	Seria III / Series III
A	I	I	II
B	II	II	I
C	II	Poza klasą	I
D	II	II	I
K	II	Poza klasą	Poza klasą

Uzyskane wyniki wskazują na możliwość wykorzystania powyżej przedstawionej metody stosowania  $KNO_3$  w warunkach przemysłowej produkcji serów. Bardzo ważnym aspektem tej technologii jest również to, że brak dodatku azotanów(V) do mleka umożliwił bardziej optymalny rozwój bakterii propionowych w serze typu szwajcar-

skiego, co z pewnością wpłynęło na lepsze ukształtowanie się cech smakowo-zapachowych i struktury tych serów [1, 12, 23].

### Wnioski

1. Dodatek  $\text{KNO}_3$  do solanki pozwala wyprodukować sery twarde typu szwajcarskiego o dobrych cechach jakościowych.
2. Dynamika przemian azotanów (V) i (III) podczas dojrzewania serów o zmodyfikowanym sposobie dodawania  $\text{KNO}_3$  prowadziła do ich akumulacji.
3. W dojrzałym serze tykocińskim poziom azotanów był mały i nie przekraczał wartości dopuszczonych przez krajowe i europejskie akty prawne.
4. Statystyczna analiza wyników wykazała, że istotnym źródłem zmienności poziomu azotanów (V) i (III) w serach podczas dojrzewania były: stężenie  $\text{KNO}_3$  w solance i czas dojrzewania. Najkorzystniejszym stężeniem  $\text{KNO}_3$  w solance jest zakres 0,05 % - 0,10 %.
5. Stosowanie  $\text{KNO}_3$  do solanki, a nie do mleka serowarskiego, pozwala na uzyskanie serwatki bezazotanowej, co umożliwia jej dalsze wykorzystanie w przemyśle spożywczym.

### Literatura

- [1] Cichosz G., Łaniewska-Trokenheim Ł., Danowska-Oziewicz M., Łukaszuk W.: Wpływ *Lactobacillus paracasei* LPC-37 na jakość sensoryczną sera typu szwajcarskiego. *Przegl. Mlecz.*, 2007, **9**, 4-8.
- [2] Gapper L.W., Fong B.Y., Otter D.E., Indyk H.E., Woollard D.C.: Determination of nitrate and nitrite in dairy products by Ion Exchange LC with spectrophotometric detection. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 881-887.
- [3] Glibowski P.: Zastosowanie białek serwatkowych w przemyśle spożywczym. *Przegl. Mlecz.*, 2004, **9**, 10-13.
- [4] Jakubczyk E.: Jakość serów dojrzewających a przetrwalnikujące bakterie beztlenowe. Cz. I. *Przegl. Mlecz.*, 1996, **5**, 137-139.
- [5] Jakubczyk E.: Jakość serów dojrzewających a przetrwalnikujące bakterie beztlenowe. Cz. II. *Przegl. Mlecz.*, 1996, **6**, 173-176.
- [6] Jakubowski J.: Studia nad kinetyką dyfuzji soli do sera. Praca habilitacyjna, WSR, Olsztyn 1967.
- [7] Karłowski K., Bojewski J.: Badanie krajowych serów dojrzewających na obecność azotanów, azotynów i lotnych N-nitrozoamin. *Rocz. PZH*, 1987, **3**, 199-205.
- [8] Kazemzadeh A., Ensafi A.A.: Sequential flow injection spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in various samples. *Anal. Chim. Acta*, 2001, **442**, 319-326.
- [9] Luukkonen J., Kemppinen A., Karki M., Laitinen H., Maki M., Sivela S., Taisisto A-M., Ryhanen E-L.: The effect of a protective culture and exclusion of nitrate on the survival of enterohemorrhagic *E. coli* and *Listeria* in Edam cheese made from Finnish organic milk. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 449-457.
- [10] Matijasic B.B., Rajsp M.K., Perko B., Rogelj I.: Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* in cheese by *Lactobacillus gasserii*. *Int. Dairy J.*, 2007, **17**, 157-166.

- [11] Maszkiewicz J. Hiller A.: Zmiany zawartości azotanów i azotynów w procesach produkcji serów dojrzewających. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1988, **2**, 119-123.
- [12] Pajonk A.S., Saurel R., Andrieu J.: Experimental study and modeling of effective NaCl diffusion coefficients values during Emmental cheese brining. *J. Food Eng.*, 2003, **60**, 307-313.
- [13] PN-EN ISO 14673-1:2004. Mleko i przetwory mleczarskie. Oznaczanie zawartości azotanów V i azotanów III. Część 1: Metoda z wykorzystaniem redukcji kadmem i spektrometrii.
- [14] PN-A-86230:1968. Mleko i przetwory mleczarskie. Sery podpuszczkowe dojrzewające.
- [15] Przybyłowski P.: Występowanie i przemiany azotanów w produktach spożywczych. *Przegl. Mlecz.*, 1984, **8**, 10-12.
- [16] Przybyłowski P., Kiswa J., Karłowski K., Sajko W., Urbańska J., Janicka B.: Badania występowania azotanów i produktów ich przemian w mleku i wyrobach mleczarskich. Cz. II. Charakterystyka przemian azotanów i azotynów podczas produkcji i dojrzewania serów typu edamskiego i żuławskiego. *Rocz. PZH, rok*, **3**, 214-228.
- [17] Pluta A., Garganisz P., Zmarlicki S., Gaweł J.: Wpływ sposobu dodatku saletry w czasie produkcji sera na tempo przemian azotanów i azotynów oraz jakość sera podlaskiego. *Przem. Spoż.*, 1985, **8-9**, 303-305.
- [18] Pluta A., Gaweł J., Zmarlicki S.: Wpływ dodatku saletry do mleka serowarskiego na bakterie z grupy *coli* i przetrwalnikujące oraz jakość serów typu holenderskiego. *Przegl. Mlecz.*, 1985, **7**, 25-27.
- [19] Pluta A., Zmarlicki S., Gaweł J., Ostrowski S.: Zawartość azotanów i azotynów w dojrzewających serach krajowych. *Przem. Spoż.*, 1986, **7-8-9**, 166-167.
- [20] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu. *Dz. U.* 2004 r. Nr 94, poz. 933.
- [21] Stasiuk E., Przybyłowski P.: Wpływ zmodyfikowanego sposobu stosowania  $KNO_3$  na cechy sensoryczne i mikrobiologiczne serów dojrzewających podpuszczkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 46-58.
- [22] Su Y., Ingham S.C.: Influence of milk centrifugation, brining and ripening conditions in preventing gas formation by *Clostridium* spp. in Gouda cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **54**, 147-154.
- [23] Śmietana Z., Bohdziewicz K., Derengiewicz W.: Czynniki technologiczne determinujące i różniące cechy serów dojrzewających. *Przegl. Mlecz.*, 2006, **4**, 4-6.

#### IMPACT OF A MODIFIED APPLICATION METHOD OF $KNO_3$ ON TRANSFORMATIONS OF NITRATE (V) AND (III) OCCURRING WHILE THE TYKOCINSKI CHEESE RIPENS

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

In Poland, saltpetre ( $KNO_3$ ) is used to produce ripening rennet cheeses and is added to the cheese-making milk with the purpose of inhibiting the growth of bacteria causing butyric fermentation and bacteria from the coli group. During the research as described in this paper, a Swiss cheese called Tykocinski was produced on an industrial scale with the use a modified application method of  $KNO_3$  (that was added to the brine and not to the cheese-making milk). The most advantageous variant of the experiment included salting the cheeses in the brine with a  $KNO_3$  concentration rate ranging from 0,05 % to 0,10 %. The cheeses produced by this modified application method were characterized by a low level of nitrates (V) and (III) and by advantageous sensory features. The addition of  $KNO_3$  to the brine makes it possible to obtain nitrate-free whey, which, subsequently, can be used in food industry.

**Key words:** Swiss type of cheese, Tykociński cheese, nitrate V and III, whey, brine 