

*Anna Chlebowska-Śmigiel, Małgorzata Gniewosz, Beata Sadło*

## PRÓBA PRZEDŁUŻENIA TRWAŁOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ MIĘSA WIEPRZOWEGO POPRZECZ ZASTOSOWANIE POWŁOKI JADALNEJ

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności  
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Kierownik: dr hab. S. Błażej, prof. SGGW

*W pracy zbadano wpływ obecności powłoki jadalnej na bazie pullulanu, izolatu białka sojowego oraz kwasu stearynowego na ograniczenie zmian mikrobiologicznych w mięsie wieprzowym przechowywanym przez 7 dni w warunkach chłodniczych. Zastosowana powłoka jadalna istotnie wpłynęła na ograniczenie tych zmian. Najskuteczniej zahamowała wzrost enterokoków, bakterii kwasu mlekowego, bakterii grupy coli oraz drożdży.*

Hasła kluczowe: *Aureobasidium pullulans*, pullulan, powłoki jadalne, mięso wieprzowe, zmiany mikrobiologiczne.

Key words: *Aureobasidium pullulans*, pullulan, edible coating, pork meat, microbiological changes.

Mięso w żywieniu człowieka odgrywa istotną rolę, głównie ze względu na zawartość białka i aminokwasów egzogennych. Z tego też powodu jest bardzo dobrym środowiskiem dla rozwoju wielu grup drobnoustrojów, w tym również chorobotwórczych. W przypadku mięsa, które jako surowe trafia na półki sklepowe, zachowanie świeżości jest bardzo ważne, ponieważ jedynym inhibitorem wzrostu drobnoustrojów jest kwas mlekowy, który obniża pH do 5,6 – 5,8, co nie jest wystarczające do zahamowania wzrostu obecnej na mięsie mikroflory (1). Dodatkowo mięso w sklepie ma kontakt z osobą sprzedającą podczas krojenia, ważenia i pakowania. Często podczas sprzedaży dochodzi do zakażeń krzyżowych (1-3). Mięso leżące w ladzie sklepowej jest również narażone na powstanie tzw. „ususzki”, a często przy zakupie czynnikiem decydującym o jego wyborze jest wygląd. Zastosowanie opakowania, które nie maskowałoby surowca a jednocześnie pozwalało na ograniczenie rozwoju obecnej na nim mikroflory może stanowić dobre rozwiązanie. Funkcją taką mogą spełniać biodegradowalne opakowania, np. powłoki i filmy jadalne (4).

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowił mięsień najdłuższy grzbietu (*musculus longissimus dorsi*), zwany potocznie schabem, zakupiony w jednym z hipermarketów w Warszawie oraz powłoka jadalna na bazie pullulanu (Pul), izolatu białka sojowego (SPI) oraz kwasu stearynowego (SA), przygotowywana w postaci emulsji zgodnie z metodyką podaną przez Xu i współpr. (5).

Pullulan otrzymywano na drodze hodowli wgłębnej mutanta B-1 grzyba *Aureobasidium pullulans* (6). Do przygotowania powłoki użyto kwasu stearynowego firmy Sigma oraz izolatu białka sojowego SUPRO 595 (Soley Company, USA). Powłokę наносzono przez zanurzenie kostek mięsa w roztworze emulsji i wysuszenie. Gotowe próbki przechowywano w lodówce.

Wykonywano posiewy z prób kontrolnych i pokrytych powłoką jadalną bezpośrednio po przygotowaniu próbek oraz po ich przechowywaniu w warunkach chłodniczych przez okres trzech i siedmiu dni. Oznaczano ogólną liczbę drobnoustrojów (7), liczbę drożdży i pleśni (8), liczbę bakterii grupy coli (9), enterokoków (10), bakterii fermentacji mlekowej (11) oraz drobnoustrojów psychrofilnych (12) w przeliczeniu na 1g próbki mięsa. Stopień ograniczenia badanej grupy mikroorganizmów obliczano jako różnicę między log liczbą drobnoustrojów na próbce z powłoką jadalną i na próbce kontrolnej. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu STATGRAPHICS Plus.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Ogólna liczba drobnoustrojów w 18 badanych, kontrolnych próbkach mięsa wynosiła średnio  $1,55 \cdot 10^6$  jtk/g. Po 3 dniach przechowywania liczba ta wzrosła o ok. 3 cykle logarytmiczne. Z kolei po 7 dniach uzyskano średni wynik  $1,68 \cdot 10^{11}$  jtk/g dla próbek mięsa bez powłoki oraz  $1,9 \cdot 10^{10}$  jtk/g dla próbek pokrytych powłoką (tab. I). Początkowy poziom zanieczyszczenia rzędu  $10^4 - 10^6$  jtk/g jest wysoki, co obrazuje stan higieniczny mięsa obecnego na półkach sklepowych. Wg *Kreyenschmidta* i współpr. (13) ogólna liczba drobnoustrojów rzędu  $10^8$  jtk/g jest przeciętną wartością podawaną w literaturze jako graniczna dla zachowania trwałości mięsa. Przeprowadzona analiza statystyczna wyników wykazała istotność zmian dopiero po 7 dniach przechowywania.

Początkowa średnia liczba bakterii grupy *coli* wynosiła  $4,63 \cdot 10^3$  jtk/g. Po 3 dniach przechowywania nastąpił nieznaczny wzrost liczby bakterii grupy coli o ok. 1,5 cyklu logarytmicznego dla kontroli i ok. 1 cykl logarytmiczny dla próbek właściwych, natomiast po 7 dniach liczba tych drobnoustrojów wynosiła średnio  $2,67 \cdot 10^8$  jtk/g dla mięsa bez powłoki i  $2,42 \cdot 10^7$  jtk/g dla mięsa z naniesioną powłoką (tab. I).

Bakterie z rodzaju *Enterococcus* są rodzimą mikroflorą przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt. Ich obecność na mięsie świadczy o niedostatecznej higienie uboju

lub wtórnym zakażeniu już podczas obrotu surowcem (14, 15). Przeprowadzone badania wykazały wysoki początkowy poziom enterokoków. Wynosił on średnio  $1,31 \cdot 10^4$  jtk/g. Wzrost liczby tych bakterii był nieznaczny między czasem zerowym a 3 dobą przechowywania, jednak między 3 i 7 dobą liczba bakterii zwiększyła się o 2 cykle logarytmiczne dla próbek z powłoką i 4 dla próbek kontrolnych (tab. I).

Tabela 1. Zmiany liczby drobnoustrojów podczas 7 dni przechowywania mięsa wieprzowego pokrytego (P) i niepokrytego (K) powłoką jadalną [jtk/g]

Table 1. Count of microorganisms changes during 7 days storage of coated [P] and uncoated [K] pork meat [cfu/g]

Czas [dni]	Wariant	1. Ogólna liczba drobnoustrojów	2. Bakterie grupy coli	3. Enterokoki	4. Bakterie kwasu mlekowego	5. Psychrofile	6. Drożdże i pleśnie
		jtk/g	jtk/g	jtk/g	jtk/g	jtk/g	jtk/g
0	K	$1,55 \cdot 10^6$ A	$4,63 \cdot 10^3$ A	$1,31 \cdot 10^4$ A	$9,18 \cdot 10^3$ A	$1,47 \cdot 10^6$ A	$4,08 \cdot 10^3$ A
	P	$1,54 \cdot 10^6$ A	$4,38 \cdot 10^3$ A	$1,20 \cdot 10^4$ A	$8,73 \cdot 10^3$ A	$1,37 \cdot 10^6$ A	$3,78 \cdot 10^3$ A
3	K	$2,34 \cdot 10^9$ B	$3,33 \cdot 10^5$ B	$4,63 \cdot 10^5$ B	$7,48 \cdot 10^5$ B	$1,83 \cdot 10^9$ B	$4,66 \cdot 10^5$ B
	P	$7,25 \cdot 10^8$ B	$8,08 \cdot 10^4$ C	$3,03 \cdot 10^5$ C	$1,74 \cdot 10^5$ C	$3,35 \cdot 10^8$ B	$1,45 \cdot 10^5$ C
7	K	$1,68 \cdot 10^{11}$ C	$2,67 \cdot 10^8$ D	$1,60 \cdot 10^9$ D	$8,80 \cdot 10^7$ D	$1,44 \cdot 10^{11}$ C	$8,73 \cdot 10^6$ D
	P	$1,90 \cdot 10^{10}$ C	$2,42 \cdot 10^7$ E	$8,33 \cdot 10^7$ E	$8,68 \cdot 10^6$ E	$1,17 \cdot 10^{10}$ C	$1,08 \cdot 10^6$ E

A, B, C, D, E – grupy homogeniczne

Początkowa liczba bakterii kwasu mlekowego wynosiła średnio  $8,73 \cdot 10^3$  jtk/g i w trakcie przechowywania wzrosła po 3 dniach do  $7,48 \cdot 10^5$  jtk/g na mięsie bez powłoki i  $1,74 \cdot 10^5$  jtk/g na mięsie z powłoką jadalną. Po 7 dniach wynosiła już średnio  $8,8 \cdot 10^7$  jtk/g dla kontroli i  $8,68 \cdot 10^6$  jtk/g dla próbek właściwych (tab. I). Różnice w liczbie jednostek tworzących kolonie wynikające z zastosowania powłoki nie były znaczne, ale już istotne statystycznie. Do bakterii kwasu mlekowego najczęściej występujących na mięsie zalicza się przede wszystkim psychrofilne bakterie *Lactobacillus* sp. (*L. curvatus*, *L. sake*) i *Leuconostoc* sp. (*L. mesenteroides*). Są one fakultatywnymi aerobami co sprawia, że przy małej zawartości tlenu lepiej rosną (1, 16). Zastosowanie powłoki jadalnej ograniczającej dostęp tlenu mogło sprzyjać rozwojowi tej grupy drobnoustrojów.

Średnia liczba drożdży i pleśni dla mięsa niepokrytego powłoką wynosiła początkowo  $4,08 \cdot 10^3$  jtk/g. Po 3 dobach zaobserwowano wzrost liczby tych drobnoustrojów średnio do  $4,66 \cdot 10^5$  jtk/g dla próbek bez powłoki oraz  $1,45 \cdot 10^5$  jtk/g dla próbek pokrytych powłoką jadalną. Po 7 dobach poziom zanieczyszczenia wynosił średnio  $8,73 \cdot 10^6$  jtk/g dla kontroli oraz  $1,08 \cdot 10^6$  jtk/g dla próbek właściwych (tab. I). W przeprowadzonym badaniu nie stwierdzono obecności pleśni.

Początkowa średnia liczba mikroorganizmów psychrofilnych (tab. I) wynosiła  $1,47 \cdot 10^6$  jtk/g. Po 3 dobach liczba ta wzrosła do  $1,83 \cdot 10^9$  jtk/g dla kontroli i  $3,35 \cdot 10^8$  jtk/g dla próbki właściwej, a po 7 dobach ukształtowała się na poziomie  $1,44 \cdot 10^{11}$  jtk/g dla mięsa bez powłoki i  $1,17 \cdot 10^{10}$  jtk/g dla próbek z powłoką jadalną. Wśród rodzimej mikroflory mięsa znaczna część to psychrofile i psychrotrofy, które posiadają uwarunkowaną genetycznie zdolność aklimatyzacji do niskiej temperatury otoczenia. Potwierdzają to uzyskane wyniki, z których widać, że liczba psychrofilii była zbliżona do liczby ogólnej drobnoustrojów. Pozwala to stwierdzić, iż zdecydowana większość mikroflory obecnej na mięsie preferuje niską temperaturę, bądź posiada zdolność przystosowania się do warunków chłodniczych. Jest szczególnie widoczne w przypadku bakterii grupy *coli* oraz enterokoków.

W przypadku mikroorganizmów psychrofilnych nie zaobserwowano istotnego statystycznie wpływu obecności powłoki na stopień redukcji tej grupy drobnoustrojów. *Bystroń* i współpr. (1) podają, że bakterie z rodzajów *Pseudomonas* i *Lactobacillus* najczęściej odpowiadają za psucie się mięsa i jego przetworów. Z kolei *Kreyenschmidt* i współpr. (13) wskazują obok *Pseudomonas* sp. na bakterie przynależne do rodziny *Enterobacteriaceae*, jako zyskujące na znaczeniu w warunkach chłodniczych. Jednakże wzrost bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* jest znacznie wolniejszy niż psychrofilnej mikroflory, co potwierdzają uzyskane wyniki (tab. I). Biorąc zatem pod uwagę wyniki uzyskane dla pozostałych oznaczanych grup mikroorganizmów można stwierdzić, że rozwój typowych psychrofilii nie jest hamowany przez powłokę jadalną.

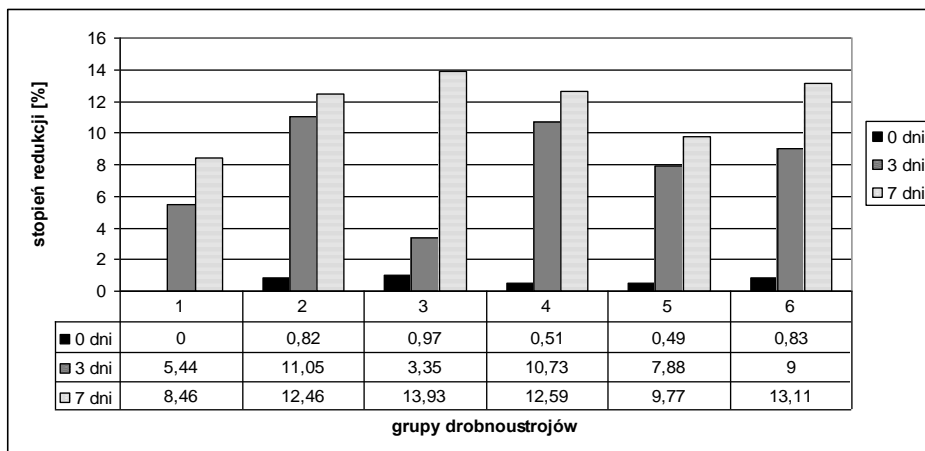
Zanurzanie kostek mięsa w roztworze emulsji mogłoby sugerować pytanie, czy sam proces nanoszenia powłoki nie zmywa mikroorganizmów z powierzchni mięsa. Taka sytuacja mogłaby mieć wpływ na uzyskane wyniki dla kolejnych badań po 3 i 7 dniach przechowywania.

Na ryc. 1 przedstawiono procentowy stopień redukcji liczby drobnoustrojów wobec próby kontrolnej, którą była próbka mięsa bez powłoki. Przed rozpoczęciem przechowywania próbek sprawdzono początkowy stopień zanieczyszczenia mięsa, do którego odniesiono wyniki uzyskane po 3 i 7 dobie przechowywania próbek w warunkach chłodniczych. Wykonując posiew z próbek pokrytych powłoką w czasie „0” dowiedziono, że sam proces nanoszenia powłoki nie wpływa istotnie na stopień redukcji drobnoustrojów obecnych na powierzchni mięsa.

Zastosowana powłoka najskuteczniej zahamowała wzrost enterokoków (ok. 14%), drożdży (13,11%), bakterii kwasu mlekowego (ok. 12,6%) oraz bakterii z grupy coli (ok. 12,5%) i jest porównywalnie skuteczna po 3 i 7 dobach, z wyjątkiem enterokoków (tylko 3,35% po 3 dniach prowadzenia badań). Najmniejszą skuteczność uzyskano w stosunku do ogólnej liczby drobnoustrojów (8,46%) oraz do psychrofilii (9,77 %).

Wyniki uzyskane w czasie zerowym są stosunkowo wysokie, co potwierdza słuszność podjęcia tematu higieny mięsa oferowanego z za lada. Do badania wybrano powłokę, której dwa główne składniki to izolat białka sojowego oraz pullulan. Powłoka ta sprawdziła się jako bardzo dobre opakowanie do przechowywania owoców kiwi, znacznie wydłużając ich trwałość (5). Jednak w

przypadku owoców nie badano wpływu obecności powłoki na rozwój mikroflory, a jedynie zmiany w szybkości ich dojrzewania. Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że powłoki jadalne po dopracowaniu składu mogą być alternatywą dla tradycyjnych metod pakowania i wykazywać większą skuteczność w hamowaniu wzrostu drobnoustrojów.



Ryc. 1. Stopień redukcji liczby drobnoustrojów na próbkach mięsa w wyniku zastosowania powłoki jadalnej [%].

Fig. 1. Microorganisms count reduction degree on meat samples as a results of edible coatings [%].

## WNIOSKI

1. Sposób nanoszenia powłoki przez zanurzenie próbek w roztworze emulsji nie wpływa istotnie na obniżenie początkowej liczby drobnoustrojów.

2. Zastosowana powłoka jadalna miała statystycznie istotny wpływ na stopień redukcji liczby enterokoków, bakterii grupy coli, bakterii kwasu mlekowego oraz drożdży i ograniczyła ich rozwój o 1 do 2 cykli logarytmicznych.

3. Badana powłoka okazała się mało skuteczna w ograniczeniu liczby drobnoustrojów psychrofilnych, które miały dogodne warunki rozwoju podczas przechowywania w temperaturze chłodniczej.

A. Chlebowska – Śmigiel, M. Gniewosz, B. Sadło

AN ATTEMPT TO APPLY AN EDIBLE COATING TO PROLONG MICROBIOLOGICAL  
DURABILITY OF PORK MEAT

Summary

The influence of edible coating, based on pullulan, soy protein isolate and stearic acid, on microbiological changes in pork meat was research. Samples of meat, covered and uncovered, were stored for 7 days at refrigerator temperature. The edible coating used significantly limited growth of enterococci, lactic acid bacteria, coliforms bacteria and yeasts.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bystron J., Kosek-Paszkowska K., Molenda J.*: Wpływ warunków środowiskowych na psucie się mięsa. *Życie Wet.*, 2002; 9 (77): 478-480.- 2. *Rywotycki R.*: Wpływ mikroflory na psucie się mięsa. *Aura*, 2001; 8 (29): 29-31.- 3. *Piepiórka J., Wojtasik-Kalinowska I.*: Higiena personelu w produkcji żywności. *Przem. Spoż.*, 2010; 2 (64): 37 – 40. – 4. *Chlebowska – Śmigiel A., Gniewosz M.*: Effect of pullulan coating on inhibition of chosen microorganisms' growth. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2009; 8 (3): 37-46.- 5. *Xu S., Chen X., Sun D.*: Preservation of kiwifruit coated with an edible film at ambient temperature. *J. Food Engin.*, 2001; 50: 211-216.- 6. *Chlebowska-Śmigiel A., Gniewosz M.*: Wpływ jadalnej powłoki pullulanowej na ograniczenie zmian sensorycznych i fizykochemicznych zachodzących w orzechach laskowych podczas ich przechowywania. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 2009; XLII (3): 420-425.- 7. PN-EN ISO 4833: 2004: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.- 8. PN-ISO 21527-1:2009: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni.- 9. PN-ISO 4832:2007: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii grupy coli.- 10. Polska Norma PN-A 82055-7:1997: Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Wykrywanie obecności i oznaczanie liczby enterokoków.  
11. PN-EN ISO 15214:2002: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej.- 12. PN-ISO 17410:2004: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.- 13. *Kreyenschmidt J., Lohmeyer K., Stahl N.*: Charakterisierung des Verderbs von Frischfleisch. *Fleischwirtschaft*, 2002; 10 (82): 108-111.- 14. *Zaleski S.J.*: Mikrobiologia żywności pochodzenia zwierzęcego. Wyd. WNT, Warszawa, 1985; 255-257.- 15. *Keeratipibul S., Oupaichit T., Techaruwichit P.*: Contamination profiles of *Escherichia coli* and enterococci in steamed chicken meat products. *J. Food Prot.*, 2009; 9 (72): 1821-1829.- 16. *Nychas G.J.E., Skandamis P.N., Tassou C.C., Koutsoumanis K.P.*: Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 2008; 78: 77-89.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.