

MAGDALENA MICHALCZYK, KAMIŁA NOWACZEK

## JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA WARZYW MAŁO PRZETWORZONYCH OFEROWANYCH W SKLEPACH MAŁOPOLSKI

### Streszczenie

W pracy oceniono stopień zanieczyszczenia mikrobiologicznego warzyw mało przetworzonych przeznaczonych do sałatek, zakupionych w sklepach na terenie Małopolski. Badany asortyment stanowiło 16 produktów, w skład których wchodziły wyplukane i rozdrobnione warzywa liściowe, marchew i mieszanki różnych warzyw. Próby oceniane w wybranych dniach ich okresu przydatności do spożycia pochodziły od pięciu producentów. Oznaczono ogólną liczbę bakterii, liczbę drożdży i pleśni, bakterii z grupy coli oraz wykonano analizę na obecność *Salmonella* i *Listeria monocytogenes*. Ogólna liczba bakterii w próbach była na poziomie od  $10^6$  do  $10^8$  jtk/g, przy czym w 9 produktach, z 16 badanych, wynosiła  $10^8$  jtk/g. Liczba drożdży i pleśni mieściła się w zakresie od  $10^3$  do  $10^6$  jtk/g. Najbardziej prawdopodobną liczbę bakterii z grupy coli (NPL) oznaczono na poziomie od <3 do >1100. Bakterii *Salmonella* i *Listeria monocytogenes* nie wykryto w żadnej z badanych prób.

**Słowa kluczowe:** warzywa mało przetworzone (RTU), jakość mikrobiologiczna, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*

### Wprowadzenie

Wzrastające zapotrzebowanie konsumentów na warzywa mało przetworzone do sałatek powoduje poszerzenie dostępnego w sklepach asortymentu tych wyrobów. W ich skład wchodzi umyte i pokrojone różne gatunki sałat, marchew, buraki, ogórki, cebula, kapusta i inne. Czasami do opakowania dołączona jest saszetka z sosem lub dodatki typu ser. Przygotowanie surowca może również ograniczyć się jedynie do jego umycia i obrania. Zalecany przez producentów czas przechowywania w warunkach chłodniczych wynosi zwykle od 5 (pokrojone mieszanki warzywne) do 10 dni (obrana, niekrojona marchew). Gotowy produkt pakowany jest często w atmosferze modyfikowanej lub próżniowo. Skład i ilość mikroflory surowca zależna jest od jego gatunku, kultury agrotechnicznej, sposobu zbioru oraz warunków transportu. W późniejszym procesie przetwórczym na zanieczyszczenie mikrobiologiczne wpływ ma jakość wody stosowanej do płukania, obecność w niej dodatków, takich jak: chlor,

kwas cytrynowy lub askorbinowy, dokładność usunięcia wody oraz uwolnionych z warzyw soków tkankowych, metody i materiały opakowaniowe oraz temperatura przechowywania gotowego produktu [20].

Za dominującą mikroflorę gotowych do spożycia warzyw uważa się Gram ujemne pałeczki, głównie *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.*, *Erwinia spp.*, *Xanthomonas spp.*, *Janthinobacterium spp.*, bakterie fermentacji mlekowej i drożdże [7]. Z bakterii chorobotwórczych, które mogą znaleźć się w takich produktach, wymieniane są: *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus* [4, 7, 13]. W pracach poświęconych ograniczaniu ryzyka związanego z obecnością patogenów i poprawianiu jakości gotowych do spożycia warzyw mało przetworzonych zwraca się uwagę na dodatek środków dezynfekujących do mycia [14, 20], możliwość stosowania wybranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej [19, 23], zakwaszenie środowiska [12] oraz pakowanie w atmosferze modyfikowanej [2, 9, 10, 23]. Wśród tych technik znalazła się także umiarkowana obróbka cieplna [11] oraz traktowanie surowców chloranem (I) otrzymanym w wyniku elektrolizy wodnego roztworu NaCl [5, 8].

Półprodukty do sałatek stanowią z jednej strony duże udogodnienie i szansę na wprowadzenie większej ilości warzyw do jadłospisu, z drugiej jednak, zarówno ich wartość odżywcza, jak i jakość mikrobiologiczna mogą zaprzeczać wizerunkowi żywności korzystnej dla zdrowia. Stąd celem pracy była ocena stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego warzyw mało przetworzonych, stanowiących półprodukty do sałatek, dostępnych w sklepach na terenie Małopolski.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły produkty pochodzące od 5 producentów, analizowane w wybranych dniach ich okresu przydatności do spożycia, zakupione w sklepach na terenie Małopolski. Oceniono 16 partii wyrobów scharakteryzowanych w tab. 1, pobierając po 3 opakowania każdego z produktów. Składnikami mieszanek warzyw liściowych były różne gatunki sałaty, cykorii i endywia. Mieszanki warzyw zawierały kapustę, ogórki, marchew, paprykę i pory.

Ogólną liczbę bakterii oznaczano na podłożu PCA firmy Merck, inkubując próby w temp. 30°C przez 72 godz. [3]. Liczbę bakterii z grupy coli oznaczano metodą najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) poprzez posiewy rozcieńczonego materiału do trzech rzędów probówek zawierających podłoże z zielenią brylantową i żółcią (BGLB), prowadząc inkubację w temp. 30°C przez 24-48 godz. [15]. Drożdże i pleśnie izolowano stosując posiewy na agar maltozowy (Oxoid) o pH 3,5 i 4-dniową inkubację w temp. pokojowej ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) [21]. *Listeria monocytogenes* izolowano zgodnie z metodą opracowaną przez firmę Merck [6]. Do analiz pobierano po 25 g produktu,

stosując dwustopniowe namnażanie w bulionie selektywnym Frazera i przesiew na stałe podłoże różnicujące Oxford.

Dalsze postępowanie identyfikacyjne obejmowało oznaczanie charakterystycznego wzrostu na podłożu półpłynnym w słupku, wykonanie preparatu mikroskopowego barwionego metodą Grama oraz szeregu testów biochemicznych. Testy te obejmowały oznaczenie aktywności katalazy, ureazy, wykorzystanie cytrynianu, produkcję indolu, reakcję M-R i V-P, redukcję azotanów(V), produkcję beta-hemolazy oraz zdolność rozkładu eskuliny, glukozy, maltozy, ramnozy i mannitolu [6].

Bakterie z rodzaju *Salmonella* oznaczano zgodnie z Polską Normą [16] wstępnie namnażając 25 g próbki w wodzie peptonowej w temp. 37°C przez 20 godz. Następnie wykonywano przesiewy do podłoża SF z cystyną i BGA, z którego wybierano charakterystyczne kolonie i poddawano je podstawowym testom biochemicznym.

### Wyniki i dyskusja

Zgodnie z kryteriami rekomendowanymi w Niemczech [7], ogólna liczba bakterii w gotowych mieszankach warzyw sałatkowych nie powinna przekraczać  $5 \times 10^7$  jtk/g. Podobne kryteria przyjęto również we Francji [7]. W dziesięciu z szesnastu badanych prób liczba ta została przekroczona (tab. 1), przy czym w dziewięciu przypadkach była na poziomie  $10^8$  jtk/g. Podobnie wysokie wartości tego wyróżnika ( $10^6 - 10^8$  jtk/g) stwierdzili Pingulkar i wsp. [13] w gotowych do spożycia sałatkach pochodzących z indyjskich restauracji, a nieco niższe, Torriani i Massa [22] w próbach szatkowanej marchwi pochodzącej od 4 różnych producentów (do  $1,4 \times 10^7$  jtk/g).

Stwierdzono korzystny wpływ stosowania atmosfery modyfikowanej w porównaniu z powietrzem na zmniejszenie ogólnej liczby badanych drobnoustrojów (tab. 1). W dostępnej literaturze również przeważają wyniki potwierdzające celowość stosowania atmosfery modyfikowanej, chociaż uzyskiwane przez poszczególnych badaczy rezultaty nie zawsze są jednoznaczne i zależą nie tylko od składu stosowanych mieszanek, ale m.in. również od temperatury składowania wyrobów [2, 9, 10]. Zwraca się też uwagę na możliwość rozwoju w tak zapakowanych produktach *Listeria monocytogenes* i *Aeromonas hydrophila* oraz na minimalizowanie tych zagrożeń np. poprzez inokulację warzyw wybranymi szczepami bakterii kwasu mlekowego [23]. Również w przypadku drożdży i pleśni obecnych w analizowanych w tej pracy półproduktach najwyższą ich liczbę stwierdzono w warzywach przechowywanych w normalnej atmosferze, jednak ogólnie liczba tych drobnoustrojów w porównaniu z danymi literaturowymi nie była bardzo wysoka [13]. Podobnie w przypadku bakterii z grupy coli, które w dużej części prób przekraczały

Tabela 1

Charakterystyka badanych warzyw mało przetworzonych do sałatek.  
Characteristic of analysed RTU salad vegetables.

Numer próby No. of sample	Skład produktu Product composition	Liczba dni do końca terminu przydatności Days to the end of product shelf-life	Sposób pakowania Type of package	Ogólna liczba bakterii [jtk/g] Total bacteria plate count [cfu/g]	Bakterie coli (NPL) Coli form bacteria (MPN)	Drożdże i pleśń [jtk/g] Yeast and mould [cfu/g]
1	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA**	$3,5 \times 10^8 \pm 2,8 \times 10^7$ ***	>1100	$2,3 \times 10^4 \pm 1,5 \times 10^4$
2	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA	$1,2 \times 10^7 \pm 9,6 \times 10^6$	>1100	$2,4 \times 10^4 \pm 7,8 \times 10^3$
3	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	1	MA	$4,7 \times 10^7 \pm 4,6 \times 10^7$	965	$1,3 \times 10^4 \pm 1,4 \times 10^3$
4	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA	$4,0 \times 10^6 \pm 7,1 \times 10^5$	<3	$4,0 \times 10^4 \pm 4,5 \times 10^4$
5	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA	$9,5 \times 10^6 \pm 8,5 \times 10^5$	445	$1,7 \times 10^4 \pm 7,1 \times 10^3$
5**	jw. As above	1	MA	$3,5 \times 10^8 \pm 2,2 \times 10^8$	>1100	$3,1 \times 10^4 \pm 1,7 \times 10^4$
6	Mieszanka warzyw liściowych Leaf vegetables mix	2	MA	$1,9 \times 10^6 \pm 3,2 \times 10^5$	5,5	$4,0 \times 10^3 \pm 3,7 \times 10^3$
7	Mieszanka warzyw Vegetables mix	0	MA	$1,5 \times 10^8 \pm 2,8 \times 10^7$	>1100	$2,6 \times 10^4 \pm 2,3 \times 10^4$

8	Mieszanka warzyw Vegetables mix	1	Powietrze Air	$5,5 \times 10^8 \pm 6,4 \times 10^8$	>1100	$1,2 \times 10^6 \pm 8,6 \times 10^5$
8'	jw. As above	2	Powietrze Air	$3,5 \times 10^8 \pm 1,3 \times 10^8$	>1100	$3,3 \times 10^4 \pm 2,8 \times 10^4$
9	Szatkowana marchew Shredded carrot	4	Próżnia Vacuum	$2,5 \times 10^7 \pm 2,1 \times 10^7$	121	$3,0 \times 10^4 \pm 1,5 \times 10^4$
10	Szatkowana marchew, przyprawy Shredded carrot, spice	4	Powietrze Air	$2,7 \times 10^8 \pm 3,5 \times 10^7$	1100	$2,5 \times 10^5 \pm 1,4 \times 10^5$
11	Szatkowana marchew, rodzynki Shredded carrot, raisins	0	Powietrze Air	$1,3 \times 10^8 \pm 3,5 \times 10^7$	151	$1,0 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^5$
11'	jw. As above	0	Powietrze Air	$3,0 \times 10^8 \pm 2,8 \times 10^8$	36	$1,0 \times 10^6 \pm 1,0 \times 10^5$
12	Obrana marchew Peeled carrot	5	MA	$7,0 \times 10^7 \pm 1,4 \times 10^7$	>1100	$4,8 \times 10^3 \pm 2,6 \times 10^3$
12'	jw. As above	2	MA	$1,1 \times 10^8 \pm 7,6 \times 10^7$	>1100	$1,0 \times 10^6 \pm 2,2 \times 10^5$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\* inna partia tego samego sortymentu produktu / another batch of the same product assortment;

\*\* atmosfera modyfikowana / modified atmosphere;

\*\*\* odchylenie standardowe / standard deviation.

dopuszczalną przez francuskie zalecenia liczbę  $10^3$  jtk/g [7], jednak nie odbiegały znacząco od wartości stwierdzanych w innych pracach [1]. W żadnym z produktów nie wykryto natomiast obecności *Salmonella spp.* czy *Listeria spp.* Sagoo i wsp. [17] podają, że w próbach gotowych do spożycia warzyw sprzedawanych na terenie Wielkiej Brytanii nie stwierdzono bakterii *Salmonella spp.*, ani *Listeria monocytogenes*, a w innym badaniu prowadzonym na terenie tego samego kraju wykryto *Salmonella* w 0,2% prób, a *L. monocytogenes* w 90 z 3852 próbek, przy czym jedynie w dwóch z nich w ilościach zagrażających zdrowiu konsumentów [18].

### Wnioski

1. W analizowanych warzywach mało przetworzonych nie wykryto obecności *Listeria monocytogenes* i *Salmonella spp.*.
2. Jakość mikrobiologiczna 2/3 ocenianych prób była na niskim poziomie i pod względem ogólnego zanieczyszczenia mikrobiologicznego przekraczała wartości standardów francuskich i niemieckich – polskich standardów dotychczas nie ustanowiono.
3. Uzyskane wyniki sugerują potrzebę zwrócenia większej uwagi na zachowanie wysokich kryteriów jakościowych surowca oraz wyrobu gotowego w trakcie jego produkcji i przechowywania.

### Literatura

- [1] Albrecht J.A., Hamouz F.L., Sumner S.S., Melch V.: Microbial evaluation of vegetable ingredients in salad bars. J. Food Prot., 1995, **58** (6), 683-685.
- [2] Allende A., Jacxsens L., Devlieghere F., Debevere J., Artes F.: Effect of superatmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salads. J. Food Prot., 2002, **65** (10), 1565-1573.
- [3] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: Mikrobiologia żywności. PZWL. Warszawa 1983.
- [4] Burnett S.L., Beuchat L.R.: Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2000, **25**, 281-287.
- [5] Deza M.A., Araujo M., Garrido M.J.: Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water. Let. Appl. Microbiol., 2003, **37**, 482-487.
- [6] Diagram of Procedure acc. To ISO/CD draft 11290 and Methode de Routine AFNOR V08-055 Detection of *Listeria monocytogenes*.
- [7] Francis G.A., Thomas C., O'Beirne D.: The microbiological safety of minimally processed vegetables. Int. J. Food Sci. Technol., 1999, **34** (1), 1-22.
- [8] Izumi H.: Electrolyzed water as disinfectant for fresh-cut vegetables. J. Food Sci., 1999, **64** (3), 536-539.
- [9] Kokkoni K., Tassou Ch., Nychas G-J.: Microbiological, physicochemical and organoleptic changes of shredded carrots stored under modified storage. Int. J. Food Sci. Technol., 1996, **31**, 359-366.
- [10] Koseki S., Itoh K.: Effect of nitrogen gas packaging on the quality and microbial growth of fresh-cut vegetables under low temperatures. J. Food Prot., 2002, **65** (2), 362-332.

- [11] Mayer-Miebach E., Gaertner U., Grossmann B., Wolf W., Spiess W.E.L.: Influence of low temperature blanching on the content of valuable substances and sensory properties in ready to use salads. *J. Food Eng.*, 2003, **56 (2/3)**, 215-217.
- [12] Nguyen-the Ch., Halna-du-Frétay B., Abreu da Silva A.: The microbiology of mixed salad containing raw and cooked ingredients without dressing. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1996, **31**, 481-487.
- [13] Pingulkar K., Kamat A., Bongirwar D.: Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: an evidence of inhibition of *Listeria monocytogenes* in tomatoes. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2001, **52**, 15-23.
- [14] Pirovani M.E., Guemes D.R., Pentima J.H. di, Tessi M.A.: Survival of *Salmonella* hadar after washing disinfection of minimally processed spinach. *Let. Appl. Microbiol.*, 2000, **31(2)**, 143-148.
- [15] PN-93 A-86034/08:1993. Bakterie z grupy coli – wykrywanie obecności, oznaczanie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) i oznaczanie liczby metodą płytkową.
- [16] PN-A-82055-8:1994. Badania mikrobiologiczne Wykrywanie obecności pałeczek z rodzaju *Salmonella*.
- [17] Sagoo S.K., Little C.L., Mitchell R.T.: The microbiological examination of ready-to-eat organic vegetables from retail establishments in the United Kingdom. *Let. Appl. Microbiol.*, 2001, **33**, 434-439.
- [18] Sagoo S.K., Little C.L., Ward L., Gillespie I.A., Mitchell R.T.: Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of Salmonellosis. *J. Food Prot.*, 2003, **66 (3)**, 403-409.
- [19] Scolari G., Vescovo M.: Microbial antagonism of *Lactobacillus casei* added to fresh vegetables. *Italian J. Food Sci.*, 2004, **16 (4)**, 465-475.
- [20] Sinigaglia M., Albenzio M., Corbo M.R.: Influence of process operations on shelf-life and microbial population of fresh-cut vegetables. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, **23 (6)**, 484-488.
- [21] The oxid manual of culture media, ingredients and other laboratory services. Third Edition. Published by Oxoid Limited, Hampshire 1976.
- [22] Torriani S., Massa S.: Bacteriological survey on ready-to-use sliced carrots. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1994, **27 (5)**, 487-490.
- [23] Vescovo M., Scolari G., Orsi C., Sinigaglia M., Torriani S.: Combined effects of *Lactobacillus casei* inoculum, modified atmosphere packaging and storage temperature in controlling *Aeromonas hydrophila* in ready to use vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1997, **32 (5)**, 411-419.

#### MICROBIAL QUALITY OF READY-TO-USE VEGETABLE SOLD IN MALOPOLSKA REGION

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

In this study the level of microbiological contamination of ready-to-use salad vegetables was evaluated. Sixteen products composed from rinsed and shredded lettuce, carrot and various mixed vegetables purchased in supermarkets from Malopolska region were investigated. Samples, coming from five producers, were examined at different times of their shelf-life. The following analysis were performed: total bacteria plate count, yeasts and moulds, coliforms as well as *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* presence. Total bacteria plate count of investigated samples ranged from  $10^6$  to  $10^8$  cfu/g and the last value was determined in 9 from 16 samples. Yeast and mould amount was between  $10^3$  and  $10^6$  cfu/g. Most probable number (MPN) of coliforms was at a level from <3 to >1100. Neither *Salmonella* nor *Listeria monocytogenes* bacteria were detected in analysed material.

---

**Key words:** RTU salad vegetables, microbiological quality, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* ✕