Jakość mikrobiologiczna mięsa wołowego przechowywanego w różnych warunkach modyfikowanej atmosfery

KATARZYNA ŚMIECIŃSKA

Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Wydział Bioinżynierii Zwierząt,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

Otrzymano 31.05.2020

Zaakceptowano 05.08.2020

Śmiecińska K.

Microbiological quality of beef stored under different modified atmospheres

Summary

The aim of this study was to analyze changes in the microbiological quality of *Longissimus lumborum* (LL) muscles collected from young Polish Holstein-Friesian Black-and-White (PHF BW) bulls and stored for 7, 14, and 21 days under different modified atmospheres (MA) (vacuum, 80% O₂ + 20% CO₂, 60% O₂ + 30% CO₂ + 10% N₂, 40% CO₂ + 60% N₂, 30% CO₂ + 70% Ar). Before and after the specified storage periods, cross-sectional samples of the LL muscle were collected under aseptic conditions to determine total microbial counts, and the total counts of psychrotrophic bacteria and mesophilic lactic acid bacteria. The effects of storage time and MA composition on changes in the parameters analyzed were evaluated, and the effectiveness of argon in delaying microbial growth in cold-stored beef was determined.

Between days 7 and 14 of storage, total microbial counts were lowest in meat packaged under the MA composed of 30% CO₂ + 70% Ar, whereas between days 14 and 21 they were lowest in both MA packages containing O₂. The greatest increase in total microbial counts between days 7 and 14 of storage was noted in the MAs containing O₂, and between days 14 and 21 of storage in the MA containing Ar. Beef stored for 7 days in the MA containing 60% O₂ was characterized by the lowest total microbial counts, whereas the highest total microbial counts were noted in samples stored for 14 days in the MA containing 80% O₂. Between days 7 and 14 of storage, the counts of psychrotrophic bacteria increased significantly in all MAs. Between days 14 and 21 of storage, the counts of psychrotrophic bacteria did not increase in meat samples packaged under vacuum or the MA composed of 80% O₂ + 20% CO₂. The counts of psychrotrophs were significantly lower in beef stored for 7 days in the oxygen-free MAs than they were in both MA packages containing O₂. The counts of psychrotrophic bacteria were significantly lower in beef stored for 14 days in the MA containing Ar, compared with samples packaged under vacuum and the MA containing 80% O₂. Gas composition in MA packaging had no significant effect on total microbial counts or the counts of psychrotrophic bacteria in meat stored for 21 days. Between days 14 and 21 of storage, the counts of lactic acid bacteria did not increase significantly only in meat packaged in the MAs composed of 60% O₂ + 30% CO₂ + 10% N₂ and 40% CO₂ + 60% N₂. After 7 days of storage, the counts of lactic acid bacteria were higher in beef packaged in oxygen-free MAs than they were in both MA packages containing O₂. After 14 days of storage, the counts of lactic acid bacteria were higher in meat packaged in the MA composed of 80% O₂ + 20% CO₂ than they were in the other MAs. Beef samples stored for 21 days under the MA composed of 80% O₂ + 20% CO₂ were characterized by significantly lower counts of lactic acid bacteria, compared with samples stored under the other MAs, except for the MA composed of 40% CO₂ + 60% N₂.

It can be concluded that beef can be stored in the MA composed of 30% CO₂ + 70% Ar for shorter periods of time (up to 14 days). The modified atmosphere composed of 30% CO₂ + 70% Ar contributed to slower microbial growth in meat and resulted in lower counts of psychrotrophs and lactic acid bacteria, relative to the other samples. However, there is a need for further research on different concentrations of argon in MA packages to confirm that this gas can effectively delay microbial growth in beef. Meat stored for 14 days in the MA composed of 80% O₂ + 20% CO₂ was characterized by the lowest microbiological quality. The composition of MAs had a minor influence on the growth rates of the microbial groups analyzed in beef stored for 21 days; certain changes were observed only in the counts of lactic acid bacteria.

Keywords: lactic acid bacteria, psychrotrophs, beef, modified atmosphere

Mięso należy do grupy artykułów żywnościowych o ograniczonej trwałości, tzn. jest podatne na naturalne, ciągłe i z reguły nieodwracalne przemiany fizyczne, chemiczne, biochemiczne i mikrobiologiczne. Podatność mięsa na psucie wynika przede wszystkim z dużej zawartości w nim wody oraz innych składników, tj. białka, tłuszczu, węglowodanów i składników mineralnych, co czyni je doskonałą pożywką dla niepożądanego mikroflory. Efektem niekorzystnych zmian, związanych z rozwojem mikroflory jest pogorszenie właściwości funkcjonalnych, sensorycznych oraz wartości odżywczej mięsa (29). Charakter zachodzących zmian mikrobiologicznych w pełni uzależniony jest od surowca i zastosowanej technologii utrwalania. Jedną z metod przedłużania trwałości mięsa jest przechowywanie chłodnicze. Niestety, czas przechowywania mięsa w warunkach chłodniczych jest ograniczony, m.in. ze względu na postępujące w nim zmiany mikrobiologiczne.

Przechowywanie chłodnicze mięsa może odbywać się w atmosferze ochronnej, o zmienionym składzie procentowym w stosunku do powietrza atmosferycznego. Jednym z głównych celów jej stosowania jest przede wszystkim kontrola procesów związanych ze wzrostem mikroorganizmów (15). Najczęściej do pakowania mięsa i wyrobów mięsnych stosowane są dwie metody modyfikowania atmosfery gazowej (MA – Modified Atmosphere): pakowanie próżniowe i pakowanie z gazem obojętnym dla produktów żywnościowych.

Niewątpliwą zaletą pakowania próżniowego jest hamowanie rozwoju mikroorganizmów, zwłaszcza szczepów bakterii *Pseudomonas*, odpowiedzialnych w dużej mierze za psucie się mięsa schłodzonego (12, 16). W przypadku tego rodzaju opakowania istotna jest wartość pH przechowywanego mięsa. W mięsie o wysokim pH, które jest bardziej podatne na niekorzystne zmiany mikrobiologiczne, istnieje niebezpieczeństwo powstawania barwników zielonych (sulfmoglobin i cholemioglobin), nawet po upływie krótkiego czasu przechowywania.

Tlen jest gazem, którego obecność podczas pakowania wielu produktów nie jest pożądana. Obserwacje jakości mikrobiologicznej mięsa jednoznacznie wskazują, że wzrost stężenia O_2 przyspiesza wzrost mikroorganizmów tlenowych, opóźniając jednocześnie namnażanie się „beztlenowców” (2, 3), jednak odgrywa on także ważną rolę w pakowaniu w MA mięsa czerwonego, polegającą na utrzymaniu odpowiedniej barwy (10).

Dwutlenek węgla odznacza się silnymi właściwościami inhibitującymi rozwój bakterii, zwłaszcza Gram-ujemnych, pleśni oraz drożdży. Mniej wrażliwe na działanie CO_2 są natomiast bakterie kwasu mlekowego. Właściwości bakteriostatyczne CO_2 zależą od jego stężenia w opakowaniu, początkowej ilości drobnoustrojów w produkcie oraz temperatury przechowywania i rodzaju produktu (29). Mullan i McDowell

(13) stwierdzili, że właściwości bakteriostatyczne dwutlenku węgla są większe w produktach przechowywanych w temperaturze maksymalnie do $10^{\circ}C$ w porównaniu z przechowywanymi w temperaturze wyższej niż $15^{\circ}C$. Jest to spowodowane zwiększoną rozpuszczalnością tego gazu w niższej temperaturze (8). Penetrując biologiczne membrany i uszkadzając błony komórkowe bakterii oraz wchodząc w połączenia z enzymami drobnoustrojów, CO_2 prowadzi do ich inaktywacji (11).

Azot przy pakowaniu w MA spełnia funkcję obojętnego wypełniacza oraz zabezpieczenia przed zapadnięciem się opakowania, spowodowanego spadkiem ciśnienia CO_2 podczas jego rozpuszczania się w fazie wodnej produktu (1). Azot nie działa inhibitująco na rozwój mikroorganizmów i nie ma bezpośredniego wpływu na trwałość zapakowanego produktu. Wykorzystanie N_2 do „omywania” produktu w opakowaniu, przed wypełnieniem mieszaniną gazów i zamknięciem, zapewnia maksymalnie możliwe usunięcie resztek O_2 , co przeciwdziała rozwojowi bakterii aerobowych oraz ogranicza zmiany oksydacyjne tłuszczów (26).

Niewiele jest wyników badań dotyczących wykorzystania do pakowania mięsa argonu (Ar), który zgodnie z dyrektywą Parlamentu Europejskiego (4) jest dopuszczony do kontaktu z żywnością. Argon jest gazem szlachetnym, obojętnym, bezwonny i bez smaku, trudno przenikającym przez opakowanie. Wyniki dostępnych, nielicznych badań wskazują, że mieszanki gazowe składające się z Ar i CO_2 są bardziej skuteczne w opóźnianiu rozwoju mikroflory w czasie chłodniczego przechowywania w porównaniu z mieszaninami N_2 i CO_2 (6, 17). Potwierdzenie pozytywnego wpływu Ar na jakość mikrobiologiczną mięsa wymaga dalszych badań, ponieważ dotychczasowe przeprowadzono głównie na mięsie drobiowym (6, 27).

Celem podjętych badań było określenie zmian jakości mikrobiologicznej mięsa wołowego w zależności od czasu chłodniczego przechowywania i składu modyfikowanej atmosfery oraz ocena skuteczności argonu w opóźnianiu rozwoju drobnoustrojów.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły tusze buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (phf cb) (10 sztuk). Buhajki były utrzymywane w jednakowych warunkach i tak samo żywione. Ubój przeprowadzono w wieku około 19 ± 1 miesięcy, zgodnie z zasadami obowiązującymi w przemyśle mięsny. Średnia masa buhajków po transporcie wynosiła 630 ± 33 kg, a średnia masa tuszy ciężkiej 330 ± 13 kg. Po obróbce poubojowej tusz (tj. po około 45 min. od momentu uboju) oraz po wychłodzeniu tusz (w temperaturze $\pm 2^{\circ}C$ przez 48 h) w celu wykluczenia z doświadczenia mięsa wadliwego, zmierzono wartość pH_{45} oraz pH_{48} mięśnia *longissimus lumborum* (LL) między 1. a 2. kręgiem lędźwiowym. W trakcie podziału tusz na elementy zasadnicze pobierano odcinki lędźwiowe pra-

Ryc. 1. Schemat podziału *musculus longissimus lumborum* (prawy – LL 1; lewy – LL 2) uwzględniający metodę pakowania (A, B, C, D, E, F) i czas przechowywania (7, 14 i 21 dni)

wego i lewego *musculus longissimus dorsi* – LD (między ostatnim i przedostatnim kręgiem piersiowym a ostatnim kręgiem lędźwiowym – *longissimus lumborum* LL), które po zważeniu pakowano próżniowo i przewożono w izotermicznych pojemnikach do laboratorium.

Bezpośrednio po przywiezieniu do laboratorium mięśnie podzielono na części o podobnej masie, z których wydzielono 6 grup: A, B, C, D, E, F (ryc. 1):

- próbki A (10 szt.) kierowano do badań bezpośrednio po ich uzyskaniu (tj. po około 54 h od uboju),
- próbki B (30 szt.) pakowano próżniowo,
- próbki C (30 szt.) pakowano w MA o składzie: 80% O₂ + 20% CO₂,
- próbki D (30 szt.) pakowano w MA o składzie: 60% O₂ + 30% CO₂ + 10% N₂,
- próbki E (30 szt.) pakowano w MA o składzie: 40% CO₂ + 60% N₂,
- próbki F (30 szt.) pakowano w MA o składzie: 30% CO₂ + 70% Ar.

Zapakowane próbki B, C, D, E, F przechowywano w szafie chłodniczej w temp. 2°C i wilgotności względnej powietrza 50% przez 7, 14 i 21 dni. Do pakowania wykorzystano woreczki (kopolimer EVOH) o podwyższonej barierowości dla gazów i pakowarkę PP15 (MGO) Tepro Vacu Tronic 2000 firmy Tepro S.A.

Próbki mięśnia LL do oceny jakości mikrobiologicznej pobierano w sposób jałowy z ich całego przekroju poprzecznego. Próbki A pobierano bezpośrednio po ich przywiezieniu do laboratorium (po około 54 h od uboju), a pozostałe próbki (B, C, D i F) bezpośrednio po otwarciu opakowania, po założonych okresach ich przechowywania. Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń

dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych przeprowadzono wg PN-EN ISO 6887-2: 2005 (19). Określano ogólną liczbę drobnoustrojów wg PN-EN ISO 4833-1: 2013-12 (18) (inkubacja w warunkach tlenowych w temp. 30°C), ogólną liczbę psychrotrofów wg PN-ISO 17410: 2004 (21) (inkubacja w temp. 6,5°C) oraz ogólną liczbę bakterii mezofilnych fermentacji mlekowej wg PN-ISO 15214: 2002 (20) (inkubacja w temp. 30°C). Wyniki końcowe wyrażono w postaci logarytmu

dziesiętnego jednostek tworzących kolonie w 1 g mięsa.

Uzyskane wyniki badań opracowano statystycznie w programie komputerowym Statistica, wersja 13.3 (25). Zastosowano dwu- (tab. 1) i jednoczynnikową (tab. 2-4) analizę wariancji. Statystyczną istotność różnic między średnimi grup ustalono przy zastosowaniu wielokrotnego testu rozstępu Duncan.

Wyniki i omówienie

Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych, psychrotrofowych oraz bakterii fermentacji mlekowej w mięsie przed przechowywaniem (próbki A) wynosiła, odpowiednio: $3,21 \pm 0,14$, $2,91 \pm 0,33$ i $2,46 \pm 0,24$ log₁₀ jtk/g. Uzyskane wyniki wskazują, że badane mięso charakteryzowało się stosunkowo niskimi średnimi wartościami wymienionych wskaźników i spełniało wymagania normatywne dla jakości mikrobiologicznej, stawiane mięsu przeznaczonemu do spożycia (24), co predysponowało je do długotrwałego przechowywania w warunkach chłodniczych. Również porównanie wyników badań własnych z wynikami innych autorów wskazuje na dobrą jakość mikrobiologiczną badanego mięsa. Murphy i wsp. (14) stwierdzili większą ogólną liczbę bakterii psychrotrofowych ($3,57$ log₁₀ jtk/g) oznaczanych w mięśniach wołowych LD po 1 dniu przechowywania w próżni. Owczarek-Fendor i wsp. (15) w tych samych mięśniach przed przechowywaniem wskazują zbliżoną do uzyskanej w badaniach własnych liczbę bakterii fermentacji mlekowej. Vieira i wsp. (30), badając stan zakażenia mikrobiologicznego mięśni wołowych *longissimus thoracis* (LT) stwierdzili,

Tab. 1. Jakość mikrobiologiczna (log₁₀ jtk/g) mięśnia LL buhajków rasy phf cb po przechowywaniu (w temp. 2°C) w modyfikowanej atmosferze ($\bar{x} \pm SD$)

Badany parametr	Modyfikowana atmosfera* liczba próbek					Czas przechowywania (dni) liczba próbek			Istotność interakcji
	B n = 30	C n = 30	D n = 30	E n = 30	F n = 30	7 n = 50	14 n = 50	21 n = 50	
Ogólna liczba drobnoustrojów	4,50 ^b 0,89	5,23 ^{Aa} 1,61	4,21 ^{Bb} 1,40	4,68 ^{ab} 1,03	4,91 ^a 1,25	3,40 ^x 0,60	4,98 ^y 1,03	5,74 ^z 0,87	**
Ogólna liczba drobnoustrojów psychrotrofowych	6,86 ^a 1,62	6,86 ^a 1,86	6,43 ^a 2,03	6,92 ^a 1,51	6,86 ^a 1,39	4,49 ^x 0,53	6,81 ^y 0,42	7,86 ^z 0,17	**
Ogólna liczba bakterii fermentacji mlekowej	4,02 ^a 0,95	3,89 ^a 1,40	3,79 ^a 1,36	3,91 ^a 0,90	4,02 ^a 1,07	2,60 ^x 0,46	4,40 ^y 0,69	4,98 ^z 0,72	**

Objaśnienia: * – Modyfikowana atmosfera: B – próżnia; C – 80% O₂ + 20% CO₂; D – 60% O₂ + 30% CO₂ + 10% N₂; E – 40% CO₂ + 60% N₂; F – 30% CO₂ + 70% Ar. Wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie a, b – P ≤ 0,05; A, B, X, Y, Z – P ≤ 0,01; Istotność interakcji: ** – P ≤ 0,01

w porównaniu do wyników badań własnych, zbliżoną liczbę bakterii psychrotrofowych ($2,30 \log_{10} \text{ jtk/g}$) oraz mniejszą bakterii fermentacji mlekowej ($1,99 \log_{10} \text{ jtk/g}$) oznaczanych po 3 dniach przechowywania.

W wyniku działania mikroorganizmów następuje rozpad związków organicznych mięsa do składników normalnie w nim nie spotykanych. Końcowym etapem tych zmian jest powstawanie m.in. amoniaku, siarkowodoru, amin. Aby utrzymać wysoką jakość zdrowotną i sensoryczną mięsa, konieczne jest monitorowanie zmian poubojowych pod kątem mikrobiologicznym. Szczególnie warunki przechowywania mięsa, a przede wszystkim czas przechowywania i skład MA mogą w znacznym stopniu wpłynąć zarówno na zmiany ilościowe, jak i jakościowe mikroflory bakteryjnej obecnej w mięsie (29, 26).

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono wpływ interakcji ($P \leq 0,01$) między składem MA a czasem chłodniczego przechowywania na badane parametry jakości mikrobiologicznej mięśni LL (tab. 1). Analizując wpływ czasu przechowywania na wartość ogólnej liczby drobnoustrojów stwierdzono, że najmniejszy ($P > 0,05$) ich wzrost nastąpił między 14. a 21. dniem przechowywania w obu atmosferach zawierających O_2 oraz między 7. a 14. dniem przechowywania w mieszance z Ar (tab. 2). Zdecydowanie największy wzrost ($P \leq 0,01$) drobnoustrojów zanotowano między 7. a 14. dniem przechowywania w mieszkankach z udziałem O_2 oraz między 14. a 21. dniem przechowywania w mieszance $30\% CO_2 + 70\% Ar$. W mięsie przechowywanym w próżni oraz w MA $40\% CO_2 + 60\% N_2$ wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów pomiędzy poszczególnymi okresami przechowywania także był istotny ($P \leq 0,01$). Analiza wpływu składu MA na zróżnicowanie ogólnej liczby drobnoustrojów wykazała największą ($P \leq 0,01$) ich zawartość (po 7 dniach) w mięsie przechowywanym w MA z Ar, w porównaniu do pakowanego we wszystkich pozostałych MA (tab. 1). Po 14 dniach przechowywania średnia ogólna liczba drobnoustrojów była największa ($P \leq 0,01$) w próbkach przechowywanych w mieszance $80\% O_2 + 20\% CO_2$, a w pozostałych grupach

kształtowała się na zbliżonym poziomie ($P > 0,05$). Nie stwierdzono wpływu ($P > 0,05$) składu MA na udział ogólnej liczby drobnoustrojów po 21 dniach przechowywania.

Jak podają Rodas-González i wsp. (22) oraz Zakrys-Waliwander i wsp. (31), ogólna liczba drobnoustrojów w mięsie na poziomie $7 \log_{10} \text{ jtk}$ w 1 g lub 1 cm^2 mięsa może wskazywać na jego niską jakość mikrobiologiczną, czego objawami są niepożądany zapach i barwa (11). W badaniach własnych przytoczona wartość nie została przekroczona, a stwierdzone wartości były od niej niższe.

Drobnoustroje psychrotrofowe rozwijające się w warunkach tlenowego przechowywania, ze względu na swoje silne zdolności proteolityczne i lipolityczne, przyspieszają psucie się mięsa (3). Na podstawie analizy wpływu czasu przechowywania na wartość ogólnej liczby psychrotrofów w próbkach mięśni LL stwierdzono najmniejszy ($P \leq 0,05$) ich wzrost między 14. a 21. dniem przechowywania w próżni oraz w MA o składzie $80\% O_2 + 20\% CO_2$ (tab. 3). Duży przyrost ($P \leq 0,01$)

Tab. 2. Ogólna liczba drobnoustrojów ($\log_{10} \text{ jtk/g}$) w mięśni LL buhajków rasy phf cb po przechowywaniu (w temp. 2°C) w modyfikowanej atmosferze ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

Badany parametr	Modyfikowana atmosfera liczba próbek	Czas przechowywania (dni)/liczba próbek		
		7 n = 50	14 n = 50	21 n = 50
Ogólna liczba drobnoustrojów	próżnia n = 30	3,54 ^{cy} $\pm 0,19$	4,48 ^{by} $\pm 0,24$	5,48 ^{ax} $\pm 0,62$
	80% $O_2 + 20\% CO_2$ n = 30	3,12 ^{bx} $\pm 0,42$	6,49 ^{ax} $\pm 0,14$	6,08 ^{ax} $\pm 0,81$
	60% $O_2 + 30\% CO_2 + 10\% N_2$ n = 30	2,48 ^{bx} $\pm 0,15$	4,80 ^{ay} $\pm 1,02$	5,33 ^{ax} $\pm 0,44$
	40% $CO_2 + 60\% N_2$ n = 30	3,73 ^{cy} $\pm 0,09$	4,71 ^{by} $\pm 0,94$	5,61 ^{ax} $\pm 0,75$
	30% $CO_2 + 70\% Ar$ n = 30	4,12 ^{bx} $\pm 0,06$	4,43 ^{by} $\pm 0,75$	6,17 ^{ax} $\pm 1,33$

Objaśnienia: Wartości oznaczone różnymi literami w tych samych wierszach różnią się statystycznie istotnie: A, B, C – $P \leq 0,01$; wartości oznaczone różnymi literami w tych samych kolumnach różnią się statystycznie istotnie: x, y – $P \leq 0,05$; X, Y – $P \leq 0,01$

Tab. 3. Ogólna liczba drobnoustrojów psychrotrofowych ($\log_{10} \text{ jtk/g}$) w mięśni LL buhajków rasy phf cb po przechowywaniu (w temp. 2°C) w modyfikowanej atmosferze ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

Badany parametr	Modyfikowana atmosfera liczba próbek	Czas przechowywania (dni)/liczba próbek		
		7 n = 50	14 n = 50	21 n = 50
Ogólna liczba drobnoustrojów psychrotrofowych	próżnia n = 30	4,61 ^{bx} $\pm 0,14$	8,02 ^{ax} $\pm 0,11$	7,93 ^{ax} $\pm 0,05$
	80% $O_2 + 20\% CO_2$ n = 30	4,30 ^{by} $\pm 0,40$	8,13 ^{ax} $\pm 0,18$	8,15 ^{ax} $\pm 0,18$
	60% $O_2 + 30\% CO_2 + 10\% N_2$ n = 30	3,65 ^{cy} $\pm 0,16$	7,60 ^{by} $\pm 0,51$	8,03 ^{ax} $\pm 0,20$
	40% $CO_2 + 60\% N_2$ n = 30	4,84 ^{cx} $\pm 0,10$	7,82 ^{by} $\pm 0,16$	8,11 ^{ax} $\pm 0,18$
	30% $CO_2 + 70\% Ar$ n = 30	5,02 ^{cx} $\pm 0,07$	7,48 ^{by} $\pm 0,55$	8,09 ^{ax} $\pm 0,14$

Objaśnienia: jak w tab. 2.

drobnoustrojów psychrotrofowych stwierdzono między 7. a 14. dniem przechowywania we wszystkich MA. Analiza wpływu składu MA na wartość ogólnej liczby psychrotrofów w badanym mięsie (po 7 dniach przechowywania) wykazała mniejszy ($P \leq 0,01$) ich udział w próbkach przechowywanych w MA bez udziału O_2 w porównaniu do przechowywanych w obu mieszkach zawierających O_2 . Po dwóch tygodniach przechowywania mniejszą ($P \leq 0,01$)

liczbę psychrotrofów stwierdzono w mięsie przechowywanym w mieszance z udziałem Ar w porównaniu z przechowywanym w próżni i w MA z 80% udziałem O_2 . Nie stwierdzono różnicowania ($P > 0,05$) udziału bakterii psychrotrofowych w badanym mięsie w zależności od składu MA po 21 dniach przechowywania.

Wzrost ($P \leq 0,01$) bakterii mezofilnych fermentacji mlekowej obserwowano wraz z wydłużaniem czasu chłodniczego przechowywania (tab. 4). Nie stwierdzono jedynie ich przyrostu ($P > 0,05$) między 14. a 21. dniem przechowywania w próbkach przechowywanych w mieszance 60% O_2 + 30% CO_2 + 10% N_2 oraz 40% CO_2 + 60% N_2 . Analizując wpływ składu MA na udział bakterii fermentacji mlekowej stwierdzono (po 7 dniach przechowywania) większą ($P \leq 0,01$) ich liczbę w mięsie przechowywanym w mieszkach bez udziału O_2 w porównaniu do przechowywanego w obu mieszkach zawierających O_2 . Po 14 dniach przechowywania zaobserwowano odwrotną zależność. Większą ($P \leq 0,01$) liczbę bakterii fermentacji mlekowej stwierdzono w mięsie przechowywanym w mieszance z 80% udziałem O_2 w porównaniu do przechowywanego we wszystkich pozostałych atmosferach. Natomiast próbki przechowywane przez 21 dni w mieszance 80% O_2 + 20% CO_2 charakteryzowały się mniejszą ($P \leq 0,01$) ogólną liczbą bakterii fermentacji mlekowej w porównaniu do przechowywanych we wszystkich pozostałych atmosferach, z wyjątkiem 40% CO_2 + 60% N_2 .

Jedną z podstawowych funkcji opakowania jest spowolnienie wzrostu mikroorganizmów, które przyspieszają psucie się mięsa. Namnażające się w czasie przechowywania mięsa bakterie fermentacji mlekowej w mniejszym stopniu wpływają na szybkość psucia się mięsa niż inne mikroorganizmy, ponieważ wzrastają wolno, a objawy psucia są widoczne przy bardzo wysokiej ich liczbie (32). Jednym z czynników determinujących rozwój mikroorganizmów jest obecność i stężenie O_2 w opakowaniu. Mikroorganizmy aerobowe przeważają i szybciej rozwijają się w warunkach przechowywania tlenowego niż anaerobowe, do których należą

Tab. 4. Ogólna liczba bakterii fermentacji mlekowej ($\log_{10} \text{tk/g}$) w mięśni LL buhajków rasy phf cb po przechowywaniu (w temp. 2°C) w modyfikowanej atmosferze ($\bar{x} \pm \text{SD}$)

Badany parametr	Modyfikowana atmosfera liczba próbek	Czas przechowywania (dni)/liczba próbek		
		7 n = 50	14 n = 50	21 n = 50
Ogólna liczba bakterii fermentacji mlekowej	próżnia n = 30	3,07 ^{CXx} $\pm 0,15$	3,84 ^{BYy} $\pm 0,41$	5,14 ^{Ax} $\pm 0,55$
	80% O_2 + 20% CO_2 n = 30	2,08 ^{CY} $\pm 0,34$	5,29 ^{AX} $\pm 0,05$	4,29 ^{By} $\pm 0,50$
	60% O_2 + 30% CO_2 + 10% N_2 n = 30	2,11 ^{BY} $\pm 0,18$	4,34 ^{AXy} $\pm 0,86$	4,94 ^{Ax} $\pm 0,48$
	40% CO_2 + 60% N_2 n = 30	2,89 ^{BX} $\pm 0,13$	4,36 ^{AXy} $\pm 0,52$	4,47 ^{Axy} $\pm 0,79$
	30% CO_2 + 70% Ar n = 30	2,83 ^{CXy} $\pm 0,04$	4,19 ^{BY} $\pm 0,38$	5,04 ^{Ax} $\pm 0,87$

Objaśnienia: jak w tab. 2.

bakterie fermentacji mlekowej. Wszystkie bakterie fermentacji mlekowej są beztlenowcami, niektóre z nich tolerują niewielkie stężenia tlenu w środowisku (7). W przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano wyraźnej tendencji do występowania większej liczby drobnoustrojów fermentacji mlekowej w mięsie przechowywanym w warunkach bez udziału O_2 . Rogers i wsp. (23) stwierdzili większą liczbę bakterii fermentacji mlekowej w mięsie wołowym po 20 dniach chłodniczego przechowywania w MA o składzie 80% O_2 + 20% CO_2 niż w przechowywanym w próżni oraz w mieszkach 30% CO_2 + 70% N_2 i 0,4% CO + 30% CO_2 + 69,6% N_2 . Esmer i wsp. (3) stwierdzili największą liczbę bakterii fermentacji mlekowej w mięsie wołowym przechowywanym przez 14 dni w powietrzu i w MA z 70% udziałem O_2 . Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Lorenzo i Gómez (9) próbki mięsa końskiego przechowywane przez 14 dni w MA o składzie 80% O_2 + 20% CO_2 i 30% O_2 + 70% CO_2 miały podobną liczbę bakterii fermentacji mlekowej.

W dostępnej literaturze można znaleźć informacje na temat dużej skuteczności Ar w opóźnianiu rozwoju drobnoustrojów w czasie przechowywania chłodniczego (17). Pozytywny efekt zastosowania Ar w mieszance gazowej do pakowania na jakość mikrobiologiczną wskazują wyniki badań przeprowadzonych przez Fraqueza i Barreto (6). Cytowani autorzy oceniali jakość mikrobiologiczną mięśni piersiowych indyków przechowywanych przez 25 dni w czterech różnych MA: 100% N_2 , 50% Ar + 50% N_2 , 50% Ar + 50% CO_2 , 50% N_2 + 50% CO_2 . Stwierdzili, że próbki przechowywane w MA 50% Ar + 50% CO_2 charakteryzowały się mniejszą ogólną liczbą drobnoustrojów beztlenowych, psychrotrofowych oraz bakterii *Brochothrix thermosphacta*. Tománková i wsp. (27) przechowywali mięso kurcząt przez 20 dni w mieszance 30% CO_2 + 70% Ar oraz 70% O_2 + 30% CO_2 i stwierdzili mniejszą ogólną liczbę drobnoustrojów w próbkach przechowywanych w mieszance z Ar. Bakterie fermentacji mlekowej w cytowanych badaniach wzrastały wolniej w mieszance z O_2 niż w atmosferze z Ar. W badaniach

własnych stwierdzono tendencję do mniejszego udziału ogólnej liczby drobnoustrojów oraz ogólnej liczby psychrotrofów w mięsie buhajków przechowywanym w MA o składzie 30% CO₂ + 70% Ar, jednak tylko do 14. dnia przechowywania.

Większą od stwierdzonej w badaniach własnych ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych w mięsie wołowym, przechowywanym przez 12 dni w warunkach próżni stwierdzili Vázquez i wsp. (28) (8,40 log₁₀ jtk/g). W badaniach Franco i wsp. (5) określano średnie wartości ogólnej liczby drobnoustrojów w mięsie wołowym przechowywanym przez 7, 14 i 21 dni w próżni oraz w MA o składzie 80% O₂ + 20% CO₂. Cytowani autorzy stwierdzili w próbkach przechowywanych w mieszance z O₂ po 7 i 14 dniach przechowywania ogólną liczbę drobnoustrojów na poziomie 3,0 log₁₀ jtk/g, a po 21 dniach – 4,0 log₁₀ jtk/g. Ogólna liczba drobnoustrojów w próbkach przechowywanych w próżni wynosiła 2,8 log₁₀ jtk/g, a po 14 i 21 dniach 6,27 log₁₀ jtk/g. Średnia ogólna liczba drobnoustrojów stwierdzona przez cytowanych badaczy po 21 dniach przechowywania w mieszance z O₂ była mniejsza, a w próżni większa w porównaniu ze stwierdzonymi w badaniach własnych. W badaniach Murphego i wsp. (14) określano poziom zanieczyszczenia drobnoustrojami psychrotrofowymi mięśnia wołowego LD, przechowywanego przez 14 dni w próżni (8,35 log₁₀ jtk/g) i w mieszance o składzie 80% O₂ + 20% CO₂ (8,62 log₁₀ jtk/g). Podawane przez cytowanych autorów średnie wartości tego wskaźnika były nieco wyższe od stwierdzonych w badaniach własnych dla mięsa buhajków phf cb. Zakrys-Waliwander i wsp. (31) oceniali jakość mikrobiologiczną mięsa wołowego przechowywanego przez 14 dni w MA o składzie 80% O₂ + 20% CO₂ i 50% O₂ + 30% CO₂ + 20% N₂. Ogólna liczba drobnoustrojów (odpowiednio: 6,63 log₁₀ jtk/g i 6,12 log₁₀ jtk/g) oraz ogólna liczba bakterii fermentacji mlekowej (5,31 log₁₀ jtk/g) w przytaczanych badaniach były zbliżone do stwierdzonych w badaniach własnych. Jakość mikrobiologiczna mięsa buhajków phf cb w świetle wyników cytowanego piśmiennictwa wypada korzystnie. Należy jednak mieć na uwadze fakt, że porównanie wyników badań własnych z wynikami innych autorów ze względu na różnice metodyczne (m.in. sposób obróbki poubojowej i wychładzania tusz po uboju, rodzaj opakowania, w niektórych przypadkach różny skład mieszanki gazowej, metodyka oceny jakości mikrobiologicznej) nie jest całkowicie obiektywne.

Podsumowując można stwierdzić, że do krótszego przechowywania mięsa wołowego w warunkach chłodniczych (do 14 dni) może być wykorzystana MA o składzie 30% CO₂ + 70% Ar. Przechowywanie w tej mieszance skutkowało przede wszystkim wolniejszym wzrostem ogólnej liczby drobnoustrojów oraz niewielką, w porównaniu do mięsa pozostałych grup, liczbą psychrotrofów i bakterii fermentacji mlekowej. Na podstawie uzyskanych wyników nie można jednak

jednoznacznie potwierdzić skuteczności Ar w opóźnianiu rozwoju drobnoustrojów w mięsie wołowym. Wymaga to dalszych badań, uwzględniających m.in. różny procentowy udział tego gazu w MA. Najmniej korzystną jakością mikrobiologiczną cechowało się mięso przechowywane przez 14 dni w MA 80% O₂ + 20% CO₂. Skład MA (po 21 dniach przechowywania) miał niewielki wpływ na dynamikę wzrostu analizowanych grup drobnoustrojów. Obserwowane po tym okresie zmiany dotyczyły tylko niewielkiego zróżnicowania liczby bakterii fermentacji mlekowej.

Piśmiennictwo

1. Arvanitoyannis I. S., Stratakos A. Ch.: Application of modified atmosphere packaging and active/smart technologies to red meat and poultry: a Review. Food Bioprocess Technol. 2012, 5, 1423-1446.
2. Ercolini D., Russo F., Torrieri E., Masi P., Villani F.: Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. Appl. Environ. Microb. 2006, 72, 4371-4663.
3. Esmer O. K., Irkin R., Degirmencioglu N., Degirmencioglu A.: The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. Meat Sci. 2011, 88, 221-226.
4. European Parliament and Council Directive 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners OJ No L 61, 18.3.1995, p. 1.
5. Franco D., González L., Esperanza B., Latorre A., Moreno T., Sineiro J., Sánchez M., Núñez M. J.: Effect of calf diet, antioxidants, packaging type and storage time on beef steak storage. Meat Sci. 2012, 90, 871-880.
6. Fraqueza M. J., Barreto A. S.: The effect on turkey meat shelf life of modified-atmosphere packaging with an argon mixture. Poultry Sci. 2009, 88, 1991-1998.
7. Gajewska J., Błaszczak M. K.: Probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej. Post. Mikrobiol. 2012, 51, 55-65.
8. Jacobsen M., Bertelsen G.: Predicting the amount of carbon dioxide absorbed in meat. Meat Sci. 2004, 68, 603-610.
9. Lorenzo J. M., Gómez M.: Shelf life of fresh foal meat under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. Meat Sci. 2012, 92, 610-618.
10. Mancini R. A., Hunt M. C.: Current research in meat color. Meat Sci. 2005, 71, 100-121.
11. McMillin K. W.: Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. Meat Sci. 2008, 80, 43-65.
12. Mills J., Donnison A., Brightwell G.: Factors affecting microbial spoilage and shelf-life of chilled vacuum-packed lamb transported to distant markets: A review. Meat Sci. 2014, 98, 71-80.
13. Mullan M., McDowell D.: Modified atmosphere packaging, [w:] R. Coles, D. McDowell, M. J. Kirwan (eds.): Food packaging technology, Blackwell Publishing, London 2003, s. 303-339.
14. Murphy K. M., O'Grady M. N., Kerry J. P.: Effect of varying the gas headspace to meat ratio on the quality and shelf-life of beef steaks packaged in high oxygen modified atmosphere packs. Meat Sci. 2013, 94, 447-454.
15. Owczarek-Fendor A., Vermeulen A., Bree I. van, Ericson M., Lescouhier S., Smet S. de, Meulenaer B. de, Devlieghere F.: Effect of muscle, ageing time and modified atmosphere packaging conditions on the colour, oxidative and microbiological stability of packed beef. Int. J. Food Sci. Tech. 2014, 49, 1090-1098.
16. Pennacchia J. E., Ercolini D., Villani F.: Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack. Food Microbiol. 2011, 28, 84-93.
17. Pérez-Rodríguez F., Zamorano A. R., Posada-Izquierdo G. D., García-Gimeno R. M.: Study of the effect of post-packaging pasteurization and argon modified atmosphere packaging on the sensory quality and growth of endogenous microflora of a sliced cooked meat product. Food Sci., Technol. Int. 2014, 20, 3-12.
18. PN-EN ISO 4833-1: 2013-12. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
19. PN-EN ISO 6887-2: 2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych. Część 2. Specyficzne zasady przygotowywania mięsa i przetworów mięsnych.

20. PN-ISO 15214: 2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
21. PN-ISO 17410: 2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.
22. Rodas-González A., Narváez-Bravo C., Brashears M. M., Rogers H. B., Tedford J. L., Clark G. O., Brooks J. C., Johnson B. J., Rathmann R. J., Miller M. F.: Evaluation of the storage life of vacuum packaged Australian beef. *Meat Sci.* 2011, 88, 128-138.
23. Rogers H. B., Brooks J. C., Martin J. N., Tittor A., Miller M. F., Brashears M. M.: The impact of packaging system and temperature abuse on the shelf life characteristics of ground beef. *Meat Sci.* 2014, 97, 1-10.
24. Rozporządzenia Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające rozporządzenie nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych.
25. StatSoft, Inc.: Statistica (data analysis software system), version 13.3. StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA, 2017.
26. Thippareddi H., Phebus R. K.: Modified atmosphere packaging (MAP): Microbial control and quality. *Pork Information Gateway Fact Sheet*, 12-05-07, 2007, s. 1-5.
27. Tománková J., Bořilová G., Steinhauserová I., Gallas L.: Volatile organic compounds as biomarkers of the Freshness of poultry meat packaged in modified atmosphere. *Czech J. Food Sci.* 2012, 30, 395-403.
28. Vázquez B. I., Carreira L., Franco C., Fente C., Cepeda A., Barros-Velázquez J.: Shelf life extension of beef retail cuts subjected to an advanced vacuum skin packaging system. *Eur. Food Res Technol.* 2004, 218, 118-122.
29. Viana E. S., Gomide L. A. M., Vanetti M. C. D.: Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. *Meat Sci.* 2005, 71, 696-705.
30. Vieira C., Diaz M. T., Martinez B., Garcia-Cachan M. D.: Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. *Meat Sci.* 2009, 83, 398-404.
31. Zakrys-Waliwander P. I., O'Sullivan M. G., Walsh H., Allen P., Kerry J. P.: Sensory comparison of commercial low and high oxygen modified atmosphere packed sirloin beef steaks. *Meat Sci.* 2011, 88, 198-202.
32. Zhao F., Zhou G., Ye K., Wang S., Xu X., Li Ch.: Microbial changes in vacuum-packed chilled pork during storage. *Meat Sci.* 2015, 100, 145-149.

Adres autora: dr hab. inż. Katarzyna Śmiecińska; ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn; e-mail: katarzyna.smiecinska@uwm.edu.pl