

Lublin, dnia, 10.11.2012 r.

**Sprawozdanie z badań podstawowych
na rzecz rolnictwa ekologicznego w roku 2012**

**„Ekologiczne metody przetwórstwa mięsa i wyrobu produktów mięsnych bez stosowania
dodatków azotanów i azotynów z uwzględnieniem wydłużania trwałości
przechowalniczej tych produktów”**

CZĘŚĆ A

Realizacja projektu:

Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością

Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

ul. Skromna 8

20-704 Lublin

Tel. (081) 462 33 44

Kierownik projektu: Prof. dr hab. Zbigniew J. Dolatowski

Lublin 2012

Wykonawcy:

I. Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Prof. dr hab. Zbigniew J. Dolatowski – kierownik Katedry

Dr inż. Małgorzata Karwowska

Dr inż. Joanna Stadnik

Dr inż. Dariusz Stasiak

Mgr inż. Elżbieta Solska

Mgr inż. Karolina Wójciak

II. Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Prof. dr hab. Danuta Kołożyn – Krajewska – kierownik Zakładu

Dr inż. Barbara Sionek

III. Zakład Mięsny „Jasiolka” w Dukli

Mgr. inż. Paweł Krajmas – Dyrektor

Mgr inż. Agnieszka Paczkowska - Kierownik

Pracownicy Zakładu

Spis treści

1. Wprowadzenie.....	4
2. Cel badawczy	6
3. Ogólny schemat prowadzonych badań.....	7
3.1. Proces technologiczny.....	8
3.2. Surowiec mięsny	8
3.3. Układ prób badawczych	8
3.4. Ocena fizyko – chemiczna	8
4. Metody badawcze.....	9
4.1. Kwasowość (pomiar wartości pH) [PN – ISO 2917:2001].....	10
4.2. Potencjał oksydoredukcyjny [Nam i Ahn 2003]	10
4.3. Zawartość wody [PN-ISO 1442:2000].....	10
4.4. Aktywność wody.....	11
4.5. Zawartość soli [PN–A–82112:1973].....	11
4.6. Analiza wyższych kwasów tłuszczowych [PN-EN ISO 5509:2001, PN-EN ISO 5508:1996]	12
4.7. Substancje reagujące z kwasem 2-tiobarbiturowym (wskaźnik TBARS) [Pikul i in. 1989].....	12
4.8. Oznaczanie ogólnej zawartości barwników hemowych, nitrozylobarwników oraz ogólnej zawartości żelaza hemowego [Hornsey 1959]	13
4.9. Oznaczanie zdolności przeciwutleniającej wobec kationorodników ABTS*	14
4.10. Zawartość barwników hemowych [Krzywicki 1982]	14
4.11. Parametry barwy i trwałość barwy [CIE 1978].....	17
4.12. Zawartość sprzężonych dienów [IUPAC 1987; Sirinivasan i wsp. 1996]	18
4.13. Test TPA	18
4.14. Siła cięcia	19
4.15. Analiza mikrobiologiczna [Standard NF ISO 15214:1998].....	19
4.16. Analiza sensoryczna [ISO 13299.2 1998, PN-ISO 4121:1988].....	20

4.17. Skład aminokwasów	21
4.18. Matematyczno – statystyczna analiza wyników	22
5. Zadania badawcze	22
A. Zastosowanie serwatki mlecznej w produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych bez dodatku związków azotowych	23
B. Ocena jakości fizykochemicznej i mikrobiologicznej wyrobów mięsnych podczas przechowywania i charakterystyka optymalnego okresu trwałości przechowalniczej.	27
C. Ocena wpływu dodatku odpowiednio przygotowanych nasion gorczycy do ekologicznych wyrobów mięsnych jako czynnika stabilizującego rozwój mikroflory i oksydację produktu podczas przechowywania.....	36
D. Ocena bezpieczeństwa mikrobiologicznego ekologicznych produktów mięsnych bez związków azotowych z dodatkiem serwatki w czasie przechowywania.	39
E. Ocena sensoryczna ekologicznych wyrobów mięsnych o przedłużonym okresie trwałości przechowalniczej.....	50
6. Wnioski	56
7. Wykorzystana literatura w przygotowaniu sprawozdania.....	61
8. Spis tabel	66
9. Spis rysunków	66

1. Wprowadzenie

Przemysłowa produkcja żywności powoli przechodzi do historii, na skutek rosnącej świadomości konsumenta, rozwoju nauk o żywności dowodzących wpływu sposobu odżywiania na funkcjonowanie organizmu. Intensywne metody hodowli są uważane za groźne dla zdrowia społeczeństwa. Produkcja zwierzęca ma podstawowe znaczenie w organizacji produkcji rolnej w gospodarstwach ekologicznych, ponieważ dostarcza ona materii organicznej i substancji odżywczych dla uprawianej gleby, przyczyniając się w ten sposób do poprawy stanu gleby i zrównoważonego rozwoju rolnictwa.

Wędliny ekologiczne, które były przedmiotem badań, to produkty wytwarzane w podobny sposób, co tradycyjne, jednak mięso pochodziło od zwierząt hodowanych metodą ekologiczną, czyli bez stymulatorów wzrostu, żywione pokarmem pochodzącym z upraw ekologicznych, zwierzęta hodowlane mają dostęp do pastwisk, wybiegów, światła słonecznego. Do wyrobu wędlin ekologicznych stosowane jest mięso odpowiednich ras trzody chlewnej i bydła. Są to najczęściej rasy rodzime, cechujące się wysokimi walorami jak: genetyczna odporność na choroby, wysoka płodność, długowieczność oraz zdolności adaptacyjne do warunków środowiskowych i nie wzbogacanych pasz. W produkcji wędlin podstawowe znaczenie ma peklowanie mięsa. Do mięsa dodaje się azotanów i azotynów, które wpływają na właściwości fizyko-chemiczne i bezpieczeństwo zdrowotne zakresie rozwoju *Clostridium botulinum*. Mutagenne właściwości azotynu powodują, że konsumenci poszukują wyrobów mięsnych bez ich dodatku. Szczególnie restrykcyjne wymagania odnośnie stosowania azotynów występują w krajach rozwiniętych (USA, UE, Kanada i inne). W dostępnej literaturze znajdujemy informacje o poszukiwaniu alternatywnych substancji do peklowania mięsa. W USA proponuje się używanie saletry pozyskiwanej np. z selera i wykorzystanie do jej przemian drobnoustrojów. Takie związki prawdopodobnie nie wywołują alergii i nie wykazują negatywnego działania w organizmie człowieka. Produkty mięsne proponuje się nazwać naturalnymi, w przeciwieństwie do ekologicznych, do których, zgodnie z wymaganiami prawnymi, nie można stosować dodatku saletry i nitrytu. Przy produkcji wędlin ekologicznych stosowane są również zioła z upraw ekologicznych. Ponadto w produkcji wędlin ekologicznych ograniczona jest możliwość stosowania soli peklującej, gdzie np. w przypadku wędlin tradycyjnych nie ma tego typu ograniczeń. Wzbogacanie wyrobów mięsnych przyprawami, poza uzyskaniem poprawy trwałości i efektu smakowitości wpływa także na poprawę ich zdrowotności. Odpowiedni ich dobór i kompozycja umożliwiają produkcję wyrobów zarówno niskotłuszczowych jak i o zmniejszonej zawartości soli. Dodatek i właściwości soli morskiej opisano we wniosku, można dodać, że wszystkie

wyroby ekologiczne z dodatkiem soli morskiej mają obniżony poziom chlorku sodu do około 1,5%, zawierając równocześnie zwiększone ilości różnych innych mikroelementów.

Poszukiwane są skuteczne metody przeciwdziałania niekorzystnym przemianom utleniającym mięsa, wśród których ważnym wydaje się pozyskanie surowca mięsnego o dużym potencjale antyoksydacyjnym, ale również wprowadzanie związków przeciwutleniających w procesach technologicznych. Mięso, szczególnie ekologiczne posiada naturalne przeciwutleniacze, których działanie w tkance sumuje się i stanowi jego potencjał antyoksydacyjny. Z uwagi na zawartość własnych związków przeciwutleniających, jak również wprowadzanych metodami żywieniowymi oraz w procesie technologicznym mięso i produkty mięsne możemy zaliczyć do żywności o walorach prozdrowotnych (tzw. żywności funkcjonalnej). Jednym z głównych sposobów hamowania procesów oksydacyjnych zachodzących w mięsie i produktach mięsnych podczas przechowywania jest dodatek przeciwutleniaczy w procesie technologicznym, gdzie jest powszechnie stosowany syntetyczny askorbinian sodu. Rośliny przyprawowe są bogate w związki fenolowe, wykazujące działanie przeciwutleniające w układach biologicznych. Jedną z przypraw zawierającą znaczne ilości tokoferoli jest gorczyca. Spożywanie gorczycy w codziennej diecie niesie korzyści zdrowotne przez ochronę komórek przed skutkami stresu oksydacyjnego. Z uwagi na wzrost zainteresowania roślinami przyprawowymi oraz ziołami, wiele z nich stanowi materiał badawczy w celu określenia ich przydatności w hamowaniu procesów oksydacyjnych a tym samym przedłużaniu trwałości mięsa i produktów mięsnych. Wykorzystanie gorczycy w produktach ekologicznych, może być uzasadnione jej działaniem prozdrowotnym głównie w prewencji nowotworów i działaniem przeciwutleniającym.

Na naszym rynku żywnościowym brakuje szerszej oferty ekologicznych produktów mięsnych. Składa się na to wiele czynników, z których jako podstawowe można wymienić brak wyrobów o wysokiej jakości zdrowotnej nie tylko związanych z surowcem (zwierzęta rzeźne) produkowanym metodami ekologicznymi, ale również odpowiednich procesów przetwarzania. Głównymi barierami spożycia ekologicznej żywności wśród badanych respondentów jest brak możliwości zakupu jej w ogólnej sieci sklepów detalicznych oraz niezbyt wysoka jakość, a także i brak zwiększonej informacji o jakości tych produktów, zawartości dodatków a szczególnie saletry i nitrytu. Z produkcją ekologiczną, przy ograniczeniu dodatków, wiążą się określone problemy, przede wszystkim związane z koniecznością zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego wyrobów.

2. Cel badawczy

Celem badań do realizacji w 2012 roku, w zakresie wymienionego zadania, była dalsza kontynuacja doświadczeń realizowanych w 2011 roku, dotyczących przygotowania technologii produkcji prozdrowotnych ekologicznych produktów mięsnych, bez dodatku związków azotowych. Otrzymane dotychczas wyniki wskazują na celowość kontynuacji badań dla potwierdzenia okresów trwałości przechowalniczej, produkcji nowych wyrobów bez związków azotowych z zastosowaniem serwatki i nasion gorczycy jako przeciwutleniacza oraz zaproponowania uproszczonych, bezpiecznych technologii przetwarzania mięsa gospodarstwom ekologicznym. W proponowanych badaniach zespół przygotowujący alternatywne dodatki zamiast azotowych dodawanych powszechnie do konwencjonalnych wyrobów pragnie uzupełnić badania wykonane dotychczas, szczególnie trwałościową ocenę wyrobów. Wynika to ze zbyt krótkiego czasu realizacji badań.

Badania, ze względu na ich nowatorską formę, a równocześnie wykorzystanie tradycyjnych technologii wymagają dopracowania szczegółów technologii produkcji poszczególnych wyrobów z wyznaczeniem parametrów procesu, okresu trwałości przechowalniczej, a przede wszystkim dostosowaniem do możliwości przetwórczych zakładu lub do odpowiednio przystosowanych gospodarstw ekologicznych. Zastosowanie fermentacji mięsa przez dodatek serwatki, jako tradycyjnej metody przetwórstwa mięsnego, ale z udziałem mikroflory o prozdrowotnych właściwościach i wprowadzenie do produktu grupy bardzo wartościowych składników serwatki, stanowi ważną wartość dodaną wytwarzanych produktów ekologicznych. Jednocześnie, jak wynika z przeprowadzonych dotychczas badań, technologia ta może zapewnić uzyskanie bardzo dobrych, bezpiecznych zdrowotnie i akceptowalnych sensorycznie wyrobów o długiej trwałości przechowalniczej. Objęte wnioskiem o dofinansowanie badania propozycji nowych technologicznie produktów o cechach funkcjonalnych, prozdrowotnych będą realizowane w laboratorium technologicznym Katedry w ścisłej współpracy z zakładem produkcyjnym „Jasiołka” specjalizującym się w produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych. Szczegółowym celem niniejszych badań będzie przygotowanie technologii produkcji kolejnych wyrobów ekologicznych o zwiększonych walorach zdrowotnych wynikających z zastosowanych dodatków, oraz wyrobów o wydłużonym okresie przechowywania, których możliwość wytworzenia potwierdzają wyniki dotychczasowych badań.

3. Ogólny schemat prowadzonych badań

Opis merytoryczny poszczególnych zadań badawczych znajduje się w części A przedmiotowego sprawozdania, zaś aneks z wynikami szczegółowymi zawarty jest w części B sprawozdania.

3.1. Proces technologiczny

- Surowiec (ocena jakości),
- Wprowadzanie serwatki (moczenie lub dodatek)
- Solenie (sól morską),
- Formowanie (osłonki lub jednolity mięsień),
- Obróbka cieplna lub dojrzewanie,
- Przechowywanie,
- Badania,

3.2. Surowiec mięsny

Surowiec do produkcji wyrobów (polędwice, szynki, karczki, kielbasa, wołowina – udziec, mięso i surowiec tłuszczowy do produkcji kielbas), stanowiło mięso pozyskane w warunkach przemysłowych z uboju trzody, bydła z krajowych gospodarstw ekologicznych, oraz z hodowli danieli i jeleni. W przeważającej ilości były to świnie rasy Wielka Biała Polska z hodowli ekologicznych o masie przyżyciowej ok. 120 -130 kg. Surowiec wołowy stanowiło mięso z uboju bydła krajowego rasy NCB, mięso daniela i jelenia. Surowiec pozyskiwano z tusz wychłodzonych przez 48 godzin od uboju.

3.3. Układ prób badawczych

Układ doświadczenia był realizowany zgodnie z załączonymi do wyników badań schematami. Badano następujące wyroby: szynka wieprzowa i wołowa, polędwica, kielbasa wieprzowa i wołowa, oraz wyroby z mięsa daniela i jelenia. Badania jakościowej oceny wszystkich wyrobów prowadzono w zakresie wskaźników: fizyko-chemicznych, parametrów procesu technologicznego, mikrobiologicznych, sensorycznych.

3.4. Ocena fizyko – chemiczna

- Pomiar wartości pH;
- Pomiar potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (ORP);
- Oznaczenie zawartości wody;
- Oznaczenie zawartości białka;
- Oznaczenie zawartości chlorku sodu;
- Pomiar parametrów barwy i trwałość barwy w systemie CIE L*a*b*;
- Pomiar parametrów tekstury (TPA, siła cięcia);
- Oznaczenie aktywności wody;
- Oznaczanie wskaźnika TBARS;
- Oznaczanie zawartości barwników hemowych;
- Oznaczanie zawartości barwników ogółem, nitrozylobarwników, żelaza hemowego;
- Oznaczanie zawartości wyższych kwasów tłuszczowych;
- Oznaczanie zawartości sprzężonych dienów;
- Profil aminokwasów;
- Właściwości przeciwutleniające z kationorodnikiem ABTS*;
- Ocena technologiczna:

Pomiar parametrów procesu technologicznego:

- temperatury,
- wilgotności,
- czasu,
- wydajności.

Ocena mikrobiologiczna:

- Bakterie kwasu mlekowego (LAB),
- Drobnoustroje patogenne (*Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*),
- Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych (OLD).

Oznaczenia przeprowadzono metodą hodowlaną (płytkową) i z zastosowaniem aparatu „Tempo”.

Analiza sensoryczna (metoda profilowego skalowania).

4. Metody badawcze

4.1. Kwasowość (pomiar wartości pH) [PN – ISO 2917:2001]

Pomiaru wartości pH dokonano przy użyciu cyfrowego pH/konduktometru CPC-501 (Elmetron) wykalibrowanego za pomocą buforów wzorcowych o pH 4, pH 7 i pH 9 i elektrody zespolonej Hydromet typ ERH-111 nr 9317.

Próby o masie 10 g, rozdrobnione w wilku laboratoryjnym o średnicy oczek 3 mm, homogenizowano z 50 cm³ zimnej wody destylowanej w homogenizatorze ULTRA TURAX T25 przy prędkości obrotowej wrzeciona 15 000 obr./min. w czasie 1 minuty. Pomiar kwasowości otrzymanej zawiesiny wykonano w temperaturze pokojowej. Po ustaleniu wskazań przyrządu odczytano wynik z dokładnością do 0,01.

4.2. Potencjał oksydoredukcyjny [Nam i Ahn 2003]

Pomiaru potencjału oksydoredukcyjnego dokonano przy użyciu elektrody zespolonej typ ERPt-13 Hydromet nr 235 z wykorzystaniem cyfrowego pH/konduktometru CPC-501 (Elmetron). Wyniki odczytywano po ustabilizowaniu się wartości ORP. Uzyskany wynik pomiaru przeliczono na wartość potencjału redox względem standardowej elektrody wodorowej E_H , w mV. W tym celu do zmierzonej wartości potencjału E_m dodawano znaną wartość potencjału elektrody odniesienia ($E_m = 211$ mV w temperaturze 20°C).

Próby o masie 10g, rozdrobnione w wilku laboratoryjnym o średnicy oczek 3mm, homogenizowano z 50 cm³ wody destylowanej (o temp. 20°C) w homogenizatorze ULTRA TURAX T25 przy prędkości obrotowej wrzeciona 15 000 obr/min. w czasie 1 minuty. Pomiar potencjału otrzymanej zawiesiny wykonano w temperaturze 20°C. Po ustaleniu wskazań przyrządu odczytano wynik z dokładnością do 0,01.

4.3. Zawartość wody [PN-ISO 1442:2000]

Oznaczenie zawartości wody wykonano metodą suszarkową. Zasada metody polega na odparowaniu wody z próby w suszarce w temperaturze 105°C aż do momentu uzyskania stałej masy.

Naczynko wagowe suszono w suszarce w temperaturze 105°C do momentu uzyskania stałej masy, następnie schłodzono w eksyktorze i zważono. Do naczynia przeniesiono próbę o masie 3 g (z dokładnością 0,001g), rozdrobnioną w wilku laboratoryjnym o średnicy oczek 3 mm, a następnie zważono. Naczynko z próbą przeniesiono do suszarki próżniowej SPU -

200 i suszono w temperaturze 105°C do uzyskania stałej masy. Naczynko z wysuszoną próbą schłodzono w eksykatorze i zważono z dokładnością 0,001 g. Na podstawie różnicy masy próby przed i po suszeniu określono procentową zawartość wody.

Zawartość wody obliczono zgodnie ze wzorem:

$$X = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} \cdot 100$$

X - zawartość wody (%)

m₀ - masa naczynka wagowego (g)

m₁ - masa naczynka wagowego z próbą przed suszeniem (g)

m₂ - masa naczynka wagowego z próbą po wysuszeniu (g).

4.4. Aktywność wody

Zasada metody polega na pomiarze stosunku ciśnienia pary wodnej na powierzchni próby do ciśnienia pary wodnej nad powierzchnią czystej wody w tej samej temperaturze i przy tym samym ciśnieniu całkowitym.

Pomiar aktywności wody przeprowadzono na aparacie do pomiaru aktywności wody LabMaster – aw (Novasina). Próbę o masie 5 g umieszczano w naczyniu pomiarowym i zamykano wieczkiem. Wieczko zdejmowano z pojemnika z próbą bezpośrednio przed umieszczeniem w komorze pomiarowej aparatu. Pomiary wykonywano w temperaturze 20°C. Po zakończeniu pomiaru z wyświetlacza urządzenia odczytywano wartość aktywności wody badanej próby z dokładnością do 0,001.

4.5. Zawartość soli [PN–A–82112:1973]

Do kolby stożkowej z korkiem na szlif odważono 2 g próbki (z dokładnością do 0,01g). Dodano 100 ml gorącej wody destylowanej i ogrzewano we wrzącej łaźni wodnej przez 15 minut. Po przestygnięciu dodano 50 µl nasyconego roztworu chromianu potasowego, następnie miareczkowano 0,1 M roztworem azotanu srebra aż do otrzymania pomarańczowego zabarwienia. Zawartość soli kuchennej obliczono ze wzoru:

Zawartość soli (ZS%) = (0,585 x a)/n, gdzie:

a – objętość zużytego do miareczkowania 0,1M azotanu srebra (ml)

n – masa naważki

4.6. Analiza wyższych kwasów tłuszczowych [PN-EN ISO 5509:2001, PN-EN ISO 5508:1996]

Do ampułki o pojemności 5 ml wprowadzono za pomocą szklanej kapilary około 50 mg wyekstrahowanego wcześniej tłuszczu, w taki sposób, aby nie zwilżyć szyjki. Następnie pipetą wprowadzono 1 ml roztworu wodorotlenku potasu i zmydlano na wrzącej łaźni wodnej przez 5 minut. Po zmydleniu próbki dodano 2 ml roztworu trójfluorku borowego i ogrzewano na łaźni wodnej o temperaturze 80°C przez 3 minuty. Następnie dodano przesyconego roztworu chlorku sodowego w takiej ilości, aby warstwa estrów metylowych znalazła się w szyjce ampułki. Następnie dodano około 0,5 ml n-Heksanu. Do analizy składu kwasów tłuszczowych pobrano za pomocą mikrostrzykawki próbkę z warstwy organicznej. Po ustabilizowaniu termicznym i elektronicznym aparatu wstrzyknięto do komory nastrzykowej 1 µl roztworu heksanowego estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Śledzono proces rozdziału przez 30 min. Do sterowania chromatografem, zbierania, integrowania i przeliczania wyników użyto oprogramowania GalaxieTM Chromatography Data System.

Do określenia składu (analizy ilościowej) zastosowano metodę wewnętrznej normalizacji, w której przyjmuje się, że wszystkie składniki próby są obecne na chromatogramie, tak, że suma powierzchni pod pikami stanowi 100% (elucja całkowita). Zawartość składnika „i” wyrażoną jako procent masowy estrów metylowych, obliczono oznaczając procentowy udział powierzchni odpowiedniego pików w sumie powierzchni wszystkich pików według wzoru:

$$i = (A_i / \Sigma A) \times 100, \text{ gdzie:}$$

A_i – powierzchnia pod pikiem składnika i;

ΣA – suma powierzchni pod wszystkimi pikami;

Wyniki podano z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

4.7. Substancje reagujące z kwasem 2-tiobarbiturowym (wskaźnik TBARS) [Pikul i in. 1989]

TBARS to grupa substancji tworzących barwne kompleksy z kwasem 2-tiobarbiturowym, takich jak, między innymi, aldehyd malonowy. Oznaczenie polega na wytworzeniu w wysokiej temperaturze barwnych kompleksów obecnych w tłuszczu

aldehydów z roztworem kwasu 2-tiobarbiturowego. Intensywność powstałego zabarwienia roztworu produktu mięsnego z kwasem 2-tiobarbiturowym mierzono spektrofotometrycznie przy długości fali 532 nm. Roztworem odniesienia była próba kontrolna.

Rozdrobnione, w wilku laboratoryjnym o średnicy oczek 3 mm, próby wyrobów mięsnych o masie 10 g homogenizowano z 34,25 cm³ zimnego (o temp. +4°C) 4% kwasu nadchlorowego i 0,75 cm³ alkoholowego roztworu butylohydroksytoluenu (0,01-procentowy) w homogenizatorze ULTRA TURAX T25 przy prędkości obrotowej wrzeciona 9500 obr./min. W czasie 1 min. Homogenat sączono przez bibułę filtracyjną Whatman nr 1 bezpośrednio do kolby miarowej o pojemności 50 cm³. Uzyskany filtrat uzupełniano do objętości 50 cm³ przemywając osad na sączku zimnym (4°C) 4% kwasem nadchlorowym. Po wymieszaniu pobierano do oznaczeń 5 cm³ filtratu i przenoszono do probówki, do której następnie dodano 5 cm³ 0,02 – molowego wodnego roztworu kwasu 2-tiobarbiturowego (odczynnik TBA). Probówki zamykano korkami i ogrzewano we wrzącej łaźni wodnej przez 60 minut. Po ogrzaniu probówki z roztworem schładzano przez 10 minut w zimnej bieżącej wodzie i dokonano pomiaru absorbancji przy długości fali 532 nm przy użyciu spektrofotometru Nicole Evolution 300 (Thermo Elektron Corpoation) wobec próby kontrolnej zawierającej 5 cm³ 4% roztworu kwasu nadchlorowego i 5 cm³ odczynnika TBA. Wartość wskaźnika TBARS wyrażonego w mg aldehydu malonowego w 1 kg produktu wyliczono zgodnie ze wzorem:

$$\text{TBARS [mg MDA/kg]} = A * K, \text{ gdzie:}$$

A – wartość absorbancji próby badanej;

K – współczynnik przeliczeniowy, który oblicza się z krzywej standardowej i stosowanych rozcieńczeń, wynoszący 5,5.

4.8. Oznaczanie ogólnej zawartości barwników hemowych, nitrozylobarwników oraz ogólnej zawartości żelaza hemowego [Hornsey 1959]

W celu oznaczenia barwników ogółem przeprowadzono ich ekstrakcję zakwaszonym roztworem acetonu. W tym celu odważono 5g (z dokładnością 0,01g) rozdrobnionego produktu do kolb stożkowych z korkiem na szlif (owinięte folią aluminiową) i dodano do niego 21,5 cm³ przygotowanego roztworu (najpierw dodano 5 cm³ i intensywnie mieszano

przez 3 minuty, następnie dodano pozostałą część – 16,5 cm³). Zamkniętą butelkę pozostawiono w szafce bez dostępu światła na 30 min. W międzyczasie kilkakrotnie wstrząsając. Po tym czasie ekstrakt filtrowano przez sączek szklany (Whatman GF/A) i mierzono absorbancję przesącza przy długości fali 640 nm w spektrofotometrze wobec próby odczynnikowej. Sporządzano ją odmierzając 21,5 cm³ zakwaszonego roztworu acetonu do kolby miarowej na 25 cm³ i uzupełniając do kreski wodą destylowaną. Ogólną zawartość barwników wyrażoną w ppm heminy obliczano ze wzoru:

$$A_{640} \times 680 \text{ ppm}$$

W celu oznaczenia nitrozylobarwników przeprowadzono ich ekstrakcję wodnym roztworem acetonu. Dalsze czynności przeprowadzano, jak przy oznaczeniu barwników ogółem. Absorbancję filtratu mierzono przy długości fali 540 nm wobec próby odczynnikowej. Ogólną zawartość nitrozylobarwników wyrażoną w ppm heminy obliczano ze wzoru:

$$A_{540} \times 289 \text{ ppm (1ppm = 1 } \mu\text{g/g)}$$

Ogólną zawartość żelaza hemowego oznaczono korzystając ze wzoru:

$$\text{Żelazo hemowe (ppm)} = (\text{ogólna zawartość barwników hemowych} \times 8,82)/100$$

4.9. Oznaczanie zdolności przeciwutleniającej wobec kationorodników ABTS*

Aktywność przeciwutleniającą oznaczano na ekstraktach prób liofilizowanych. Ekstrakcję prowadzono przez 1 godzinę przy zastosowaniu roztworu metanol:woda (50:50) oraz aceton:woda (70:30). Aktywność przeciwutleniającą ekstraktów oznaczano wobec kationorodników ABTS*, które uzyskiwano z kwasu 2,2'-azynobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego w reakcji z nadtlenosiarczanem potasu (Re i in., 1999). Zawartość rodników oznaczano spektrofotometrycznie. Aktywność badanych ekstraktów obliczano korzystając z krzywej wzorcowej, wykonanej z roztworów Troloxu.

4.10. Zawartość barwników hemowych [Krzywicki 1982]

Procentową zawartość barwników hemowych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających oznaczono poprzez ekstrakcję zimnym buforem fosforanowym (0,04M, pH 6,8) oraz klarowanie przez wirowanie (w temp. +4°C) przez 60 minut przy prędkości 15000

obr./min. Po klarowaniu mierzono absorbancję przy długości fal 525 nm, 545 nm, 565 nm i 572 nm. Roztworem odniesienia przy pomiarze był bufor fosforanowy.

Próbę wyrobu mięsnego, o masie 5 g, rozdrobnioną na wilku przez siatkę o średnicy oczek 3 mm homogenizowano z 25 ml zimnego 0,04 M buforu fosforanowego (pH 6,8) przez 1 minutę przy użyciu homogenizatora ULTRA TURAX T25 przy 9500 obr./min. Homogenat pozostawiono na 60 minut w temperaturze 4°C. Po upływie tego czasu homogenat poddano klarowaniu przez wirowanie w wirówce MPW - 350R w temperaturze 10°C w ciągu 10 minut przy 4000 obr./min. Supernatant sączono przez sączek karbowany z bibuły filtracyjnej Whatman 1. Odwirowaną tkankę mięśniową ponownie homogenizowano z 25 ml zimnego 0,04 M buforu fosforanowego (pH 6,8) przez 1 minutę przy 9500 obr./min. Homogenat pozostawiono na 60 minut w temperaturze 4°C, a następnie poddano klarowaniu przez wirowanie w temperaturze 10°C w ciągu 10 min. przy 4000 obr./min. Supernatanty uzyskane po obu wirowaniach połączono. Otrzymany ekstrakt poddano klarowaniu przez wirowanie w wirówce MPW - 350R w temperaturze 10°C w ciągu 60 minut. przy 15000 obr./min. Bezpośrednio po klarowaniu ekstrakt przeniesiono ostrożnie do kuwety przy użyciu strzykawki, zwracając uwagę, aby nie pobierać tłuszczu pływającego na powierzchni.

Wartość absorbancji mierzono przy długości fali 525, 545, 565 i 572 nm przy użyciu spektrofotometru Nicole Evolution 300 (Thermo Elektron Corporation). Roztworem odniesienia przy pomiarze był bufor fosforanowy 0,04 M.

Procentową zawartość Mb, MetMb, MbO oraz OZB wyliczono z zależności:

$$\text{Mb [\%]} = (0,369 * A_1 + 1,140 * A_2 - 0,941 * A_3 + 0,015) * 100$$

$$\text{MetMb [\%]} = (0,777 * A_2 + 0,800 * A_3 - 2,514 * A_1 + 1,098) * 100$$

$$\text{MbO}_2 [\%] = 100 - (\text{Mb} + \text{MetMb})$$

$$A_1 = A^{572}/A^{525}$$

$$A_2 = A^{565}/A^{525}$$

$$A_3 = A^{545}/A^{525}$$

$$\text{OZB [mg/g]} = A_{525} \cdot 17500 \cdot n / 7600 \cdot m \text{ gdzie:}$$

17500 – masa molowa mioglobiny,

7600 – molowy współczynnik absorbancji dla Mb, MbO₂ i MetMb przy 525 nm

N – współczynnik rozcieńczenia [cm³], n = 53,7 cm³.

m – masa próby [g].

4.11. Parametry barwy i trwałość barwy [CIE 1978]

Pomiaru dokonano na prostokątnych plastrach wyciętych ze środkowej części wyrobów mięsnych. Grubość próby wynosiła 2 cm, a jej powierzchnia była większa od szczeliny pomiarowej spektrofotometru (średnica 8 mm). Próby wycinano wzdłuż włókien mięśniowych. Natychmiast po wycięciu próby zostały owinięte w bezbarwną folię do żywności i w takiej formie dokonywano pomiaru. Pomiaru dokonano w różnych miejscach powierzchni materiału. Pomiarów parametrów barwy dokonano na próbach mięsnych bezpośrednio po produkcji oraz po okresie chłodniczego przechowywania.

Pomiary parametrów barwy wykonano metodą odbiciową przy użyciu spektrofotometru sferycznego firmy X-Rite Series 8200 z oprogramowaniem X – Rite Color Master, z wykorzystaniem przesłony ze szczeliną pomiarową o średnicy 25,4 mm. Pomiar prowadzono w zakresie 360-740 nm. Jako źródło światła wykorzystano standardowy iluminant D₆₅ ze standardowym obserwatorem kolorymetrycznym o polu widzenia (kąt obserwacji) 10°. Średnica pola widzenia wynosiła 8 mm. Jako źródło odniesienia stosowano wzorzec bieli wykazujący parametry: $L^* = 95,87$, $a^* = -0,49$, $b^* = 2,39$. Przed każdą serią pomiarową przeprowadzono kalibrację aparatu stosując wzorzec bieli i czerni. Wyniki wyrażano w jednostkach systemu CIE (1978) LAB, dla którego wyróżniki odzwierciedlają odpowiednio:

L^* - jasność barwy, zasadniczo przyjmuje wartości dodatnie i może przybierać wartości od 0 dla ciała idealnie czarnego do 100 dla ciała idealnie białego;

a^* - chromatyczność w zakresie czerwono – zielonym; oznacza barwę czerwoną, jeśli przyjmuje wartości dodatnie, zieloną jeżeli przyjmuje wartości ujemne, a szarą gdy wskazuje wartość równą 0;

b^* - chromatyczność w zakresie żółto – niebieskim; oznacza barwę żółtą, jeżeli przyjmuje wartości dodatnie, niebieską, jeżeli przyjmuje wartości ujemne, a szarą, jeżeli wskazuje wartość równą 0.

W celu interpretacji zmian barwy wyrobów mięsnych na podstawie uzyskanych wartości parametrów L^* a^* b^* dla poszczególnych prób obliczano bezwymiarową różnicę barwy ΔE zgodnie z równaniem:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}, \text{ gdzie:}$$

ΔL^* - różnica jasności próby po produkcji i po przechowywaniu,

Δa^* - różnica składowych czerwonych próby po produkcji i po przechowywaniu,

Δb^* - różnica składowych żółtych próby po produkcji i po przechowywaniu.

Według kryterium przyjętego przez Międzynarodową Komisję Oświeceniową bezwzględne różnice barwy pomiędzy 0 i 2 są nierozpoznawalne, od 2 do 3,5 rozpoznawalne przez niedoświadczonego obserwatora, natomiast powyżej 3,5 obserwuje się wyraźne odchylenie barwy. Pomiaru dokonano w 9 powtórzeniach dla każdej z przygotowanych prób.

4.12. Zawartość sprzężonych dienów [IUPAC 1987; Sirinivasan i wsp. 1996]

Próbkę o masie 5 g homogenizowano przy prędkości 6500 obr/min w czasie 1 minuty z 50 ml wody destylowanej. Zawiesinę przesączano przez bibułę filtracyjną Whatman 1. Pobierano 1 ml przesączu i homogenizowano przy prędkości 6500 obr/min w czasie 1 minuty z 10 ml mieszaniny heksanu z izopropanolem (3/2). Następnie całość przenoszono do probówek i wirowano przy prędkości 2000g przez 1 minutę. Po wirowaniu pobierano górną warstwę supernatantu i mierzono absorbancję przy długości fali 233 nm na spektrofotometrze Nicolet evolution 300 firmy Thermo Elektron Corporation. Zawartość sprzężonych dienów ($\mu\text{mol/g}$ produktu) obliczano według zależności podanej przez IUPAC [1987]:

$$A_2 = A_{233} - A_0 [\text{nm}]$$

$$C_2 = 0,91 \cdot A_2 [\mu\text{mol/g produktu}]$$

gdzie:

A_2 – wartość absorbancji przy 233 nm skorygowana o wartość A_0 ,

A_{233} – wartość absorbancji przy 233 nm,

C_2 – zawartość sprzężonych dienów [$\mu\text{mol/g}$ produktu]

4.13. Test TPA

Analizę profilu tekstury wyrobu wykonano metodą dwukrotnego ściskania. Walcowate próbki o wymiarach 20x25mm poddawano podwójnemu ściskaniu do połowy wysokości za pomocą teksturometru TA.XT.plus wyposażonego w przystawkę P/10 oraz stolik przedmiotowy HDP/90. Prędkość ruchu głowicy wynosiła 10 mm/min. Określano następujące parametry tekstury: twardość, sprężystość, spoistość, przeżuwalność, gumowatość.

4.14. Siła cięcia

Pomiar siły cięcia przeprowadzano z użyciem elementu tnącego typu Warnera – Bratzlera. Maksymalną siłę cięcia odczytywano przy prędkości przesuwu głowicy 50mm/min. Badaniom poddawano próbki w kształcie prostopadłościanu o wymiarach przekroju 20 x 20 mm. Cięcia dokonywano w poprzek próbek. Każdy pomiar przeprowadzano w trzech powtórzeniach, przyjmując ich średnią za wynik oznaczenia.

4.15. Analiza mikrobiologiczna [Standard NF ISO 15214:1998]

Analizy mikrobiologiczne bakterii kwasu mlekowego w wyrobach surowo dojrzewających wykonano z zastosowaniem zautomatyzowanego systemu do pomiaru liczby drobnoustrojów - TEMPO[®] LAB (Biomerieux. System TEMPO[®], France). Do oznaczeń mikrobiologicznych użyto oryginalnych testów TEMPO[®] LAB, służących do określania liczby bakterii kwasu mlekowego w produktach żywnościowych. Wyniki badań podano w jednostkach tworzących kolonie w 1 gramie produktu (jtk/g). Wykorzystany system oznaczeń mikrobiologicznych pozwolił uzyskać poziomy wiarygodności podobne do standardów NF ISO 15214 (1998) oraz zaleceń metod kompendium dla Mikrobiologicznych Badań Żywności American Health Association (2004). Zastosowanie tego systemu znacznie usprawnia wykonanie seryjnych rozcieńczeń, przygotowanie pożywek i odczyt płytek. Wykorzystana w TEMPO[®] technologia opiera się na znanej metodzie badań mikrobiologicznych, zwanej NPL (Najbardziej Prawdopodobna Liczba), zminiaturyzowanej do formatu karty.

W skład systemu TEMPO wchodzi dwa stanowiska: stanowisko przygotowania próbek i stanowisko odczytu.

Stanowisko przygotowania próbek zbudowane jest z następujących elementów:

- komputera z wodoodporną klawiaturą;
- oprogramowania;
- statywu do napełniania kart;
- statywu do inkubacji i odczytu kart;
- statywu dla podłoży i kart;
- dyspenserów dla uwadniania podłoży;
- napełniacza TEMPO.



Rys. 1 Stanowisko do przygotowywania próbek.

Stanowisko odczytu składa się z następujących elementów:

- oprogramowania do odczytu i analizy wyników;
- komputera z czytnikiem kodów paskowych;
- oprogramowania administracyjnego do zarządzania układami;
- dwukierunkowego połączenia z komputerem laboratoryjnym;
- bezprzewodowego przekaźnika WIFI;
- drukarki.

System obejmuje ponadto dwa rodzaje materiałów eksploatacyjnych jednorazowego użytku: buteleczki z liofilizowanym podłożem hodowlanym, specyficznym dla badanej grupy drobnoustrojów oraz jednorazowe plastikowe karty zaopatrzone w probówkę transferową, zawierające po 48 całek o trzech różnych objętościach. Karty i buteleczki przeznaczone do jednego testu są oznaczone kodami.

4.16. Analiza sensoryczna [ISO 13299.2 1998, PN-ISO 4121:1988]

Analiza sensoryczna wyrobów surowo dojrzewających odbywała się w laboratorium i w warunkach produkcji przemysłowej. Charakterystykę sensoryczną wyrobów mięsnych surowo dojrzewających przeprowadzono za pomocą metody profilowania (Ilościowej Analizy Opisowej – QDA – Quantitative Descriptive Analysis). Metoda profilowania to najbardziej znana metoda spośród metod sensorycznej analizy opisowej. Wykorzystuje się ją do jakościowego – ilościowego określenia kompleksowej i szczegółowej charakterystyki produktu. Metoda profilowa jest specyficzna, ponieważ nie traktuje

smakowitości jako cechy jednostkowej, tak jak inne metody, natomiast opiera się na założeniu, że smakowitość jak również aromat i tekstura to zestaw pojedynczych not, które można oddzielnie zidentyfikować i zanalizować. Jako narzędzie badawcze użyto skalę liniową nieustrukturyowaną o długości 100 mm z odpowiednimi oznaczeniami brzegowymi. Cały zakres skali stanowił 10 umownych jednostek (j.u). Dla każdego oceniającego wyróżnika była przypisana oddzielna skala ze ściśle sprecyzowanymi określeniami brzegowymi. Oceniający nanosili na skalę pionową kreskę w miejscu odpowiadającym odniesionemu wrażeniu. Uzyskane wyniki sprowadzono do wartości liczbowych na podstawie zmierzenia odległości od lewego końca skali do punktu zaznaczonego przez oceniających.

Ocenę sensoryczną przeprowadzano w temperaturze pokojowej bezpośrednio po zakończonym procesie dojrzewania polędwiczek i po okresie chłodniczego ich przechowywania. Wykonywał ją 10 - osobowy odpowiednio wyszkolony w zakresie stosowania metody zespół oceniający o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Dokonano oceny następujących cech jakościowych wyrobów: konsystencja, soczystość, barwa na przekroju, smak i zapach. Przygotowanie próbek polegało na pokrojeniu wędlin na plastry o grubości 2 mm bezpośrednio po procesie dojrzewania wędlin lub po bezpośrednim otwarciu opakowań przed oceną po przechowywaniu. Pojedyncze plastry umieszczano w bezwonnych, jednorazowych pojemnikach zamykanych wieczkami. Pojemniki wcześniej poddano kodowaniu. Oceniający każdorazowo otrzymywali zestaw składający się z: zakodowanych próbek, kart i herbaty. Z każdej przeprowadzanej oceny zbierano 10 indywidualnych wyników.

4.17. Skład aminokwasów

Zawartość aminokwasów oznaczano z wykorzystaniem analizatora aminokwasów (Ingos Ltd., Czech Republic) wyposażonego w jonowymienną kolumnę Ostion LG ANB (tab. 4). Ok. 15 g próbki zalewano 3% kwasem salicylowym do objętości 200 ml. Próbkę homogenizowano. Części stałe tkanki i wytrącony osad białek oddzielano w polu sił odśrodkowych poprzez wirowanie w ciągu 15 minut przy przeciążeniu 3000 g. Uzyskany supernatant zlewano i przepuszczano przez filtr strzykawkowy dozując bezpośrednio do analizatora aminokwasów.

4.18. Matematyczno – statystyczna analiza wyników

Pomiary wykonywano w kilkukrotnym powtórzeniu dla każdej z badanych właściwości wyprodukowanych partii (serii) wyrobu. Otrzymane wyniki badań poddano analizie matematyczno – statystycznej w obrębie każdej serii badań. Ze względu na specyfikę jakościową surowca, wielkość partii, nie dokonano obróbki statystycznej dla wyników wszystkich badań łącznie (połączonych serii badawczych). Do wykonania obliczeń wykorzystano program Microsoft Excel 2003.

5. Zadania badawcze

Prace eksperymentalne były realizowane w ramach pięciu zagadnień badawczych:

- A. Zastosowanie serwatki mlecznej w produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych bez dodatku związków azotowych.
- B. Ocena jakości fizykochemicznej i mikrobiologicznej wyrobów mięsnych podczas przechowywania i charakterystyka optymalnego okresu trwałości przechowalniczej.
- C. Ocena wpływu dodatku odpowiednio przygotowanych nasion gorczycy do ekologicznych wyrobów mięsnych jako czynnika stabilizującego rozwój mikroflory i oksydację produktu podczas przechowywania.
- D. Ocena bezpieczeństwa mikrobiologicznego ekologicznych produktów mięsnych bez związków azotowych z dodatkiem serwatki w czasie przechowywania.
- E. Ocena sensoryczna ekologicznych wyrobów mięsnych o przedłużonym okresie trwałości przechowalniczej.

Badania technologiczne prowadzono w Katedrze Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością UP w Lublinie i Zakładzie Mięsnym „Jasiołka” w Dukli. Serwatka była pozyskiwana z Rodzinnego Gospodarstwa Ekologicznego „Figa” zlokalizowanego na Podkarpaciu w pobliżu Dukli. Badania prowadzono w szerokim asortymencie wyrobów mięsnych surowo dojrzewających i obrabianych cieplnie. Wyniki badań umieszczono w załączniku do sprawozdania. W wyniku prowadzonych badań dokonano optymalizacji sposobu i ilości dodawanej serwatki, oraz dokonano badań trwałościowych. Duża część wyrobów będzie podlegała ocenie przez kolejne okresy przechowywania, po złożeniu sprawozdania. Badane produkty były wytwarzane z dodatkiem serwatki mlecznej, soli morskiej i przypraw, głównie gorczycy. Produkty z dodatkiem substancji pekujących, lub bakteriami probiotycznymi były

próbami odniesienia (wzorcem) do porównania jakości, szczególnie barwy, czy trwałości przechowalniczej. Opisane zadania obejmują omówienie istoty poszczególnych tematów zagadnień. Otrzymane wyniki badań zostały przedstawione w załączniku B pt. „Wyniki badań do sprawozdania”.

A. Zastosowanie serwatki mlecznej w produkcji ekologicznych wyrobów mięsnych bez dodatku związków azotowych

Produkcja wyrobów mięsnych o obniżonym lub pozbawionym dodatku związków azotowych jest bardzo trudnym technologicznie procesem, ze względu na zmienioną jakość i również bezpieczeństwo mikrobiologiczne produktu mięsnego. Związki azotowe spełniają bardzo ważną rolę w jakości wyrobu mięsnego. Blisko 80 - 95 % wyrobów mięsnych jest obecnie produkowana z dodatkiem azotanów lub azotynów. Nitrozoaminy to grupa związków chemicznych znanych od ponad 100 lat i wykazujących działanie rakotwórcze odkryte w 1956 r. Przyczyniło się to do podjęcia dalszych badań nad nitrozoaminami, w których udowodniono, że 90 % z 300 przebadanych związków ma właściwości rakotwórcze. Obecnie wiadomo, że w szczególności N-nitrozodimetyloamina (NDMA) jest związkiem o wysokiej aktywności rakotwórczej, mutagennej oraz teratogennej. Właściwości rakotwórcze nitrozoamin oraz to, że ich prekursorami są powszechnie występujące związki w produktach żywnościowych decydują o ciągłym badaniu i eliminacji substancji wytwarzających te związki i wprowadzenia prozdrowotnych technologii przetwarzania. Powstają one z azotanów i azotynów, które są źródłem trójtlenku azotu i związków organicznych zawierających grupę aminową. Głównie są to reakcje między aminami a azotynami. Reakcje te zachodzą podczas przetwarzania żywności, ale i również w przewodzie pokarmowym głównie w żołądku, gdzie są sprzyjające właściwości tworzenia tych toksycznych związków związane z kwasowością. W żywności zawierającej dodatek azotanów, a szczególnie azotynów nitrozoaminy są zawsze obecne. Azotyny, jako związki bardzo reaktywne, wprowadzone do żywności mogą tworzyć z jej składnikami szereg połączeń. Stwierdzono, że w pewnych warunkach mogą one reagować z drugorzędowymi i trzeciorzędowymi aminami, które normalnie znajdują się w mięsie, tworząc nitrozoaminy. Dotyczy to przede wszystkim wyrobów mięsnych, gdzie z glicyny i waliny powstaje N-nitrozodimetyloamina i N-nitrozometyloetyloamina. Są to związki, które mają najsilniejsze działanie rakotwórcze w organizmie a małe dawki tego związku powodują mutacje do komórek nowotworowych. Ocenia się, że około 40 % nowotworów jest wynikiem działania

tych związków w diecie człowieka. To dotyczy przede wszystkim układu pokarmowego. Azotany w ilościach normalnie znajdujących się w żywności stają się toksyczne tylko wówczas, gdy mogą się rozkładać do azotynów. Azotany stanowią szczególne zagrożenie dla niemowląt, ponieważ kwasowość soków żołądkowych pozwala na wzrost mikroorganizmów redukujących azotan do azotynu. Tak, więc same azotany nie stanowią bezpośredniego zagrożenia dla zdrowia człowieka. Są one jednak pierwszym ogniwem w łańcuchu prowadzącym do wytwarzania substancji bardzo toksycznych

Jak już zaznaczono we wstępie, poszukiwania możliwości zastąpienia azotanu i azotynu do peklowania mięsa są bardzo intensywnie prowadzone, ponieważ konsumenci nie akceptują w pełni dodatku azotanów i azotynów do wyrobów mięsnych, szczególnie w wyrobach ekologicznych. W literaturze są informacje o tworzeniu się nitrozoamin w komórkach mięśniowych przy dodatku nitrytu do produktów mięsnych. Można zadać pytanie kiedy i jakie muszą być warunki w komórce mięśniowej, które sprzyjają tworzeniu tych mutagennych związków?

Badania dotyczące opracowania technologii wytwarzania wyrobów surowych dojrzewających i obrabianych cieplnie z zastosowaniem serwatki mlecznej są interesującym wyzwaniem badawczym. Otrzymane wyniki wskazują, że serwatka może być wykorzystana w procesie produkcyjnym kielbas i wędzonek, czyli wyrobów z całego elementu mięśniowego. Dodatek serwatki może być realizowany poprzez moczenie lub masowanie elementów, oraz dodatek do procesu kutrowania i mieszania w produkcji kielbas. Dodatek serwatki powinien, jak wynika z prowadzonych badań, mieścić się w granicach 5 – 10 % w stosunku do masy surowca mięsnego. Nowe technologicznie wyroby mięsne wpisują się w trendy konsumpcji żywności naturalnej, o odpowiednim wykorzystaniu mikroflory. Podczas ukwaszania mleka i produkcji serów twarogowych i dojrzewających w serwatce obok drobnoustrojów pozostaje szereg metabolitów szczepów bakterii kwasu mlekowego, często probiotycznych, o właściwościach bakteriostatycznych i bakteriobójczych (np. kwas mlekowy oraz bakteriocyny), które wspomagają działanie soli i innych czynników utrwalających wyroby mięsne.

Dodatek saletry do mięsa związany jest bardzo dawną obserwacją dodatku soli do mięsa, głównie w celu zwiększenia trwałości przechowalniczej. Zaobserwowano, że pewne rodzaje soli dodawanej do mięsa, obok konserwowania, nadawały produktom specyficzny smak, a głównie jasno czerwoną barwę, trwałą po obróbce cieplnej. Pierwsze prace naukowe były publikowane na przełomie XVII i XIX wieku, w których autorzy wskazują na pozytywny efekt trwałościowy i barwny w mięsie w wyniku dodatku saletry potasowej

(KNO₃). Z początkiem XIX wieku obserwuje się kolejny istotny element procesu, to jest kształtowanie potencjału redukcyjnego w mięsie. Pozwoliło to na wstępne wyjaśnienie mechanizmu peklowania, przez tworzenie się z saletry, nitrytu a następnie HNO₂ a w końcu reaktywnego tlenku azotu (NO) reagującego z barwnikami mięsa, głównie z mioglobina. Pełne wyjaśnienie mechanizmu według aktualnego stanu wiedzy nastąpiło w XX wieku. Wyjaśniony został również mechanizm oksydacyjnego i redukcyjnego działania związków azotowych w produktach mięsnych. W ostatnich latach dziesięciolecia dużą rolę w reakcji peklowania zaczął pełnić kwas askorbinowy i jego sole, do czego przyczyniła się chemiczna synteza tego związku i znaczne obniżenie kosztów. Kwas askorbinowy i jego sole mają swój udział w obniżeniu tworzących się nitrozoamin, które wobec braku substancji redukujących stanowią zagrożenie bezpieczeństwa wyrobów mięsnych, głównie obrabianych cieplnie. Askorbiniany redukują również pozostałość nitrytu, doprowadzając do tworzenia tlenku azotu (NO). Jest możliwe, że askorbiniany z grupami azotowymi redukują poziom *Clostridium batulinum* B, co podnosi bezpieczeństwo mikrobiologiczne wyrobu mięsnego. Problem mikrobiologiczny wyrobów mięsnych stwarza konieczność odpowiedniego postępowania przy powrocie do produkcji wyrobów mięsnych bez dodatku związków azotowych. Azotyn pełni cztery zasadnicze funkcje w produktach mięsnych, a mianowicie: azotyn sodu reagując z mioglobina uczestniczy w tworzeniu barwy poprzez wytworzenie tlenku azotu, który z mioglobina tworzy nitrozylo mioglobinę, która po obróbce cieplnej przechodzi w dość trwały związek nitrozylo miochromogen. Azotyn kształtuje charakterystyczne cechy sensoryczne, które prawdopodobnie powstają w wyniku reakcji pomiędzy azotynem i licznymi jego formami, a związkami komórki mięśniowej. Spośród dodawanych związków w peklowaniu mięsa azotyn pełni funkcję konserwującą i przeciwutleniającą. Hamujący wpływ na rozwój takich drobnoustrojów jak *Clostridium batulinum*, *Salmonella* czy *Staphylococcus* spp. pełni tylko azotyn. Hamowania rozwoju drobnoustrojów nie wywołuje dodawany na poziomie 2 % chlorek sodu i azotan, który nawet może być czynnikiem wzrostu drobnoustrojów jako substancja odżywcza dla ich rozwoju. Dla redukcji rozwoju drobnoustrojów należy wykorzystać inne możliwości technologiczne takie jak: zakwaszenie, aktywność wody. Dużą rolę w ostatnich czasach przypisuje się askorbinianom i odpowiednio prowadzonym procesom przetwórczym, a w przypadku wyrobów surowo – dojrzewających stosowaniu odpowiednich kultur bakteryjnych. Ważnym aspektem jest mikrobiologiczna konwersja mioglobiny, MbFe (II), w inne pochodne formy. Badania wykazały, że kilka szczepów bakterii kwasu mlekowego wykazuje zdolność do zmiany formy barwnika z MbFe (III) do MbFe (II), co wpływa na zmianę barwy produktu z brązowej na jasnoczerwoną. Do

szczepów wpływających na konwersję z formy MbFe (III) na formę MbFe (II) NO i jasnoczerwoną barwę należą między innymi *Kurthia Sp.* i *Lactobacillus fermentum* (JCM1173). W prowadzonych badaniach zastosowania serwatki do peklowania obserwujemy jasnoczerwoną barwę produktu surowo dojrzewającego, bardzo zbliżoną do barwy przy peklowaniu z azotanami i azotynami, lecz mechanizmu tego zjawiska nie można wytłumaczyć. Należy prowadzić dalej badania nad zmianami mioglobiny w układach modelowych, co pozwoli na postawienie hipotezy tworzenia barwy...

Serwatka

Serwatka jest złożoną mieszaniną wielu wartościowych składników: białek, laktozy, związków wapnia i fosforu, kwasów organicznych i witamin. Według wielu autorów, do serwatki przechodzi 50 – 60 % suchej masy mleka przerabianego na sery, w tym ponad 96 % laktozy. Szczególnie istotnym zjawiskiem jest wysoki stopień migracji białek serwatkowych (albumin i globulin), wynoszący około 95 %. W zależności od metody wytrącania białek z mleka oraz technologii produkcji zakłady mleczarskie wytwarzają dwa typy serwatki, które określa się jako: podpuszczkową (zwaną także słodką), otrzymywaną przy produkcji serów dojrzewających i kwasową – z produkcji twarogów. Serwatki te różnią się składem chemicznym i właściwościami fizykochemicznymi. Serwatka kwasowa (pH 3,8 - 4,6) charakteryzuje się wyższym udziałem kwasu mlekowego (do 0,7 %) i popiołu surowego niż podpuszczkowa (pH 5,2 – 6,7) oraz niższą zawartością laktozy. Badania dotychczasowe wykazały, że dodatek do solanek bekonowych kwasu mlekowego lub bakterii kwasu mlekowego w połączeniu z łatwo fermentującymi węglowodanami może być dobrym skutkiem jako substytutu nitrytu o działaniu inhibitującym rozwój mikroflory. Również kombinacja sacharozy i czystych kultur *Lactobacillus* powodowała wystarczającą stabilność mikrobiologiczną szynek, które były uważane za podobne pod względem cech sensorycznych do peklowanych konwencjonalnie. Białka serwatkowe to nie tylko niezwykle cenny składnik diety człowieka. Ich szczególne właściwości funkcjonalne jak: żelowanie, zdolności emulgujące i pianotwórcze sprawiają, że znajdują one bardzo szeroką aplikację w technologii żywności i przemyśle spożywczym. Coraz większe zainteresowanie naukowców budzą również całkiem niedawno odkryte właściwości przeciwutleniające poszczególnych frakcji białek serwatkowych. Istnieje uzasadnione podejrzenie, że spożywanie białek serwatkowych ma bezpośrednie przełożenie na ogólny stan zdrowia, witalność oraz opóźnianie efektów starzenia. Antyrakowe właściwości są bezpośrednio przypisywane cysteinie i metioninie, aminokwasom obecnym w składzie białek serwatkowych. Aminokwasy te są prekursorem

glutationu, tripeptydu, który w organizmie pełni bardzo ważne funkcje parasola ochronnego przed wolnymi rodnikami, mutagenami i czynnikami rakotwórczymi, ułatwiając ich dezaktywację i usunięcie z systemu. Wyżej wymienione związki a także laktoferryne oraz immunoglobuliny, frakcje białek serwatkowych skutecznie wspomagają naturalny system odpornościowy człowieka. W przypadku produktów mięsnych oraz wyrobów zawierających duże ilości tłuszczów w formie emulsji typu O/W (olej w wodzie) białka serwatkowe mogą spełniać rolę naturalnych przeciwutleniaczy. Podczas ukwaszania mleka w otrzymywanej serwatce, obok różnych drobnoustrojów wytwarza się szereg metabolitów szczepów bakterii kwasu mlekowego, często probiotycznych, o właściwościach bakteriostatycznych i bakteriobójczych (np. kwas mlekowy, bakteriocyny), które wspomagają utrwalanie mięsa i wyrobów mięsnych. Należy podkreślić, że naturalna serwatka zawiera w swoim składzie dużo różnych enzymów pochodzenia mikrobiologicznego i naturalnych mleka.

W prowadzonych badaniach nad wykorzystaniem ukwaszonego mleka i serwatki do kształtowania jakości wyrobów mięsnych, sprawdzono możliwość zastosowania takiej technologii produkcji wyrobów mięsnych, którą będzie można realizować w małych przetwórnich, a także przenieść do gospodarstw rolniczych o odpowiednich warunkach sanitarnych produkcji, do prowadzenia działalności marginalnej, ograniczonej, lokalnej, z zapewnieniem pełnego bezpieczeństwa zdrowotnego. Należy podkreślić, że wyniki badań są bardzo interesujące i wskazują na bardzo dużą możliwość wykorzystania powszechnie serwatki w produkcji wyrobów mięsnych. Szczegółowe technologie produkcji umieszczono w wynikach badań.

B. Ocena jakości fizykochemicznej i mikrobiologicznej wyrobów mięsnych podczas przechowywania i charakterystyka optymalnego okresu trwałości przechowalniczej.

Badania oceny jakości fizykochemicznej i mikrobiologicznej zostały przedstawione szczegółowo w aneksie wyników badań. Każda grupa produktów jest umieszczona z parametrami procesu technologicznego i dokonanymi badaniami jakościowymi. W niniejszej części zostaną przedstawione główne elementy oceny.

Wyroby wieprzowe obrabiane cieplnie

Analiza kwasowości prób kielbas nie wykazała znacznych różnic w wartości pH między próbami po produkcji oraz podczas przechowywania. We wszystkich kielbasach w trakcie 30-dobowego przechowywania obserwowano systematyczny spadek wartości pH aż do wartości 5,74- 5,89. Wskazuje to na udział mikroflory kwaszającej w przemianach podczas przechowywania. Analiza potencjału oksydacyjno-redukcyjnego wykazała, że próby z dodatkiem serwatki oraz serwatki i gorzycy charakteryzowały się niższymi o ok. 20 mV wartościami w porównaniu do próby kontrolnej (PK). We wszystkich próbach obserwowano stopniowy spadek wartości potencjału redox do 20 dnia przechowywania, po czym w 30 dobie następowała jego stabilizacja. Analiza zawartości barwników hemowych w próbach kielbas wykazała, że największe ich ilości bezpośrednio po produkcji obserwowano w próbie z dodatkiem gorzycy autoklawowanej (GA) 97,41 ppm, najmniejsze zaś w próbie z serwatką kwasową (KS) 83,41 ppm. W trakcie przechowywania obserwowano niewielki wzrost zawartości barwników hemowych do 20 doby przechowywania a następnie obniżenie ich zawartości w 30 dobie badań. We wszystkich badanych próbach kielbas obserwowano stabilną zawartość żelaza hemowego w trakcie przechowywania, przy czym największe jego ilości stwierdzono w próbie kontrolnej, najmniejsze zaś w próbie z serwatką kwasową (KS) 7,71 ppm. Wyroby obrabiane cieplnie charakteryzował barwa szara, inna niż wyrobów peklowanych z dodatkiem nitrytu.

Wyroby wieprzowe surowo dojrzewające

Dodatek serwatki w produkcji kielbas dojrzewających powodował wzrost ich aktywności wody. Zastosowanie 1 % dodatku gorzycy rozdrobnionej do kielbas z dodatkiem serwatki wpłynął na znaczne obniżenie aktywności wody podczas 90 dobowego okresu przechowywania. Dodatek serwatki kwasowej spowodował obniżenie wartości pH wyrobów w trakcie przechowywania. Brak aplikacji środków peklujących spowodował nieznaczne obniżenie wartości parametru a^* barwy w porównaniu do próby peklowanej z wyjątkiem próby z dodatkiem serwatki kwasowej, w której barwa była bardzo zbliżona do prób peklowanych z udziałem nitrytu. Dodatek gorzycy spowodował zwiększenie zawartości barwników hemowych, nitrozylobarwników a także żelaza hemowego w porównaniu do pozostałych prób. Zdolność przeciwutleniająca kielbas dojrzewających wobec kationorodników ABTS* została przedstawiona w wynikach badań. Najwyższą zdolnością przeciwutleniającą charakteryzowała się próba kielbasy peklowanej zarówno po zakończeniu dojrzewania jak i w trakcie 90-dobowego przechowywania. Stwierdzono znacznie wyższą zdolność przeciwutleniającą w kielbasach z dodatkiem gorzycy (G i GA) w porównaniu do

kielbas z dodatkiem tylko serwatki. W trakcie procesu dojrzewania we wszystkich próbach obserwowano wzrost wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego do 30 doby przechowywania, po czym obserwowano jego spadek lub stabilizację. Obserwowano zbliżone wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego we wszystkich próbach. Ogólna zawartość barwników hemowych systematycznie wzrastała we wszystkich próbach podczas przechowywania. Najwyższe wartości przyjmowała w próbie z gorczycą poddawaną obróbce (319,94 ppm) a najniższe w próbie z dodatkiem serwatki kwasowej (182,41 ppm heminy). Podobną sytuację obserwowano w przypadku nitrozylobarwników. Zawartość żelaza hemowego stopniowo wzrastała we wszystkich próbach w trakcie przechowywania przyjmując najwyższe wartości w próbie z gorczycą poddawaną obróbce (28,19 ppm) a najniższe w próbie z dodatkiem serwatki kwasowej (16,07 ppm heminy).

Zawartość skoniugowanych dienów zależy od dodatku serwatki. Zastosowanie wyłącznie serwatki bez dodatku gorczycy w produkcji kielbas dojrzewających powoduje znaczny wzrost zawartości skoniugowanych dienów podczas przechowywania.

Analiza parametrów barwy kielbas wykazała, że wszystkie próby z dodatkiem serwatki kwasowej charakteryzowały się wyższą wartością parametru jasności w porównaniu do próby kontrolnej o ok. 3 jednostki. We wszystkich próbach z serwatką (PS, G, GA) obserwowano zmniejszenie udziału barwy czerwonej w ogólnym tonie barwy w porównaniu do próby kontrolnej. Wyższą wartością parametru a^* charakteryzowała się próba PS w porównaniu do próby kontrolnej w 30 i 90 dobie chłodniczego przechowywania. We wszystkich próbach z serwatką obserwowano spadek wartości parametru a^* barwy bezpośrednio po dojrzewaniu a następnie stopniowy jej wzrost w trakcie przechowywania. Analiza wartości parametru b^* barwy wykazała, że najwyższą jego wartość stwierdzono w próbie z gorczycą autoklawowaną (14,75), najniższą zaś w próbie kontrolnej (11,44). W trakcie przechowywania obserwowano stopniowy spadek udziału barwy żółtej w ogólnym tonie barwy kielbas. Parametr C^* barwy we wszystkich próbach był podobny (od 14 do ok. 17 jednostek). We wszystkich próbach zanotowano systematyczny spadek wartości tego parametru w trakcie przechowywania kielbas. Parametr h barwy we wszystkich próbach był stabilny z wyjątkiem próby z serwatką (PS), w której obserwowano spadek wartości parametru barwy h . Wartości aktywności wody analizowanych kielbas dojrzewających przedstawione w wynikach badań wskazują, że stwierdzono znacznie wyższe wartości a_w dla prób kielbasy z dodatkiem serwatki (PS) w porównaniu do pozostałych wariantów doświadczalnych podczas całego okresu przechowywania. Najniższą aktywnością wody podczas 90-dobowego przechowywania charakteryzowały się kielbasy z dodatkiem gorczycy (G i GA). Wraz z upływem czasu

przechowywania obserwowano wzrost aktywności wody (do 60 doby) a następnie jej obniżenie w 90 dobie przechowywania dla wszystkich prób doświadczalnych.

Polędwice wyprodukowane z surowca moczzonego w serwatce charakteryzowały się najniższymi wartościami pH. Uzyskane wyniki były bardzo zbliżone do kwasowości prób z dodatkiem bakterii probiotycznych. Spośród prób kontrolnych, największe zakwaszenie odnotowano w polędwicach poddanych peklowaniu z użyciem związków azotowych. Obróbka ultradźwiękowa, której zadaniem było obniżenie poziomu bakterii środowiskowych, przyczyniła się do redukcji wartości pH próby kontrolnej z dodatkiem soli morskiej. Zakwaszenie surowca spowodowało obniżenie aktywności wody. Największy spadek wartości tego parametru, w porównaniu do surowca wyjściowego, odnotowano dla prób z dodatkiem szczepu bakterii probiotycznych. Pozostałe próby cechowały się zbliżoną wartością aktywności wody. Polędwice surowo dojrzewające charakteryzowały się wyższymi wartościami potencjału oksydoredukcyjnego w porównaniu do surowca. Największy wzrost odnotowano dla próby kontrolnej peklowanej z użyciem związków azotowych. Ich zastąpienie solą morską i serwatką przyczyniło się do zahamowania zmian o charakterze oksydacyjnym. Szczególnie korzystny wpływ na hamowanie procesów utleniania miało zastosowanie kombinacji obróbki ultradźwiękowej i dodatku soli morskiej. Instrumentalny pomiar tekstury wyrobów wykazał, że twardość 1 (T1) przygotowanych wyrobów zawiera się w przedziale od 167 N (KSU - surowiec poddany obróbce ultradźwiękowej) do 215 N (SeSU – surowiec poddanych obróbce ultradźwiękowej i moczony w serwatce). Zmiany spoistości zawierały się w przedziale od 0,470 (SeS) do 0,542 (SeSU), a elastyczności w zakresie od 0,352 (KA) do 0,459 (SeSU). Najmniejszą gumowatość stwierdzono w przypadku wyrobu z wyłącznym dodatkiem soli (KS). Wyrób, do którego sporządzenia mięso obrabiano ultradźwiękami i moczono w serwatce (SeSU) cechował się największą wartością gumowatości (118 Nmm) i żuwalności (53,8 N).

Wyroby wołowe

Bezpośrednio po produkcji zaobserwowano zbliżone wartości potencjału oksydacyjno redukcyjnego dla całego układu badawczego. Najniższą wartością potencjału oksydacyjno redukcyjnego bezpośrednio po produkcji charakteryzowała się próba moczona w serwatce. Najwyższą wartość ORP po 2 miesięcznym okresie przechowywania zanotowano w przypadku próby kontrolnej, co wskazuje na utleniający kierunek przemian, najniższą w przypadku próby z serwatką, w przypadku której zastosowano etap moczenia w serwatce kwasowej. We wszystkich próbach zaobserwowano wzrost potencjału oksydacyjno

redukcyjnego po przechowywaniu, w porównaniu z wartościami zmierzonymi bezpośrednio po produkcji. Wartości a_w w przypadku prób: kontrolnej - K i moczonych w serwatce - S, bezpośrednio po produkcji kształtowały się na zbliżonym poziomie i były niższe w porównaniu z wartością oznaczoną dla próby z dodatkiem związków azotowych - A. W przypadku tych dwóch prób zaobserwowano wzrost wartości a_w po przechowywaniu. Próba z dodatkiem związków azotowych, bezpośrednio po produkcji wykazała najwyższą wartość a_w i wartość ta po 2 miesiącach przechowywania kształtowała się na zbliżonym do wyjściowego poziomie.

Wszystkie analizowane próby bezpośrednio po okresie dojrzewania charakteryzowały się niską zawartością oksymyoglobiny. Najniższą zawartość tej frakcji zanotowano w przypadku próby kontrolnej - K, najwyższą w przypadku próby z serwatką - S. Najwyższy procentowy udział wśród barwników hemowych, w przypadku wszystkich prób, stanowiła metmyoglobina. Najwyższy udział procentowy zanotowano dla próby z dodatkiem związków azotowych - A, która była próbą porównawczą do prób z serwatką. Najwyższą zawartość myoglobiny po produkcji zaobserwowano w próbie S dla której, zastosowano podczas produkcji etap moczenia w serwatce.

Najniższą wartość parametru L^* bezpośrednio po produkcji zanotowano dla próby z dodatkiem związków azotowych - A, najwyższą dla próby kontrolnej - K. W przypadku próby K zaobserwowano spadek jasności po przechowywaniu, a w przypadku pozostałych prób odnotowano wzrost wartości parametru L^* . Najwyższą czerwonością - parametr a^* , bezpośrednio po produkcji charakteryzowała się próba A - z dodatkiem związków azotowych, najniższą próba kontrolna - K. W przypadku prób kontrolnej - K i moczonych w serwatce - S zaobserwowano spadek wartości tego parametru wraz z upływem czasu przechowywania. W przypadku próby Serii A po przechowywaniu zaobserwowano wzrost czerwoności. Najwyższą żółtością - parametr b^* , bezpośrednio po produkcji charakteryzowała się próba K. W przypadku wszystkich prób serii A doświadczenia zaobserwowano wzrost wartości tego parametru b wraz z upływem czasu przechowywania. W przypadku pozostałych prób, po przechowywaniu odnotowano spadek żółtości.

Przeprowadzone doświadczenie na kielbasie dojrzewającej z daniela z uwzględnieniem warunków dojrzewania (zakładowych i laboratoryjnych) wskazały na różnice w ocenianych właściwościach. Kielbasa dojrzewająca w warunkach laboratoryjnych charakteryzowała się niższym pH oraz stopniem utlenienia tłuszczu oraz wyższą aktywnością wody w porównaniu do kielbasy dojrzewającej w warunkach zakładowych. Jednocześnie, w kielbasie myśliwskiej dojrzewającej w warunkach laboratoryjnych, stwierdzono niższą ogólną liczbę bakterii (OLD)

oraz niższą liczbę komórek oznaczanych patogenów. Badania przeprowadzone po 3 miesiącach przechowywania wskazały na wzrost potencjału oksydacyjno-redukcyjnego dla dwóch wariantów kielbas oraz obniżenie czerwoności barwy i wzrost jasności w przypadku produktu dojrzewającego w warunkach zakładowych.

Jakość mikrobiologiczna

Zgodnie z definicją Rozporządzenia WE Nr 2073/2005 z dnia 15.11.2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych (Dz. U. L 338 z 22.12.2005), mikroorganizmy to bakterie, wirusy, drożdże, pleśnie, glony, pierwotniaki pasożytnicze, mikroskopijne robaki pasożytnicze oraz ich toksyny i metabolity.

W prowadzonych badaniach zastosowano serwatkę jako nośnik bakterii fermentacji mlekowej do wytwarzania dwóch rodzajów produktów: surowo dojrzewających (kielbas, szynek, baleronów), parzonych (kielbas i szynek). Wyroby były wytwarzane z mięsa wieprzowego, wołowego oraz mięsa daniela.

Wyroby surowo dojrzewające wyprodukowane z dodatkami wprowadzającymi bakterie kwasu mlekowego (serwatka) są przykładem nowych produktów ekologicznych. Bakterie fermentacji mlekowej (Lactic Acid Bacteria, w skrócie nazywane LAB) obejmują grupę Gram (+) pałeczek i ziarniaków z rodzajów: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Eterococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* oraz *Weissella*. Pomimo że te mikroorganizmy nie są jednorodne pod względem morfologicznym i diagnostycznym, wszystkie charakteryzują się metabolizmem fermentacyjnym.

Bakterie fermentacji mlekowej są niezmiernie ważne w celu poprawy zdrowia człowieka. Zauważył to i udokumentował w pierwszej połowie XX wieku, laureat nagrody Nobla, Ilija Miecznikow. Dowiódł, że obecność bakterii fermentacji mlekowej w przewodzie pokarmowym człowieka, w odpowiednio wysokiej liczbie, ma korzystne działanie na zdrowie gospodarza. Jest to wynik regulacji składu mikroflory jelitowej człowieka. Korzystny wpływ bakterii fermentacji mlekowej na organizm człowieka polega przede wszystkim na ochronie przewodu pokarmowego przed zasiedleniem i rozwojem bakterii gnilnych i chorobotwórczych. Od tamtego czasu obserwuje się wzrost liczby badań nad wpływem drobnoustrojów występujących w jelicie na zdrowie oraz rozwój produkcji nowych wyrobów zawierających korzystne dla człowieka bakterie lub substancje stymulujące ich rozwój.

Bakterie fermentacji mlekowej wykorzystuje się tradycyjnie w produkcji: fermentowanych produktów mleczarskich, kiszonek warzywnych, chleba, przetworów

mięsnych, ryb, zbóż, żywności orientalnej. Stosowane są one ze względu na ich wpływ na właściwości sensoryczne żywności, a także hamowanie procesów zepsucia żywności; jest to naturalne przedłużenie trwałości produktów spożywczych. Dodawanie bakterii fermentacji mlekowej do mięsa zapewnia większe bezpieczeństwo i stabilność produktu, a także dostarcza nowych wrażeń sensorycznych i korzyści zdrowotnych. Są one odpowiedzialne za wstępne zakwaszanie surowców poprzez produkcję kwasu mlekowego (szczepy homo- i heterofermentatywne) i kwasu octowego (szczepy heterofermentatywne). Szczepy homofermentatywne produkują głównie kwas mlekowy, zaś heterofermentatywne obok kwasu mlekowego wytwarzają także produkty uboczne. W czasie fermentacji mlekowej powstają metabolity bakteryjne, takie jak kwasy organiczne (bakterie produkują od 0,6 do 3 % kwasu mlekowego), peptony, peptydy, bakteriocyny – substancje o charakterze antybiotycznym, np. nizyna, acidolina, acidofilina, laktacyna, laktocydyna, bifidyna.

Istnieją dwa zagrożenia związane z obecnością mikroorganizmów w mięsie. Organizmy saprofityczne, jeśli rozwiną się w dużej liczbie, powodują pogorszenie cech smakowych i zapachowych, a w końcu całkowite zepsucie mięsa i jego przetworów. Z kolei organizmy chorobotwórcze mogą wywoływać zatrucia pokarmowe, groźne dla zdrowia lub życia.

Pozyskiwanie oraz przetwarzanie mięsa z produkcji ekologicznych wiąże się z występowaniem i rozwojem drobnoustrojów. Jakość końcowego wyrobu, a zwłaszcza jego właściwości sensoryczne, wartość odżywcza oraz trwałość, zależą od tego, w jakim stopniu przerabiany surowiec był opanowany przez drobnoustroje gnilne, jak dalece mogły się one rozwijać podczas przetwarzania, a także, jaka jest liczebność mikroorganizmów w gotowym produkcie.

Tab. 1 Determinanty jakości mikrobiologicznej mięsa z hodowli ekologicznych.

Mikroorganizmy saprofityczne o istotnym znaczeniu jakościowym
Bakterie: <i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Alkaligenes</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Moraxella</i> ,
Plesnie: <i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Mucor</i>

W optymalnych warunkach środowiskowych w żywności, liczba bakterii lub drożdży może ulec podwojeniu w ciągu 15 - 20 minut. Komórki potomne po następnych 15- 20 minutach są już gotowe do następnego podziału. Ogólnie przyjmuje się, że produkty, w których stwierdza się do 10^6 komórek na g, nie budzą zastrzeżeń z sensorycznego

i mikrobiologicznego punktu widzenia. Wyroby surowo dojrzewające z serwatką, otrzymane proponowanymi metodami technologicznymi, zostały ocenione mikrobiologicznie w kierunku ogólnej liczby drobnoustrojów oraz bakterii kwasu mlekowego. Ze względu na rezygnację z peklowania surowca mięsnego, w przypadku wyrobów parzonych, przeprowadzono kontrolę tych samych grup drobnoustrojów, z tym że, ocena była wykonywana po 2-tygodniowym przechowywaniu produktów.

Tab. 2 Metody analiz mikrobiologicznych – bakterie saprofityczne

Oznaczenie	Jednostka	Metoda
Bakterie kwasu mlekowego LAB	jtk/g	PN ISO 15214:2002
Ogólna liczba drobnoustrojów OLD	jtk/g	PN-A-82055-6:1994

Jakość mikrobiologiczna produktów surowo dojrzewających w czasie przechowywania.

Kielbasy surowo dojrzewające były w większości dobrej jakości mikrobiologicznej. Szczególną uwagę zwraca bardzo wysoka liczba bakterii kwasu mlekowego. Gwarantuje ona stabilność mikrobiologiczną i bezpieczeństwo wyrobów. Liczba LAB była szczególnie wysoka w przypadku kielbas z mięsa daniela, dojrzewających w warunkach przemysłowych. Liczba bakterii mlekowych i OLD w kielbasach była na poziomie powyżej 10^8 /g, natomiast w polędwicy łososiowej powyżej 10^6 /g, co świadczy o prawidłowym wzroście bakterii kwaszących w tych wyrobach.

Kielbasy surowo dojrzewające po 2-miesięcznym przechowywaniu były w większości dobrej jakości mikrobiologicznej. Porównując liczbę bakterii kwasu mlekowego w kielbasach po przechowywaniu z liczbą bakterii w próbach po produkcji, należy podkreślić, że nie zmieniły się one w sposób zasadniczy. Także ogólna liczba bakterii pozostała na tym samym poziomie.

Na uwagę zasługują kielbasy przechowywane w warunkach beztlenowych przez ok. rok, w których stwierdzono wysoką (powyżej 10^8 /g) liczbę LAB, natomiast OLD nie była zbyt wysoka. Natomiast liczba bakterii mlekowych w **polędwicach** była na niższym poziomie, ale powyżej 10^6 /g, tak więc można uznać, że masowanie solą i serwatką jest prawidłowym postępowaniem technologicznym. W próbie polędwicy przechowywanej przez 2 miesiące stwierdzono wysoką liczbę bakterii mlekowych, ale także OLD była bardzo wysoka (powyżej 10^8 /g).

Liczba bakterii LAB w szynkach była poniżej 10^6 /g, co wymaga dalszych działań technologicznych. Dokonano oceny prób trzech szynek surowych po miesiącu dojrzewania oraz szynki dojrzewającej z dziczyzny. W próbie szynki surowej z kością z beczki, leżakowanej w serwatce liczba LAB była poniżej 10^5 /g co wymaga dalszych zabiegów technologicznych np. wydłużenia czasu dojrzewania. Jedynie w próbie szynki surowej z pojemnika masowanej serwatką, liczba bakterii LAB była na poziomie powyżej 10^6 /g. Wskazuje to na pozytywny efekt masowania w serwatce na jakość mikrobiologiczną i jak można przypuszczać, dojrzałość szynki. Podobnie szynka dojrzewająca z dziczyzny moczona w serwatce kwasowej z solą była dobrej jakości mikrobiologicznej pod względem liczby bakterii mlekowych.

Podobnie przedstawia się jakość mikrobiologiczna szynek dojrzewających po dwóch miesiącach przechowywania w porównaniu z liczbą LAB i OLD po produkcji.

Ogólnie można stwierdzić, że jakość mikrobiologiczna wędlin surowo dojrzewających wyprodukowanych z dodatkiem serwatki była bardzo dobra lub dobra. W czasie przechowywania przez 2 miesiące obserwowano dalszy wzrost bakterii kwasu mlekowego oraz LAB. Obserwacja wyrosłych na płytkach kolonii może jednak wskazywać na obecność bakterii mlekowych, które także mogą rosnąć na bulionie odżywczym i były liczone jako ogólna liczba bakterii. Dojrzewanie szynek powinno być przedłużone gdyż większa masa mięsa wymaga dłuższego czasu wzrostu bakterii mlekowych.

Jakość mikrobiologiczna wyrobów parzonych z surowca ekologicznego.

Dokonano oceny próbek kielbas parzonych po około miesiącu przechowywania: kielbasa dojrzewająca z serwatką kwasową, solą i żurawiną oraz kielbasa dojrzewająca z serwatką kwasową, solą i jałowcem. W obu kielbasach stwierdzono porównywalną liczbę bakterii mlekowych (powyżej 10^6 /g) i ogólną liczbę drobnoustrojów (OLD). Obserwacja wyrosłych na płytkach kolonii może wskazywać na obecność bakterii mlekowych, które także mogą rosnąć na bulionie odżywczym, tak więc prawdopodobnie OLD to liczba bakterii mlekowych.

Przetwórstwo mięsa metodami ekologicznymi może stwarzać pewne zagrożenia ze względu na brak stosowanych radykalnych metod utrwalania. Korzystnymi, z punktu widzenia jakości mikrobiologicznej, metodami utrwalania przetworów z mięsa ekologicznego może być obróbka cieplna. Przy zastosowaniu odpowiednio wysokich temperatur oraz wystarczająco długiego czasu ogrzewania, można skutecznie zniszczyć wszystkie

drobnoustroje, poza ciepłoopornymi przetrwalnikami. Jednak w czasie przechowywania może następować dalszy wzrost bakterii, szczególnie w wyrobach nie poddanych peklowaniu.

Stwierdzono wysoką ogólną liczbę bakterii zarówno w przypadku mięsa wołowego (powyżej 10^7 /g) jak i w mięsie jelenia (powyżej 10^8 /g). Zastosowanie tak zanieczyszczonego surowca do produkcji wyrobów surowo dojrzewających nie będzie gwarantowało prawidłowej jakości produktów.

C. Ocena wpływu dodatku odpowiednio przygotowanych nasion gorczycy do ekologicznych wyrobów mięsnych jako czynnika stabilizującego rozwój mikroflory i oksydację produktu podczas przechowywania.

Przyprawy są to substancje, które wpływają m.in. na kształtowanie cech sensorycznych żywności (barwa, smak, zapach), właściwości fizyczne (konsystencja), parametry chemiczne (np. kwasowość) czy jakość mikrobiologiczną. Właściwości poszczególnych przypraw zależą od rodzaju substancji czynnych jakie w nich występują oraz ich aktywności. Przyprawy oraz substancje aromatyzujące zaliczane są do składników odgrywających istotną rolę przy opracowaniu nowych asortymentów wyrobów, szczególnie przetworów mięsnych. Zaliczyć do nich można następujące grupy związków: olejki eteryczne, glikozydy, alkaloidy, gorycze, śluzy, garbniki, żywice, kwasy organiczne i fitoncydy. Są to części roślin przetworzone nie bardziej niż jest to technicznie konieczne, które nadają się i są przeznaczone do spożycia jako dodatki przyprawowe lub nadające smak ze względu na naturalną zawartość substancji smakowych i zapachowych.

Podjęcie tematu projektu uzasadnia opracowanie technologii produkcji wyrobów mięsnych o wysokiej stabilności oksydacyjnej oraz walorach prozdrowotnych. Istotnym problemem dla przemysłu mięsnego są przemiany oksydacyjne zachodzące podczas przetwarzania i przechowywania surowca mięsnego. Szczególnie ważnym problemem jest trwałość i bezpieczeństwo wędlin surowo dojrzewających. Poszukiwane są zatem skuteczne metody hamowania tych przemian. Przeprowadzone w ramach projektu badania naukowe mogą w istotny sposób przyczynić się do realizacji tego celu. Przeprowadzone badania potencjału antyoksydacyjnego mięsa wykorzystywanego w przetwórstwie wykazały, że mięso pozyskane z hodowli ekologicznej charakteryzowało się większą stabilnością oksydacyjną, co zadecydowało o jego wyborze do produkcji wyrobów mięsnych. Wyższy potencjał antyoksydacyjny surowca będzie wpływał na wyższy potencjał uzyskanych produktów mięsnych.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują na fakt, że nasiona gorczycy białej zastosowane zarówno w formie rozdrobnionej jak i nierozdrobnionej mogą być skutecznym sposobem przedłużania trwałości oraz kształtowania stabilności oksydacyjnej produktów mięsnych. Dodatkowym uzasadnieniem opracowania technologii produkcji wyrobów mięsnych z dodatkiem gorczycy jest ich wyższa wartość żywieniowa oraz bezpieczeństwo, co opisano szerzej w charakterystyce gorczycy. Jednocześnie w oparciu o uzyskane wyniki i uwzględniając wzrastającą czułość konsumentów na syntetyczne związki przeciwutleniające oraz poszukiwanie żywności tzw. funkcjonalnej można przypuszczać, że produkt z gorczycą byłby akceptowany przez konsumenta. Zastosowany w doświadczeniach dodatek gorczycy (0,2 – 1%) wykazywał zróżnicowane właściwości przeciwutleniające w zależności od zastosowanej procentowej ilości. Im wyższy udział gorczycy w recepturze produktu miesnego, tym wyższy potencjał przeciwutleniający. Wyniki sugerują, że zasadne jest prowadzenie dalszych badań w celu sprawdzenia skuteczności wyższego udziału gorczycy w kształtowaniu stabilności oksydacyjnej produktów mięsnych.

Nazwą „gorczyce” obejmuje się jednoroczne, oleiste i miododajne rośliny zielone z rodziny *Brassicaceae* – kapustowate (dawniej *Cruciferae* – krzyżowe), podrodziny *Brassicoideae* z rodzajów *Sinapsis*, *Brassica* i *Eruca*. W literaturze znajduje się niewiele doniesień naukowych traktujących o wpływie dodatku nasion gorczycy do produktów mięsnych. Większość badań naukowych dotyczy zastosowania ekstraktów lub olejków pozyskanych z nasion gorczycy. Olejek z gorczycy może być stosowany jako skuteczny czynnik przeciwbakteryjny. Odpowiedzialnym za właściwości antybakteryjne jest izotiocyjanian allilu obecny w oleju gorczycy. Izotiocyjanian allilu wpływa na zmniejszenie obecności *E. coli* w rozdrobnionej wołowinie podczas przechowywania w warunkach chłodniczych oraz zamrażalniczych.

Gorczyca biała zwana jest również jasną lub żółtą. Pochodzi prawdopodobnie z rejonów Morza Śródziemnego. Jest to roślina jednoroczna, miododajna ale także trująca. Kwitnie od końca maja do początku sierpnia. Podstawowa charakterystyka składu chemicznego: kwasy tłuszczowe 25 – 30 % w tym: kwas erukowy 41,5 %, kwas oleinowy 22,0 %, kwas linolenowy 9,0 %, kwas eikozenowy 9,0 %, kwas linolowy 9,5 %, kwasy nasycone 4,0 %, inne 1,0 %; białko 27 - 35 %. Nasiona gorczycy białej (*Sinapis albae*) zawierają protoalkaloid synapinę oraz glikozyd izotiocyjanianowy synalbinę, który pod wpływem enzymu myrozynazy rozkłada się do glukozy, kwaśnego siarczanu potasu i izotiocyjanianu allilu, będącego podstawą olejku gorczycznego (*Oleum Erucae*). Ziarno gorczycy stanowi ważne źródło kwasów omega-3, cennych makroelementów i mikroelementów. Wśród kwasów

tłuszczowych oleju z gorczycy można wskazać kwasy nienasycone (oleinowy, linolenowy, eikozenowy, linolowy) i nasycone – 4 %. W wyniku działań naukowców powstała pierwsza odmiana gorczycy białej o niskiej (1,5 %) zawartości kwasu erukowego – Bamberka. Olej z gorczycy Bamberki jest wysokiej jakości tłuszczem spełniającym wymogi dla olejów jadalnych i charakteryzującym się korzystnym składem kwasów tłuszczowych. Zawiera kwas oleinowy, który posiada właściwości regulujące poziom cholesterolu we krwi. Posiada kwasy omega-6 i omega-3 w odpowiedniej proporcji (1:1) oraz niską zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych. Występują w nim również pożądane niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe – kwas linolowy i linolenowy.

Gorczyca czarna zwana kapustą czarną. Pochodzi z ośrodka śródziemnomorskiego, a drugie centrum pochodzenia to Bliski Wschód. Gatunek ten dzieli się na pięć odmian botanicznych, z których tylko dwie znajdują się w uprawie. Roślina jednoroczna. Kwitnie w czerwcu i lipcu. Siedlisko: pola, brzegi rzek, zarośla, rowy, pola uprawne. Wymaga żyznych gleb. Jej nazwa związana jest z jej charakterystycznym gorzkim smakiem, który zawdzięcza synapinie – związkowi zawartemu w nasionach. W przeciwieństwie do innych przypraw, nasiona pozbawione są jednak zapachu. Podstawowa charakterystyka składu chemicznego: Kwasy tłuszczowe 35 - 40%, w tym: kwas erukowy 36,5 %, kwas oleinowy 12,5 %, kwas linolenowy 13,0 %, kwas eikozenowy 10,0 %, kwas linolowy 19,5 %, kwasy nasycone 5,0 %, inne 3,5 %; białko 27 %.

Gorczyca sarepska zwana modrą lub sitową. Pochodzi z Indii oraz krajów Bliskiego Wschodu. Jej nasiona mają gorzki i piekący smak, od którego pochodzi jej zwyczajowa nazwa. Smak ten zawdzięcza składnikowi o nazwie synalbina. Podstawowa charakterystyka składu chemicznego: Kwasy tłuszczowe 23 - 47 % w tym: kwas erukowy 26,5 %, kwas oleinowy 22,0 %, -kwas linolenowy 15,0 %, - kwas eikozenowy 12,0 %, -kwas linolowy 9,5,0 %, kwasy nasycone 6,0 %, inne 2,0 %; Białko 28 %.

Wszystkie gatunki gorczycy zawierają związki specyficzne dla rodziny *Brassicaceae* tzw. glukozylany czyli tioglukozydy lotnych olejków gorczycznych. Skład glukozydów zależy od gatunku, odmiany botanicznej i fazy rozwojowej roślin. Glukozydy pełnią w roślinach funkcje obronne i ochronne przed zwierzętami i roślinami. Pod wpływem enzymu mirozynazy mogą one uwalniać glukozę, zaś część aglikonowa ulega przekształceniu w związki o charakterze nitryli, tiocyjanianów, izotiocyanianów, cyjanoepitioalkanów. W normalnych warunkach nie dochodzi do kontaktu enzymu z substratem i uwolnienia toksycznych produktów rozkładu. W gorczycy białej występuje sinalbina 0,1-1,1 %, zaś w gorczycy sarepskiej i czarnej- sinigrina – odpowiednio 0,8 - 0,9 % i 0,4 - 0,9 %.

W medycynie ludowej gorczyce stosowane były w przypadku stanów chorobowych żołądka, dwunastnicy, wątroby, szczególnie w owrzodzeniach jako substancja powlekająca ze względu na dużą zawartość śluzów. Stosowane są także w preparatach przeczyszczających. Olejki gorczyczne wywołują odczucia ostrego, szczypiącego smaku na języku podczas żucia nasion. Jest to efekt rozkładu synalbiny, której produkty mają działanie silnie rozgrzewające i działające na zakończenia nerwowe. Właściwość ta była wykorzystywana także do okładów na skórę jako środek silnie rozgrzewający. Stosowano ją w przypadku stanów zapalnych ścięgien i korzonków nerwowych, w reumatyzmie.

D. Ocena bezpieczeństwa mikrobiologicznego ekologicznych produktów mięsnych bez związków azotowych z dodatkiem serwatki w czasie przechowywania.

Jednym z podstawowych wyróżników jakości żywności jest jej stan mikrobiologiczny. Ze względów zdrowotnych, z powodu możliwości wystąpienia zatruc i zakażeń pokarmowych, jakość mikrobiologiczna ma znaczenie podstawowe. Żywność, jest bowiem zawsze zanieczyszczona mikrobiologicznie przez organizmy żyjące w niej naturalnie lub dostające się z otoczenia, np. w wyniku poddawania jej zabiegom przetwórczym.

Rozporządzenie Komisji nr 2073/2005/WE, ustala kryteria mikrobiologiczne pozwalające na akceptację procesów i kryteria mikrobiologiczne bezpieczeństwa żywności, ustalając limit, powyżej którego dany środek spożywczy powinien zostać uznany za zanieczyszczony w niedopuszczalnym stopniu mikroorganizmami, których dotyczą ustalone kryteria. Rozporządzenie to zostało częściowo zmienione przez Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, w zakresie załącznika I.

Bezpieczeństwo zdrowotne w ujęciu mikrobiologicznym określone może być jako nieobecność organizmów patogennych i toksyn pochodzenia mikrobiologicznego w danej ilości produktu żywnościowego. Dane z wielu krajów wskazują na to, że liczba niektórych chorób przenoszonych przez żywność znacznie wzrosła w ciągu ostatnich kilkunastu lat (salmonelozы, listeriozy itp.). Badania epidemiologiczne są bardzo trudne do przeprowadzenia, gdyż w wielu krajach pojedyncze przypadki zachorowań nie są notowane. Badanie występujących mikrobiologicznych zanieczyszczeń żywności jest bardzo istotne, gdyż mikroorganizmy rosną i namnażają się w żywności wykorzystując ją jako źródło energii

oraz ewoluują bardzo szybko przez zmianę materiału genetycznego. Pomaga im to kolonizować coraz to nowe nisze ekologiczne (w tym również pokarmowe), co w rezultacie powoduje nowe choroby bądź odmiany tych samych schorzeń. Poza tym żywność jako źródło infekcji jest dla mikroorganizmów odpowiednia, ze względu na wiele możliwych dróg zanieczyszczenia, gdyż droga pomiędzy gospodarstwem rolnym, a stołem jest najczęściej bardzo długa. Żywność styka się z dużą liczbą mikroorganizmów (w tym chorobotwórczych) podczas całego cyklu produkcyjnego.

Przy analizie zagrożeń związanych z przetwarzaniem mięsa z hodowli ekologicznych należy wziąć pod uwagę trzy czynniki:

- jakość mikrobiologiczną surowców,
- proces technologiczny w tym przede wszystkim zastosowane metody utrwalania,
- możliwości zanieczyszczeń wtórnych i sposoby zapobiegania.

Podstawowe zagrożenia mikrobiologiczne związane z mięsem z hodowli ekologicznych przedstawiono w tabeli 3.

Tab. 3 Determinanty bezpieczeństwa mikrobiologicznego mięsa z hodowli ekologicznych

Bakterie chorobotwórcze – patogeny

Salmonella, *Enterococcus faecalis*, *Alcaligenes faecalis*, ***Listeria monocytogenes***, *Citrobacter* spp. ***E. Coli* O157:H7**, ***Staphylococcus aureus***, *Clostridium botulinum*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*

Opracowanie własne na podstawie danych literaturowych

W procesie technologicznym przetwórstwa mięsa ekologicznego, największe znaczenie dla jakości mikrobiologicznej (bezpieczeństwa produktu) ma fakt ograniczania lub całkowitego rezygnowania z peklowania mięsa. W Stanach Zjednoczonych, gdzie od kilku lat jest zalecane nie stosowanie peklowania w przypadku mięsnych produktów ekologicznych, poszukuje się innych sposobów tzw. „naturalnego peklowania”. Proponuje się zastosowanie soków lub proszku warzywnego i ewentualnie bakterii denitryfikujących np. *Staphylococcus carnosus*. Na przykład proszek z selera może wprowadzać ilość azotanów porównywalną do stosowanej w peklowaniu (120 ppm). Jednak oczywiście nie jest możliwe określenie jaka ilość azotanów powstanie w wyniku reakcji z azotanów ze względu na szybki przebieg tych przemian. Szereg autorów prowadziło badania nad skutecznością tego rodzaju peklowania z punktu widzenia bezpieczeństwa mikrobiologicznego. Niektórzy z nich badali wzrost zaszczepionego w produktach peklowanych tradycyjnie i organicznych *Clostridium*

perfringens i stwierdzili, że w produktach peklowanych naturalnie występuje wprawdzie ograniczony, ale wzrost patogenu. Także inni badacze wskazywali na trudności osiągnięcia bezpieczeństwa produktów „peklowanych naturalnie” w porównaniu z peklowanymi w sposób tradycyjny.

Z raportu WHO wynika, że w krajach europejskich obserwuje się pojawienie nowych czynników patogennych np. *Escherichia coli* serotyp O157:H7 czy *Listeria monocytogenes*. Ze względu na brak zastosowania azotynu należy dokonać kontroli mikrobiologicznej nie tylko bakterii mlekowych, ale także ewentualnego wzrostu innych mikroorganizmów w tym patogennych. Wykonana w ramach projektu w roku 2011 analiza ryzyka wskazała na konieczność oceny liczby bakterii *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* i gronkowców koagulazododatnich. Szczególnie istotna, z punktu widzenia bezpieczeństwa produktów mięsnych, jest obecność *L. monocytogenes* i wymaga dużej uwagi.

Ze względu na brak zastosowania azotynu zaplanowano kontrolę mikrobiologiczną nie tylko bakterii mlekowych, ale także ewentualnego wzrostu innych mikroorganizmów w tym patogennych. W oparciu o przegląd literatury i baz danych dotyczących zatruc pokarmowych wybrano trzy drobnoustroje patogene identyfikowane w produktach mięsnych dojrzewających surowych i wyrobach parzonych: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.

Wyroby surowo dojrzewające z serwatką, otrzymane proponowanymi metodami technologicznymi, zostały ocenione mikrobiologicznie w kierunku tych drobnoustrojów.

W przypadku wyrobów parzonych, ze względu na rezygnację z peklowania surowca mięsnego, przeprowadzono kontrolę tych samych grup drobnoustrojów, z tym, że ocena była wykonywana po 2-tygodniowym przechowywaniu produktów.

Tab. 4 Metody analiz mikrobiologicznych – bakterie patogene.

Oznaczenie	Jednostka	Metoda
Liczba β -glukoronidaza-dodatnich <i>Escherichia coli</i>	jtk/g	PN ISO 6888-2-2001+A1:2004
Liczba <i>Listeria monocytogenes</i>	jtk/g	PN-EN ISO 11290-2:2000 +A1:2005+Apl:2006+Ap2:2007
Liczba gronkowców koagulazo-dodatnich	jtk/g	PN EN ISO 6888-2:2001+A1:2004

Ocena ryzyka związanego z *Listeria monocytogenes* w badanych wyrobach.

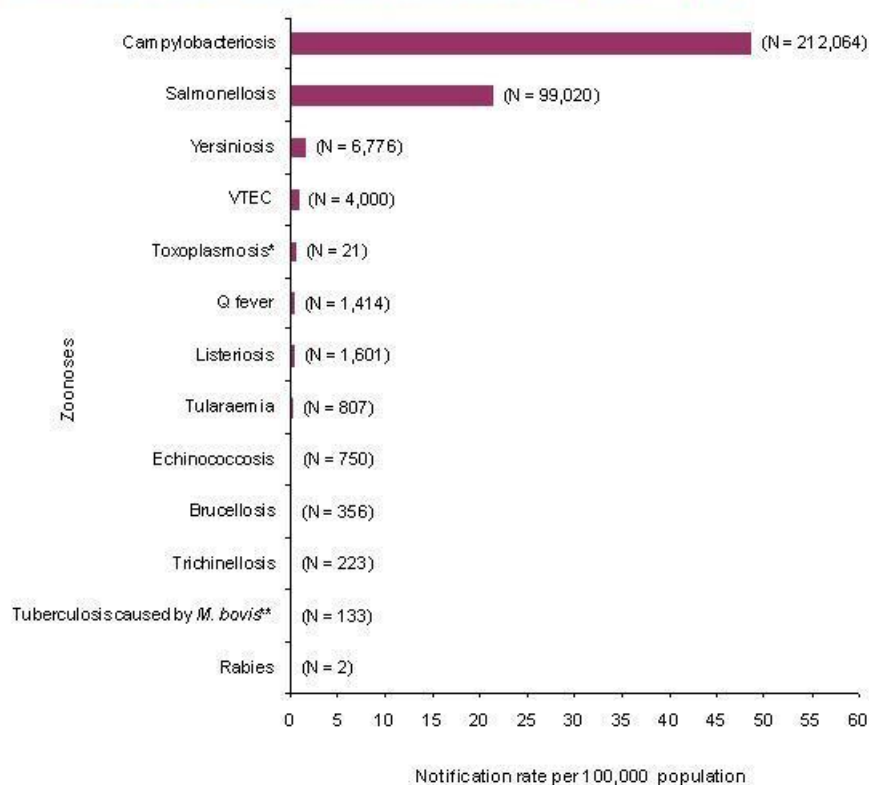
Bakterie *Listeria* są gram dodatnimi pałeczkami, rosnącymi zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych, w szerokim zakresie temperatur 0 – 45 °C, w pH 4,4 – 9,4 i aktywności wody powyżej 0,92. To sprawia, że mogą rosnąć w produktach mięsnych, przechowywanych zarówno opakowaniach tlenowych jak i próżniowych. Pomimo, że optymalna temperatura wzrostu tych bakterii wynosi 37 °C, to są one zdolne do wzrostu i namnażania także w warunkach chłodniczych (0 - 4 °C). *Listeria* jest oporna na większość czynników fizykochemicznych stosowanych podczas utrwalania żywności (w tym zamrażanie, suszenie, obniżanie pH), natomiast w przypadku utrwalania wysoką temperaturą, wymagane jest osiągnięcie temperatury 75 °C w środku geometrycznym produktu. Jest także oporna na większość tradycyjnych środków stosowanych podczas mycia i dezynfekcji, a także cechuje się bardzo dobrą adhezją do różnych powierzchni, a więc ma zdolność tworzenia biofilmów. Źródła zanieczyszczeń to przede wszystkim: mleko i produkty mleczne (niepasteryzowane mleko, sery miękkie, w tym pleśniowe), warzywa (ziemniaki, rzodkiewka, zboża, soja, kukurydza), drób, produkty mięsne (suche wędliny), ryby, ale w szczególności żywność typu *ready-to-eat*, szczególnie pakowana próżniowo albo w atmosferze modyfikowanej (dłuższy czas przechowywania chłodniczego sprzyja rozwojowi).

Na poniżej umieszczonym rysunku przedstawiono notowane w krajach Unii Europejskiej przypadki zoonoz w roku 2010. Z danych EFSA wynika, że listeriozy są notowane dość rzadko (1600 przypadków), w porównaniu z kampylobakteriozami i salmonellozami. Jednak w przypadku produktów wytwarzanych bez azotynów, szczególnie surowych, mogą stanowić problem zdrowotny. *Listeria monocytogenes* jest przyczyną postaci choroby, nazwanej listeriozą, mniej inwazyjnej, inwazyjnej oraz zakażenia płodu (często wtedy dochodzi – w zależności od trymestru ciąży – do poronienia lub urodzenia martwego płodu) lub listeriozy okołoporodowej noworodków (do zakażenia dochodzi w drogach rodnych matki, będącej nosicielką). W przypadku postaci choroby mniej inwazyjnej (o wiele częstszej), pierwsze objawy przypominają przeziębienie (ból głowy, dreszcze, gorączka), natomiast w późniejszej fazie mogą pojawić się objawy ze strony przewodu pokarmowego (biegunka). W przypadku postaci inwazyjnej, dochodzi do posocznicy i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Śmiertelność dochodzi do 30 %.

Listeria monocytogenes jest mikroorganizmem oportunistycznym, w związku z tym, trudno jest określić czas inkubacji choroby – jest to sprawa indywidualna, zależna w dużym stopniu od odporności organizmu, jednak przyjmuje się około 24 godziny w przypadku

listeriozy pokarmowej, oraz 2 dni do 6 tygodni w przypadku listeriozy inwazyjnej. Trzeba także brać pod uwagę, iż człowiek-nosiciel może zachorować w każdym przypadku znacznego obniżenia odporności, jak zawsze, gdy mamy do czynienia z nosicielstwem oportunistycznym. W związku z tym, iż jest to drobnoustrój oportunistyczny, minimalna liczba mikroorganizmów powodująca stan chorobowy jest sprawą indywidualną, zależną od osobniczej odporności, jednak przyjmuje się liczbę 10^3 jtk/g, jako dawkę wywołującą chorobę. Jak widać z rys. 2 i rys. 3 liczba listerioz w krajach UE pozostaje na podobnym poziomie od 2006 roku.

Reported notification rates of zoonoses in confirmed human cases in the EU, 2010



Note: Total number of confirmed cases is indicated in parenthesis at the end of each bar.

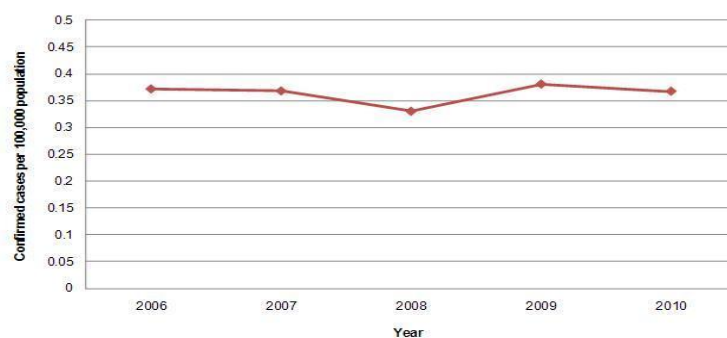
* Data for congenital toxoplasmosis.

** Data from 2009.

EFSA, ECDC: EU Summary Report 2010, EFSA Journal 2012;10(3):2597

Rys. 2 Liczba przypadków zoonoz w Unii Europejskiej w odniesieniu do 100 tys. populacji.

Notification rates of reported confirmed cases of human listeriosis in 25 Member States¹, 2006-2010



1: Includes only MSs with data from five consecutive years: Austria, Belgium, Bulgaria, Cyprus, Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malta, Netherlands, Poland, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden and United Kingdom.

EFSA, ECDC: EU Summary Report 2010, EFSA Journal 2012;10(3):2597

Rys. 3 Notowane przypadki listerioz w 25 krajach UE.

W przeprowadzonych doświadczeniach, w niektórych przypadkach wyrobów surowo dojrzewających stwierdzono obecność *Listeria monocytogenes*. Zgodnie z wymaganiami Rozporządzenia WE 1441/2007 (Dz.U. L 322/12), żywność gotowa do spożycia, w której możliwy jest wzrost *L. monocytogenes*, niebędąca żywnością przeznaczona dla niemowląt ani żywnością specjalnego medycznego przeznaczenia, nie może wykazywać obecności *L. monocytogenes* w 25 g, przed wyjściem produktów spod bezpośredniej kontroli przedsiębiorstwa sektora spożywczego, które jest jego producentem. Natomiast w produktach wprowadzanych do obrotu nie powinno być więcej niż 100 jtk/g bakterii *L. monocytogenes*. W przeprowadzonych badaniach, w czasie przechowywania wyrobów następował rozwój mikroflory kwaszacej, która stanowi konkurencję dla bakterii *L. monocytogenes*. Świadczą o tym wyniki liczby bakterii kwasu mlekowego; po dojrzewaniu produktów liczba tych bakterii była na poziomie $10^7 - 10^8$ /g. W kilku przypadkach liczba *L. monocytogenes* przekraczała 100 jtk/g (kielbasa z gorczycą, kielbasa z mięsa daniela, szynka surowa z pojemnika masowana serwatką), co jest niezgodne z wymaganiami. Po przechowywaniu wyrobów przekroczenia liczby *Listeria monocytogenes* zaobserwowano jedynie w przypadku próby kontrolnej szynki z solą morską 3 %, z cukrem 0,8 %.

W przypadku wyrobów parzonych, zbyt wysoką liczbę *Listeria monocytogenes* stwierdzono jedynie w przypadku kielbasy parzonej z żurawiną przechowywanej przez 2 tygodnie. Bakterie mlekowe dodawane z serwatką mogły odegrać tutaj także rolę hamującą

rozwój *Listeria monocytogenes*, co zostało wykazane w badaniach autorów dotyczących ryzyka mikrobiologicznego związanego z tą bakterią (dane nie publikowane, 2012).

Ocena ryzyka związanego z *Escherichia coli* w badanych wyrobach.

Bakterie gatunku *Escherichia coli* należą do rodziny *Enterobacteriaceae*, klasy *Gammaproteobacteria*, typu *Proteobacteria*. Są to nieprzetwalnikujące, gram ujemne pałeczki o wymiarach 0,5×1–3µm. Mają zdolność ruchu dzięki perytrychalnemu urzęsieniu. Są względnie beztlenowcami. Pałeczki te są katalazododatnie, oksydazo ujemne. Wśród innych cech biochemicznych znajduje się zdolność fermentacji glukozy, laktozy, mannitolu i arabinozy. Tworzą indol z tryptofanu, mogą prowadzić dekarboksylację lizyny. Nie wytwarzają siarkowodoru, nie upłynniają żelatyny i nie hydrolizują mocznika, nie tworzą acetoiny (acetylometylokarbinol). Większość szczepów tworzy β-glukuronidazę: wyjątek stanowi m.in. eterokrwotoczny serotyp *E. coli* O157.

Bakterie *Escherichia coli* są składnikiem naturalnej mikroflory przewodu pokarmowego człowieka i zwierząt stałocieplnych. Pełnią funkcję komensali, np. rozkładają substancje pokarmowe oraz syntetyzują witaminy z grupy B i K. Jednak w obrębie gatunku mogą występować szczepy patogenne dla człowieka. Ze względu na czynniki wirulencji, mechanizm działania oraz objawy kliniczne, zatrucia podzielono na: eteropatogenne (EPEC), enterotoksyczne (ETEC), enteroinwazyjne (EIEC), enterokrwotoczne (EHEC), enteroagregujące (EAEC) i adherencyjne.

Źródłem bakterii są przede wszystkim woda, surowe mięso i przetwory mięsne, sałatki jarzynowe, sery, konserwy, niepasteryzowane mleko i jego przetwory.

Tab. 5 Warunki wzrostu bakterii *Escherichia coli*

Temperatura wzrostu (°C)	6-46 (optymalna 37)
pH	4,4 – 9 (optymalne 6)
Minimalna aktywność wody (a_w)	0,95
Wymagania tlenowe	względne

(Źródło: Libudziś Z., Kowal K., Żakowska Z. (red.): *Mikrobiologia techniczna tom 2*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008)

Zatrucia bakteriami *Escherichia coli* wywołują różne objawy, w zależności od szczepu:

- *enteropatogenne (EPEC)* – uważa się, że najważniejszym czynnikiem wirulencji jest ich swoista adhezja do komórek nabłonka jelitowego, czego wynikiem są zmiany degeneracyjne w tkankach. Objawami zatrucia jest biegunka ze znaczną ilością śluzu, bóle brzucha,

nudności, wymioty, bóle głowy i gorączka. Objawy pojawiają się zazwyczaj po 12 – 72 godzinach po spożyciu produktów zawierających szkodliwe mikroorganizmy.

- *enterotoksyczne (ETEC)* – zasiedlają jelito cienkie, gdzie produkują dwa rodzaje enterotoksyn – ciepłolabilną LT i ciepłostabilną ST, które są głównymi czynnikami wirulencji. Szczepy te są bardzo często przyczyną zachorowań w krajach rozwijających się, w krajach rozwiniętych wywołują tzw. „biegunkę podróżnych”. Objawy zakażenia to silna biegunka, która prowadzi do zachwiania równowagi elektrolitowej, pojawia się zwykle po 8 do 44 godzin od wnikięcia bakterii do organizmu człowieka i może trwać do 19 dni.

- *enteroinwazyjne (EIEC)* – nie produkują toksyn, kolonizują błonę śluzową okrężnicy i uszkadzają jej nabłonek. Są zdolne do przenikania przez nabłonek jelitowy. Pod względem patogenności, budowy antygenowej oraz właściwości biochemicznych przypominają pałeczki z rodzaju *Shigella*. Objawami zatrucia są: obfita biegunka, stolce ze śluzem i smugami krwi, skurczowe bóle brzucha, bóle głowy i mięśni, gorączka. Pojawiają się po 2 do 48 godzin od spożycia produktów zanieczyszczonych tymi bakteriami i mogą trwać wiele tygodni.

- *enterokrwotoczne (EHEC)* – kolonizują jelito człowieka, w wyniku czego dochodzi do zaniku lub zaburzenia funkcji mikrokosmków. Bakterie te wytwarzają dwa rodzaje toksyn nazywane werotoksynami. Wytwarzają także zewnątrzkomórkową hemolizynę, która pozwala na wykorzystanie hemoglobiny jako źródła żelaza. Charakterystycznym objawem jest krwawa biegunka po 3 – 4 dniach od spożycia zakażonej żywności. Biegunka zwykle ustępuje po 9 do 10 dni. U ok. 10% ogółu zakażonych dochodzi do powikłań, najczęściej zespołu hemolityczno-mocznicowego (HUS) lub małopłytkowej plamicy zakrzepowej (TTP). Za szczególnie niebezpieczny uważa się serotyp O157,

- *enteroagregujące (EAEC)* – chorobotwórczość tych szczepów nie została jeszcze w pełni opisana. Są zdolne do tworzenia agregatów i adhezji do nabłonka jelita. Niektóre szczepy tworzą ciepłostabilną toksynę ST. Zatrucia stwierdza się głównie u dzieci z krajów rozwijających się. Głównym objawem choroby jest wodnista biegunka, która przechodzi w krwawą.

- *adherencyjne(DAEC)* – czynniki wirulencji oraz dane epidemiologiczne są mało znane. Wywołują biegunki u dzieci w wieku do 5 roku życia, głównie w krajach rozwijających się.

Minimalna dawka bakterii *Escherichia coli* powodujących chorobę mieści się w przedziale 10^6 – 10^{10} jtk/g. W przypadku szczepu enterokrwotocznego O157:H7 wynosi tylko 10 – 10^2 komórek. Szczepy enteropatogenne mogą wywołać chorobę u dzieci poniżej 2 lat w liczbie 10^2 – 10^3 komórek.

Analiza mikrobiologiczna prób wędlin ekologicznych wskazała, w większości przypadków, na ich bezpieczeństwo z punktu widzenia obecności bakterii *Escherichia coli*. Jednak w kilku przypadkach liczba tych bakterii patogennych była wyższa niż 10^2 – 10^3 komórek (kielbasa z daniela, zagrycha rzeszowska, kielbasa myśliwska dojrzewająca; szynka surowa z pojemnika masowana serwatką, kielbasa surowo dojrzewająca a'la sucha dukielska z mięsa wieprzowego i dziczyzny, solona z serwatką, kielbasa surowo dojrzewająca myśliwska z dziczyzny, solona z serwatką, kielbasa surowo dojrzewająca wieprzowa z serwatką, solą i jałowcem, kielbasa surowo dojrzewająca wieprzowa z serwatką, solą i żurawiną, polędwica łososiowa krótko dojrzewająca z mieszką przyprawową; szynka dojrzewająca solona, z serwatką kwasową, szynka surowo dojrzewająca ekologiczna solona, z serwatką kwasową).

W wyrobach parzonych w zasadzie nie oznaczano *Escherichia coli*.

Ocena ryzyka związanego z *Staphylococcus aureus* w badanych wyrobach.

Staphylococcus aureus należy do rodziny *Micrococcaceae*. Są to gram dodatnie ziarniaki, względnie beztlenowe nieruchliwe, nie przetrwalnikujące, katalazo-dodatnie, zwykle oksydazo-ujemne (mimo obecności cytochromów), których optymalna temperatura wzrostu wynosi 35°- 40 °C, a pH 7,0. Rodzaj *Staphylococcus* wg nowej systematyki został umieszczony w grupie 17 obejmującej 24 rodzaje bakterii ogólnie scharakteryzowanych jako Gram-dodatnie ziarniaki. Komórki gronkowców mają zatem kształt okrągły, dzielą się w kilku płaszczyznach i w ten sposób tworzą trójwymiarowe skupiska komórek wyglądające często jak kiście winogronowe.

Gronkowce, zwłaszcza szczepy chorobotwórcze cechuje wysoka aktywność biochemiczna. Wytwarzają liczne antygeny pozakomórkowe (enzymy, toksyny i inne czynniki) odpowiedzialne za ich patogenność a mianowicie: stafylokinazę, hialuronidazę, fosfatazy, koagulazę wolną, katalazy, proteazy, nukleazy, lipazy, leukocydyny, hemolizyny, fibryno-lizynę, toksynę epidermolityczną, enterotoksyny (będące bezpośrednią przyczyną zatruc pokarmowych). Komórki *S. aureus* zawierają także antygeny komórkowe, przede wszystkim w ścianie komórkowej (peptydoglikan, kwas teichowy, białka A i B, dumping factor-koagulazę związaną) odgrywające ważną rolę w ich zjadliwości.

Tab. 6 Warunki wzrostu i produkcji enterotoksyny *S. aureus*

Warunki	Wzrost		Produkcja toksyn	
	Optimum	Zakres	Optimum	Zakres
Temperatura	37	7-48	40-45	10-48
pH	6-7	4-10	7-8	4,5-9,6 ²
Aktywność wody	0,98	0,83 - > 0,99 ¹	0,98	0,87> 0,99 ³
E _h	+200 mv	<-200mv-	-	-
Atmosfera	tlenowa	Beztlenowa-tlenowa	tlenowa (5-20% rozpuszczonego O ₂)	beztlenowa-tlenowa

¹ dla tlenowców (dla beztlenowców a_w 0,90 - > 0,99)² dla tlenowców (dla beztlenowców niższa granica pH jest 5)³ dla tlenowców (dla beztlenowców a_w 0,92 - > 0,99)

Obecność *S. aureus* w surowej żywności jest powszechna i uzasadniona w związku z ich popularnością w przyrodzie. Zanieczyszczenie futer, piór i skóry jest przyczyną zainfekowania tusz mięsnych. Surowe mleko i nie pasteryzowane produkty mleczne mogą zawierać nawet dużą liczbę *S. aureus* w wyniku gronkowcowego zapalenia wymion krów (mastitis). Chociaż w literaturze znajduje się informacje o rzadko występującej enterotoksyczności u szczepów wywołujących tę chorobę krów. W żywności surowej mogą znajdować się komórki *S. aureus* i ewentualnie enterotoksyna a także inna mikroflora, często ograniczająca wzrost gronkowców.

Enterotoksyna gromadzona jest zarówno w produktach roślinnych jak i zwierzęcych. Duże ryzyko zachorowania niesie za sobą spożycie zanieczyszczonych produktów takich jak kremy, lody oraz produkty cukiernicze. Obserwuje się również zatrucia wynikające ze spożycia przetworów mięsnych. Istotne znaczenie w zatruciach mają puszkowane konserwy, a w szczególności te w zalewie olejowej. Gronkowce w takim środowisku wykazują największą odporność na wysoką temperaturę. Temperatura sterylizacji może być nie wystarczająca, a przeprowadzenie próby termostatowej może dać wynik ujemny, gdyż gronkowce nie powodują bombażu. Szybki wzrost tych bakterii obserwuje się w produktach, które były wcześniej gotowane, co można uzasadnić nieobecnością mikroflory antagonistycznej, która wykazywałaby działanie hamujące wzrost gronkowca.

Żywność przetworzona stanowi duże niebezpieczeństwo. Komórki bakteryjne giną w takich procesach jak: wędzenie, gotowanie lub inna obróbka termiczna, suszenie, fermentacja, które są powszechnymi procedurami przetwarzania żywności. Brak jest zatem mikroflory towarzyszącej, nieobecne są również żywe komórki gronkowców, pozostaje natomiast enterotoksyna charakteryzująca się dużą stabilnością. Może być także również inny

„scenariusz”: pozostała niezniszczona enterotoksyna, ale mogą być również obecne komórki gronkowców w wyniku wtórnego zakażenia, przy całkowitym braku innych mikroorganizmów inhibitujących wzrost *S. aureus*. Zdarza się również, że w takich produktach jak sery czy salami zachodzi niewłaściwa fermentacja i wówczas znajdujące się tam chorobotwórcze gronkowce rosną i tworzą toksyny już podczas dojrzewania. Obecność omawianych mikroorganizmów w żywności przetwarzanej jest skutkiem złych warunków higienicznych w procesach produkcyjnych wynikających z niewystarczającej dezynfekcji, niewłaściwej kontroli temperaturowej albo z powodu obu tych nieprawidłowości.

Żywe komórki gronkowcowe na ogół nie mają znaczenia w przebiegu zatrucia, przewód pokarmowy nie jest dobrym środowiskiem do ich rozwoju ze względu na antagonistyczne działanie normalnej mikroflory jelitowej a więc *E. coli*, paciorkowców, pałeczek mlekowych, pałeczek *Pseudomonas* i w tych warunkach te mikroorganizmy patogenne nie wytwarzają enterotoksyny. Spotyka się jednak rozbieżności w tych informacjach, ponieważ niektórzy autorzy podają, że pałeczki okrężnicy działają stymulująco na komórki gronkowców. W wyjątkowych tylko wypadkach, przy wyjałowionym przewodzie człowieka, np. na skutek działania antybiotyku, następuje rozwój gronkowców i wytwarzanie enterotoksyny *in vivo* i wówczas może dojść do bardzo ciężkich, często śmiertelnych schorzeń (stany zapalne jelit).

Na ogół jednak tworzenie enterotoksyny następuje w żywności, poza organizmem człowieka i zależy od warunków wzrostu *S. aureus* (podłoża, temperatury). Dawka enterotoksyny powodująca chorobę oceniana jest na 0,1-1,0 µg/kg m.c. człowieka. Niektórzy autorzy podają, iż dawka toksyczna wynosi dla enterotoksyny A - 0,2 µg/kg m.c. człowieka, czyli 10-15 µg dla człowieka o przeciętnej wadze, a dla enterotoksyny B nieco więcej, około 0,3 µg/kg m.c. człowieka czyli 25 µg dla człowieka. Do zatrucia toksyną gronkowcową dochodzi w sprzyjających warunkach, przy znacznym namnożeniu bakterii w żywności 10^5 - 10^6 jtk/g produktu spożywczego.

W badanych próbach wędlin ekologicznych nie stwierdzono zbyt wysokiej liczby komórek *Staphylococcus aureus*, jedynie w przypadku surowej kielbasy z daniela liczba ta była powyżej 10^3 jtk/g, a w przypadku polędwicy surowej z pojemnika masowanej solą i serwatką powyżej 10^2 jtk/g.

E. Ocena sensoryczna ekologicznych wyrobów mięsnych o przedłużonym okresie trwałości przechowalniczej.

Wszystkie wyniki badań sensorycznych są umieszczone w aneksie wyników. Analiza otrzymanych wyników analizy sensorycznej kielbas parzonych wykazała, że wszystkie próby z dodatkiem serwatki charakteryzowały się niższą o 2 j.u. intensywnością zapachu i smaku wędzonego mięsa w porównaniu do próby kontrolnej (PK). Obserwowano wyższą intensywność zapachu i smaku kwaśnego w próbach z serwatką kwasową (PS), serwatką kwasową i gorczycą w porównaniu do próby kontrolnej. Obserwowano również wyższą o ok. 1,5 j.u. intensywność zapachu jełkiego oraz zapachu innego w próbach z serwatką i gorczycą, co może być powiązane z tłuszczami gorczycy, które w ocenie sensorycznej wykazują się nieco innymi cechami niż tłuszcz zwierzęcy. Najwyżej oceniona została barwa kielbasy kontrolnej (peklowanej), najniżej zaś barwa kielbasy z solą i serwatką kwasową w produktach obrabianych cieplnie. Wszystkie próby scharakteryzowano jako soczyste o odpowiedniej twardości. Najwyższą jakością ogólną charakteryzowała się próba kontrolna (8 j.u.) a najniższą próba z serwatką (6 j.u.).

Analiza sensoryczna szynki wołowej wykazała różnice w intensywności zapachu i smaku kwaśnego pomiędzy ocenianymi wariantami badawczymi. Największą intensywnością zapachu i smaku kwaśnego charakteryzowała się szynka wołowa z dodatkiem serwatki kwasowej oraz mleka ukwaszonego. Jednocześnie stwierdzono większą intensywność smaku cierpkiego w próbie z serwatką kwasową (2,1 j.u.) w porównaniu do innych prób (0,5 j.u.). Plastry wołowiny oceniono jako soczyste. Najwyższą jakością ogólną charakteryzowała się próba z dodatkiem mleka słodkiego, a następnie ukwaszonego (6,5 j.u.). Bardzo interesujące okazały się produkty przetrzymywane w bardzo długim okresie czasu. Produkty zostały bardzo dobrze ocenione. Poniżej przedstawiono szczegółowe wyniki oceny.

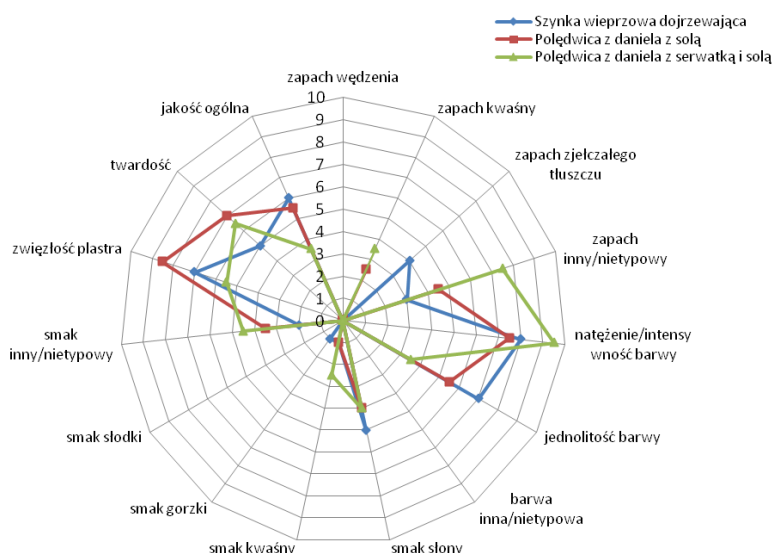
Badaniom poddano wyroby mięsne surowo dojrzewające wyprodukowane przez Zakład Mięсны w Jasiołce:

- z mięsa nierozdrobnionego – szynka wieprzowa, polędwica z daniela solona, polędwica z daniela solona z dodatkiem serwatki,
- z mięsa rozdrobnionego – kielbasa „zagrycha rzeszowska”, kielbasa „zagrycha rzeszowska EKO”, kielbasa „myśliwska”, kielbasa „myśliwska z serwatką”.

Wyroby gotowe (kiełbasy i polędwice) przechowywane były w opakowaniach foliowych, odpowietrzonych i hermetycznie zamkniętych. Przetrzymano je w warunkach chłodniczych (4-6 °C) przez okres ok. 0,5 roku (szynka wieprzowa – 1,5 roku).

Badania jakości sensorycznej mięsnych wyrobów surowo dojrzewających przeprowadzono metodą ilościową statycznego skalowania liczbowego. Arkusz oceny oparto na skali 10-punktowej, w której wartość liczbową została dodatnio skorelowana z natężeniem ocenianej cechy. Oceniający zostali przeszkoleni w zakresie wynikającym z charakteru prowadzonych badań. Ocenie poddano 15 wyróżników sensorycznych dotyczących:

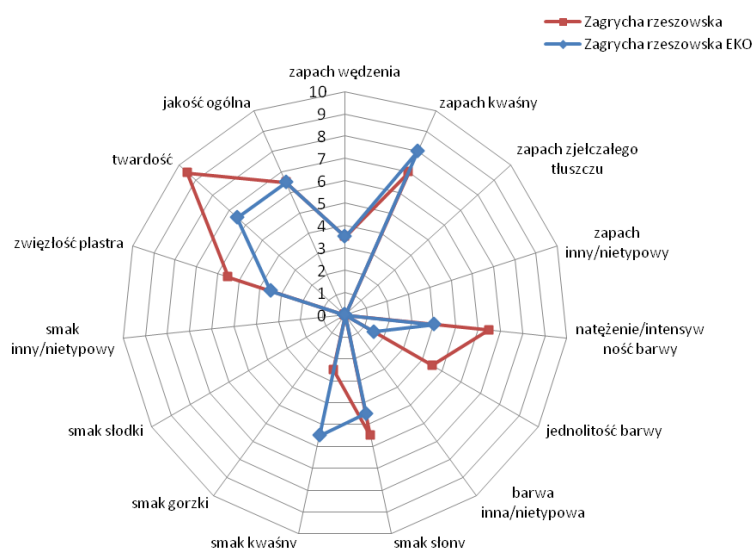
- zapachu – zapach wędzenia, kwaśny, zjełczałego tłuszczu, inny/nietypowy;
- barwy – natężenie/intensywność, jednolitość, inna/nietyпова;
- smaku – smak słony, kwaśny, gorzki, słodki, inny/nietypowy;
- konsystencji – zwięźłość, twardość;
- jakości ogólnej wyrobu.



Rys. 4 Jakość sensoryczna wyrobów surowo dojrzewających z mięsa nierozdrobnionego.

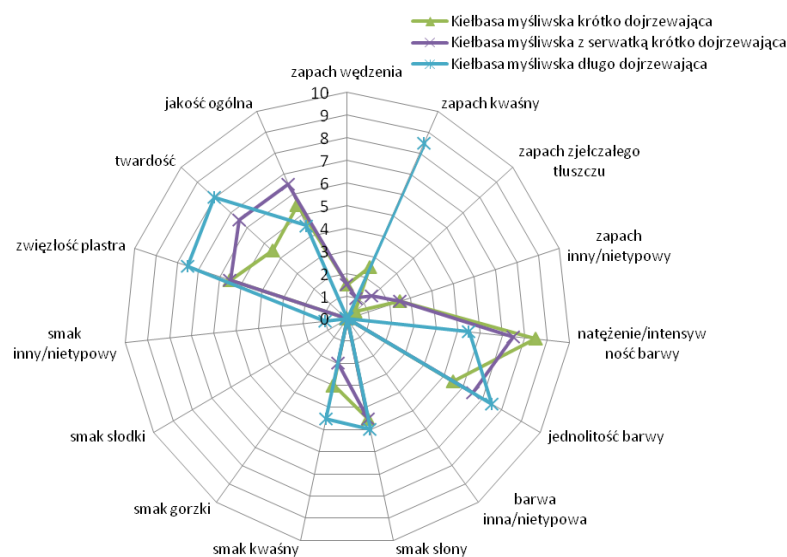
Wartości wyróżników jakościowych ocenianych wyrobów były podobne do siebie. Oceniający nie zidentyfikowali zapachu wędzenia w badanych wyrobach. W produktach z mięsa daniela dominował zapach dziczyzny z lekką nutą zapachu określanego jako rybi. W próbie z dodatkiem serwatki oceniający wyczuwali wyraźny zapach kwaśny. Barwa produktów była charakterystyczna dla tego typu wyrobów i identyfikowana jako bardzo intensywna. Jednolitość barwy została najwyżej oceniona w szynce surowo dojrzewającej. Badane produkty miały wyraźnie słony smak, z wyczuwalnym posmakiem kwasowym

w próbie z dodatkiem serwatki. Nie stwierdzono obecności smaku słodkiego i gorzkiego. Oceniane produkty cechowały się zwięzłą konsystencją i były określane jako twarde, co wynika z długiego okresu przechowywania i związanego z tym znacznego ubytku wody. Najwyższą jakością ogólną cechowała się szynka wieprzowa surowo dojrzewająca.



Rys. 5 Jakość sensoryczna kielbasy „zagrycha rzeszowska”

Ocenie poddano produkty otrzymane z surowca pochodzącego z tusz zwierząt hodowanych tradycyjnie i tusz zwierząt z chowu ekologicznego. Intensywność zapachu wędzenia i zapachu kwaśnego badanych kielbas była na podobnym poziomie. Produkt z surowca ze zwierząt z hodowli tradycyjnej cechował się większym natężeniem i jednolitością barwy. W produkcie z surowca ekologicznego oceniający stwierdzili występowanie wyraźnego smaku kwaśnego. Większą intensywnością smaku słonego charakteryzował się produkt z surowca z mięsa zwierząt z hodowli tradycyjnej, który został również oceniony jako bardziej twardy i zwięzły. Oceniający zwrócili uwagę na występowanie płynnego tłuszczu (w temperaturze ok. 20°C) w ocenianych produktach. Jakość ogólna badanych produktów była zbliżona.



Rys. 6 Jakość sensoryczna kielbasy myśliwskiej

Ocenie poddano kielbasę myśliwską długo dojrzewającą oraz produkty krótko dojrzewające, w tym wyprodukowane z dodatkiem serwatki. Kielbasa z serwatką uzyskała najwyższą notę w ocenie ogólnej. Produkt długo dojrzewający cechował się intensywnym kwaśnym zapachem. W produktach krótko dojrzewających stwierdzono obecność innego zapachu, typowego dla surowca (dziczyzny). Natężenie i jednolitość barwy badanych prób były zbliżone. Próby cechowały się wyraźnie słonym smakiem z lekką nutą smaku kwaśnego, najbardziej wyczuwalną w kielbasie długo dojrzewającej. Produkt ten charakteryzował się również najwyższą zwieźłością i twardością. Szczególnie twardy i zwieźły była kielbasa „myśliwska” długo dojrzewająca, co zostało wyjaśnione znacznym ubytkiem wody w procesie technologicznym (dojrzewania).

Oceny produktów z dodatkiem serwatki dokonywano przy wszystkich promocjach na targach, konferencjach i innych spotkaniach. Ocena dotyczyła dwu grup produktów: surowo-dojrzewających i obrabianych cieplnie. Dokonano oceny ankietowej wyrobów ekologicznych dostępnych na lokalnych rynkach. Podczas obrad konferencji na przerwie kawowej przeprowadzono degustację nowych wyrobów ekologicznych z wykorzystaniem serwatki. Celowo nie informowaliśmy respondentów o produkcji wyrobów mięsnych nową technologią przetwarzania. Według informacji uzyskanych od Pana Prezesa P. Krajmasa oceniający na tych spotkaniach podkreślali bardzo ciekawy profil smakowo-zapachowy, barwę bez dodatku związków azotowych i kruchość wyrobu przy tak krótkim okresie dojrzewania, a produkty były wyróżniane główną nagrodą.

Przeprowadzone również badania ankietowe oceny produktów przez konsumentów kupujących żywność dla własnego gospodarstwa, które opierały się na metodzie ankietowej składającej się z siedmiu pytań /zostały zamieszczone w niniejszym uzupełnieniu/ dotyczących metryczki respondenta oraz siedmiu pytań właściwych dotyczących żywności ekologicznej. W ankiecie starano się uzyskać informacje na temat ekologicznych produktów mięsnych i innej żywności ekologicznej bez podawania szczegółów technologicznych nowej produkcji.

W ostatnich latach zmienił się stosunek społeczeństwa do rolników i rolnictwa. Rolnicy postrzegani są już nie tylko jako producenci żywności, ale również jako jeden z głównych czynników kształtujących środowisko, krajobraz wiejski, dlatego oczekuje się od nich, aby dbali o zwierzęta, chronili środowisko, poprzez stosowanie metod agrarnych nienaruszających równowagi środowiska. Rolnictwo ekologiczne stanowi alternatywę dla konwencjonalnego systemu gospodarowania, ponieważ aktywizuje przyrodnicze mechanizmy poprzez stosowanie środków naturalnych, mało przetworzonych technologicznie, zapewniając tym samym żyzność gleby, zdrowotność zwierząt, a przy tym pozwala produkować wysokiej jakości produkty żywnościowe. Takie podejście jest szczególnie ważne w kraju rolniczym jakim jest Polska, a szczególnie wschodnie województwa, gdzie warunki strukturalne, środowiskowe, społeczne i historyczne sprzyjają rozwojowi i stosowaniu ekologicznych metod produkcji żywności. W zamian za to społeczeństwo musi się zgodzić na poniesienie odpowiednich kosztów..

W proponowanych do finansowania technologiach zastosowanie serwatki w fermentacji mięsa, jako tradycyjnej metody przetwórstwa, ale z udziałem mikroflory o prozdrowotnych właściwościach i wprowadzenie wartościowych składników serwatki, stanowi dużą wartość dodaną wytwarzanych produktów ekologicznych. Jednocześnie, jak wynika z przeprowadzonych dotychczas badań, technologia ta gwarantuje uzyskanie wysoko sensorycznie ocenianych wyrobów o długiej trwałości i bezpiecznych zdrowotnie. Dobre jakościowo i prozdrowotne wyroby mięsne budzą, w coraz większym stopniu, zainteresowanie nie tylko polskiego konsumenta. Składa się na to wiele przyczyn, z których najważniejsze jest współczesne przetwórstwo mięsa konwencjonalnego. Poszukiwania obniżenia kosztów produkcji przekroczyły granice tzw. przyzwoitości. Poszukuje się do przetwórstwa bardzo tanich surowców mięsnych nie patrząc na wzrastające koszty hodowli i samego procesu technologicznego. Stosowanie w nadmiarze dodatków niemięsnych powoduje istotną zmianę jakości wyrobu gotowego, nie mówiąc o obniżonej wartości odżywczej. Produkuje się parówki z udziałem mięsa peklowanego, nie informując, że takich

produktów nie powinny konsumować np. dzieci do lat trzech. Taka sytuacja powoduje, że część społeczeństwa nie wyraża na to zgody i poszukuje wartościowego zdrowotnie mięsa i jego przetworów. Sukces może odnieść producent, który będzie wytwórcą luksusowych i prozdrowotnych wyrobów mięsnych. Propozycją wychodzącą naprzeciw potrzebom znacznej części konsumentów, wynikającą z prowadzonych badań, jest zastosowanie tradycyjnej grupy bakterii kwasu mlekowego wspólnie z serwatką do wytwarzania prozdrowotnych wędlin surowo dojrzewających i pasteryzowanych.

Jednym z podstawowych wyróżników jakości żywności, jak już zaznaczono, jest jej stan mikrobiologiczny. Ze względów zdrowotnych, z powodu możliwości wystąpienia zatruc i zakażeń pokarmowych, jakość mikrobiologiczna ma znaczenie podstawowe. Żywność jest bowiem, zawsze zakażona mikrobiologicznie przez organizmy żyjące w niej naturalnie lub dostające się z otoczenia, np. w wyniku poddawania jej zabiegom przetwórczym. Istnieją dwa zagrożenia związane z obecnością mikroorganizmów w mięsie. Organizmy saprofityczne, jeśli rozwiną się w dużej liczbie, powodują pogorszenie cech smakowych i zapachowych, a w końcu całkowite zepsucie mięsa i jego przetworów. Z kolei organizmy chorobotwórcze mogą wywoływać zatrucia pokarmowe, groźne dla zdrowia lub życia człowieka. Najczęstszymi przyczynami zatruc pokarmowych o podłożu mikrobiologicznym są: zanieczyszczenie surowca; uszkodzenia opakowań; zakażenia krzyżowe; przetrzymywanie mięsa i produktów w warunkach niedostatecznego chłodzenia; niedostateczna obróbka cieplna; niedostateczna higiena produkcji; spożywanie żywności o wątpliwym pochodzeniu.

Pozyskiwanie oraz przetwarzanie mięsa z produkcji ekologicznych, ze względu na niewielkie ilości i przetwórstwo często dla własnych potrzeb, wiąże się ze zwiększonym występowaniem i rozwojem drobnoustrojów. Stan sanitarny mięsa w ogólności zależy od źródeł zakażeń, które wynikają z warunków uboju, higieny pracowników i narzędzi itp. i wpływają na skład bakterii. Rodzaje i gatunki bakterii występujących na surowcach i produktach mięsnych różnią się zarówno pod względem stopnia potencjalnego zagrożenia jakości, a tym samym jej bezpieczeństwa mikrobiologicznego w kontekście zdrowia konsumentów. Ryzyko zatrucia mikrobiologicznego związanego z konsumpcją produktów żywnościowych zależy z jednej strony od rodzaju i liczby mikroorganizmów lub ilości produkowanych przez drobnoustroje toksyn, obecnych w spożywanej żywności, z drugiej zaś od podatności organizmu człowieka na tego typu czynniki. Szczególne nadzieje wiążemy z wykorzystaniem gorczycy jako surowca wzbogacającego produkt w bardzo wartościowe składniki, oraz jako czynnika hamującego nadmierny rozwój mikroorganizmów w wyrobie. Szybki wzrost bakterii mlekowych, obserwowany w prowadzonych badaniach przy dodatku

serwatki, ich zdolność do opanowania środowiska oraz do współzawodnictwa z innymi mikroorganizmami o aminokwasy, czy łatwo ulegające fermentacji sacharydy, powoduje ograniczenia możliwości rozwoju wielu bakterii, co może być ważnym elementem proponowanych technologii przetwarzania.

6. Wnioski

1. Otrzymane wyniki wskazują na celowość używania serwatki nie tylko w produkcji wyrobów ekologicznych, ale i konwencjonalnych, szczególnie zaś surowo dojrzewających. Wykazany w badaniach wpływ serwatki na fizykochemiczne właściwości i bezpieczeństwo mikrobiologiczne jest bardzo interesującym i bardzo ważnym czynnikiem proponowanej technologii przetwarzania mięsa. Wydłużony okres trwałości przechowalniczej nowych wyrobów bez związków azotowych jako wynik zastosowania serwatki i odpowiedniej technologii produkcji, powinien przyczynić się do zahamowania strat żywności, oraz ograniczenia, w tak ważnym produkcie żywnościowym, bardzo rakotwórczych związków - nitrozoamin.
2. Do podstawowych czynników utrwalających w procesie dodatku serwatki mlekowej należą: kwaśne produkty fermentacji (kwas octowy, mlekowy, propionowy, benzoesowy, mrówkowy), drobnocząsteczkowe produkty metabolizmu (diacetyl, H_2O_2 , etanol, reuteryna, aldehyd octowy), bakteriocyny, oraz obniżony potencjał oksydoredukcyjny przez glutation i aminokwasy siarkowe serwatki. Szybki wzrost bakterii mlekowych, obserwowany w prowadzonych badaniach przy dodatku serwatki, ich zdolność do opanowania środowiska oraz do współzawodnictwa z innymi mikroorganizmami o cukry i aminokwasy, czy łatwo ulegające fermentacji sacharydy, powoduje ograniczenia możliwości rozwoju wielu bakterii w tym drobnoustrojów patogennych.
3. Zaobserwowano obniżenie ogólnej liczby bakterii w produktach z dodatkiem gorczycy w końcowym okresie przechowywania, co może być związane z polifenolami gorczycy. Wyniki oceny sensorycznej produktów mięsnych wykazały nieznaczne różnice ocenianych wyróżników pomiędzy próbami produktów mięsnych z dodatkiem gorczycy i kontrolnego.
4. Kielbasy surowo dojrzewające były bardzo dobrej jakości mikrobiologicznej. Szczególną uwagę zwraca bardzo wysoka liczba bakterii kwasu mlekowego, barwa

i smakowitość wyrobu. Drobnoustroje kwasu mlekowego gwarantują stabilność mikrobiologiczną i bezpieczeństwo wyrobów na długi okres przechowywania. Niska wartość pH, świadczy o wytworzeniu metabolitów zakwaszających i innych związków antybakteryjnych, a to stanowi czynnik utrwalający wyrobu i jego trwałość przechowalniczą.

5. Przeprowadzone badania miały na celu określenie ryzyka mikrobiologicznego i tym samym ocenę proponowanych rozwiązań technologicznych pod względem bezpieczeństwa zdrowotnego. Ryzyko mikrobiologiczne wynika z rezygnacji z procesu peklowania czyli stosowania dodatku azotynu sodu stanowiącego czynnik zapobiegający wzrostowi i produkcji toksyn przez *Clostridium botulinum* i *Staphylococcus aureus*. Tych patogenów nie zaobserwowano w otrzymanych wynikach badań.
6. Ze względu na potencjalną możliwość produkcji toksyn przez *Clostridium botulinum* proponuje się przechowywanie produktów w warunkach tlenowych. W przypadku konieczności pakowania beztlenowego, należy przestrzegać reżimu temperatury przechowywania poniżej 3°C.
7. W przechowywanych w warunkach tlenowych produktach surowych stwierdzono w nielicznych przypadkach przekroczenia liczby *Listerii monocytogenes*. Jest to prawdopodobnie związane z zanieczyszczeniem surowca mięsnego szczególnie mięsa daniela. Jednak obserwuje się, że zastosowanie serwatki, z którą wprowadzane są bakterie kwasu mlekowego, zapobiega wzrostowi *Listeria monocytogenes* i po pewnym okresie czasu poziom patogenu jest minimalny, zgodny z wymaganiami legislacyjnymi.
8. W przypadku wyrobów wytwarzanych z mięsa moczzonego w serwatce, a następnie poddawanych obróbce cieplnej, problem wzrostu bakterii *Listeria monocytogenes* może wynikać tylko z wtórnego zanieczyszczenia gdyż bakterie te są inaktywowane po obróbce cieplnej do 70 °C.
9. W przeprowadzonych badaniach stanu mikrobiologicznego wyrobów surowych i parzonych tylko w niektórych przypadkach stwierdzono obecność bakterii *Escherichia coli* i tylko w kielbasie daniela zawyżoną liczbę *Staphylococcus aureus*. Należy jednak zwrócić uwagę, że poziomy tych bakterii nie są określone prawnie i

ocena ryzyka wynika jedynie z danych literaturowych. W przypadku wytwarzanych w projekcie wyrobów, ryzyko to jest bardzo niskie.

10. Potrzebne są dalsze badania z wykorzystaniem sztucznego zanieczyszczenia wyrobów bakterią *Listeria monocytogenes* i obserwacja ich wzrostu w zależności od warunków przechowywania rodzaju i jakości użytej serwatki, stosowanego mięsa itp..

Ogólny wniosek technologiczno – produkcyjny

Otrzymane wyroby wskazują, że ich jakość sensoryczna i mikrobiologiczna może spełnić wymagania konsumentów a także rozporządzeń i aktów prawnych. Charakteryzuje je nowa prozdrowotna jakość. Badania, ze względu na ich nowatorską, a równocześnie tradycyjną technologię wymagają dalszej kontynuacji w celu dopracowania szczegółowych technologii poszczególnych wyrobów z wyznaczeniem parametrów procesu, trwałości przechowalniczej, a przede wszystkim dostosowanie do możliwości przetwórczych zakładu lub w odpowiednio przystosowanych gospodarstwach ekologicznych. Zastosowanie fermentacji mięsa, jako tradycyjnej metody przetwórstwa mięsnego, ale z udziałem mikroflory o prozdrowotnych właściwościach i wprowadzenie grupy bardzo wartościowych składników serwatki, stanowi ważną wartość dodaną wytwarzanych produktów ekologicznych.

Jednocześnie, jak wynika z przeprowadzonych badań, technologia ta gwarantuje uzyskanie bardzo dobrych sensorycznie wyrobów o długiej trwałości i bezpiecznych zdrowotnie. Dokonano przygotowania nowej technologii produkcji /bez dodatku związków azotowych/ pod kątem jakości i doboru surowca mięsnego, procesu dojrzewania oraz oceny jakości sensorycznej i fizykochemicznej oraz poziomu namnażania i przeżywalności różnych szczepów bakterii w wyrobach bezpośrednio po dojrzewaniu, obróbce cieplnej i po określonym czasie przechowywania. W wyniku przeprowadzonych badań zaproponowano rozwiązania technologiczne i dopracowano wstępnie parametry produkcji wyrobów surowo dojrzewających, obrabianych cieplnie produktów ekologicznych, delikatesowych (z tzw. górnej półki), gwarantujący pozyskanie szerszej grupy konsumentów.

Należy nadmienić, że naszym zdaniem jest to bardzo ważny kierunek badawczy i wdrożeniowy w przetwórstwie mięsa, biorąc tylko pod uwagę bardzo wysoki stosowany obecnie poziom dodatku saletry i nitrytu w produkowanych wyrobach surowo dojrzewających. Przy szerszym wykorzystaniu proponowanej technologii produkcji byłby to

prawdopodobnie ważny postęp w ograniczeniu nowotworów przewodu pokarmowego, szczególnie przy obecnym i wzrastającym poziomie spożycia mięsa i jego przetworów.

Podsumowanie

Proponowana technologia produkcji może być, przy jej wykorzystaniu ważnym elementem promocji i marketingu nie tylko ekologicznych wyrobów mięsnych.

W przeciwieństwie do roślinnej produkcji ekologicznej, jej zwierzęcy kierunek wstępuje obecnie na początkową drogę rozwoju. Należy promować i rozpowszechniać wśród producentów i konsumentów probiotyczne i prozdrowotne ekologiczne produkty mięsne. Jest to pożądana alternatywa dla części rolnictwa i przetwórstwa mięsnego w Polsce. Główną barierą w polskiej towarowej produkcji ekologicznej, szczególnie produktów mięsnych, jest brak metod i technologii przetwarzania surowca prowadzących do otrzymania produktów o wydłużonej trwałości, ale i akceptowalnych jakościowo przez konsumenta. Przedstawione badania są znaczącym etapem w rozwiązywaniu powyższych problemów.

Produkty z dodatkiem serwatki były oceniane na różnych konkursach i targach (Turyn – targi Del Gusto żywności ekologicznej, Poznań –Polagra Food) , a wyniki badanego problemu były prezentowane postaci referatów na dwu konferencjach naukowych, w tym jedna z udziałem przedstawicieli ponad pięćdziesięciu zakładów mięsnych. Produkt z serwatką (zagrycha rzeszowska został wyróżniony nagrodą specjalną podczas VIII Wystawy Produktów Tradycyjnych i Ekologicznych pt. „Polskie Smaki w Warszawie”. Produkty z dodatkiem serwatki były prezentowane na targach w łodzi, Rzeszowie oraz na dniach nauki w Lublinie

Prowadzone badania pozwoliły na przygotowanie następujących technologii przemysłowych produkcji wyrobów o bardzo długim okresie trwałości (6 i więcej miesięcy trwałości przechowalniczej). Szczegółowe parametry technologiczne znajdują się w zakładzie mięsnym produkującym w skali przemysłowej „Jasiołka”.

Produkty surowo dojrzewające:

- zagrycha rzeszowska – produkt w cienkiej osłonce- trwałość przechowalnicza do 3 miesięcy. Nazwę produktu zaproponowały władze województwa Podkarpackiego. Produkt ma być reklamowany w rozwoju żywności regionu;
- szynka dojrzewająca – produkt z całego elementu szynki – trwałość przechowalnicza do 4 miesięcy, po dalszych badaniach możliwość wydłużenia trwałości do 6 - 12 miesięcy;
- kielbasa typu „chorizo” – trwałość przechowalnicza do 3 miesięcy;

- kielbasa z daniela – trwałość do 6 miesięcy,
- kielbasa z jelenia - trwałość do 6 miesięcy,
- kielbasa wołowa – trwałość do 6 miesięcy,
- szynka wołowa - trwałość do 6 miesięcy.

Produkty obrabiane cieplnie:

- kielbasa podsuszana cienka: zagrycha rzeszowska - trwałość do 3 tygodni,
- kielbasa dukielska – - trwałość do 3 tygodni,
- szynka wieprzowa — trwałość do 3 tygodni ,

Przygotowywane są kolejne technologie procesu różnych wyrobów np. słoniny ekologicznej, tradycyjnego produktu naszego rynku.

Wniosek końcowy

Otrzymane wyniki wskazują na celowość kontynuacji badań modelowych dla wykazania w tych badaniach modelowych hamującego wpływu serwatki na rozwoju patogenów. Byłoby to potwierdzenie proponowanych długich, a nawet bardzo wydłużonych okresów trwałości przechowalniczej nowych wyrobów bez związków azotowych jako wynik zastosowania serwatki i odpowiedniej technologii produkcji. W produktach tych nie jest możliwe wytwarzanie tych bardzo rakotwórczych związków jakimi są nitrozoaminy. Proponowane rozwiązanie technologiczne produkcji byłoby interesujące dla większości producentów wyrobów mięsnych, dla których, jak wynika z dostępnych badań naukowych, szczególnie w USA, poszukuje się zastąpienia saletry i nitrytu dodatkiem różnych warzyw i owoców. Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań wykazały, że jest możliwa produkcja prozdrowotnych wędlin z mięsa pochodzącego z hodowli ekologicznych, bez dodatków substancji chemicznych, szczególnie azotanów i azotynów i chemicznie produkowanych askorbinianów, których dodatek jest nielimitowany. Otrzymane wyroby wskazują, że ich jakość sensoryczna i mikrobiologiczna w pełni spełnia wymagania rozporządzeń i aktów prawnych. Charakteryzuje je nowa prozdrowotna jakość. Dotychczas prowadzone badania nie pozwalają jeszcze na przedstawienie szczegółowej technologii produkcji. Nie możemy na obecnym etapie badań jednoznacznie określić mechanizmu inaktywacji drobnoustrojów patogennych, jak i mechanizmu tworzenia barwy wyrobów surowo dojrzewających. Powinny być dokonane badania modelowe z zakażeniem mięsa i wyrobów wybranym patogenami i badaniami stopnia ich inaktywacji przez bakterie i wytworzone substancje w serwatce.

Należy również określić warunki technologiczne otrzymywania serwatki w celu ujednolicenia jej właściwości.

Wyniki przeprowadzonych badań są bardzo obiecujące i widoczne są już korzyści jakościowe, ekonomiczne i społeczne dla rolnictwa, hodowli, przetwórstwa i dystrybucji. Jednakże dokonanie takiego przedsięwzięcia wymaga zwiększenia wiedzy osób kierujących zakładami mięsnymi i ich pracowników, z zakresu technologii i higieny produkcji (szkolenia, kursy, wprowadzanie technologii do zakładu). Wiedza ta powinna płynąć z wyników badań naukowych. W celu intensyfikacji rozwoju przetwórstwa mięsnych surowców ekologicznych, konieczne jest wsparcie środkami publicznymi, badań dotyczących przygotowania odpowiednich technologii, szkolenia, promocji produktów ekologicznych i budowy systemu zorganizowanej dystrybucji oraz reklamy.

7. Wykorzystana literatura w przygotowaniu sprawozdania

- 1 American Meat Science Association (1991). Guidelines for meat color evaluation. Chicago, IL, USA.
- 2 AOAC. (2006). Official method 950.46 (Ch. 39.1.02), Moisture in meat, B. Air drying. In W. Horwitz (Ed.), Official methods of analysis of AOAC International (18th ed., Revision 1). Maryland: AOAC International.
- 3 Archer, D. L. (2002). Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. *Journal of Food Protection*, 65, 872–875.
- 4 Bajpai, V. K., Rahman, A., Dung, N. T., Huh, M. K., Kang, S. C. (2008). In vitro inhibition of food spoilage and food borne pathogenic bacteria by essential oil and leaf extract of *Magnolia liliflora* Desr. *Journal of Food Science*, 73, 314-320.
- 5 Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
- 6 Bednarski W. (1997). Zagospodarowanie produktów ubocznych. W: S. Ziajka (red.), *Mleczarstwo – zagadnienia wybrane*. ART, Olsztyn, ss. 319–344.
- 7 Bednarski W. (2001). Doskonalenie technologii oraz organizacji przetwarzania serwatki w Polsce. *Przemysł Spożywczy*, 2, 32–34.
- 8 Binkerd, E. F., Kolari, O. E. (1975). The history and use of nitrate and nitrite in the curing of meat. *Food and Cosmetics Toxicology*, 13, 655–661.
- 9 Bourne, M. C. (1982). *Food Texture and Viscosity*. Academic Press, New York.

- 10 Bourn, D., Prescott, J. (2002). A comparison of the nutritional value, sensory qualities and food safety of organically and conventionally produced foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(1), 1–34.
- 11 Bover-Cid S., Miguelez-Arrizado J., Latorre Mortalla L., Vidal Carou M. C. (2006). Freezing of meat raw materials affects tyramine and diamine accumulation in spontaneously fermented sausages. *Meat Science*, 72, 62-68.
- 12 Careri M., Mangia A., Barbieri G., Bolzoni L., Virgili R., Parolari G. (1993). Sensory property relationships to chemical data of Italian-type dry-cured hams. *Journal of Food Science*, 58, 968-972.
- 13 Carlsen, C. U., Møller, J. K. S., Skibsted, L. H. (2005). Heme-iron in lipid oxidation. *Coordination Chemistry Reviews*, 249, 485-498.
- 14 Casaburi, A., Blaiotta, G., Mauriello, G., Pepe, O., Villani, F. (2005). Technological activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* strains isolated from fermented sausages. *Meat Science*, 71, 643–650.
- 15 Cheng, C.S., Parrish, Jr., F.C. (1978). Molecular changes in the salt - soluble myofibrillar proteins of bovine muscle. *Journal of Food Science* 43, 461-463.
- 16 Christiansen, L. N. (1980). Factors influencing botulinal inhibition by nitrite. *Food Technology*, 34(5), 237–239.
- 17 Clark, E. M., Mahoney, A. W., Carpenter, C. E. (1997). Heme and total iron in ready-to-eat chicken. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 124–126.
- 18 Cornforth, D. P., Vazabzadeh, F., Carpenter, C.E., Bartholomew, D.T. (1986). Role of reduced hemochromes in pink color defect of cooked turkey rolls. *Journal of Food Science*, 51, 1132-1235.
- 19 Das, R., Bhattacharjee, C., Ghosh, S. (2009). Preparation of mustard (*Brassica juncea* L.) protein isolate and recovery of phenolic compounds by ultrafiltration. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48, 4939–4947.
- 20 Delaquis, P., Mazza, G. (1995). Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation. *Food Technology*, 49, 73-84.
- 21 Devcich, D. A., Pedersen, I. K., Petrie, K. J. (2007). You are what you eat: Modern health worries and the acceptance of natural and synthetic additives in functional foods. *Appetite*, 48, 333–337.
- 22 Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86, 86-94.
- 23 Fernández-López J., Sevilla L., Sayas-Barberá M.E. et al. (2003). Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in cooked pork meat. *Journal of Food Science* 68, 660–664.

- 24 Glibowski P. (2004). Zastosowanie białek serwatkowych w przemyśle spożywczym. *Przegląd Mleczarski*, 9, 10–13.
- 25 Herrador, M. A., Sayago, A., Rosales, D., Asuero, A. G. (2005). Analysis of a sea salt from the Mediterranean Sea. *Alimentaria*, 360, 85–90.
- 26 Hornsey, H. C. (1956). The color of cooked cured pork, I. Estimation of the nitric oxide-heme pigments. *Journal of Science Food Agriculture*, 7, 534–540.
- 27 John L., Cornforth D., Carpenter Ch. E., Sorheim O., Pettee B. C., Whittier D. R. (2005). Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0.4% carbon monoxide, or vacuum. *Meat Science*, 69, 441 - 449.
- 28 Kanner, J., Hazan, B., Doll, L. (1991). Catalytic “free” iron ions in muscle foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23, 159-163.
- 29 Kanner, J., Juven, B. J. (1980). S-nitrosocysteine as an antioxidant, color-developing and anticlostridial agent in comminuted turkey meat. *Journal of Food Science*, 45, 1105–1108.
- 30 Kozłowski J., Bilińska E., Buchwald W. (2008). Nasiona roślin leczniczych jako leki i surowce zielarskie – część pierwsza. *Panacea* 4(25), 18-21
- 31 Kristensen, L., Purslow, P. P. (2001). The effect of processing temperature and addition of mono- and divalent salts on the heme-nonheme-iron ratio in meat. *Food Chemistry*, 73, 433–439.
- 32 Krzywicki K. (1979). Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat Science* 3, 1–10.
- 33 Kunemaru, K., Miyamoto, T. (1990). Inhibitory effects on the growth of several bacteria by brown mustard and allyl isothiocyanate. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 37, 823-829.
- 34 Lautenschläger R. (1996). Das Pökeln von rohen Fleischerzeugnissen. 1. Diffusionsverhalten der Salze. *Fleischwirtschaft*, 76 (4), 401-405.
- 35 Lindahl, G., Lundström, K., Tornberg, E. (2001). Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the lightness of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Science*, 59, 141-151.
- 36 Manda, K. R., Adams, C., Ercal, N. (2010). Biologically important thiols in aqueous extracts of spices and evaluation of their in vitro antioxidant properties. *Food Chemistry*, 118, 589-593.
- 37 MacDonald, B., Gray, J. I., Kakuda, Y., Lee, M. L. (1980). Role of nitrite in cured meat flavor: Chemical analysis. *Journal of Food Science*, 45, 889–892.
- 38 MacDonald, B., Gray, J. I., Stanley, D. W., Usborne, W. R. (1980). Role of nitrite in cured meat flavor: sensory analysis. *Journal of Food Science*, 45, 885–888.

- 39 MacDonald, B., Gray, J. I., Gibbins, L. N. (1980). Role of nitrite in cured meat flavor: Antioxidant role of nitrite. *Journal of Food Science*, 45, 893–897.
- 40 Meena, M. R., Sethi, V. (1994). Antimicrobial activity of essential oils from species. *Journal of Food Science and Technology*, 37, 823–829.
- 41 Miller, J. K. S., Jakobsen, M., Weber, C. J., Martinussen, T., Skibsted, L. H., Bertelsen, G. (2003). Optimization of colour stability of cured ham during packaging and retail display by a multifactorial design. *Meat Science*, 63, 169–175.
- 42 Morrissey, P. A., Techivangana, J. Z. (1985). The antioxidant activities of nitrite and nitrosylmyoglobin in cooked meats. *Meat Science*, 14, 175–190.
- 43 Nadarajah, D., Han, J. H., Holley, R. A. (2005). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in packaged ground beef by allyl isothiocyanate. *International Journal of Food Microbiology*, 99, 269–279.
- 44 Nam K.C., Ahn D.U. (2003). Effects of ascorbic acid and antioxidants on the color of irradiated ground beef. *Journal of Food Science* 68, 1686.
- 45 Olesen, P. T., Meyer, A. S., Stahnke, L. H. (2004). Generation of flavor compounds in fermented sausages – the influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time. *Meat Science*, 66, 675–687.
- 46 Piętka T., Krzymański J., Krótka K. (2010). Pierwsza podwójnie ulepszona odmiana gorczycy białej (*Sinapis alba* L.). *Oilseed Crops* 2, 177–199.
- 47 Piętka, T., Krzymański, J. (2007). Bamberka – zero-erucic white mustard. *Oilseed Crops*, 1, 119–124.
- 48 PN-75/A-04018 Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- 49 PN-ISO 2917:2001 Mięso i przetwory mięsne - Pomiar pH (metoda odwoławcza).
- 50 PN ISO 1444:2000 Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- 51 PN-73/A-82112 Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości soli kuchennej.
- 52 PN-EN ISO 5509:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- 53 PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- 54 PN-EN ISO 4833-2004:Ap1:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30 stopni C.
- 55 PN-ISO 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30 °C.

- 56 PN-EN ISO 11290-2:2000+A1:2005+Ap1:2006+Ap2:2007. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*. Metoda oznaczania liczby.
- 57 PN-ISO 13720:2010. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie liczby przypuszczalnych *Pseudomonas* sp.
- 58 Rembiałkowska E., Badowski M. (2010). Mięso z produkcji ekologicznej. *Gospodarka Mięsna* 8, 16-19.
- 59 Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych (wraz z późn. zmianami).
- 60 Sawicka B., Kotiuk E. (2007). Gorczyce jako rośliny wielofunkcyjne. *Acta Scientiarum Polonorum, Agricultura* 6(2), 17-26.
- 61 Sebranek, J. G. (1979). Advances in the technology of nitrite use and consideration of alternatives. *Food Technology*, 33(7), 58–62, 93.
- 62 Sebranek, J. G., Fox, J. B. Jr. (1985). A review of nitrite and chloride chemistry: Interactions and implications for cured meats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 1169–1182.
- 63 Sebranek J. G., A. L. Jackson-Davis , K. L. Myers , Lavieri N. A. (2012). Beyond celery and starter culture: Advances in natural/organic curing processes in the United States. *Meat Science* - in press.
- 64 Shahidi, F., Naczek, M. (1990). Removal of glucosinolates and other antinutrients from canola and rapeseed by methanol/ammonia processing. In: F. Shahidi, Editor, *Canola/Rapeseed*, Van Nostrand Reinhold, New York, 291–306.
- 65 Sullivan G. A., Jackson-Davis A. L., Schrader K. D., Xi Y., Kulchayawat Ch., Sebranek J. G. (2012). Dickson J. S., Survey of naturally and conventionally cured commercial frankfurters, ham, and bacon for physio-chemical characteristics that affect bacterial growth, *Meat Science*, 92, 808-815.
- 66 Stamler, J. S., Meissner, G. (2001). Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiology Reviews*, 81, 209–237.
- 67 Tabatabai, L. B., Walker, H. W. (1970). Oxidation-reduction potential and growth of *Clostridium perfringens* and *Pseudomonas fluorescens*. *Applied Microbiology*, 20, 441-446.
- 68 Terns M. J. , Milkowski A. L., Claus J. R., Sindelar J. J. (2011). Investigating the effect of incubation time and starter culture addition level on quality attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Science*, 88, 454-461.
- 69 VanEtten, C. H., Daxenbichler, M. E., Wolff, I. A. (1969). Natural glucosinolates (thioglucosides) in foods and feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17, 183-491.

- 70 Vulkov P. (2006). Water activity concept for safety food storage. Proceedings of the 3rd Central European Congress on Food, Sofia (Bulgaria).
- 71 Winter, C. K., Davis, S. F. (2006). Organic foods. *Journal of Food Science*, 71(9), 117–124.
- 72 Xi Y., Sullivan G. A., Jackson A. L., Zhou G. H., Sebranek J. G. (2011). Use of natural antimicrobials to improve the control of *Listeria monocytogenes* in a cured cooked meat model system. *Meat Science*, 88, 503-511.

8. Spis tabel

Tab. 1 Determinanty jakości mikrobiologicznej mięsa z hodowli ekologicznych.....	33
Tab. 2 Metody analiz mikrobiologicznych – bakterie saprofityczne	34
Tab. 3 Determinanty bezpieczeństwa mikrobiologicznego mięsa z hodowli ekologicznych..	40
Tab. 4 Metody analiz mikrobiologicznych – bakterie patogenne.	41
Tab. 5 Warunki wzrostu bakterii <i>Escherichia coli</i>	45
Tab. 6 Warunki wzrostu i produkcji enterotoksyny <i>S. aureus</i>	48

9. Spis rysunków

Rys. 1 Stanowisko do przygotowywania próbek.	20
Rys. 2 Liczba przypadków zoonoz w Unii Europejskiej w odniesieniu do 100 tys. populacji.	43
Rys. 3 Notowane przypadki listerioz w 25 krajach UE.	44
Rys. 4 Jakość sensoryczna wyrobów surowo dojrzewających z mięsa nierozdrobnionego. ...	51
Rys. 5 Jakość sensoryczna kielbasy „zagrycha rzeszowska”	52
Rys. 6 Jakość sensoryczna kielbasy myśliwskiej	53