

WPŁYW POWŁOKI JADALNEJ NA ZMIANY MIKROBIOLOGICZNE W MIĘSIE WOŁOWYM PODCZAS PRZECHOWYWANIA W WARUNKACH CHŁODNICZYCH

Anna Chlebowska-Śmigiel, Elżbieta Hać-Szymańczuk,
Małgorzata Gniewosz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Streszczenie. Wykorzystanie powłok jadalnych jest jednym z nowoczesnych rozwiązań technologicznych, pozwalającym na ograniczenie niekorzystnych zmian podczas przechowywania produktów spożywczych. Celem pracy było określenie wpływu powłoki jadalnej wytworzonej na bazie pullulanu, izolatu białka sojowego oraz kwasu stearynowego na zmiany mikrobiologiczne w mięsie wołowym. Próbkę mięsa wołowego o masie 10 g pokryte i niepokryte powłoką przechowywano przez 7 dni w warunkach chłodniczych. Bezpośrednio po naniesieniu powłoki (czas „0”) oraz 3 i 7 dniach przechowywania oznaczano ogólną liczbę bakterii: tlenowych mezofilnych, z grupy coli, enterokoków, psychrotrofo- wych, bakterii kwasu mlekowego oraz drożdży i pleśni. Zastosowanie powłoki jadalnej naj- skuteczniej zahamowało wzrost liczby bakterii tlenowych mezofilnych, LAB, enterokoków i psychrofilnych, redukując ich liczbę o 1 cykl logarytmiczny w porównaniu z próbkami kontrolnymi (bez powłoki). Stopień zahamowania wzrostu badanych grup drobnoustrojów był jednak zbyt niski, aby można ją było stosować w przypadku surowca mięsnego.

Słowa kluczowe: *Aureobasidium pullulans*, pullulan, powłoki jadalne, mięso wołowe, zmiany mikrobiologiczne

WSTĘP

Głównym celem pakowania żywności jest zachowanie jej świeżości oraz odpowied- niej jakości mikrobiologicznej przez długi czas. W przemyśle mięsnym, ze względu na specyfikę produktu, typ opakowania oraz metody pakowania dobiera się według barie- rowości dla niekorzystnych czynników. Ważne jest również, aby produkt był dobrze

Adres do korespondencji – Corresponding author: Anna Chlebowska-Śmigiel, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywności, Zakład Biotechnologii i Mi- krobiologii Żywności, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa, e-mail: [anna_chlebowska_ smigiel@sggw.pl](mailto:anna_chlebowska_smigiel@sggw.pl)

widoczny. Jest to związane zarówno z preferencjami konsumentów do tradycyjnej sprzedaży mięsa, wizualnej oceny jego jakości, jak również zakupu odpowiedniej gramatury towaru [Zin i Miazga 2004, Rak 2005, Zdanowska-Sąsiadek i in. 2013]. Wśród materiałów opakowaniowych stosowanych w przemyśle mięsnym przeważają różnego rodzaju tworzywa sztuczne i laminaty. Każda z dotychczas stosowanych metod pakowania wiąże się z koniecznością używania tworzyw sztucznych o specyficznych właściwościach, których pozyskanie oraz utylizacja powodują straty w środowisku naturalnym. Poszukuje się zatem nowych rozwiązań, do których należy zastosowanie opakowań biodegradowalnych [Zin i Miazga 2004, Zdanowska-Sąsiadek i in. 2013]. Nie są one uciążliwe dla środowiska, ponieważ rozkładają się do wody i dwutlenku węgla. Jeszcze lepszym rozwiązaniem wydają się być opakowania jadalne, które mogą zostać spożyte razem z produktem albo usunięte podczas mycia lub przygotowywania posiłku [Ogonek i Lenart 2003].

Powłoki i filmy jadalne są to cienkie warstwy wytwarzane z jednego składnika lub mieszaniny wieloskładnikowe, których celem jest stworzenie bariery ochronnej wokół produktu. Ma ona zapobiegać lub ograniczać przemiany biochemiczne, fizyko-chemiczne i biologiczne powodujące psucie produktu podczas jego przechowywania. Do produkcji opakowań jadalnych stosuje się najczęściej polisacharydy, lipidy i białka. Coraz częściej dodawane są również inne substancje wzbogacające skład i poprawiające funkcjonalność powłok, np. barwniki, przyprawy, przeciwutleniacze lub substancje o działaniu przeciwdrobnoustrojowym [Tyburcy 2001, Ogonek i Lenart 2003, Myszką i Czarczyk 2004, Zinoviadou i in. 2009].

Celem pracy było określenie wpływu powłoki jadalnej wytworzonej na bazie pullulanu, izolatu białka sojowego oraz kwasu stearynowego na zmiany mikrobiologiczne w mięsie wołowym w czasie 7 dni jego przechowywania w warunkach chłodniczych (4–6°C).

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym była połówka wołowa zakupiona w jednym ze stołecznych hipermarketów, którą powleczono powłoką jadalną wytworzoną na bazie pullulanu, izolatu białka sojowego oraz kwasu stearynowego. Powłokę przygotowywano w postaci emulsji zgodnie z metodyką podaną przez Xu i innych [2001].

Pullulan otrzymywano na drodze hodowli wglębnej mutantu B-1 grzyba *Aureobasidium pullulans*, a następnie oczyszczano [Gniewosz 2003]. Szczep wykorzystany w badaniach pochodził z kolekcji Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW. Do przygotowania powłoki używano kwasu stearynowego (Sigma-Aldrich) oraz izolatu białka sojowego SUPRO 595 (Soley Company, USA).

Powłokę nanoszono na próbki mięsa o masie 10 g przez ich zanurzenie w emulsji i wysuszenie w komorze laminarnej w przepływie jałowego powietrza w temperaturze 24°C.

Tak przygotowane próbki mięsa przechowywano w temperaturze chłodniczej (4–6°C) przez 7 dni. Bezpośrednio po przygotowaniu próbek oraz po 3 i 7 dniach ich przechowywania wykonywano oznaczenia mikrobiologiczne w próbach kontrolnych oraz pokrytych powłoką jadalną. Oznaczano ogólną liczbę drobnoustrojów według PN-EN ISO 4833 [2004], liczbę drożdży i pleśni według PN-ISO 21527-1 [2009], liczbę bakterii z grupy

coli według PN-ISO 4832 [2007], enterokoków według PN-A 82055-7 [1997], bakterii kwasu mlekowego według PN-EN ISO 15214 [2002] oraz drobnoustrojów psychrotrofowych według PN-ISO 17410 [2004].

Analizę statystyczną otrzymanych w części doświadczalnej wyników przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego Statgraphics 4.1. Plus (Manugistics Inc., USA), stosując analizę wariancji oraz test Tukeya dla określenia istotności różnic. Wszystkie obliczenia wykonano na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

WYNIKI I DYSKUSJA

We wcześniejszych badaniach własnych, dotyczących wpływu obecności powłoki jadalnej na zmiany jakości mikrobiologicznej mięsa wieprzowego stwierdzono, że sposób nanoszenia powłoki (zanurzenie kawałków mięsa w emulsji) nie wpływa istotnie na obniżenie początkowej liczby drobnoustrojów [Chlebowska-Śmigiel i in. 2011]. Znalazło to potwierdzenie w niniejszej pracy, ponieważ w przypadku każdej z oznaczanych grup drobnoustrojów, ich liczba w czasie „0” oznaczona w próbkach pokrytych i niepokrytych powłoką jadalną była zbliżona (tab. 1 i 2).

Oznaczenie ogólnej liczby drobnoustrojów pozwala na określenie jakości mikrobiologicznej badanego surowca. Według danych literaturowych [Kreyenschmidt i in. 2002], ogólna liczba drobnoustrojów rzędu 10^8 jtk·g⁻¹ jest wartością podawaną jako graniczna dla zachowania trwałości mięsa. Mikroflorę tusz wołowych stanowią najczęściej bakterie należące do rodzajów: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Bacillus* i *Clostridium* [Nowak i Piątkiewicz 2008].

Zanieczyszczenie polędwicy wołowej drobnoustrojami tlenowymi mezofilnymi oznaczone bezpośrednio po naniesieniu powłoki jadalnej (czas „0”) oscylowało wokół wartości $3,0 \cdot 10^3$ jtk·g⁻¹. Po 3 dniach przechowywania liczba ta wzrosła, zarówno w próbkach pokrytych, jak i niepokrytych powłoką jadalną, o 3 cykle logarytmiczne. Z kolei po 7 dniach przechowywania w próbkach powleczonych powłoką jadalną oznaczono o 1 cykl logarytmiczny mniejszą liczbę tlenowych drobnoustrojów mezofilnych w porównaniu z próbkami kontrolnymi (tab. 1).

Liczba bakterii z grupy coli w mięsie wołowym bezpośrednio po naniesieniu powłoki jadalnej wynosiła średnio $6,0 \cdot 10^1$ jtk·g⁻¹ (tab. 1). W miarę upływu czasu przechowywania próbek mięsa wołowego liczba bakterii z grupy coli wzrastała, by po 7 dniach przechowywania osiągnąć istotnie najwyższe wartości. Podobnie jak w przypadku ogólnej liczby drobnoustrojów tlenowych mezofilnych, w próbkach mięsa wołowego powleczonych powłoką jadalną oznaczono o 1 cykl logarytmiczny mniejszą liczbę bakterii z grupy coli w porównaniu z próbkami kontrolnymi (niepowleczonymi powłoką jadalną).

Z badań Sienkiewicz i Marmajewskiej [2013] wynika, że zanieczyszczenie półtuszy wołowych drobnoustrojami z rodziny Enterobacteriaceae kształtuje się na poziomie $1,1 \cdot 10^1$ – $2,1 \cdot 10^3$ jtk·cm⁻². Bystron i inni [2002] podają, że czas generacji dla bakterii *Escherichia coli* w temperaturze 30°C wynosi 33 minuty, a w temperaturze 14°C wydłuża się do 400 minut. Jeszcze wolniejszy wzrost tych drobnoustrojów można zaobserwować w temperaturze 4°C. Jest on jednak możliwy dzięki zdolnościom adaptacji tych drobnoustrojów do zmiennych warunków środowiskowych. Można zatem wnioskować, że

Tabela 1. Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych mezofilnych, bakterii z grupy coli oraz enterokoków w mięsie wołowym bez powłoki jadalnej (K) i pokrytym powłoką jadalną (P) przechowywanym w warunkach chłodniczych (4–6°C) [jtk·g⁻¹] (wartości średnie)

Table 1. The total number of mesophilic aerobic microorganisms, coliforms and enterococci in beef meat uncoated (K) and coated (P) stored under refrigeration (4–6°C) [cfu·g⁻¹] (mean values)

Czas przechowywania [dni] Storage time [days]	Ogólna liczba bakterii tlenowych mezofilnych The total number of mesophilic bacteria		Liczba bakterii z grupy coli Coliforms		Liczba enterokoków Enterococci	
	K	P	K	P	K	P
0	3,1 · 10 ³ aB	2,9 · 10 ³ aA	6,1 · 10 ¹ aA	5,7 · 10 ¹ aA	2,2 · 10 ² aB	2,1 · 10 ² aA
3	6,7 · 10 ⁶ aB	1,7 · 10 ⁶ aA	4,5 · 10 ³ aA	3,8 · 10 ³ aA	4,0 · 10 ³ aB	5,1 · 10 ³ aA
7	4,8 · 10 ⁹ bB	1,9 · 10 ⁸ bA	3,3 · 10 ⁶ bA	5,8 · 10 ⁵ bA	3,9 · 10 ⁶ bB	9,1 · 10 ⁵ bA

^{a, b} – różne indeksy przy wartościach w tej samej kolumnie oznaczają statystycznie istotne różnice między tymi wartościami dla $p \leq 0,05$ (czas przechowywania) / different indexes with values in the same column indicate statistically significant differences between these values for $p \leq 0.05$ (storage time).

^{A, B} – różne indeksy przy wartościach w tym samym wierszu dla danej grupy drobnoustrojów oznaczają statystycznie istotne różnice między tymi wartościami dla $p \leq 0,05$ (wpływ powleczenia powłoką) / different indexes with values in the same row for a group of microorganisms are statistically significant differences between these values for $p \leq 0.05$ (the influence of the coating layer).

w pierwszych dniach przechowywania mięsa trwał okres aklimatyzacji komórek do niekorzystnych warunków środowiska, a wraz z upływem czasu przechowywania hamujący wpływ niskiej temperatury był coraz mniejszy.

Bakterie z rodzaju *Enterococcus* stanowią rodzimą mikroflorę przewodu pokarmowego zarówno ludzi, jak i zwierząt. Ich obecność w mięsie może jednak świadczyć o niedostatecznej higienie uboju lub wtórnym zakażeniu podczas obrotu surowcem [Keeratipibul i in. 2009]. Początkowy poziom zanieczyszczenia badanych próbek mięsa enterokokami kształtował się na poziomie $2,1 \cdot 10^2$ jtk·g⁻¹ (tab. 1). Wraz z upływem czasu przechowywania liczba enterokoków w próbkach wzrastała, jednak w próbkach powleczonych powłoką jadalną były to wartości istotnie niższe.

Oznaczenie liczby drobnoustrojów psychrotrofowych wynika z warunków przechowywania mięsa. Obniżenie do 4°C temperatury przechowywania ma za zadanie zahamowanie rozwoju mikroflory obecnej w surowcu, jednak duża jej część to psychrofile i psychrotrofy, które posiadają genetycznie uwarunkowaną zdolność do wzrostu w niskiej temperaturze. Wśród drobnoustrojów bytujących na powierzchni mięsa znajdują się głównie bakterie z rodzajów: *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium* i zimnolubne bakterie z rodziny Enterobacteriaceae [Ellis i in. 2002, Nychas i in. 2008].

Początkowa liczba mikroorganizmów psychrotrofowych (tab. 2) kształtowała się na poziomie $2,5 \cdot 10^4$ jtk·g⁻¹. W przypadku próbek mięsa wołowego pokrytych powłoką jadalną już po 3 dniach ich przechowywania w warunkach chłodniczych oznaczono o 1 cykl logarytmiczny mniejszą liczbę bakterii psychrotrofowych w porównaniu z próbkami niepowleczonymi. Tendencja ta utrzymała się również w oznaczeniach wykonanych po 7 dniach przechowywania próbek mięsa wołowego.

Wśród bakterii obecnych na powierzchni mięsa i dobrze radzących sobie w zmieniających warunkach temperatury przeważają bakterie z rodzajów *Pseudomonas* i *Lactobacillus* [Bystroń i in. 2002]. Jednak coraz częściej obok bakterii *Pseudomonas* wskazuje się na bakterie z rodziny Enterobacteriaceae jako odpowiedzialne za obniżenie jakości mikrobiologicznej mięsa przechowywanego w warunkach chłodniczych [Kreyenschmidt i in. 2002].

W każdej z badanych próbek mięsa wołowego, niezależnie od zastosowania powłoki jadalnej, stwierdzono obecność bakterii kwasu mlekowego (LAB) – tabela 2. Liczba LAB w czasie „0” wynosiła średnio $2,6 \cdot 10^2$ jtk·g⁻¹ i wzrastała podczas przechowywania zarówno w próbkach kontrolnych mięsa, jak i powleczonych powłoką jadalną.

Tabela 2. Liczba drobnoustrojów psychrotrofowych, bakterii kwasu mlekowego oraz drożdży i pleśni w mięsie wołowym bez powłoki jadalnej (K) i pokrytym powłoką jadalną (P) przechowywanym w warunkach chłodniczych (4–6°C) [jtk·g⁻¹] (wartości średnie)

Table 2. The number of psychrotrophic, LAB, yeast and moulds in beef meat uncoated (K) and coated (P) stored under refrigeration (4–6°C) [cfu·g⁻¹] (mean values)

Czas przechowywania [dni] Storage time [days]	Liczba bakterii psychrofilnych Psychrotrophic		Liczba bakterii kwasu mlekowego LAB		Liczba drożdży i pleśni Yeast and moulds*	
	K	P	K	P	K	P
0	$2,6 \cdot 10^4$ aA	$2,5 \cdot 10^4$ aB	$2,7 \cdot 10^2$ aA	$2,6 \cdot 10^2$ aB	$4,9 \cdot 10^2$ aA	$4,8 \cdot 10^2$ aA
3	$5,9 \cdot 10^7$ aA	$4,3 \cdot 10^6$ aB	$2,7 \cdot 10^3$ aA	$4,6 \cdot 10^3$ aB	$2,1 \cdot 10^4$ aA	$6,2 \cdot 10^4$ abA
7	$2,5 \cdot 10^9$ bA	$2,8 \cdot 10^8$ bB	$3,5 \cdot 10^6$ bA	$4,9 \cdot 10^5$ bB	$4,2 \cdot 10^5$ bA	$4,7 \cdot 10^4$ bA

* W żadnej z badanych próbek mięsa wołowego nie stwierdzono obecności pleśni w 0,1 g produktu / There was no moulds in any of the tested samples of beef in 0.1 g of produkt.

^{a, b} – różne indeksy przy wartościach w tej samej kolumnie oznaczają statystycznie istotne różnice między tymi wartościami dla $p \leq 0,05$ (czas przechowywania) / different indexes with values in the same column indicate statistically significant differences between these values for $p \leq 0.05$ (storage time).

^{A, B} – różne indeksy przy wartościach w tym samym wierszu dla danej grupy drobnoustrojów oznaczają statystycznie istotne różnice między tymi wartościami dla $p \leq 0,05$ (wpływ powleczenia powłoką) / different indexes with values in the same row for a group of microorganisms are statistically significant differences between these values for $p \leq 0.05$ (the influence of the coating layer).

W żadnej z badanych próbek mięsa wołowego nie stwierdzono obecności pleśni (tab. 2). Średnia liczba drożdży wynosiła początkowo $4,8 \cdot 10^2$ jtk·g⁻¹ (czas „0”) i rosła wraz z upływem czasu przechowywania. Również w przypadku liczby drożdży zaobserwowano ograniczenie ich wzrostu po 7 dniach przechowywania w próbkach pokrytych powłoką o 1 cykl logarytmiczny w porównaniu z próbkami kontrolnymi.

Sprawdzając możliwość zastosowania powłok jadalnych na różnych surowcach spożywczych, badano wpływ powłok pullulanowych i pullulanowo-białkowych [Chlebowska-Śmigiel i in. 2007, 2008, Chlebowska-Śmigiel i Gniewosz 2009]. Powłoki uzyskane wyłącznie z pullulanu są przezroczyste i elastyczne [Xu i in. 2003]. Obecność protein poprawia wytrzymałość mechaniczną powłok oraz zapewnia dobrą przyczepność do wilgotnych powierzchni. Dzięki swojej budowie i możliwości tworzenia mostków disiarczkowych w różnych położeniach, w zależności od parametrów formowania

powłoki, dodatek protein ogranicza dostęp tlenu do zabezpieczonych produktów [Tendaj i Tendaj 2000]. Izolaty białka sojowego mogą zastępować żelatynę, która jest rozkładana przez drobnoustroje, a ponadto nie zawsze akceptowana przez konsumentów. Powłoki bazujące na proteinach soi charakteryzują się wysoką barierowością w stosunku do tlenu. W zależności od procentowego udziału białka są one od 325 do 1750-krotnie skuteczniejsze od folii polietylenowej, która chociaż jest najlepsza w przypadku ochrony produktu, jest jednocześnie najbardziej szkodliwa dla środowiska naturalnego [Tendaj i Tendaj 2001].

Rola kwasów tłuszczowych jako składników powłok jadalnych polega na wprowadzeniu do nich czynnika hydrofobowego, odpowiedzialnego za przepuszczanie wilgoci. Skuteczność tworzenia bariery dla wody wzrasta proporcjonalnie z ilością tego składnika w powłoce [McHugh i Sensi 2000]. Kwas stearynowy stosowany w formie krystalicznej jest równomiernie rozmieszczony w emulsji i tworzy wraz z nią strukturę trójwymiarową. Ponadto wykazano, że dodatek tego kwasu zwiększa 10-krotnie barierowość powłoki dla pary wodnej [Xu i in. 2003].

Przy zakupie mięsa często czynnikiem decydującym o jego wyborze jest kolor, który w dużym stopniu zależy od obecności tlenu w opakowaniu. Korzystna czerwona barwa mięsa powstaje po utlenieniu mioglobiny, jednak w wyniku dalszej oksydacji powstaje niepożądana, brązowo zabarwiona metmioglobina. Ważne jest zatem zastosowanie opakowania, które odznacza się znaczną barierowością dla tlenu [Zdanowska-Sąsiadek i in. 2013]. Wybrana powłoka jadalna teoretycznie spełniała te warunki, dlatego podjęto próbę zastosowania jej jako opakowania dla badanego mięsa. Otrzymane w niniejszej pracy wyniki nie są jednak zadowalające i powłoka o takim składzie nie może być stosowana w przypadku surowca mięsnego. Wcześniej z powodzeniem była ona używana w celu przedłużenia trwałości owoców kiwi [Xu i in. 2001], jednak nie była sprawdzana pod kątem ograniczenia rozwoju obecnej na nich mikroflory. Nie bez znaczenia jest także różnica w składzie chemicznym między badanymi surowcami, co może wpływać na skuteczność działania zastosowanej powłoki. Również wysoka początkowa liczba drobnoustrojów spowodowała, że po trzech dniach prowadzenia badań, zarówno w próbkach pokrytych, jak też niepokrytych powłoką, zaobserwowano wzrost liczby drobnoustrojów powyżej wartości 10^8 jtk·g⁻¹, co czyni mięso niezdatnym do spożycia. Zinoviadou i inni [2009] badali wpływ powłoki jadalnej wytworzonej na bazie izolatu białek pszenicy (WPI) i sorbitolu z dodatkiem olejku z oregano na ograniczenie zmian mikrobiologicznych w świeżym mięsie wołowym przechowywanym przez 12 dni w temperaturze 5°C. Autorzy uzyskali znaczące ograniczenie ogólnej liczby drobnoustrojów w czasie przechowywania próbek pokrytych powłoką z dodatkiem 1,5% olejku z oregano. Różnica między wynikami uzyskanymi w próbkach bez powłoki i z powłoką wynosiła 3 cykle logarytmiczne. Należy zatem przypuszczać, że istnieje możliwość dopracowania składu powłoki i dobrania jej rodzaju do charakteru surowca tak, aby powłoki jadalne stały się alternatywą dla tradycyjnych metod pakowania i wykazywały większą skuteczność w ograniczaniu wzrostu drobnoustrojów.

WNIOSKI

1. Zanurzenie próbek w roztworze emulsji w celu naniesienia powłoki jadalnej nie wpłynęło istotnie na obniżenie początkowej liczby drobnoustrojów.
2. Badana powłoka najskuteczniej ograniczyła wzrost bakterii kwasu mlekowego, enterokoków, drożdży i bakterii z grupy coli.
3. Zastosowana powłoka jadalna była mało skuteczna w ograniczeniu liczby drobnoustrojów psychrofilnych, które znalazły dogodne warunki rozwoju w próbkach mięsa wołowego przechowywanych w temperaturze chłodniczej.

LITERATURA

- Bystróż J., Kosek-Paszkowska K., Molenda J., 2002. Wpływ warunków środowiskowych na psucie się mięsa. *Życie Weterynaryjne* 9 (77), 478–480.
- Chlebowska-Śmigiel A., Gniewosz M., 2009. Wpływ jadalnej powłoki pullulanowej na ograniczenie zmian sensorycznych i fizykochemicznych zachodzących w orzechach laskowych podczas przechowywania. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLII (3), 420–425.
- Chlebowska-Śmigiel A., Gniewosz M., Gąszewska M., 2008. An attempt to apply a pullulan coating to reduce oxidative changes and mass loss in nuts during storage. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 58 (1), 79–84.
- Chlebowska-Śmigiel A., Gniewosz M., Sadło B., 2011. Próba przedłużenia trwałości mikrobiologicznej mięsa wieprzowego poprzez zastosowanie powłoki jadalnej. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLIV (3), 683–688.
- Chlebowska-Śmigiel A., Gniewosz M., Świeczak E., 2007. An attempt to apply a pullulan and pullulan-protein coatings to prolong apples shelf-life stability. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 6 (1), 49–56.
- Ellis D. I., Broadhurst D., Kell D.B., Rowland J.J., Goodacre R., 2002. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of meat by Fourier transform infrared spectroscopy and machine learning. *Appl. Environ. Mikrob.* 68, 2822–2828.
- Gniewosz M., 2003. Studia nad doskonaleniem *Aureobasidium pullulans* w produkcji pullulanu. Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 31–45.
- Keeratipibul S., Oupaichit T., Techaruwichit P., 2009. Contamination profiles of *Escherichia coli* and enterococci in steamed chicken meat products. *J. Food Protect.* 9 (72), 1821–1829.
- Kreyenschmidt J., Lohmeyer K., Stahl N., 2002. Charakterisierung des Verderbs von Frischfleisch. *Fleischwirtschaft* 10 (82), 108–111.
- McHugh T.H., Sensi E., 2000. Apple wraps a novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *J. Food Sci.* 3 (65), 480–485.
- Myszka K., Czaczyk K., 2004. Rola egzopolisacharydów mikrobiologicznych w technologii żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 4 (41), 18–29.
- Nowak A., Piątkiewicz A., 2008. Mikrobiologiczne psucie żywności. W: *Mikrobiologia żywności* (t. 2), Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 260–264.
- Nychas G.-J.E., Skandami P.N., Tassou C.C., Koutsoumanis K.P., 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Sci.* 78, 77–89.

- Ogonek A., Lenart A., 2003. Zastosowanie jadalnych filmów i powłok do żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 1 (34), 5–15.
- PN-A 82055-7:1997. Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Wykrywanie obecności i oznaczanie liczby enterokoków.
- PN-EN ISO 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- PN-EN ISO 4833:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- PN-ISO 17410:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.
- PN-ISO 21527-1:2009. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni. Część 1: Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody wyższej niż 0,95.
- PN-ISO 4832:2007. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii grupy coli. Metoda płytkowa.
- Rak L., 2005. Opakowanie – niemy sprzedawca mięsa i przetworów? *Gosp. Mięsna* 7 (57), 10–14.
- Sienkiewicz J.J., Marmajewska A., 2013. Jakość mikrobiologiczna tusz zwierząt rzeźnych oraz mięsa mielonego. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 575, 107–118.
- Tendaj M., Tendaj B., 2000. Właściwości powłok jadalnych stosowanych w pozbiornym uszlachetnianiu owoców i warzyw. *Zeszyty Naukowe AR im. H. Kołłątaja w Krakowie* 364, 423–427.
- Tendaj M., Tendaj B., 2001. Białka sojowe jako składniki powłok jadalnych. *Przem. Spoż.* 7 (55), 20–22.
- Tyburcy A., 2001. Nowości w dziedzinie pakowania mięsa i produktów mięsnych. *Mięso i Wędliny* 2, 46–48.
- Xu S., Chen X., Sun D.-W., 2001. Preservation of kiwifruit coated with an edible film at ambient temperature. *J. Food Eng.* (50), 211–216.
- Xu S., Xu L.D., Chena X., 2003. Determining optimum edible films for kiwifruits using an analytical hierarchy process. *Computers & Operations Research* 30, 877–886.
- Zin M., Miazga R., 2004. Najnowszy system pakowania mięsa. *Gosp. Mięsna* 7 (56), 34–36.
- Zinoviadou K.G., Koutsoumanis K.P., Biliaderis C.G., 2009. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Sci.* 82, 338–345.
- Zdanowska-Sąsiadek Z., Michalczuk M., Marcinkowska-Lesiak M., Damaziak K., 2013. Czynniki warunkujące przebieg utleniania lipidów w mięsie drobiowym. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 574, 77–84.

THE INFLUENCE OF EDIBLE COATING ON MICROBIOLOGICAL CHANGES IN BEEF MEAT UNDER REFRIGERATION

Summary. The main objective of food packaging is to preserve its freshness and microbial quality for a long period of time. In the meat industry, due to the nature of the product, the type of packaging and packing methods are chosen according barrier against adverse factors. The use of edible coatings is one of the modern technology that allows for the reduction of adverse changes during storage of food products. Edible coatings and films are thin layers made of a single component or multicomponent mixtures which aim is the prevention or reduction biochemical, physicochemical and biological responsible for the

spoilage of the product during its storage. The aim of the study was to determine the effect of edible coatings prepared on the basis of pullulan, soy protein isolate, and stearic acid on the microbiological changes occurring in bovine meat during the seven days refrigeration storage. The research material was beef purchased at one of the city's supermarkets. Pullulan was prepared by the batch culture of *Aureobasidium pullulans* white mutant B-1. The strain used in the study came from the collection of the Department of Biotechnology and Food Microbiology, Warsaw School of Live Sciences. For the preparation of coatings stearic acid and soy protein isolate SUPRO 595 were used. Beef samples of 10 g weight were coated with an edible coating by immersing in a solution of the emulsion and drying in a laminar flow of sterile air at a temperature of 24°C. In parallel control samples without the coating were prepared. The meat samples coated and uncoated edible coating were stored for 7 days under refrigeration (4–6°C). Immediately after application of the coating (time "0") and after 3 and 7 days of storage designation for total number of mesophilic aerobic microorganisms, coliforms, enterococci, psychrotrophic bacteria, lactic acid bacteria and yeasts and molds were performed. It has been found that the method for applying the edible coating did not affect the reduce the initial number of microorganisms significantly. There was no presence of mold in the tested samples of beef. During the storing the number of microorganisms identified in the samples increased, however, in the samples coated with an edible coating it was significantly lower. The use of edible coatings efficiently inhibited the growth of mesophilic aerobic bacteria, LAB, enterococci and psychrotrophic bacteria. Their number, compared with uncoated samples was reduced by 1 log cycle. The same limitation of the number of yeast after 7 days of storage in the coated samples was observed. The degree of inhibition of growth of the tested groups of microorganisms was too low, so it can be used for raw meat.

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