

BOŻENA WINDYGA¹, MONIKA FONBERG-BROCZEK², HALINA ŚCIEŻYŃSKA¹, SYLWIA SKĄPSKA³, KRYSZYNA GÓRECKA¹, ANNA GROCHOWSKA¹, ANDRZEJ MORAWSKI¹, JANUSZ SZCZEPEK², KAZIMIERZ KARŁOWSKI¹, SYLWESTER POROWSKI²

ZASTOSOWANIE WYSOKIEGO CIŚNIENIA W ATMOSFERZE HELU DO OBNIŻENIA ZANIECZYSZCZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO PRZYPRAW ZIOŁOWYCH *

HIGH PRESSURE PROCESSING OF SPICES IN ATMOSPHERE OF HELIUM FOR DECREASE OF MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION

¹ Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego-Państwowy Zakład Higieny
00 -791 Warszawa, ul. Chocimska 24
e-mail: bwindyga@pzh.gov.pl
Kierownik: doc.dr hab. K. Karłowski

² Instytut Wysokich Ciśnień PAN
01-142 Warszawa, ul. Sokołowska 29/37

³ Zakład Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych
Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
02-532 Warszawa, ul. Rakowiecka 36

*Zbadano możliwość obniżenia zanieczyszczeń mikrobiologicznych przypraw ziołowych (kminku - *Carum carvi* L i kolendry - *Coriandrum sativum* L.) przy zastosowaniu ultra wysokich ciśnień hydrostatycznych od 800 do 1000 MPa w atmosferze helu i podwyższonych temperatur. Stwierdzono możliwość dekontaminacji przypraw ziołowych i zależność redukcji ilości drobnoustrojów od zawartości wody.*

Słowa kluczowe: przyprawy, wysokie ciśnienia, dekontaminacja mikrobiologiczna
Key words: spices, high pressure processing (HPP), microbiological decontamination

WSTĘP

Przyprawy ziołowe, często w nadmiernym stopniu są zanieczyszczone mikrobiologicznie, w tym drobnoustrojami chorobotwórczymi, przetrwalnikującymi i nieprzetrwalnikującymi oraz pleśniami i drożdżami. Rodzaj i poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego może mieć wpływ na zmniejszenie ich wartości użytkowej lub nawet całkowitą eliminację z uwagi

* Praca wykonana w ramach projektu badawczego nr: 5PO6G 007 19/2000

na występowanie bakterii chorobotwórczych. Dotyczy to niekiedy dużych partii importowanych i kosztownych przypraw.

Poszukiwanie nowych metod dekontaminacji przypraw roślinnych wynika z wycofywania, stosowanych od wielu lat, zabiegów fumigacji przy użyciu tlenu etylenu ze względu na powstawanie rakotwórczych i mutagennych związków oraz bromku metylu, z uwagi na niszczenie warstwy ozonowej. Próby zastąpienia tych związków ozonem czy alkoholem etylowym związane są ze stratami olejków eterycznych lub powstawaniem zmian smaku i zapachu oraz małą skutecznością w stosunku do drobnoustrojów, a nawet z zagrożeniem zdrowotnym. Ze sprawdzonych metod fizycznych, najskuteczniejsze jest promieniowanie jonizujące stosowane w dawce do 10 kGy. Metoda sterylizacji, powoduje zmniejszenie zanieczyszczenia mikrobiologicznego, jednak związana jest ze stratami lotnych substancji zapachowych i smakowych stanowiących o wartości przypraw.

W ostatnich latach coraz większe uznanie zdobywa metoda wykorzystująca technikę wysokiego ciśnienia hydrostatycznego (HPP - High Pressure Processing) rzędu 300 – 1000 MPa [13]. W przypadku produktów o małej zawartości wody stosowanie technologii HPP nie wpływa skutecznie na obniżenie zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Niezbędne jest podwyższenie temperatury procesu, co w warunkach ciśnieniowania z medium, jakim jest powietrze powodowało utratę aromatów. W celu zapobieżenia stratom substancji lotnych w wyniku ogrzewania przypraw w wysokiej temperaturze, proces ciśnieniowania wykonywano w atmosferze gazu obojętnego helu, charakteryzującego się w tych warunkach dużą lepkością i małym współczynnikiem dyfuzji [11].

Celem podjętych badań było sprawdzenie możliwości zastosowania techniki wysokociśnieniowej HPP do obniżenia zanieczyszczenia mikrobiologicznego przypraw ziołowych. Niska zawartość wody, która jest cechą charakterystyczną przypraw oraz sposób ich pakowania uniemożliwiają wykorzystanie standardowego sposobu działania HPP z zastosowaniem cieczy jako medium wysokociśnieniowego, dlatego jako medium został wprowadzony gaz szlachetny – hel.

MATERIAŁ I METODY

Próbki kminku i kolendry pochodzące z obrotu detalicznego były poddane obróbce cieplno-ciśnieniowej w specjalnie przystosowanych stanowiskach umożliwiających przepływowy pobór gazu, składających się z wysokociśnieniowej komory procesowej, kompresora gazowego, elektrycznego układu grzejnego, układów pomiarowych oraz osłony bezpieczeństwa. Próbki kolendry poddawano ciśnieniom 800 lub 1000 MPa, a próbki kminku ciśnieniu 800 MPa. Procesy wykonywano w atmosferze helu w temperaturze 60 °C, 80 °C, 100 °C i 121 °C przez 30 minut.

W próbkach przed zabiegiem (kontrola) i po zabiegu badano: ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych mezofilnych oraz ich przetrwalników, liczbę bakterii z grupy coli oraz liczbę drożdży i pleśni zgodnie z metodami zawartymi w polskich normach [6, 7, 8]. Dla porównania przeżywalności drobnoustrojów w zależności od aktywności wody zastosowano szczep kultury startowej *Lactobacillus ramnosus*.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Stosowanie technologii wysokociśnieniowej - HPP nie powoduje zmian w podstawowych składnikach żywności. Efekt działania HPP na środki spożywcze jest uzależniony od ich rodzaju materiału, ciśnienia, temperatury jak również stanu dojrzałości biologicznej czy obecności innych substancji. Związki o małej masie cząsteczkowej np. witaminy, barwniki i aromaty są zachowywane w stanie naturalnym, nienaruszonym [1 - 5].

Jak wcześniej wykazano, zastosowanie sprężonej obróbki termiczno-ciśnieniowej w atmosferze argonu nie powodowało istotnego spadku zanieczyszczenia mikrobiologicznego pieprzu mielonego i ziaren kolendry [12, 14, 15]. Kontynuowano wobec tego badania przy wykorzystaniu w procesie HPP helu, który charakteryzuje się innymi właściwościami fizycznymi w porównaniu z argonem. Stwierdzono, że zanieczyszczenie mikrobiologiczne przypraw ulega zdecydowanie większej redukcji w przypadku zastosowania w procesie ciśnieniowania helu niż uzyskano we wcześniejszych badaniach z argonem. Wyniki wskazują, że redukcja liczby bakterii o 2 jednostki logarytmiczne wymaga drastycznych warunków procesu: temperatury 60 °C lub 80 °C oraz ciśnienia 800 MPa (tab. I i II).

Tabela I. Wpływ połączonego działania HPP i temperatury w atmosferze helu na zanieczyszczenie mikrobiologiczne kolendry
The effect of combined treatment of HPP and temperature under helium atmosphere on the microbiological contamination of coriander

Lp.	Ciśnienie, temperatura, czas,	Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych mezofilnych jtk/g	Ogólna liczba drobnoustrojów przetrwalnikujących tlenowych mezofilnych jtk/g	Liczba bakterii z grupy coli jtk/g	Liczba drożdży i pleśni jtk/g
1	Kontrola	2,6x10 ⁶	1,5x10 ³	1,7x10 ⁵	1,4x10 ⁴
2	800 MPa 60 °C, 30 min.	1,7x10 ⁶	1,0 x10 ³	5,7x10 ⁴	1,7x10 ³
3	800 MPa 80 °C, 30 min.	7,1x10 ⁴	1,5x10 ³	3,0x10 ²	nb.
4	800 MPa 100 °C, 30 min.	2,2x10 ⁴	9,0x10 ¹	nb.	nb.
5	800 MPa 121 °C, 30 min.	nb.	nb.	nb.	nb.
6	1000 MPa 60 °C, 30 min.	1,7x10 ⁵	3,1x10 ³	1,3x10 ²	0,5x10 ²
7	1000 MPa 80 °C, 30 min.	7,0x10 ⁴	1,5x10 ³	3,0x10 ¹	nb.
8	1000 MPa 100 °C, 30 min.	nb.	1,5x10 ²	nb.	nb.
9	1000 MPa 121 °C, 30 min.	nb.	nb.	nb.	nb.

Kontrola - próbka przed zabiegiem ciśnieniowania

nb. - nieobecne w 0,1 g

Tabela II. Wpływ połączonego działania HPP i temperatury w atmosferze helu na zanieczyszczenie mikrobiologiczne nasion kminku
The effect of combined treatment of HPP and temperature under helium atmosphere on the microbiological contamination of caraway seeds

Lp.	Ciśnienie, temperatura, czas	Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych mezofilnych jtk/g	Liczba bakterii z grupy coli jtk/g	Liczba drożdży i pleśni jtk/g
1	Kontrola	$3,8 \times 10^4$	$1,3 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$
2	800 MPa, 60 °C, 30 min.	$2,9 \times 10^4$	nb.	nb.
3	800 MPa, 80 °C, 30 min.	$3,0 \times 10^2$	nb.	nb.
4	800 MPa, 100 °C, 30 min.	$1,0 \times 10^2$	nb.	nb.
5	800 MPa, 121 °C, 30 min.	$1,5 \times 10^2$	nb.	nb.

Kontrola - próbka przed zabiegiem ciśnieniowania

nb. - nieobecne w 0,1 g

Próbki kminku, w których nie stwierdzono obecności bakterii z grupy coli, drożdży i pleśni oraz drobnoustrojów tlenowych mezofilnych, w tym przetrwalnikujących, uzyskano w wyniku działania ciśnienia 800 MPa w temperaturze 100 °C przez 30 minut (ogólna liczba drobnoustrojów wynosiła zaledwie 100 w 1g). Zastosowanie ciśnienia 800 MPa w temperaturze 100 °C spowodowało 100% redukcję bakterii z grupy coli oraz drożdży i pleśni, a jedynie obniżenie liczby bakterii mezofilnych tlenowych o 2 cykle logarytmiczne. W próbkach kolendry zastosowanie ciśnienia 800 MPa i 1 000 MPa w temperaturze 121 °C pozwoliło na inaktywację wszystkich drobnoustrojów. Stwierdzone różnice pomiędzy rodzajami badanych przypraw mogły wynikać z różnej wyjściowej liczby drobnoustrojów oraz z różnic w strukturze owoców kolendry i nasion kminku.

Przyprawy, jakimi są owoce kolendry i nasiona kminku charakteryzują się niską zawartością wody [9, 10]. Stwierdzono, że komórki wegetatywne drobnoustrojów obecne w przyprawach o zawartości wody poniżej 10% są mniej wrażliwe na destrukcyjne działanie wysokich ciśnień nawet w połączeniu z temperaturą, w porównaniu z bakteriami z hodowli na pożywkach lub występującymi w żywności o większej zawartości wody.

Tabela III. Wpływ działania HPP i temperatury w atmosferze helu na przeżywalność *Lactobacillus rhamnosus* w środowisku o różnej zawartości wody
The effect of combined treatment of HPP and temperature under helium atmosphere on *Lactobacillus rhamnosus* in medium of different percentage of water

Lp	Ciśnienie, temperatura, czas	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>		
		Zawartość wody		
		1%	10%	20%
		jtk/g		
1.	Kontrola	$3,1 \times 10^5$	$4,3 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$
2.	500 MPa, 0 °C, 15 min	$2,8 \times 10^5$	$5,3 \times 10^4$	$1,4 \times 10^3$
3.	500 MPa, 10 °C, 15 min	$2,5 \times 10^5$	$2,2 \times 10^4$	< 10
4.	500 MPa, 20 °C, 15 min	$3,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^4$	$6,0 \times 10^2$
5.	500 MPa, 40 °C, 15 min	$3,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^2$	< 10

Kontrola - próbka przed zabiegiem ciśnieniowania

Sprawdzając znaczenie zawartości wody na efektywność działania HPP zbadano przeżywalność bakterii *Lactobacillus rhamnosus*, na nośniku, którym była krzemionka, o zawartości wody 1%, 10% i 20%. Wyniki badań potwierdziły, że działanie procesu zależy od ilości wody w środowisku. Przy zastosowaniu liofilizatu o 1% zawartości wody proces HPP okazał się nieskuteczny. Natomiast przy zawartości wody - 20%, zarówno w temperaturze 10 °C jak i 40 °C, stwierdzono całkowitą inaktywację *Lactobacillus rhamnosus*. Przy zawartości 10% wody obserwowano znacznie mniejszy efekt obniżenia liczby bakterii (tab. III).

Zaobserwowana oporność drobnoustrojów na czynniki fizyczne (HPP) wskazuje na konieczność nawilżania przypraw przed właściwym ciśnieniowo-temperaturowym procesem dekontaminacji. Wykazano, że nawilżenie przypraw umożliwia obniżenie temperatury procesu do 40 °C, co zapewnia zachowanie pełnych walorów organoleptycznych (brak utraty lotnych substancji smakowo-zapachowych) [11].

W badaniach wykorzystano po raz pierwszy na świecie, technikę wysokociśnieniową w atmosferze gazu szlachetnego, którym jest hel skojarzoną z podwyższoną temperaturą do dekontaminacji mikrobiologicznej przypraw ziołowych.

WNIOSKI

1. Technika wysokociśnieniowa skojarzona z podwyższoną temperaturą w atmosferze helu umożliwia obniżenie zanieczyszczenia mikrobiologicznego przypraw ziołowych.
2. Zaobserwowana oporność bakterii na czynniki fizyczne wskazuje na konieczność nawilżania wodą przypraw przed właściwym ciśnieniowo-temperaturowym procesem dekontaminacji produktów.

B. Windyga, M. Fonberg-Broczek, H. Ścieżyńska, S. Skąpska, K. Górecka, A. Grochowska, A. Morawski, J. Szczepek, K. Karłowski, S. Porowski

ZASTOSOWANIE WYSOKIEGO CIŚNIENIA W ATMOSFERZE HELU DO OBNIŻENIA ZANIECZYSZCZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO PRZYPRAW ZIOŁOWYCH

STRESZCZENIE

Celem pracy było zbadanie możliwości zastosowania technologii wysokociśnieniowej (HPP) oraz podwyższonej temperatury w atmosferze gazu szlachetnego – helu - do redukcji zanieczyszczenia mikrobiologicznego w przyprawach ziołowych: owocach kolendry i nasionach kminku. Badane produkty poddawano działaniu ciśnienia 800 MPa i 1 000 MPa przez 30 minut w zakresie temperatur od 60 do 121°C. Stwierdzono redukcję mikroflory tlenowej o 2 cykle logarytmiczne, przy całkowitej inaktywacji bakterii z grupy coli oraz drożdży i pleśni. Zaobserwowano, że skuteczność procesu w atmosferze helu zależy od wilgotności środowiska i zabieg pozwala na redukcję zanieczyszczenia mikrobiologicznego przynajmniej przy 20% zawartości wody. Zastosowanie procesu HPP w atmosferze helu może być wykorzystane do poprawy jakości mikrobiologicznej przypraw ziołowych.

B. Windyga, M. Fonberg-Broczek, H. Ścieżyńska, S. Skąpska, K. Górecka, A. Grochowska, A. Morawski, J. Szczepiek, K. Karłowski, S. Porowski

HIGH PRESSURE PROCESSING OF SPICES IN ATMOSPHERE OF HELIUM FOR DECREASE OF MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION

SUMMARY

The aim of the study was to investigate the microbiological decontamination of coriander and caraway when HPP technology was applied in elevated temperature in helium atmosphere. The HPP and heat treatment was conducted for 30 minutes at 800 and 1 000 MPa and temperature range was 60 – 121°C. Contamination with aerobic mesophilic bacteria was decreased by about 2 logarithmic cycles. Total elimination of coliform and yeast and moulds was observed. The efficacy of HPP treatment under helium atmosphere depended on the content of the water in tested samples. It can be concluded that high pressure treatment under atmosphere of helium, combination of proper high pressure and time improved the microbiological quality of spices.

PIŚMIENNICTWO

1. *Arabas J., Szczepiek J., Dmowski L., Heinz V., Fonberg-Broczek M.*: New technique for kinetic studies of pressure-temperature induced changes of biological materials. *Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology* 1999, 537-540
2. *Fonberg-Broczek M., Arabas J., Kostrzewa E., Rejsa., Szczawiński J., Szczepiek J., Windyga B., Porowski S.*: High-pressure treatment of fruit, meat, and cheese products – equipment, methods and results. *Processing Foods: Quality Optimization and Process Assessment*, Ed.: *F.A.R. Olivera*, CRC Press 1999, 282-300
3. *Handbook of Spices, Seasonings and Flavourings*. CRC Press 2007 by *Taylor and Francis* Group, 1-330.
4. *Kowalski E., Ludwig H., Tauscher B.*: Hydrostatic high pressure applied to food sterilization II: application to black pepper grains and powder. *High Pressure Biotechnology* 1992, 224, 341-34
5. *Krebbes B., Matser A., Koets M., Bartles P., Berg R.*: High pressure-temperature processing as an alternative for preserving basil. *High Pressure Res.* 2002, 22, 711-719
6. PN-93/A-86034/04 Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Ogólna liczba drobnoustrojów – oznaczanie metodą płytkową w temperaturze 30 °C
7. PN- ISO 4831:1998. Mikrobiologia. Ogólne zasady oznaczania liczby bakterii z grupy coli. Metoda najbardziej prawdopodobnej liczby
8. PN-ISO 7954: 1999. Mikrobiologia. Ogólne zasady oznaczania drożdży i pleśni. Metoda płytkowa
9. PN-97/A-86953. Przyprawy ziołowe. Kminek
10. PN-97/A-86957. Przyprawy ziołowe. Kolendra
11. *Skąpska S., Bal K., Jendrzeczak Z., Morawski A., Fonberg-Broczek M., Windyga B., Karłowski K.*: Changes in the volatiles of coriander and caraway induced by UHP-heat treatment in helium. *Herba Polonica* 2004, 50, 152-160
12. *Skąpska S., Windyga B., Kostrzewa E., Jendrzeczak Z., Karłowski K., Fonberg-Broczek M., Ścieżyńska H., Grochowska A., Górecka K., Porowski S., Morawski A., Arabas J., Szczepiek J.*: Effects of Ultra High Pressure Under Argon and Temperature on the Volatiles and Peperine Content and Quality of Black Pepper (*Piper Nigrum* L.). *Advances in High Pressure bioscience and Biotechnology* II, Editor *Winter R.*, Springer Verlag 2003,431-436

13. *Ścieżyńska H., Windyga B., Grochowska A., Górecka K., Fonberg-Broczek M., Karłowski K.*: Wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na przeżywalność drożdży. *Przemysł Spożywczy* 1996, 6, 38-42
14. *Windyga B., Ścieżyńska H., Grochowska A., Górecka K., Fonberg-Broczek M., Morawski A., Karłowski K., Porowski S.*: Effect of combined action of high pressure under argon or helium and temperature on the microbiological quality of coriander (*coriandrum sativum*). Joint 19 th AIRAPT – 41 st EHPRG. International conference on High Pressure Science and Technology, Bordeaux, 7-11 July 2003
15. *Windyga B., Ścieżyńska H., Grochowska A., Górecka K., Karłowski K., Fonberg-Broczek M., Porowski S.*: Wykorzystanie wysokich ciśnień do obniżania zanieczyszczenia mikrobiologicznego przypraw. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm* 2003, XXX, 1146-1148

Otrzymano: 09.09.2008 r.

Akceptowano: 06.10.2008 r

