

MONIKA KORDOWSKA-WIATER, PIOTR JANAS, BOŻENA SOSNOWSKA,
ADAM WAŚKO, ANNA NOWAK, BEATA KLUZA

WYSTĘPOWANIE BAKTERII PATOGENNYCH ORAZ DROBNOUSTROJÓW WSKAŹNIKOWYCH ZANIECZYSZCZENIA FEKALNEGO W MROŻONYCH WARZYWACH

Streszczenie

W latach 2001-2004 przebadano ogółem 78 prób mrożonych warzyw (fasoli szparagowej, pora, kalafiora, kalafiora odmiany Romanesco, brukselki, cebuli, kapusty białej, jarmużu, brokuła), pochodzących z chłodni na terenie województwa lubelskiego. W próbach oznaczano obecność lub liczbę bakterii chorobotwórczych z rodzaju *Salmonella* ssp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* i *Clostridium perfringens* oraz wskaźniki zanieczyszczenia fekalnego, takie jak: bakterie z grupy coli, bakterie coli typu fekalnego, *Escherichia coli* i enterokoki. W żadnej próbie nie stwierdzono obecności bakterii *Salmonella* ssp. Pałeczki *Listeria monocytogenes* wykryto łącznie w 8 próbkach – pojedynczych brukselki, jarmużu, brokuła, pora, fasolki i kalafiora ‘Romanesco’ oraz w 2 próbach kalafiora. Zanieczyszczenie przez *L. monocytogenes* wystąpiło w 10,3% prób. *B. cereus* i *S. aureus* wykryto odpowiednio w 12,8 oraz 6,4% prób, lecz stopień zanieczyszczenia mrożonek przez te bakterie był niewielki, niezagrażający zdrowiu konsumentów. Bakterie *Cl. perfringens* występowały łącznie w 14,1% prób. Bakterie wskaźnikowe zanieczyszczenia fekalnego były obecne w większości badanych warzyw: bakterie z grupy coli stwierdzono w 93,6% prób, coli fekalne w 83,3%, *E. coli* w 69,2%, a enterokoki w 78,2% prób mrożonek. Liczba bakterii z grupy coli zawierała się w przedziale 0,34 - 3,04 log jtk·g⁻¹, coli fekalnych wynosiła 0,32 – 2,27 log jtk·g⁻¹, *E. coli* wahała się od 0,2 do 2,06 log jtk·g⁻¹, a enterokoków od 0,33 do 3,66 log jtk·g⁻¹. Nie stwierdzono zależności między rodzajem warzyw a stopniem zanieczyszczenia przez drobnoustroje pochodzenia fekalnego. Ogólny stan sanitarno-zdrowotny mrożonych warzyw budzi zastrzeżenia, a uzyskane wyniki wskazują na potrzebę polepszenia jakości produktów.

Słowa kluczowe: jakość mikrobiologiczna, mrożone warzywa, patogeny, wskaźniki fekalne

Wprowadzenie

Polska jest krajem o dużych możliwościach produkcji i eksportu mrożonek warzywnych [5]. W sektorze przetwórstwa owocowo-warzywnego mrożone warzywa

Dr M. Kordowska-Wiater, dr P. Janas, mgr inż. B. Sosnowska, dr A. Waśko, mgr A. Nowak, mgr inż. B. Kluza, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Akademia Rolnicza, ul. Skromna 8, 20-950 Lublin

stanowią ponad 13% produkcji [15], a w eksporcie występuje kilkuletnia systematyczna tendencja wzrostowa sprzedaży mrożonek [5]. Także w Polsce wzrasta spożycie mrożonek warzywnych ze względu na łatwość przygotowania do konsumpcji i możliwość korzystania z gotowych dań warzywno-mięsnych [16]. Jednocześnie rosnąca konkurencja wymusza na producentach doskonalenie technologii produkcji, wydajności i jakości produktu oraz rozszerzenie oferty handlowej.

Warzywa są zanieczyszczone różnymi środowiskowymi mikroorganizmami saprofitycznymi, takimi jak: *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, drożdże, pleśnie, a także patogenami np. *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* itd. Rodzaje mikroorganizmów i ich liczba w surowcach zależą od populacji obecnej w glebie, od sposobu nawadniania, stosowanych nawozów oraz od czystości wody stosowanej do mycia warzyw i higieny linii technologicznych [6]. Proces zamrażania żywności powoduje zahamowanie czynności życiowych drobnoustrojów i zmniejszanie ich liczby. Jednak przeżywalność mikroorganizmów w niskiej temperaturze zależy od ich rodzaju, stadium rozwoju, składników produktu zamrażanego, zawartości substancji ochronnych i przebiegu procesu zamrażania. Wykazano, że najbardziej wrażliwe na zamrażanie są bakterie Gram ujemne, a wiele bakterii Gram dodatnich np. gronkowce lub enterokoki, może przeżywać przechowywanie w niskiej temperaturze w ok. 50% [12]. Występowanie mikroorganizmów chorobotwórczych w mrożonych warzywach determinuje bezpieczeństwo zdrowotne, natomiast obecność drobnoustrojów zanieczyszczenia fekalnego świadczy o nieodpowiedniej higienie produkcji. Mrożone warzywa powinny spełniać aktualne wymagania zarówno polskie, jak i odbiorców zagranicznych [3], m.in. dotyczące obecności patogenów, wskaźników fekalnych oraz mikroflory zepsucia, które mają wpływ na ogólną jakość i okres trwałości produktów spożywczych. Polscy producenci są zobligowani do zapewnienia odpowiedniej jakości żywności i jej bezpieczeństwa poprzez wprowadzanie stosownych systemów zapewnienia jakości, akceptowanych przez kraje Unii Europejskiej.

Celem pracy była ocena występowania bakterii chorobotwórczych oraz poziomu zanieczyszczenia przez drobnoustroje pochodzenia fekalnego różnych mrożonych warzyw wyprodukowanych w chłodni na terenie woj. lubelskiego, która eksportuje ok. 90% produkcji.

Materiał i metody badań

Materiał stanowiło 78 prób mrożonych warzyw przebadanych w latach 2001-2004. Próby obejmowały: fasolę szparagową, por, kalafior, kalafior 'Romanesco', brukselkę, cebulę, białą kapustę, jarmuż i brokuł. Próby pobierano zgodnie z PN-90A-75052/04 [17], bezpośrednio z linii technologicznej lub z magazynu, przewożono do laboratorium w izolowanych pojemnikach i do czasu przeprowadzenia oznaczeń przechowywano w temp. -18°C. Próby każdego rodzaju mrożonych warzyw (za wyjątkiem

kapusty białej) pobierano trzykrotnie: - z produkcji odpowiadającej początkowej, środkowej i końcowej fazie zbioru warzyw. Do badań próbki warzyw rozmrażano w temperaturze pokojowej, rozdrabniano sterylnie, odważano 10 g i homogenizowano z 90 cm³ rozcieńczalnika – wody peptonowej PN-90A-75052/04 [17]. Z uzyskanego homogenatu sporządzano kolejne dziesięciokrotne rozcieńczenia.

Badania mikrobiologiczne prowadzono zgodnie z polskimi lub europejskimi standardami. W próbkach oznaczano:

- obecność *Salmonella* spp. w 25 g - wg PN ISO 6579 [22];
- występowanie bakterii *Listeria monocytogenes* w 25 g - wg PN-EN ISO 11290-1 [24]; w celu potwierdzenia obecności tego drobnoustroju wykonywano testy immunoenzymatyczne Tecra Unique Listeria, testy API Listeria i test na hemolizę krwi;
- liczbę *Bacillus cereus* - metodą płytkową na podłożu MYP wg PN-90/A-75052/17 [21]; kolonie typowe, różowoczerwone, płaskie, ze strefą precypitatu przeszczepiano i poddawano testom potwierdzającym;
- liczbę *Staphylococcus aureus* - metodą płytkową na podłożu Baird-Parkera wg PN-EN ISO 6888-1 [25]; w badaniach potwierdzających stosowano test na obecność wolnej koagulazy (Bactident Coagulase Test);
- bakterie beztlenowe przetrwalnikujące, redukujące siarczyny (*Clostridium perfringens*) - na podłożu Wilsona-Blaira wg PN-90/A-75052/10 [18]; czarne kolonie lub zaczernienie podłoża po inkubacji świadczyły o obecności tych bakterii w 1 g próbki;
- bakterie z grupy coli - techniką najbardziej prawdopodobnej liczby wg PN-90/A-75052/11 [19];
- bakterie coli typu fekalnego wykrywano na pożywce Eijkmana, posiewając po 1 cm³ kolejnych rozcieńczeń próbki do 9 cm³ pożywki zawierającej rurki Durhama. Posiewy inkubowano w temp. 44°C przez 24 godz. O obecności bakterii coli typu fekalnego świadczyła zmiana barwy oraz gaz w rurkach Durhama;
- *Escherichia coli* – techniką NPL wg PN-ISO 7251 [23];
- liczbę enterokoków - metodą płytkową na agarze Slanetza-Bartleya wg PN-90/A-75052/13 [20].

Ilościowe oznaczenia mikrobiologiczne wykonywano w dwóch powtórzeniach, wyliczając średnie arytmetyczne z uzyskanych wyników.

Wyniki i dyskusja

Występowanie bakterii chorobotwórczych w badanych mrożonych warzywach przedstawiono w tab. 1. Pałeczki *L. monocytogenes* stwierdzono w 1 próbce kalafiora 'Romanesco' z 2003 r oraz w 7 próbkach warzyw ocenianych w 2004 roku (brukselce, jarmużu, brokule, porze, fasolce oraz w 2 próbkach kalafiora). Ogólnie 10,3% próbek było zanieczyszczonych przez bakterie *L. monocytogenes*. W badanych warzywach

wykryto również niepatogenne pałeczki *Listeria*, które zidentyfikowano jako *L. innocua* i *L. welschimeri*. Bakterie z rodzaju *Listeria* są dość często wykrywane zarówno w świeżych, jak i mrożonych warzywach. W badaniach Goli [9] pałeczki te wykryto w 16 próbach stanowiących 15,7% ogółu prób: *L. monocytogenes* w 7 próbach mrożonych mieszanek warzywnych i grzybów, a *L. innocua* w 9 próbach. Maneru i Garcia-Jalon [13], badając żywność w Hiszpanii, wykazali obecność *Listeria* sp. w 21% prób mrożonych warzyw. Garcia-Gimeno i wsp. [8] wykryli *L. monocytogenes* w 21 spośród 70 prób świeżych mieszanek warzywnych gotowych do spożycia. Vitas i wsp. [29] w latach 1997-1999 przeanalizowali 1750 próbek mrożonych warzyw pochodzących z jednej chłodni (brokuły, groszek, kalafior, fasolka, marchew) i wykryli pałeczki *Listeria* sp. w 184 próbach (w 10,4% próbek), podczas gdy *L. monocytogenes* zidentyfikowali tylko w 38 próbkach (stanowiących 1,8% ogółu prób). W dwuletnich badaniach Aguado i wsp. [1], stosując analizy genetyczne, wykryli *L. monocytogenes* w 1,21% prób mrożonych warzyw - głównie w fasoli, pomidorach, kalafiorze, groszku i karczochach. Z kolei Mena i wsp. [14], podczas analizy mrożonych warzyw (brokułów, cukini, bakłażanów, papryki, groszku) metodą miniVIDAS, zaobserwowali występowanie *L. monocytogenes* w 4 rodzajach warzyw, w 12,9% prób. Natomiast mrożone warzywa badane przez Białasiewicz i Królasik [4] oraz Białasiewicz [3] były wolne od patogenu z rodzaju *Listeria*. Zwykle nieliczne występowanie tej pałeczki w mrożonkach warzywnych połączone z obróbką termiczną produktów przed konsumpcją sprawia, że prawdopodobieństwo zachorowania na listeriozę jest znikome.

B. cereus jest patogenem, który dość często występuje w glebie jako saprofit i łatwo zanieczyszcza produkty żywnościowe, szczególnie pochodzenia roślinnego. Wytworza on 2 typy toksyn odpowiedzialnych za wymioty i biegunki. Jednak tego rodzaju reakcje pojawiają się, jeśli zanieczyszczenie przez *B. cereus* wynosi $10^5 - 10^7$ komórek·g⁻¹[10]. Zwykle zatrucia pokarmowe powodowane przez *B. cereus* nie podlegają rejestracji, gdyż są stosunkowo łagodne, krótkie i rzadko mają poważniejszy przebieg [10]. W niniejszych badaniach laseczkę tę wykryto w 10 próbach warzyw – w fasolce, porze, brukselce, kalafiorze ‘Romanesco’ (ogółem 12,8% prób). Jednak liczba komórek w poszczególnych próbach wynosiła $10^1 - 10^2$ jtk·g⁻¹, więc nie stanowiła zagrożenia dla konsumentów, gdyż dowiedziono [10], że dopiero zanieczyszczenie na poziomie 10^3 jtk·g⁻¹ może być ryzykowne. W badaniach Fanga [7] próbki świeżych warzyw były wolne od *B. cereus*. Z kolei Valero i wsp. [28] wykryli *B. cereus* w różnych świeżych warzywach, przy czym w 100% prób papryki, w 33,3% prób ogórków, w 90% prób pomidorów oraz w 42,8% prób marchwi, natomiast w przypadku cukini i cebuli było zanieczyszczonych odpowiednio 33,3 i 14,2% prób. Średnia liczba laseczek *B. cereus* w ogórkach, marchwi i papryce wynosiła $10^2 - 1,8 \cdot 10^3$ jtk·g⁻¹.

Gronkowiec złocisty został wykryty w 5 próbkach mrożonek ocenianych w 2004 r. (fasolka, por, kalafior, brokuł), co stanowiło 6,4% ogólnej liczby próbek. Zanie-

czyszczenie przez *S. aureus* było niewielkie i zawierało się w zakresie $0,5 \cdot 10^1 - 1 \cdot 10^2$ jtk·g⁻¹. Podobny odsetek zanieczyszczonych gronkowcem prób wykrył Fang i wsp. [7], stwierdzając obecność tego ziarniaka w 6,5% ocenianych prób świeżych warzyw.

Bakterie beztlenowe *Cl. perfringens* w prezentowanych badaniach wykryto 11 razy (tab. 1) w próbach jarmużu, brukselki, fasoli, kalafiora i pora. W badaniach Białasiewicz [3] beztlenowce przetrwalnikujące oznaczono tylko w fasoli szparagowej i kalafiorze w liczbie $10^1 - 10^2$ jtk·g⁻¹. Natomiast Hirovani i wsp. [11] nie wykryli obecności *Cl. perfringens* w badanych warzywach.

W żadnej z prób warzyw analizowanych w niniejszej pracy nie występowały bakterie *Salmonella* spp. Białasiewicz [3] oraz Białasiewicz i Królasik [4] także stwierdziły, że oceniane przez nie mrożonki warzywne były wolne od pałeczek z rodzaju *Salmonella*.

Tabela 1

Występowanie bakterii chorobotwórczych w mrożonych warzywach.
Incidence of pathogens in frozen vegetables.

Bakterie chorobotwórcze Pathogens	Ilość próby Sample quantity [g]	Liczba wyników pozytywnych (% wyników pozytywnych) Number of positive results (% of positive results)				
		2001 (n=23)	2002 (n=18)	2003 (n=21)	2004 (n=16)	Ogółem (n=78) Total (n=78)
<i>Salmonella</i> spp.	25	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>L. monocytogenes</i>	25	0 (0)	0 (0)	1 (4,76)	7 (43,8)	8 (10,3)
<i>S. aureus</i>	1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (31,3)	5 (6,4)
<i>B. cereus</i>	1	2 (8,7)	1 (5,3)	4 (19,0)	3 (18,8)	10 (12,8)
<i>Cl. perfringens</i>	1	3 (13)	3 (16,7)	5 (23,8)	0 (0)	11 (14,1)

Obecność drobnoustrojów, takich jak: bakterie z grupy coli, coli fekalne, *E. coli* i enterokoki świadczy o zanieczyszczeniu fekalnym żywności. Dane dotyczące występowania tych drobnoustrojów wskaźnikowych przedstawiono w tab. 2 i 3. Zanieczyszczenie bakteriami z grupy coli obejmowało w zależności od roku 87,5 – 100% prób warzyw. Bakterie coli typu fekalnego stwierdzono w 77,8 – 87,5% prób, natomiast nieco niższe było zanieczyszczenie pałeczkami *E. coli* (66,7 – 73,9% prób). Zaobserwowano duże wahania zanieczyszczenia mrożonek przez enterokoki - w 2001 r. obejmowało ono tylko 3,9% prób, zaś w latach 2002 i 2004 wszystkie badane próby zawierały te bakterie. Liczba bakterii z grupy coli wahała się od 0,34 do 3,04 log jtk·g⁻¹, a coli fekalnych mieściła się w przedziale 0,32- 2,27 log jtk·g⁻¹. Liczba bakterii *E. coli* oraz enterokoków wynosiła odpowiednio 0,2 - 2,06 log jtk·g⁻¹ oraz 0,33 – 3,66 log jtk·g⁻¹. Często poziom zanieczyszczenia enterokokami był wyższy niż pałeczkami coli,

szczególnie w warzywach blanszowanych przed mrożeniem, najprawdopodobniej ze względu na wyższą oporność na podwyższoną temperaturę tych ziarniaków w porównaniu z pałeczkami. Również charakteryzują się one wyższą opornością na zamrażanie. Istnieje przekonanie, że w tak niekorzystnych warunkach, jak suszenie i mrożenie zwykle to tę grupę bakterii należy traktować jako wskaźniki bezpośredniego zanieczyszczenia fekalnego w różnych produktach mrożonych [27]. Nie stwierdzono zależności między rodzajem warzyw a stopniem zanieczyszczenia fekalnego, w poszczególnych latach badane warzywa wykazywały znaczne wahania liczby tych wskaźników. Reasumując, obecność ww. drobnoustrojów w mrożonkach świadczy o nieskuteczności ich eliminowania podczas procesu produkcji. Turantas i wsp. [27] w 55 próbach różnych mrożonych warzyw (papryka, groszek, ziemniaki, mieszanki warzywne, fasola, brokuły, kalafior, pomidory, marchew) wykryli obecność bakterii coli w 73% prób, enterokoków w 75% prób, natomiast coli fekalne występowały tylko w 24% prób. Gola [9] badając 102 próby mrożonych warzyw z marketu wykazał, że w 85% próbek *E. coli* była nieobecna lub występowała w liczbie poniżej $10 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$, natomiast w 5 próbkach liczba tych bakterii zawierała się w zakresie $10^2 - 10^3 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. W próbach nie wykryto enterokrwotocznego szczepu *E. coli* O157:H7. Fang i wsp. [7] podczas oznaczeń 55 prób warzywnych produktów wegetariańskich wykazali obecność bakterii coli w 32,3%, a *E. coli* w 29% wszystkich prób. Hirotani i wsp. [11] badali występowanie drobnoustrojów wskaźnikowych: bakterii coli, coli fekalnych, paciorkowców fekalnych oraz kolifagów na powierzchni warzyw zakupionych w sklepach Stanów Zjednoczonych i Meksyku i wykazali występowanie przynajmniej 1 mikroorganizmu wskaźnikowego w każdej badanej próbce. Albrecht i wsp. [2] w warzywach z barów sałatkowych (sałata, pomidory, brokuły, kalafior) wykazali obecność bakterii coli w zakresie $4,81 - 6,3 \log \text{ z jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Wyniki badań Białasiewicz [3] wskazują, że w mrożonych warzywach liczba bakterii coli i enterokoków wynosiła $10^1 - 10^4 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Białasiewicz i Królasik [4] oceniając fasolę szparagową przygotowaną do mrożenia i mrożoną wykazały, że liczba bakterii coli i enterokoków wynosiła odpowiednio $10^2 - 10^3 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ i $10^3 - 10^5 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Autorki stwierdziły brak wpływu wstępnej obróbki technologicznej na stopień zanieczyszczenia fasoli przez te drobnoustroje.

Obecnie jakość mikrobiologiczna produktów żywnościowych podlega wymaganiom zawartym w rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005 z dn. 15.11.2005 roku w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych [26], w którym nie uwzględniono mrożonych owoców i warzyw. Rozporządzenie określa tylko kryteria bezpieczeństwa i higieny produkcji owoców i warzyw krojonych, gotowych do spożycia, które nie powinny zawierać bakterii *Salmonella* (w 25 g), a dopuszczalne zanieczyszczenie *E. coli* wynosi $100 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ (lub $10^3 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ w 2 na 5 badanych prób [26]). W tej sytuacji uzyskane w niniejszej pracy wyniki można porównać ze szczegółowymi wymaganiami mikrobiologicznymi odbiorców zachodnich, do których

dostosowują się chłodnie produkujące mrożonki na eksport. Kryterium bezpieczeństwa zdrowotnego nie zostało spełnione w ok. 10% badanych mrożonych warzyw ze względu na obecność pałeczek *L. monocytogenes*, gdyż większość importerów nie dopuszcza obecności tych bakterii w 25 g, chociaż niektórzy tolerują ich obecność w liczbie nawet do 100 jtk·g⁻¹ [3]. Natomiast próby spełniały wymagania dotyczące nieobecności bakterii *Salmonella* w 25 g i liczby *S. aureus* nieprzekraczającej 10² jtk·g⁻¹ [3]. Z kolei dopuszczalne normy dotyczące obecności bakterii wskaźnikowych zanieczyszczenia fekalnego są różne w zależności od firmy importującej. W ok. 15% prób został przekroczony bezpieczny poziom bakterii z grupy coli wynoszący 1·10³ jtk·g⁻¹ [3]. W 21,8% badanych mrożonek liczba bakterii coli typu fekalnego przekroczyła tolerowaną przez importerów wartość 1·10² jtk·g⁻¹ (zaś poziom 10³ jtk·g⁻¹ przekroczyło tylko ok. 9% prób). Dopuszczalna liczba *E. coli* wynosząca 10 jtk·g⁻¹ została przekroczona w 32% prób (poziom 10² jtk·g⁻¹ – w blisko 13% prób), natomiast w 24% prób została przekroczona dopuszczalna liczba enterokoków wynosząca 10³ jtk·g⁻¹ (informacje o limitach poziomu zanieczyszczeń fekalnych otrzymano od producenta mrożonek). Reasumując, stan sanitarny ok. 20–30% prób mrożonych warzyw budzi zastrzeżenia, a uzyskane wyniki wskazują na potrzebę polepszenia jakości produkcji.

Tabela 2

Wartości wskaźników fekalnych w mrożonych warzywach.
Faecal indicators value in frozen vegetables.

Wskaźniki Indicators	Liczba wyników pozytywnych (% wyników pozytywnych) Number of positive results (% of positive results)				
	2001 (n=23)	2002 (n=18)	2003 (n=21)	2004 (n=16)	ogółem (n=78) total (n=78)
Bakterie z grupy coli Total coliforms	21 (91,3)	18 (100,0)	20 (95,2)	14 (87,5)	73 (93,6)
Coli fekalne Faecal coliforms	19 (82,6)	14 (77,8)	18 (85,7)	14 (87,5)	65 (83,3)
<i>E. coli</i>	17 (73,9)	12 (66,7)	14 (66,7)	11 (68,8)	54 (69,2)
Enterococci	9 (3,9)	18 (100,0)	18 (85,7)	16 (100,0)	61 (78,2)

Wnioski

1. W mrożonych warzywach nie wykryto obecności pałeczek *Salmonella* spp., natomiast *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* i *Cl. perfringens* wykryto odpowiednio w 10,2; 12,8; 6,4 i 14,1% prób.

Tabela 3

Liczba bakterii z grupy coli, coli typu fekalnego, *E. coli* i enterokoków w próbach mrożonych warzyw [log jtk·g⁻¹] (n=3, w przypadku kapusty białej n=2).

Numbers of coliforms, faecal coliforms, *E. coli* and enterococci in samples of frozen vegetables [log cfu·g⁻¹] (n=3, for white cabbage n=2).

Warzywa Vegetables	Bakterie coli Coliforms	Coli typu fekalnego Faecal coli- forms	<i>E. coli</i> <i>E. coli</i>	Enterokoki Enteroco- cci	Bakterie coli Coliforms	Coli typu fekalnego Faecal coli- forms	<i>E. coli</i> <i>E. coli</i>	Enterokoki Enteroco- cci
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
2001				2002				
Fasola szparagowa French bean	0,86 ±0,81	0,86 ±0,81	0,73± 0,81	0,33± 0,58	1,91± 0,29	1,29± 0,68	0,73± 0,81	3,11± 0,33
Por Leek	1,87± 0,73	1,79± 0,78	1,35± 1,35	0,97± 1,68	1,40± 0,17	0,63± 0,65	0,52± 0,48	1,84± 0,58
Kalafior Cauliflower	1,53± 0,71	0,97± 1,21	0,97± 1,21	1,43± 2,48	1,42± 1,41	1,21± 1,61	0,68± 0,72	2,59± 1,21
Kalafior Romanesco Romanesco cauliflower	1,55± 1,52	1,01± 1,76	0,79± 1,37	1,61± 2,79	1,19± 0,20	0,95± 0,00	0,40± 0,35	2,71± 0,72
Brukselka Brussel sprout	1,95± 0,35	1,59± 0,63	1,37± 0,73	1,84± 1,91	1,14± 0,66	1,14± 0,66	0,93± 0,58	1,83± 0,56
Jarmuż Kale	3,04± 0,00	2,27± 0,74	1,20± 1,62	2,42± 0,58	0,95± 0,00	0,32± 0,55	0,20± 0,35	2,61± 0,34
Cebula Onion	1,74± 0,72	1,14± 0,18	0,69± 0,15	0,00± 0,00	-	-	-	-
Biała kapusta White cabbage	2,47± 0,32	2,11± 0,22	1,25± 0,42	0,00± 0,00	-	-	-	-
2003				2004				
Fasola szparagowa French bean	1,79± 1,10	0,78± 0,70	0,51± 0,48	2,16± 1,87	0,60± 0,23	0,60± 0,23	0,47± 0,00	2,06± 0,66
Por Leek	2,57± 0,81	2,19± 1,48	2,06± 1,38	2,09± 1,17	2,1± 0,81	1,79± 0,75	1,57± 0,73	1,4± 0,84
Kalafior Cauliflower	1,35± 0,78	1,35± 0,78	0,16± 0,28	2,01± 0,74	2,11± 0,87	1,78± 0,76	1,0± 0,47	2,23± 0,42
Kalafior Romanesco Romanesco cauliflower	1,66± 0,89	1,34± 1,33	0,89± 1,54	2,75± 0,91	-	-	-	-
Brukselka Brussel sprout	0,34± 0,30	0,34± 0,30	0,34± 0,30	0,63± 1,10	1,80± 1,76	1,80± 1,76	1,80± 1,76	2,09± 0,44
Jarmuż Kale	2,33± 0,92	2,17± 0,87	1,87± 0,71	3,66± 1,00	1,16± 0,28	0,71± 0,34	0,47± 0,00	2,72± 0,04
Brokuł Broccoli	2,00± 0,49	2,00± 0,49	1,07± 0,96	3,48± 0,35	1,36± 0,81	0,79± 0,28	0,47± 0,00	2,75± 0,97

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli zamieszczono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table contains mean values ± standard deviations,

2. Bakterie *B. cereus* i *S. aureus* występowały w liczbie 10^1 - 10^2 jtk g⁻¹, niezagrażającej zdrowiu konsumentów.
3. W większości mrożonych warzyw obecne były bakterie wskazujące na zanieczyszczenie fekalne - bakterie z grupy coli (w 93,6% prób), coli typu fekalnego (83,3% prób), enterokoki (78,2% prób) oraz *E. coli* (w 69,2% prób).
4. Dopuszczalny poziom zanieczyszczenia bakteriami z grupy coli, coli typu fekalnego, *E. coli* i enterokokami był przekroczony odpowiednio w 15,0; 21,8; 32 i 24% prób.
5. Nie stwierdzono zależności między rodzajem warzyw a stopniem zanieczyszczenia fekalnego.

Praca była prezentowana podczas XXXVII Ogólnopolskiej Sesji Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia, 26 – 27.IX.2006.

Literatura

- [1] Aguado V., Vitas A.I., Garcia-Jalon I.: Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by RAPD and REA. Int. J. Food Microb., 2004, **90**, 341-347.
- [2] Albrecht J.A., Hamouz F.L., Summer S.S., Melch V.: Microbial evaluation of vegetable ingredients in salad bars. J. Food Prot., 1995, **58**, 683-685.
- [3] Białasiewicz D.: Ocena mikrobiologiczna wybranych warzyw przechowywanych w niskich temperaturach. Chłodnictwo, 2001, **3**, 36-39.
- [4] Białasiewicz D., Królasik J.: Wpływ procesu technologicznego na jakość mikrobiologiczną mrożonej fasoli szparagowej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1999, **4** (21), 96-104.
- [5] Bugała A.: Polski handel zagraniczny mrożonymi warzywami w 2005 r. Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 2006, **5**, 15-17.
- [6] Ercole C., Del Gallo M., Mosiello L., Baccella S., Lepidi A.: *Escherichia coli* detection in vegetable food by a potentiometric biosensor. Sensors and Actuators B, 2003, **91**, 163-168.
- [7] Fang T.J., Chen C.-Y., Kuo W.-Y.: Microbiological quality and incidence of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in vegetarian food products. Food Microbiol., 1999, **16**, 385-391.
- [8] Garcia-Gimeno R.M., Zurera-Cosano G., Amaro-Lopez M.: Incidence, survival and growth of *Listeria monocytogenes* in ready-to-use mixed vegetable salads in Spain. J. Food Safety, 1996, **16**, 75-86.
- [9] Gola S., Previdi M.P., Mutti P., Belloli S.: Microbiological investigation of frozen vegetables: incidence of *Listeria* sp. and other psychrophilic pathogens. Industria Conserve, 1990, **65**, 36-38.
- [10] Granum P.E., Lund T.: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. FEMS Microbiol. Lett., 1997, **157**, 223-228.
- [11] Hirovani H., Naranjo J., Moroyoqui P.G., Gerba C.P.: Demonstration of indicator microorganisms on surface of vegetables on the market in the United States and Mexico. J. Food Sci., 2001, **67**, 1847-1850.
- [12] Majczyna D., Białasiewicz D.: Przeżywalność drobnoustrojów w niskich temperaturach. Chłodnictwo, 2001, **5**, 45-48.
- [13] Maneru I., Garcia-Jalon I.: *Listeria monocytogenes* in foods available in the market at Pamplona. Alimentaria, 1995, **267**, 39-43.

- [14] Mena C., Almeida G., Carneiro L., Teixeira P., Hogg T., Gibbs P.A.: Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microb.*, 2004, **21**, 213-216.
- [15] Nosecka B.: Rynek przetworów owocowych i warzywnych w kontekście integracji z Unią Europejską. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2003, **7-8**, 48-51.
- [16] Nosecka B.: Tendencje na rynku przetworzonych owoców i warzyw. Część I. *Popyt. Przem. Spoż.*, 2004, **10**, 36-39.
- [17] PN-90/A-75052/04. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Sposób pobierania i przygotowanie próbek do badań mikrobiologicznych.
- [18] PN-90/A-75052/10. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie obecności i miana bakterii beztlenowych przetrwalnikujących mezofilnych i termofilnych.
- [19] PN-90/A-75052/11. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie obecności, miana i najbardziej prawdopodobnej liczby pałeczek z grupy coli.
- [20] PN-90/A-75052/13. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie obecności enterokoków.
- [21] PN-90/A-75052/17. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczanie liczby bakterii *Bacillus cereus*.
- [22] PN-ISO 6579:1998. Mikrobiologia. Ogólne zasady metod wykrywania pałeczek *Salmonella*.
- [23] PN-ISO 7251:2002. Mikrobiologia. Ogólne zasady oznaczania liczby przypuszczalnych *Escherichia coli*. Metoda najbardziej prawdopodobnej liczby.
- [24] PN-EN ISO 11290-1:1999. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania *Listeria monocytogenes* – część 1: metoda wykrywania.
- [25] PN-EN ISO 6888-1:2001. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków). Część 1: Metoda z zastosowaniem pożywki agarowej Baird-Parkera.
- [26] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dn. 15.11.2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. *Dz. Urz. UE*, L 338/1 z dn. 22.12.2005.
- [27] Turantas F.: Incidence of faecal streptococci as an indicator of sanitation in ice-cream and frozen vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2002, **37**, 239-243.
- [28] Valero M., Hernandez-Herrero L.A., Fernandez P.S., Salmeron M.C.: Characterization of *Bacillus cereus* isolates from fresh vegetables and refrigerated minimally processed foods by biochemical and physiological tests. *Food Microbiol.*, 2002, **19**, 491-499.
- [29] Vitas A.I., Aguado V., Garcia-Jalon I.: Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *Int. J. Food Microb.*, 2004, **90**, 349-356.

OCCURRENCE OF PATHOGENIC BACTERIA AND FAECAL INDICATORS IN FROZEN VEGETABLES

S u m m a r y

78 samples of frozen vegetables (French bean, leek, cauliflower, Romanesco cauliflower, Brussels sprout, onion, white cabbage, kale, broccoli) produced in one cold plant in Lublin province in the years 2001 to 2004 were examined. The presence or count of pathogenic bacteria: *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* and faecal indicators as coliforms, faecal coliforms, *Escherichia coli* and enterococci were analysed. *Salmonella* spp. was not detected in any sample, *L. monocytogenes* rods were detected in 8 samples – single of Brussels sprout,

kale, broccoli, leek, French bean and in 2 samples of cauliflower. Contamination by *L. monocytogenes* affected 10,3% of samples. *B. cereus* and *S. aureus* were detected in 12,8% and 6,4% of samples, respectively, but contamination was low and safe for consumer's health. *C. perfringens* was found in 14,1% of samples. Faecal indicators were present in large number of examined vegetables: coliforms were detected in 93,6% of samples, faecal coliforms in 83,3%, *E. coli* in 69,2% and enterococci in 78,2% of frozen vegetables. The level of coliforms, faecal coliforms, *E. coli* and enterococci was between 0,34 and 3,04 log cfu·g⁻¹, 0,32–2,27 log cfu·g⁻¹, 0,2–2,06 log cfu·g⁻¹ and 0,33–3,66 log cfu·g⁻¹, respectively. The relationship between the kind of vegetables and level of faecal contamination was not detected. General sanitary health state of frozen vegetables raises reservations and obtained results show the need for better production quality.

Key words: microbiological quality, frozen vegetables, pathogens, faecal indicators ☒