

Влияние на обработката с високо налягане при 580 МРа и други антимикробни средства върху мляно говеждо месо

Пепа Нацариду

Институт по криобиология и хранителни технологии – София 1407, бул. “Черни връх“ 53
E-mail: pnatsaridu@gmail.com, тел. 0889235481

Резюме

Обработката под високо хидростатично налягане (High Pressure Processing – HPP) е нетермичен процес, приложим най-вече за инактивиране на микроорганизми. Ползите от тази технология като метод за консервиране са известни, но няма достатъчно данни за ефекта от тази обработка в комбинация с антимикробни препарати при месо и месни продукти.

Проведено беше изследване, имащо за цел микробиологична деконтаминация на мляно говеждо месо от мускул (*m. Semimembranosus*), обработено с налягане 580 МРа при температура на обработка +4 °С с вариране времето на задържане 240–480 s. Вторият наблюдаван ефект е проследяване влиянието на хидростатичното налягане (580 МРа, 240 s) и добавени антимикробни средства Медолива Плюс 0,3%, Натриев лактат 0,3% и 15 минути обработка с озонирана вода.

Изследваните проби бяха опаковани в полиетиленови пликове и съхранявани при температура +4 °С в продължение на 38 дни.

Експерименталните данни показват, че обработката с налягане 580 МРа и време на задържане от 240 s е ефективен метод за редуциране на наличната микрофлора и удължаване на срока на съхранение.

Най-добър резултат се получи при добавяне на натриев лактат – диацитат, както върху общия брой микроорганизми, така и върху млечно-киселите бактерии, който запазва силните си антимикробните способности за целия период на съхранение. В сравнение с другите наблюдавани микроорганизми, спрямо *Enterobacteriaceae*, трите използвани антимикробни средства, влияят еднакво положително и не позволяват да се развива микрофлора от 1 до 38 ден.

Във връзка с това, обработката с хидростатично налягане с параметри (580 МРа, 240 s, +4 °С), се оказва високо ефективен метод за намаляване броя на непатогенните микроорганизми, което осигурява безопасност и удължаване на срока на годност на охладено мляно месо.

Ключови думи: високо хидростатично налягане, мляно говеждо, антимикробни средства, микробно инактивиране

Influence of high pressure processing at 580 MPa and other antimicrobials on minced beef

Pepa Natsaridu

Institute of Cryobiology and Food Technologies – Sofia, 1407, 53 Cherni Vrah Blvd.
E-mail: pnatsaridu@gmail.com, тел. 0889235481

Citation: Natsaridu, P. (2021). Influence of high pressure processing at 580 MPa and other antimicrobials on minced beef. *Zhivotnovadni Nauki*, 58(4), 46-57 (Bg).

Abstract

High Pressure Processing (HPP) is a non-thermal process, mainly applicable for inactivation of microorganisms. The benefits of this technology as a method of preservation are well known, but there is insufficient data related to the effect of this treatment in combination with antimicrobials in meat and meat products. An experimental program was performed with minced beef muscle (*m. Semimembranosus*), with the aim reducing or avoiding the growth of spoilage microorganisms by applying high-pressure treatment (580 MPa) at a processing temperature of , +4 °C and holding time (240–480 s). The second monitored effect was the combination of high pressure processing (580 MPa, 240 s) and added antimicrobials - Medoliva Plus with concentration 0.3%, Sodium lactate with concentration 0.3% and 15 minutes treatment with ozonized water. The test samples were packed in plastic bags and stored at temperature +4 °C for 38 days.

Experimental data shows that the treatment with a pressure of 580 MPa and a holding time of 240 s is an effective method for reducing the available microflora and extending the shelf life. The best result was obtained with the added sodium lactate-diacetate, both on the total number of microorganisms and on lactic acid bacteria, retaining its strong antimicrobial abilities for the entire storage period. Compared to the other monitored microorganisms, the three used antimicrobials have an equally positive effect on *Enterobacteriaceae* and do not allow the growth of microflora from 1 to 38 days. In this regard, the application of high pressure processing with the parameters (580 MPa, 240 s, +4 °C) is a highly effective method for reducing the number of non-pathogenic microorganisms, which ensures safety and prolongs the shelf life of chilled minced meat.

Keywords: High pressure processing (HPP), minced beef, antimicrobial, microbial inactivation

Въведение

Технологичният напредък в хранително-вкусовата промишленост даде възможност за контрол на микробиологичните опасности и доведе до намаляване на преносимите с храната заболявания.

По искане на Европейската комисия на Панела по биологични опасности към Европейския орган по безопасност на храните е възложено да изготви научно становище за растежа на бактерии, причиняващи развала в мляно месо. След преглед на научната литература и в резултат от проучването се установи, че причинител на развала на месните разфасовки, съхранявани при анаеробни условия (вакуумни опаковки) са млечнокиселите бактерии (Petrova, 2016).

Високото хидростатично налягане (ННР) е технология, която привлича внимание и показва големи възможности за изследвания и комерсиализация, като предлага ценна

алтернатива на термичната пастьоризация. (Rastogi at al., 2007). Ефектът от прилагането на ННР обработка с налягане 580 MPa и различно време на обработка (580 MPa, 240 s–480 s) се прилага за да се постигнат ефективни проценти на инактивиране на микроорганизмите, като се цели да се постигне валидиран режим на обработка с конкретни показатели на безопасност в съответствие с европейските законодателни изисквания за мляно говеждо месо.

Антимикробният ефект на ННР технологията заедно с комбинираното приложение на Медолива Плюс 0,3%, Натриев лактат 0,3% и 15 минути обработка с озонирана вода има за цел да се изследва синергичното действие на антимикробните средства, за да се осигури по-дълъг срок на годност и да се постигне намаляване на разходите, въпреки че действието им може да бъде повлияно от състава на мляното месо, включително рН, водна активност (aw) и окислително-възста-

новителен потенциал (Gao and Wu, 2007). Резултатите от изследванията биха осигурили по-малко интензивни цикли на НРР и трайна безопасност по време на съхранението, както и да доведе до повишена свежест и глобално качество на обработената с НРР храна.

Материали и методи

Подготовка на месните продукти

Месото е закупено на 04.02.20 от ферма Тремас, гр. Кардица, Гърция. Цялото количество 10 kg е от мускула *Semimebranosus*. Изчисти се по-голяма част от сухожилията и се смляха на машина с размери 30–40 mm³.

Приготвяне на пробите от мляно телешко месо.

Подготвиха се 2 групи:

Група А. Проучване ефекта от различно време на обработка с НРР (580 МПа, пакетирани под вакуум) –

А 1. Мляно говеждо месо SM под вакуум (без НРР обработка),

А 2. Мляно говеждо месо SM + 580 МПа x 240 s,

А 3. Мляно говеждо месо SM + 580 МПа x 480 s;

Група В. Проучване на ефекта на различни антимикробни средства, комбинирани с НРР (580 МПа x 240 s. пакетирани под вакуум) –

В 1. Мляно говеждо месо SM + НРР,

В 2. Мляно говеждо месо SM + НРР + Medoliva Plus 0,3 % (включва маслинови + цитрусови полифеноли + лимонена киселина – антимикробно + антиоксидантно действие),

В 3. Мляно говеждо месо SM + НРР + натриев лактат – диацетат 0,3 %,

В 4. Мляно говеждо месо SM + НРР + 15 мин в озонирана вода (5–10 пъти от обема на месото)

Антимикробни средства, обработка и опаковане

Пробите от група А без предварителна обработка се разделиха по 100 g и се пакети-

раха във вакуумпликове на фирма FlexoPack, Greece (200 x 420 mm) със свързващ слой полиамид/полиетилен. Този вид опаковане ограничава отрицателното въздействие на окислението върху мляното говеждо месо. Затварянето на вакуумпликовете се извърши чрез пакетираща машина Henkelman (Холандия). Показателите им са: PA-PE based (oxygen permeability 75 cc/m² / 24 h/ 1 atm) water vapour permeability 5 g/m² / 24 h.

Подходящо за обработка под високо налягане е основно вакумпаketиране – (Huang et al., 2017). Проби А 2 и А 3 се отделиха за НРР обработка.

Пробите от група В се обработиха със следните антимикробни вещества:

В 2 – с Medoliva Plus 0,3%, което е натурален екстракт от маслинови полифеноли и цитрусов / лимонов плодов сок и екстракти, капсулирани в малтодекстрин или друг подобен хранителен носител, изсушаване чрез замразяване.

Medoliva – течен маслинов полифенол, както и неговият биоактивен прах, може да се използват в месни, млечни продукти и маргарин, като създават значително по-бързо понижаване на рН и по-бързо натрупване на млечна киселина, без да се нарушават вкусът и външният вид на продукта. Технологичното значение на маслиновите полифеноли, съдържащи се в Medoliva, е тяхното влияние върху щамове от класа на млечнокисели бактерии, както и тяхната силна антимикробна и антиоксидантна активност. Прилага се в много хранителни продукти за подобряване техния цвят, външен вид, вкус, допринасяйки едновременно за безопасността на продукта.

В 3 – с Натриев лактат (sodium lactate-diacetate) 0,3%. Натриевият лактат е от химична гледна точка, натриева сол на млечна киселина. Натриевият лактат е сол, която действа като свързана киселина, преминава в микробната клетъчна мембрана и подкиселява вътрешната част на клетката (Carpenter and Broadbent, 2010). Денатурацията може да доведе до бързо намаляване на рН и клетъчна смърт (Lamkey et al., 1991).

Лактатите също подобряват органолептичните свойства, включително цвят, текстура и вкус и антиоксидантни свойства. Натриевият лактат причинява повече редукция на бактерии и дори анаеробни спори, отколкото нитритите, инхибира ботулина, произведен от *Clostridium botulinum*. Натриевият лактат произвежда постоянен червеникаворозов цвят чрез намаляване на дезоксимиоглобулина и получаване на дезоксимиоглобулин.

Натриевият ацетат (диацетат) е сол на оцетната киселина и е разрешен за употреба в хранително-вкусовата промишленост като добавка от групата на консервантите. Регулира киселинността на продукта и контролира развитието на микроорганизми. Получава се при суха дестилация на дървесина, отнася се към солите на слаби киселини, които разтвори в бъдеще може да се използват за запазването на постоянни стойности на рН.

В 4 – За целта се използва уред Ozone Purifier, който озонира водата (15 минути), в която е поставена пробата. Количеството на обработваемата вода беше 3 пъти по-голямо от това на пробата. Озонът унищожава бактериите и спорите на плесени. Успешно предотвратява растежа на мухъл, премахва неприятните миризми и намалява ненужните загуби при запазване на естествената свежест и качество.

След предварителните обработки пробите от група В, се пакетираха.

Пробите се обработват под налягане 23 часа след опаковането и се съхраняват охладени при +4 °С.

НРР обработка

Всички проби, с изключение на контролата група А 1, бяха обработени, опаковани под вакуум с водонепропускливи опаковки във вода под високо хидростатично налягане в инсталацията за производство на американската фирма AVURE, собственост на фирма Митилос, с. Китрос, Пиерия – Гърция. Скоростта на освобождаване на налягането е 580 МПа/сек. Температурата на водата, предаваща налягане, първоначално беше +4 °С, повишена

до +10 °С с достигане на максималното налягане и уравновесена до +4 °С.

Пробите от група А 2 и В 2, В 3 и В 4 се обработват при постоянно налягане (зададено 580 МПа) в продължение на 240 s.

Пробите от група А3 се обработват при постоянно налягане (зададено 580 МПа) в продължение на 480 s.

След обработката под високо налягане всички проби се съхраняват в хладилни условия в продължение на 38 дни.

Методология на микробиологичния анализ

Проби от мляно месо (10 гр.) бяха добавени към 90 ml Maximum Recovery Diluent – ISO 6887 (Dehydrated Culture Media) и бяха смляни и хомогенизирани в стомакер.

След подходящо разреждане съответният общ брой микроорганизми беше изолиран и определен върху хранителна среда с PCA (Plate Count Agar Tryptone Glucose Yast Agar, OXOID, UK), разливаше се в петрита и пробите бяха инкубирани при +30 °С за 48 часа.

Млечнокиселите бактерии бяха изолирани и определени върху хранителна среда с MRS – Lactobacilli MRS agar по стандарт ISO 15214:1998. Разтворът се разлива в петрита и се инкубира при +30 °С за 5 дни.

Ентеробактериите (*Enterobacteriaceae*) бяха изолирани и определени върху хранителна среда – VRBGA (Violet Red Blue Glucose Agar спрямо стандарт ISO 21525-2:2004 (Merck), разлива се в петрита и се инкубира при температура +30 °С за 24 часа.

Физикохимичен анализ

Метод: Смляното месо е измерено с директно въвеждане на рН HANNA – Food care, HI 99161, Румъния (MP, рН проба, стъклен електрод). Киселинността е измерена трикратно и е изчислена средната стойност.

Резултати и обсъждане

Месото постъпва за обработка и анализ с определено първично замърсяване, пренесе-

но от заколването на животното, от ръцете на персонала, от съоръженията и при съхранението – от мухи и гризачи, транспортиране и технологична обработка. Най-голямо значение сред посредниците на микробиологично замърсяване има мляното месо като суровина за приготвяне на месни колбаси или самостоятелна употреба.

При термично обработване повечето микроорганизми се унищожават, но ако то се извършва при недостатъчно висока температура, те често се запазват. Мляното месо може да се използва за суровина на месен продукт, който няма да претърпи термична обработка, като НРР обработката е най-добрата възможност за получаване на натурален и безопасен продукт.

Каймата обикновено има много по-кратък срок на годност при съхранение в хладилник в сравнение с цяло месо, тъй като меленото предизвиква микробиологични промени. Развалата на месото най-често се причинява от микроби, като най-висок темп на растеж се наблюдава по време на съхранение. Следователно е важно за стабилността на прясното месо да се гарантира, че то има ниско рН и възможно най-нисък брой замърсители микроорганизми. Също така методите за опаковане може да бъдат от значение за скоростта на микробиологичното разваляне.

В специфичната замърсяваща микробиота на месото преобладават бактериите, както Грам-положителни (*Micrococcus*, *Corynebacterium*), така и Грам-отрицателни (*Acinetobacter*, *Flavobacterium*) (Vanu et al., 2006).

Млечнокиселите бактерии са най-устойчивите Грам-положителни бактерии. Те може да бъдат разпространени в цялата микробиота, без да се влияят от условията на съхранение (микроаерофилни състояния). Устойчиви са на сол (4–7%) и натриев нитрит. В състояние са да се развият при ниски температури, във вакуумно затворена опаковка и са най-чести причинители на развалянето на мляно месо. Въпреки, че *Lactic bacteria* са конкурентни на други бактерии, водещи до разваляне на месото

и имат способността да ги инхибират чрез антагонизъм, все още тяхното присъствие в месото е нежелателно. Причиняват промяна на цвета на месо (позеленяване) и тяхното присъствие във високи концентрации показва, че не са спазени хигиенните условия преди и след обработката (Vanu et al., 2006 г.).

Грам-отрицателните бактерии показват по-голяма податливост към инактивиране чрез високо налягане, отколкото Грам-положителните. (Smelt, 1998). Предполага се, че сложността на структурата на грам-отрицателната клетъчна мембрана може да бъде определяща за тяхната податливост.

Влияние за податливостта на обработка под високо налягане оказва и геометричната форма на бактериите – коките са по-резистентни от пръчковидните бактерии. (Diels and Michiels, 2006) показват много подробно потенциалния механизъм за инактивация.

Ефектът от прилагането на налягане със сила 580 МРа и време (240–480 s) при температура +4 °С се анализира спрямо изброената микробиота на мляно говеждо месо:

1. Общ брой микроорганизми – Total Plate Count
2. Млечно-киселите бактерии – (*Lactobacillus*)- (*LAB*)
3. Ентеробактерии – *Enterobacteriaceae*

Поведението на микроорганизмите, свързани със срока на годност на месния продукт (Общ брой микроорганизми, млечнокисели бактерии, ентеробактерии) се разглежда спрямо факторите:

1. различно време на задържане (240–480 s);
2. комбинирано влияние на хидростатично налягане (580 МРа, 240 s) и добавени антимикубни средства – Медолива Плюс 0,3%, Натриев лактат 0,3% и 15 минути обработка с озонирана вода.

Микробиологични анализи върху общ брой микроорганизми

При микробиологичните анализи върху общ брой микроорганизми, се наблюдават следните резултати:

- Контролите имат висок първоначален брой микроорганизми ($1,5 \times 10^6$ cfu/g), който се увеличава с $2 \log$ cfu/g на 18-ия ден от хладилното съхранение и се поддържа на същото ниво до 38-ия ден от изследването;

- Влиянието на НРР обработката с параметри – налягане 580 МРа и време на задържане (240–480 s), показва драстично намаляване на броя микроорганизми на 3-тия ден от обработката и въпреки лекото покачване на 18-ия ден, до 38-ия ден техният брой продължава да бъде значително под критериите за развала.

Най-силно комбинирано антимикубно действие показва съчетанието на обработка с високо хидростатично налягане и озонирана вода. Редукцията е от $6 \log$ cfu/g до 18-ия ден от съхранението спрямо контролите и с $1 \log$ cfu/g спрямо обработката с НРР без добавени антимикубни средства. Фиг. 1 и фиг. 2 показват влиянието на фактора налягане–време и фактора налягане–антимикубни средства.

Влиянието на Натриев лактат 0,3% дава същия резултат, както обработката под висо-

ко налягане в началото на наблюдението, но по време на хладилното съхранение показва редукция с повече от $1 \log$ cfu/g.

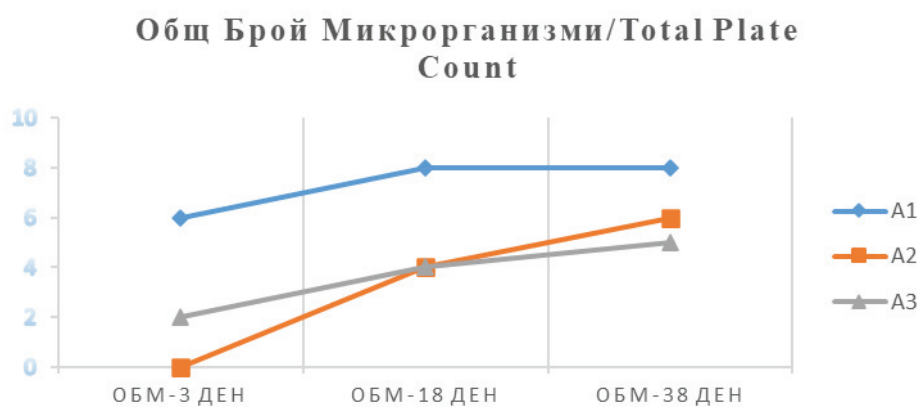
Медолива Плюс в концентрация 0,3%, играе баропротекторна роля и елиминира влиянието на хидростатичното налягане.

Микробиологични анализи върху млечно-киселите бактерии

При микробиологичните анализи върху млечнокиселите бактерии, се наблюдават следните резултати:

- Контролите имат висок първоначален брой микроорганизми ($1,1 \times 10^6$ cfu/g), който се увеличава с $1,5 \log$ CU/g на 18-ия ден от хладилното съхранение и с $0,5 \log$ cfu/g до 38-ия ден от изследването;

- Влиянието на НРР обработката с параметри: налягане 580 МРа и време на задържане 240–480 s показва редукция с $6 \log$ cfu/g на броя микроорганизми на 3-тия ден от обработката (Фиг. 3). В процеса на хладилно съхранение на 18-ия ден редукцията на млечнокисели бактерии намалява и разликата е $3 \log$ cfu/g, а на 38-ия ден с $2 \log$



Фиг. 1. Влияние на фактор време върху общият брой микроорганизми при НРР обработка

Fig. 1. Effect of the НРР treatment and factor time holding on the Total Plate Count

Легенда:

A 1. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, без НРР обработка

A 2. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, с НРР обработка + 580 МРа x 240 s

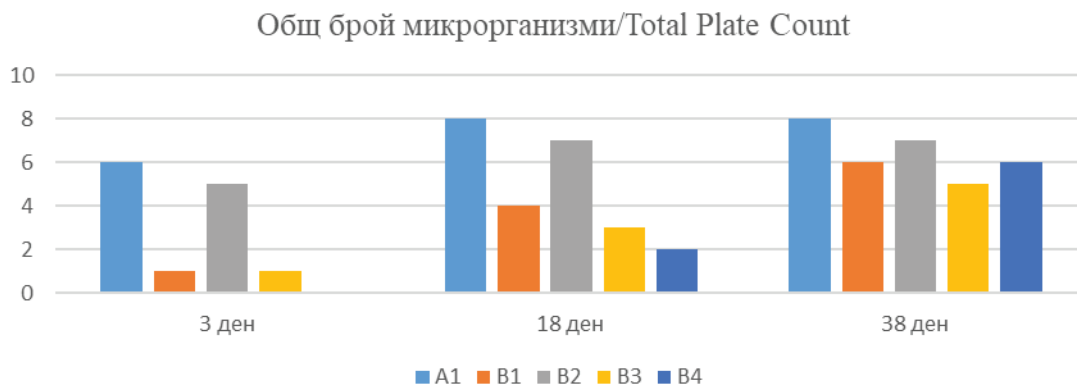
A 3. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка + 580 МРа x 480 s

Legend:

A 1. Minced beef, vacuum packing, no НРР processing

A 2. Minced beef, vacuum packing, with НРР processing + 580 МРа x 240 s

A 3. Minced beef, vacuum pack + 580 МРа x 480 s



Фиг. 2. Комбинирано влияние на антимикробни средства и HPP обработка върху общия брой микроорганизми

Fig. 2. Combined effect of antimicrobials and HPP treatment on Total Plate Count

Легенда:

A 1. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, без HPP обработка

B 1. Кайма от телешко месо + HPP + 600 МПа x 240 s

B 2. Кайма от телешко месо + HPP + Медолива Плюс (Medoliva Plus) 0,3% (съдържа маслинен + цитрусов полифенол + лимонена киселина – Антимикробен + антиоксидантен ефект)

B 3. Кайма от телешко месо + HPP + натриев лактат-диацетат 0,3%

B 4. Кайма от телешко месо + HPP + 15 м in озонирана вода (5–10 пъти обема на месото)

Legend:

A 1. Minced beef, vacuum packing, no HPP processing

B 1. Minced beef + HPP + 600 MPa x 240 s

B 2. Beef minced meat + HPP + Medoliva Plus 0.3% (contains olive + citrus polyphenol + citric acid – Antimicrobial + antioxidant effect)

B 3. Minced beef + HPP + sodium lactate diacetate 0.3%

B 4. Minced beef + HPP + 15 m in ozonated water (5–10 times the volume of meat)

cfu/g. Удълженото време за обработка не променя значително броя на млечнокиселите бактерии спрямо обработените за време 240 s.

Комбинираното антимикробно действие на обработка с високо хидростатично налягане и озонирана вода е почти толкова резултатно, колкото действието на Натриев лактат в концентрация 0,3%, но спрямо млечнокиселите бактерии натриевият лактат поддържа редуция от 5 log cfu/g от 18-ия до 38-ия ден от съхранението.

Комбинираният ефект показва преимущество спрямо обработката под високо налягане, разгледано спрямо млечнокиселите бактерии. Разлика от 3 log cfu/g на 38-ия ден от съхранението е значителна (Фиг. 4).

Медолива Плюс в концентрация 0,3% играе баропротекторна роля както спрямо об-

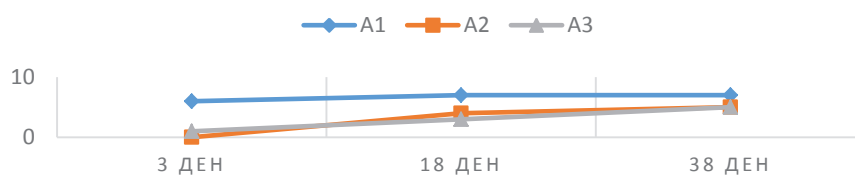
щия брой бактерии, така и при елиминиране влиянието на хидростатичното налягане.

Микробиологичните анализи върху (Enterobacteriaceae)

Замърсяването с *Enterobacteriaceae* в контролите не е толкова високо спрямо останалите две изследвания. Прилагането на хидростатично налягане със сила 580 МПа и време на задържане (240 s) намалява броя им за целия период на наблюдение от 3-ия до 38-ия ден. HPP приложено за време (480 s) преустановява развитието на *Enterobacteriaceae* за 38 дни на съхранение в хладилни условия (Фиг. 5).

Комбинираното антимикробно действие и на трите антимикробни средства – Медолива Плюс 0,3%, Натриев лактат 0,3% и 15 минути обработка с озонирана вода, не поз-

Млечно-кисели бактерии/Lactic Acid Bacteria



Фиг. 3. Влияние на фактор време върху млечно-киселите бактерии при HPP обработка
Fig. 3. Effect of the HPP treatment and factor time holding on the Lactic Acid Bacteria (LAB)

Легенда:

A 1. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, без HPP обработка

A 2. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, с HPP обработка + 580 MPa x 240 s

A 3. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка + 580 MPa x 480 s

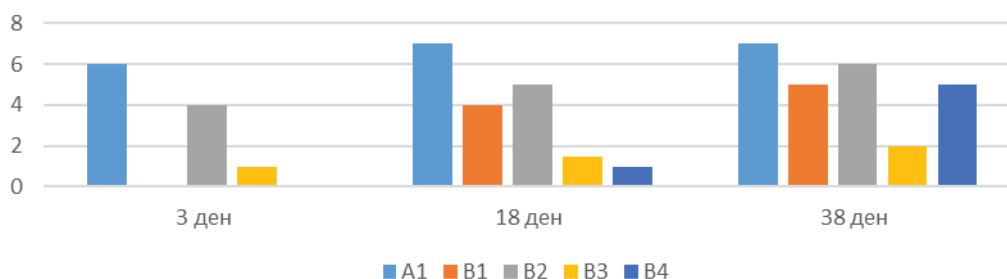
Legend:

A 1. Minced beef, vacuum packing, no HPP processing

A 2. Minced beef, vacuum packing, with HPP processing + 580 MPa x 240 s

A 3. Minced beef, vacuum pack + 580 MPa x 480 s

Млечно-кисели бактерии/Lactic Acid Bacteria



Фиг. 4. Комбинирано влияние на антимикробни средства и HPP обработка върху млечно-кисели бактерии.

Fig. 4. Combined effect of antimicrobials and HPP treatment on Lactic Acid Bacteria

Легенда:

A 1. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, без HPP обработка

B 1. Кайма от телешко месо + HPP + 580 MPa x 240 s

B 2. Кайма от телешко месо + HPP + Медолива Плюс (Medoliva Plus) 0,3% (съдържа маслинен + цитрусов полифенол + лимонена киселина – Антимикробен + антиоксидантен ефект)

B 3. Кайма от телешко месо + HPP + натриев лактат-диацетат 0,3%

B 4. Кайма от телешко месо + HPP + 15 m in озонирана вода (5–10 пъти обема на месото)

Legend:

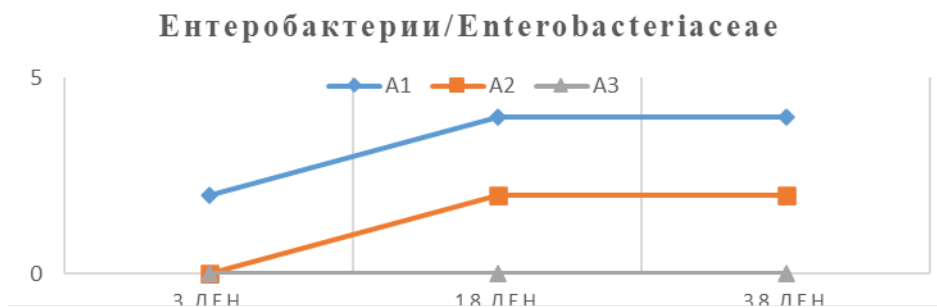
A 1. Minced beef, vacuum packing, no HPP processing

B 1. Minced beef + HPP + 580 MPa x 240 s

B 2. Beef minced meat + HPP + Medoliva Plus 0.3% (contains olive + citrus polyphenol + citric acid – Antimicrobial + antioxidant effect)

B 3. Minced beef + HPP + sodium lactate diacetate 0.3%

B 4. Minced beef + HPP + 15 m in ozonized water (5–10 times the volume of meat).



Фиг. 5. Влияние на фактор време върху *Enterobacteriaceae* при HPP обработка
Fig. 5. Effect of the HPP treatment and factor time holding on the *Enterobacteriaceae*

Легенда:

A 1. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, без HPP обработка

A 2. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, с HPP обработка + 580 MPa x 240 s

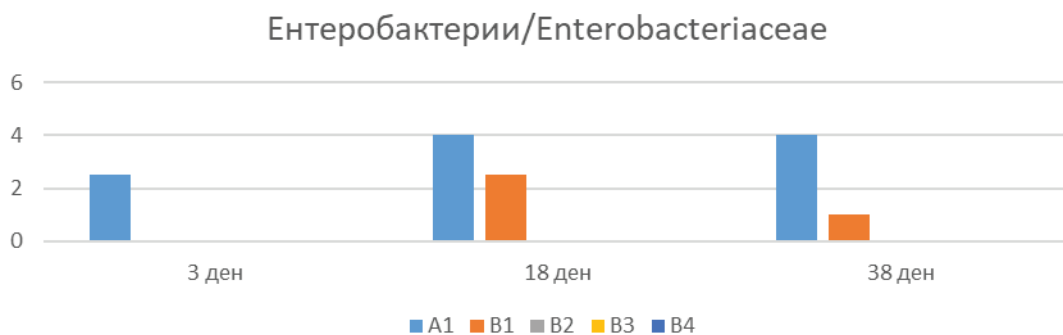
A 3. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка + 580 MPa x 480 s

Legend:

A 1. Minced beef, vacuum packing, no HPP processing

A 2. Minced beef, vacuum packing, with HPP processing + 580 MPa x 240 s

A 3. Minced beef, vacuum pack + 580 MPa x 480 s



Фиг. 6. Комбинирано влияние на антимикробни средства и HPP обработка върху ентеробактерия
(Enterobacteriaceae)

Fig. 6. Combined effect of antimicrobials and HPP treatment on *Enterobacteriaceae*

Легенда:

A 1. Кайма от телешко месо, вакуум опаковка, без HPP обработка

B 1. Кайма от телешко месо + HPP + 580 MPa x 240 s

B 2. Кайма от телешко месо + HPP + Медолива Плюс (Medoliva Plus) 0,3% (съдържа маслинен + цитрусов полифенол + лимонена киселина – Антимикробен + антиоксидантен ефект)

B 3. Кайма от телешко месо + HPP + натриев лактат-диацетат 0,3%

B 4. Кайма от телешко месо + HPP + 15 м озонирана вода (5–10 пъти обема на месото)

Legend:

A 1. Minced beef, vacuum packing, no HPP processing

B 1. Minced beef + HPP + 580 MPa x 240 s

B 2. Beef minced meat + HPP + Medoliva Plus 0.3% (contains olive + citrus polyphenol + citric acid – Antimicrobial + antioxidant effect)

B 3. Minced beef + HPP + sodium lactate diacetate 0.3%

B 4. Minced beef + HPP + 15 m in ozonized water (5–10 times the volume of meat)

воляват развитието на *Enterobacteriaceae* от 3-тия до 38-ия ден (Фиг. 6).

Обсъждане

Изследването показва значително влияние на обработката под високо хидростатично налягане (НРР) върху общия брой микроорганизми и млечнокиселите бактерии и ефективно преустановява *Enterobacteriaceae* от 3-тия до 38-ия ден.

Enterobacteriaceae е потенциален причинител на неприятен вкус и образува газове. Тази група живее основно в червата на животните и включва голяма част от болестотворните микроорганизми (Garriga et al., 2004). Тяхното наличие е показател за фекално замърсяване от околната среда. Изследванията показват, че *Enterobacteriaceae*, при комбиниран ефект с антимикробни средства и високо хидростатично налягане не се възстановява по време на съхранението.

Мляното говеждо месо има висока влажност и смесена микрофлора, включително патогенна, от кланицата до пакетиранието. Ефективността както на обработката под налягане, така и на комбинираното действие на други антимикробни средства е ефективен процес на подобряване на микробиалната безопасност и качество по време на съхранение. Видът на съставките и тяхното свързване в хранителния субстрат може да имат голямо значение за податливостта на микроорганизмите при обработка под налягане.

- Въглехидратите, протеините, мазнините и други хранителни съставки може да предадат защитен ефект. (Garcia-Graells et al., 1999)

- Ca^{2+} и други катиони, магнезий, калций, цитрати и фосфати, бетаин и карнитин реагират като баропротектори (Black et al., 2007).

Действието на Медолива Плюс има баропротекторни свойства. Барорезистентността по отношение на млечнокиселите бактерии може да се отчете като положителна или отрицателна в зависимост от характе-

ристиките на конкретните щамове. Различното поведение на млечнокиселите бактерии в зависимост от вида на храните също определя неговото положително или отрицателно действие.

Lactic Acid Bacteria включва микроорганизми, които водят до разваляне на месото, но и такива, които действат инхибиращо. Част от щамовете са така желаните в наше време пробиотици. Тенденциите да се консумират по-малко преработени храни включва още и въпроса за тяхната безопасност. Употребата на ферментирани антимикробни метаболитни организми е нов хранителен тренд. При такава употреба Медолива Плюс може да действа защитно на тези щамове микроорганизми, ако се приложи НРР-обработка на ферментирал месен продукт. Контролите показват разваляне на 18-ия ден. НРР-обработката сама по себе си удължава срока с 30 дни, а ако се използват антимикробни средства, този срок би могъл да се удължи повече, но и да подобри някои физико-химични или органолептични показатели. Най-силно антимикробно действие има употребата на лактат-диацетат, който подобрява трикратното действието на обработката с високо налягане. При изследване влиянието на антимикробни средства комбинирано с високо налягане, се отчита значително подобряване действието на НРР през целия период от обработката на мляното месо до 38-ия ден от хладилното съхранение.

Тази оценка от направените експерименти потвърждава литературните данни, че при налягане от 450 до 600 МРа намалява общия брой бактерии с 6–8 log (cfu/g) за период от 7–14 дни в зависимост от наличните микроорганизми в месото. Това означава, че пастьоризация е възможна при налягане над 500 МРа. (Kruk, 2011). Видът на хранителния продукт и микробиологичните видове в него, заедно със способността на психротрофните микроорганизми да се възстановяват при ниски температури, са критичните фактори при оценката на ефективността на НРР-обработката.

Заклучение

В това проучване бяха направени изследвания в две направления: влияние на едно и също налягане и различно време на задържане върху микробиологичните свойства на мляно говеждо месо.

От направените анализи се заключава, че обработката с налягане 580 МПа и време на задържане от 240 s е ефективен метод за инактивиране на микробиотата. Прилагането на същото налягане, но с удължено време на задържане 480 s, не е икономически оправдано, тъй като не се откриха значителни разлики между ефекта от обработка със задържане 240 s. Трябва да се отбележи, че инактивирането на микроорганизми не е еднакво ефективно през цялото време.

Това изследване предлага да се използва комбинираното действие на антиминокробни средства и НРР-обработка като възможност да се удължи срокът на годност на мляно говеждо месо и замяна на синтетичните консерванти и по-икономичен режим на обработка. Най-добър резултат показва натриевия лактат-диацетат както върху общия брой микроорганизми, така и върху млечнокиселите бактерии, като запазва силните си антиминокробни способности за целия период на съхранение. Спрямо ентеробактерии (*Enterobacteriaceae*) и трите използвани антиминокробни средства влияят еднакво положително и не позволяват да се развият микроорганизми от първия до 38-ия ден. Във връзка с това прилагането на хидростатично налягане със сила 580 МПа се оказва високо-ефективен метод за намаляване на бактериите и удължаване на безопасния срок на годност на охладено мляно говеждо месо.

Литература

- Alpas, H., Kalchayanand, N., Bozoglu, F., & Ray, B.** (2000). Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of food-borne pathogens. *International journal of food microbiology*, 60(1), 33-42.
- Bajovic, B., Bolumar, T., & Heinz, V.** (2012). Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat science*, 92(3), 280-289.
- Banu, C., Ionescu, A., Bahrim, G., Dorin, S. S., & Vizireanu, C.** (2006). Biochemistry, microbiology and parasitology meat. *AGIR Publishing. Bucharest*, (in romanian).
- Black, E. P., Huppertz, T., Fitzgerald, G. F., & Kelly, A. L.** (2007). Baroprotection of vegetative bacteria by milk constituents: a study of *Listeria innocua*. *International Dairy Journal*, 17(2), 104-110.
- Carpenter, C. E., Smith, J. V., & Broadbent, J. R.** (2011). Efficacy of washing meat surfaces with 2% levulinic, acetic, or lactic acid for pathogen decontamination and residual growth inhibition. *Meat science*, 88(2), 256-260.
- Cheftel, J. C., & Culioli, J.** (1997). Effects of high pressure on meat: a review. *Meat science*, 46(3), 211-236.
- Chapman, B., Winley, E., Fong, A. S. W., Hocking, A. D., Stewart, C. M., & Buckle, K. A.** (2007). Ascospore inactivation and germination by high pressure processing is affected by ascospore age. *Innovative food science & emerging technologies*, 8(4), 531-534.
- Diels, A. M., & Michiels, C. W.** (2006). High-pressure homogenization as a non-thermal technique for the inactivation of microorganisms. *Critical reviews in microbiology*, 32(4), 201-216.
- Dransfield, E.** (1986). Conditioning of meat. Recent Advantages and Developments in the Refrigeration of Meat Chilling In: Meeting of IIR Commission C2, Bristol, UK, Section 1
- Gao, Y. L., & Ju, X. R.** (2007). A predictive model for the influence of food components on survival of *Listeria monocytogenes* LM 54004 under high hydrostatic pressure and mild heat conditions. *International journal of food microbiology*, 117(3), 287-294.
- García-Graells, C., Masschalck, B., & Michiels, C. W.** (1999). Inactivation of *Escherichia coli* in milk by high-hydrostatic-pressure treatment in combination with antimicrobial peptides. *Journal of food protection*, 62(11), 1248-1254.
- Garriga, M., Grebol, N., Aymerich, M. T., Monfort, J. M., & Hugas, M.** (2004). Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4), 451-457.
- Hogan, E., Kelly, A. L., & Sun, D.** (2005). High pressure processing of foods. Emerging technologies for food processing. *Elsevier Academic Press, San Diego*, 3-27
- Huang, H. W., Wu, S. J., Lu, J. K., Shyu, Y. T., & Wang, C. Y.** (2017). Current status and future trends of high-pressure processing in food industry. *Food control*, 72, (12)1-8.

Jofré, A., & Serra, X. (2016). Processing of meat products utilizing high pressure. In *High Pressure Processing of Food* (pp. 591-623). Springer, New York, NY.

Jung, S., Ghoul, M., & de Lamballerie-Anton, M. (2003). Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *LWT-food science and technology*, 36(6), 625-631.

Kruk, Z. A., Yun, H., Rutley, D. L., Lee, E. J., Kim, Y. J., & Jo, C. (2011). The effect of high pressure on microbial population, meat quality and sensory characteristics of chicken breast fillet. *Food control*, 22(1), 6-12.

Lado, B. H., & Yousef, A. E. (2002). Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. *Microbes and infection*, 4(4), 433-440.

Lamkey, J. W., Leak, F. W., Tuley, W. B., Johnson, D. D., & West, R. L. (1991). Assessment of sodium lactate addition to fresh pork sausage. *Journal of Food Science*, 56(1), 220-223.

McArdle, R., Marcos, B., Kerry, J. P., & Mullen, A. (2010). Monitoring the effects of high pressure processing and temperature on selected beef quality attributes. *Meat Science*, 86(3), 629-634.

Patterson, M. F. (2005). Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of applied microbiology*, 98(6), 1400-1409.

Petrova, D. (2016). Growth of spoilage bacterium during storage and transport of meat. *EFSA Journal Panel on Biological Hazard (BIOHAZ 2014b)* <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4523/epdf>

Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., Balasubramaniam, V. M., Niranjan, K., & Knorr, D. (2007). Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47(1), 69-112.

Sazonova, S., Galoburda, R., & Gramatina, I. (2017). Application of high-pressure processing for safety and shelf-life quality of meat—a review. In *11 th Baltic Conference on Food Science and Technology “FOODBALT* (pp. 17-22).

Smelt, J. P. P. M. (1998). Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in food science & technology*, 9(4), 152-158.