

## MIKROFLORA WARZYW EKOLOGICZNYCH

### MICROBIOLOGICAL QUALITY OF ORGANIC VEGETABLES

**Magdalena Szczech, Beata Kowalska**

Instytut Warzywnictwa im. Emila Chroboczka w Skierniewicach

#### WSTĘP

Przez wzgląd na zdrowie społeczeństwa propagowane jest stosowanie diet, w których zaleca się spożywanie dużej ilości warzyw i owoców, szczególnie świeżych lub jak najmniej przetworzonych. Wzrasta też znaczenie produktów ekologicznych, które uważane są za „zdrową żywność”, wolną od pozostałości lub nadmiaru syntetycznych środków uprawowych. Jednak rosnąca konsumpcja świeżych warzyw niesie ze sobą ryzyko infekcji bakteriami chorobotwórczymi, których źródłem mogą być gleba, woda irygacyjna, nawozy organiczne czy żywe organizmy np. dzięki zwierzęta. W ostatnich latach notowano wiele zatruć pokarmowych spowodowanych spożyciem świeżych warzyw i niepasteryzowanych soków (Simonne i Treadwell 2008; <http://europa.eu.int/comm/food/>). Najbardziej narażone na skażenia mikrobiologiczne są warzywa, których jadalne części mają bezpośredni kontakt z glebą np. warzywa korzeniowe lub zielone o krótkim okresie wegetacji. Najczęstsze zatrucia pokarmowe notowano po spożyciu sałaty, szpinaku, pomidorów i ziół (Jones i Heaton 2007; Heaton i Jones 2008; Simonne i Treadwell 2008; Simonne 2009; <http://europa.eu.int/comm/food/>).

Mikroorganizmy znajdujące się na powierzchni warzyw należą głównie do bakterii gramujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae* lub rodzaju *Pseudomonas* (Lund 1992), a także do bakterii z rodzaju *Bacillus* i *Clostridium* (Libudzisz i in. 2008). Większość tych bakterii nie jest patogeniczna dla ludzi, jednak szczególnie w obrębie rodziny *Enterobacteriaceae* występuje wiele gatunków chorobotwórczych jak *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Escherichia coli* 0157:H7 (Libudzisz i in. 2008). Obecność tych mikroorganizmów w produktach spożywczych zagraża zdrowiu konsumenta. Na świeżych warzywach spotykane są patogeniczne bakterie z gatunków *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *E. coli*, *Campylobacter jejuni* (Cabral Machado i in. 2006; Jones i Heaton 2007; Libudzisz i in. 2008; <http://europa.eu.int/comm/food/>; Simmone 2009). Nie można pominąć też drożdży i grzybów pleśniowych np. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Sclerotinia*, *Rhizopus*, które są przyczyną psucia produktów roślinnych. Grzyby wytwarzają również substancje toksyczne zwane

mikotoksynami, które kumulowane w organizmie mogą prowadzić do uszkodzenia organów wewnętrznych lub zakłócenia funkcji przewodu pokarmowego (Libudzisz i in. 2008; Chełkowski 2010).

Rolnictwo ekologiczne jest systemem alternatywnym dla gospodarki konwencjonalnej, polegającym na wykluczeniu z użycia pestycydów i nawozów przetworzonych przemysłowo. W uprawach ekologicznych zalecane są w zamian odpowiednie zabiegi agrotechniczne, racjonalne zmianowanie oraz stosowanie nawożenia organicznego m.in. w postaci obornika i kompostów. Nawozy te mogą być jednak źródłem skażeń mikrobiologicznych dla uprawianych roślin ze względu na to, iż są nośnikiem pasożytów oraz mikroorganizmów pochodzenia fekalnego, potencjalnie chorobotwórczych dla ludzi np. bakterii z rodzin *Enterobacteriaceae* czy *Bacillaceae* (Cabral Machado i in. 2006; <http://europa.eu.int/comm/food/>). Organizmy te mogą przeżyć w glebie przez długi okres w zależności od warunków środowiska (Libudzisz i in. 2008). Ponadto w uprawach ekologicznych nie są stosowane środki chemiczne, które w pewnym stopniu hamują rozwój patogenów. Tak więc zarówno produkty ekologiczne jak i konwencjonalne są narażone na ryzyko skażeń. Jak dotąd nie ma dowodów na to, iż jeden system uprawy jest lepszy od drugiego pod względem sanitarnym. Nieliczne doniesienia na ten temat, mimo sugestii, iż jakość warzyw ekologicznych wyprodukowanych przy zastosowaniu dobrych praktyk ogrodniczych jest akceptowalna, powielają stwierdzenia o potencjalnym ryzyku wynikającym głównie ze stosowania nawozów organicznych (Cabral Machado 2006; Jones i Heaton 2007; Simonne i Treadwell 2008).

Celem prowadzonych prac był monitoring skażeń mikrobiologicznych żywności produkowanej w polskich gospodarstwach ekologicznych. Ocenę prowadzono na podstawie liczebności wybranych grup mikroorganizmów (bakterii oraz drożdży i pleśni ogółem, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, rodzaju *Enterococcus*, bakterii z grupy coli z wyróżnieniem *Escherichia coli*) będących wskaźnikami stanu sanitarnego produktów spożywczych pochodzenia roślinnego. Uzyskane wyniki pozwolą na przeprowadzenie oceny jakości i stopnia ryzyka wynikającego ze spożycia warzyw produkowanych metodami ekologicznymi.

#### MATERIAŁY I METODY

W roku 2010 prowadzono ocenę skażeń mikrobiologicznych sałaty, rzodkiewki (w sezonie wiosennym) oraz marchwi i buraka ćwikłowego (w sezonie jesiennym). Marchew i buraki wybrano do badań jako warzywa najczęściej uprawiane w systemie ekologicznym. Wytypowano również rzodkiewkę oraz sałatę, których spożywanie na surowo w okre-

się wiosennym może stanowić potencjalne zagrożenie wystąpienia chorób związanych z bakteryjnymi infekcjami układu pokarmowego. Próby warzyw pobierano w 19 gospodarstwach ekologicznych i 13 gospodarstwach konwencjonalnych, położonych na terenie województwa łódzkiego, mazowieckiego i lubelskiego. Z gospodarstw ekologicznych pozyskano: 26 prób rzodkiewki, 34 próby sałaty, 49 prób marchwi i 33 próby buraków. Z gospodarstw konwencjonalnych do badań pozyskano: 9 prób rzodkiewki, 6 prób sałaty, 24 próby marchwi i 18 prób buraków. Próby były pobierane na polach losowo i pakowane osobno do czystych toreb foliowych. Materiał roślinny był transportowany do laboratorium w chłodni (temp. ok. 4-10°C). Korzenie rzodkiewki, marchwi i buraka były otrząsane z luźno przylegającej ziemi i cięte na mniejsze kawałki za pomocą sterylnego skalpela. 20 gramowe próbki pociętych korzeni umieszczano w sterylnych torebkach z filtrem bocznym, do których dodawano 100 ml wody peptonowej (pH 7,0). W przypadku sałaty ostrożnie usuwano korzeń, a liście cięto na mniejsze fragmenty, z których również odważano 20 gramowe próbki do homogenizacji. Materiał roślinny homogenizowano przez 10 min za pomocą homogenizatora BagMixer. Zawiesiny przesączały przez filtr boczny do sterylnych zlewek i oznaczano w nich ogólny poziom skażenia bakteriami oraz drożdżami i pleśniami, bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, bakteriami z grupy coli z wyróżnieniem *Escherichia coli*. Do określenia liczebności wymienionych grup mikroorganizmów stosowano metodę rozcieńczeń i posiewów na pożywkach selektywnych. Ogólny poziom bakterii określano na pożywce PCA, pleśni i drożdży na pożywce YGC, bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* na pożywce VRBG, bakterie *Enterococcus* na pożywce Slanetz'a, bakterie z grupy coli oznaczano na pożywce VRBL, a *E. coli* na pożywce TBX. Analizy mikrobiologiczne oraz warunki inkubacji były zgodne z zaleceniami zamieszczonymi w Polskich Normach: PN-EN ISO 7218, PN-ISO 7954, PN-EN ISO 4833:2004/Ap1, PN-EN ISO 11290-1:1999/A1, PN-90 A-75052/13, PN-ISO 21528-2, PN-ISO 4832, PN-EN ISO 16654, PN-EN ISO 6579, PN-EN ISO 6579:2003/A1. Liczebność poszczególnych grup mikroorganizmów podano jako liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) w 1 ml zhomogenizowanej zawiesiny.

## WYNIKI

Analizy mikrobiologiczne materiału roślinnego wykazały różnice w zagęszczeniu poszczególnych grup mikroorganizmów zasiedlających warzywa ekologiczne i konwencjonalne. Z warzyw ekologicznych izolowano znacznie więcej bakterii i grzybów niż z warzyw uprawianych w

systemie konwencjonalnym. Szczególnie różnice te były widoczne w uprawach sałaty i rzodkiewki (tab. 1-6). Ogólna liczebność bakterii oraz drożdży i pleśni na sałacie i rzodkiewce z gospodarstw ekologicznych była kilkukrotnie większa niż na roślinach z upraw konwencjonalnych (tab. 1-2). Podobnie było w przypadku ogólnej ilości bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (tab. 3). Jednak liczebność takich bakterii jak *Enterococcus*, z grupy coli czy *E. coli* była nawet kilkaset razy większa na warzywach ekologicznych w porównaniu do warzyw konwencjonalnych (tab. 4-6). Należy jednak zaznaczyć, iż w przypadku upraw ekologicznych istniała ogromna zmienność między gospodarstwami: w materiale roślinnym z wielu gospodarstw poziom *Enterococcus* i bakterii z grupy coli był na dość niskim poziomie, podczas gdy w kilku innych był bardzo wysoki. Takich zróżnicowań nie obserwowano w gospodarstwach, gdzie uprawiano warzywa w systemie konwencjonalnym. Bakterie *E. coli* wykryto w próbach rzodkiewki z czterech gospodarstw ekologicznych, a w sałacie w trzech gospodarstwach. W przebadanych próbach z gospodarstw konwencjonalnych *E. coli* nie wykryto (tab. 6).

Znacznie mniej mikroorganizmów wyizolowano z uprawianych ekologicznie buraków ćwikłowych i marchwi. W przypadku tych warzyw różnice między uprawą ekologiczną i konwencjonalną były mniejsze niż w rzodkiewce i sałacie, jednak i na tych roślinach można było obserwować tendencje do zwiększonej ilości drobnoustrojów w porównaniu do upraw konwencjonalnych (tab. 1-6). Najmniej mikroorganizmów obserwowano na marchwi, chociaż na korzeniach marchwi z upraw ekologicznych wykryto niewielkie ilości *E. coli* (tab. 6). W materiale pobranym z korzeni buraków bakterii tych nie stwierdzono.

Tabela 1. Liczebność ogólna bakterii na warzywach z upraw ekologicznych i konwencjonalnych

Table 1. Total number of bacteria on vegetables from organic and conventional farms

Roślina Plant	Zakres liczebności bakterii w próbach (10 <sup>7</sup> jtk/ml zawiesiny) Range of bacterial number in the samples (10 <sup>7</sup> cfu/ml suspension)	
	uprawa ekologiczna organic vegetables	uprawa konwencjonalna conventional vegetables
rzodkiewka, radish	0.1 – 10.8	0.1 – 1.0
sałata, lettuce	0.1 – 12.5	0.3 – 0.5
marchew, carrot	0.03 – 0.7	0.03 – 1.7
burak ćwikłowy, beetroot	0.1 – 7.6	0.05 – 3.2

Tabela 2. Liczebność pleśni i drożdży na warzywach z upraw ekologicznych i konwencjonalnych

Table 2. Total number of fungi on vegetables from organic and conventional farms

Roślina Plant	Zakres liczebności grzybów w próbach (10 <sup>5</sup> jtk/ml zawiesiny) Range of the number of fungi in the samples (10 <sup>5</sup> cfu/ml suspension)	
	uprawa ekologiczna organic vegetables	uprawa konwencjonalna conventional vegetables
rzodkiewka, radish	0.04 – 15.0	0.2 – 5.5
sałata, lettuce	0.07 – 64.0	0.1 – 2.6
marchew, carrot	0.1 – 1.4	0.2 – 3.1
burak ćwikłowy, beetroot	0.2 – 5.4	0.1 – 1.7

Tabela 3. Liczebność *Enterobacteriaceae* na warzywach z upraw ekologicznych i konwencjonalnych

Table 3. Total number of *Enterobacteriaceae* on vegetables from organic and conventional farms

Roślina Plant	Zakres liczebności bakterii w próbach (10 <sup>5</sup> jtk/ml zawiesiny) Range of bacterial number in the samples (10 <sup>5</sup> cfu/ml suspension)	
	uprawa ekologiczna organic vegetables	uprawa konwencjonalna conventional vegetables
rzodkiewka, radish	0.1 – 15.0	<10 <sup>5</sup> – 3.3
sałata, lettuce	0.2 – 33.0	0.1 – 5.0
marchew, carrot	<10 <sup>5</sup> – 7.2	<10 <sup>5</sup> – 1.9
burak ćwikłowy, beetroot	0.1 – 14.0	<10 <sup>5</sup> – 2.0

Tabela 4. Liczebność bakterii *Enterococcus* na warzywach z upraw ekologicznych i konwencjonalnych

Table 4. Total number of *Enterococcus* on vegetables from organic and conventional farms

Roślina Plant	Zakres liczebności bakterii w próbach (10 <sup>2</sup> jtk/ml zawiesiny) Range of bacterial number in the samples (10 <sup>2</sup> cfu/ml suspension)	
	uprawa ekologiczna organic vegetables	uprawa konwencjonalna conventional vegetables
rzodkiewka, radish	<10 <sup>2</sup> – 2.6	<10 <sup>2</sup> – 0.1
sałata, lettuce	<10 <sup>2</sup> – 56.3	<10 <sup>2</sup> – 0.3
marchew, carrot	<10 <sup>2</sup> – 0.1	<10 <sup>2</sup>
burak ćwikłowy, beetroot	<10 <sup>2</sup> – 3.1	<10 <sup>2</sup> – 0.3

Tabela 5. Liczebność bakterii z grupy coli na warzywach z upraw ekologicznych i konwencjonalnych

Table 5. Total number of coliforms on vegetables from organic and conventional farms

Roślina Plant	Zakres liczebności bakterii w próbach (10 <sup>3</sup> jtk/ml zawiesiny) Range of bacterial number in the samples (10 <sup>3</sup> cfu/ ml suspension)	
	uprawa ekologiczna organic vegetables	uprawa konwencjonalna conventional vegetables
rzodkiewka, radish	<10 <sup>3</sup> – 630.0	<10 <sup>3</sup> – 0.2
sałata, lettuce	<10 <sup>3</sup> – 120.0	<10 <sup>3</sup> – 0.7
marchew, carrot	<10 <sup>3</sup> – 0.6	<10 <sup>3</sup> – 0.7
burak ćwikłowy, beetroot	<10 <sup>3</sup> – 0.9	<10 <sup>3</sup> – 0.3

Tabela 6. Liczebność *E. coli* na warzywach z upraw ekologicznych i konwencjonalnych

Table 6. Total number of *E. coli* on vegetables from organic and conventional farms

Roślina Plant	Zakres liczebności bakterii w próbach (jtk/ml zawiesiny) Range of bacterial number in the samples (cfu/ml suspension)	
	uprawa ekologiczna organic vegetables	uprawa konwencjonalna conventional vegetables
rzodkiewka, radish	0 – 510.0	0
sałata, lettuce	0 – 90.0	0
marchew, carrot	0 – 40.0	0
burak ćwikłowy, beetroot	0	0

#### WNIOSKI

1. Liczba mikroorganizmów izolowanych z materiału roślinnego pozyskanego z gospodarstw ekologicznych była znacznie większa niż na warzywach z upraw konwencjonalnych. Szczególnie duże różnice w ilości mikroorganizmów wykryto na sałacie i rzodkiewce.
2. W próbach roślin ekologicznych obserwowano duże zróżnicowanie zagęszczenia mikroorganizmów pomiędzy poszczególnymi gospodarstwami.
3. Najmniej mikroorganizmów izolowano z marchwi zarówno ekologicznej jak i konwencjonalnej.
4. Z warzyw ekologicznych izolowano bakterie *E. coli*, których nie wykryto w uprawach konwencjonalnych.
5. Uzyskane wyniki świadczą o potrzebie przeprowadzenia badań w innych rejonach Polski, co pozwoli na ocenę ryzyka związanego ze spożyciem na surowo warzyw z upraw ekologicznych.

#### Literatura

- Cabral Machado D., Marques Maia C., Dias Carvalho I., Fontoura da Silva N., Dantas Porfirio Borges Andre M.C., Bisol Serafini A. 2006. Microbiological quality of organic vegetables produced in soil treated with different types of manure and mineral fertilizers. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 538-544.
- Chelkowski J. 2010. Mikotoksyny, grzyby toksynotwórcze i mikotoksykozy. Wersja on-line: [www.cropnet.pl/mycotoxin](http://www.cropnet.pl/mycotoxin).

- European Commission Report of the Scientific Committee on Food, 2002. "Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw". Wersja on-line: <http://europa.eu.int/comm/food/>
- Heaton J.C., Jones K. 2008. Microbial contamination of fruit and vegetables and the behavior of enteropathogens in the phyllosphere: a review. *Journal of Applied Microbiology* 104 (3): 613-626.
- Jones K., Heaton J. 2007. Microbial contamination of fruit and vegetables. *The Magazine of the Health Protection Agency* 7: 28-31.
- Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z. 2008. *Mikrobiologia techniczna. Mikroorganizmy w biotechnologii, ochronie środowiska i produkcji żywności*. Wydawnictwo Naukowe PWN, t. 2: 235-288.
- Lund B.M. 1992. Ecosystems in vegetable foods. *J. Appl. Bact.* 73: 115S-135S.
- Simonne A., Treadwell D. 2008. Minimizing food safety hazards for organic growers. Dokument FCS8872. Wersja on-line: <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Simonne A. 2009. Principles and practices of food safety for vegetable production in Florida. Wersja on-line: <http://edis.ifas.ufl.edu/cv288>.

Magdalena Szczech, Beata Kowalska

## MICROBIOLOGICAL QUALITY OF ORGANIC VEGETABLES

### Summary

The aim of this work was to study the risk profile on the microbial contamination of vegetables from Polish organic farms. The range groups of microorganisms associated with microbiological hazard of fresh produce were estimated: total bacteria and fungi, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, faecal coliforms and *Escherichia coli*. The samples of plant material: radish, lettuce, carrot and beetroot were collected in the year 2010 from the central region of Poland. It was found that organic vegetables contained higher number of microorganisms than conventional ones. Considerable differences were observed especially for organic lettuce and radish, which were more contaminated than other plants. The presence of *E. coli* was confirmed in the samples from organic farms only.