

MIKROBIOLOŠKA KONTROLA PROIZVODA OD MESA

Kružić, Dario

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:874909>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-02**



VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA
PRERADA MLIJEKA

DARIO KRUŽIĆ

MIKROBIOLOŠKA KONTROLA PROIZVODA OD MESA

ZAVRŠNI RAD

KARLOVAC, 2022.

Veleučilište u Karlovcu
Stručni studij prehrambena tehnologija
Prerada mlijeka

Dario Kružić

Mikrobiološka kontrola proizvoda od mesa

Završni rad

Mentor: dr.sc. Bojan Matijević, prof. v. š.

Broj indeksa studenta: 0314608004

Karlovac, rujan 2022.

Ovaj Završni rad posvećujem svojoj obitelji: Teni, Mariji, Marti i supruzi Kseniji. Hvala im na podršci, pomoći i razumijevanju za uskraćene zajedničke trenutke tijekom studija.

Zahvaljujem se i svima koji su mi pomogli i pridonosili izradi ovog Završnog rada svojim savjetima, preporukama i svim ohrabrenjima.

Posebno hvala mentoru dr.sc.Bojanu Matijeviću, prof.v.š.

IZJAVA O AUTENTIČNOSTI ZAVRŠNOG RADA

Ja, **Dario Kružić**, ovime izjavljujem da je moj završni rad pod naslovom **Mikrobiološka kontrola proizvoda od mesa** rezultat vlastitog rada i istraživa te se oslanja na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Ni jedan dio ovoga rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan iz necitiranih radova i ne krši autorska prava.

Sadržaj ovoga rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenoga i nakon obrane uređenoga rada.

Karlovac, 29. rujan 2022.

Dario Kružić

Veleučilište u Karlovcu
Odjel prehrambene tehnologije
Stručni studij prehrambena tehnologija

Završni rad

Znanstveno područje: **Biotehničke znanosti**
Znanstveno polje: **Prehrambena tehnologija**

MIKROBIOLOŠKA KONTROLA PROIZVODA OD MESA

Dario Kružić

Rad je izrađen: Veleučilište u Karlovcu
Mentor: dr. sc. Bojan Matijević, prof. v. š.

Sažetak

Mikroorganizmi sudjeluju u proizvodnji hrane, ali postoji i grupa mikroorganizama koja je kvareći, narušavajući njezina nutritivna i senzorska svojstva. Uz mikroorganizme kvarenja mogu se pronaći i patogeni mikroorganizmi koji ugrožavaju zdravlje potrošača. Kako bi spriječili kvarenje i zaštitili potrošača potrebno je provesti mikrobiološku kontrolu hrane, pazeći pri tome na mikroorganizme indikatore koji su specifični za određenu grupu namirnica. Cilj ovoga rada bio je istražiti mikrobiološku ispravnost narezaka 6 različitih vrsta salama pakiranih u modificiranoj atmosferi i to nakon pakiranja i 85 dana čuvanja pri 4°C (istek roka trajnosti). Mikroorganizmi indikatori odabrani su prema Uredbi Komisije (EZ) br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu i Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu (2011). Svi testirani uzorci narezanih salama pakiranih u modificiranoj atmosferi udovoljavali su mikrobiološkim kriterijima, nije uočena niti jedna nesukladnost, nakon pakiranja i nakon 85 dana čuvanja.

Broj stranica: 26
Broj slika: 5
Broj tablica: 6
Broj literaturnih navoda: 29
Broj priloga: -
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: kontrola kvalitete, mikrobiološka ispravnost, pakiranje, salama, trajnost

Datum obrane: 29. rujna 2022.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. dr. sc. *Marijana Blažić*, prof.v.š
2. dr. sc. *Jasna Halambek*, v. pred.
3. dr. sc. *Bojan Matijević*, prof.v.š.
4. dr. sc. *Sandra Zavadlav*, prof.v.š. pred. (zamjena)

Rad je pohranjen u knjižnici Veleučilišta u Karlovcu, Trg J.J. Strossmayera 9, 4700 Karlovac, Hrvatska.

BASIC DOCUMENTATION CARD

**Karlovac University of Applied Sciences
Department of Food Technology
Professional Study of Food Technology**

Final paper

**Scientific Area: Biotechnical Sciences
Scientific Field: Food Technology**

MICROBIOLOGICAL CONTROL OF MEAT PRODUCTS

Dario Kružić

Final paper performed: Karlovac University of Applied Sciences
Supervisor: Ph.D. *Bojan Matijević*, college prof.

Abstract

Microorganisms engage in the production of food, however, there's also a group of microorganisms that harm food by destroying its nutritional and sensory characteristics. Along with spoilage microorganisms, pathogenic microorganisms that pose a hazard to a consumer's life can also be found. To prevent spoilage and protect the consumer, it is required to conduct microbiological control of food, minding the indicator microorganisms which are typical for a given category of food. This work aims to examine the microbiological accuracy of 6 different types of salami packaged in a modified atmosphere, after packaging and 85 days of preservation at 4°C (end of expiration date). Indicator microorganisms were selected according to Commission Regulation (EZ) no. 2073/2005 on microbiological criteria for food and the Guide for microbiological criteria for food (2011). After packaging and 85 days of preservation, there was no non-compliance observed and all tested samples of sliced salami packaged in a modified atmosphere satisfied the microbiological criteria.

Number of pages: 26

Number of figures: 5

Number of tables: 6

Number of references: 26

Original in: Croatian

Key words: contamination monitoring, expiration date, packaging, quality control, salami

Date of the final paper defense: 29 September 2022

Reviewers:

1. Ph.D. *Marijana Blažić*, collage prof.
2. Ph.D. *Jasna Halambek*, sen. lecturer
3. Ph.D. *Bojan Matijević*, collage prof.
4. Ph.D. *Sandra Zavadlav*, collage prof. (substitute)

Final paper deposited in: Library of Karlovac University of Applied Sciences, J.J.Strossmayer Square No. 9, Karlovac, Croatia.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Mikrobiološki problemi mesa i proizvoda od mesa	2
2.2. Patogeni mikroorganizmi u mesu.....	3
2.2.1 Bakterije iz roda <i>Salmonella</i>	3
2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	5
2.2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	6
2.2.4 <i>Campylobacter jejuni</i>	7
2.2.5. Bakterije iz roda <i>Yersinia</i>	8
2.2.6. Sulfitreducirajuće klostridije.....	9
2.3. Načini suzbijanja kvarenja mesa i proizvoda od mesa	10
2.3.1. Hlađenje	11
2.3.2. Pakiranje u vakuumu i modificiranoj atmosferi.....	11
2.3.3. Termička obrada u ovitcima i pasterizacija	11
2.3.4. Ionizirajuće zračenje.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. Materijali.....	13
3.1.1. Izolacija i određivanje <i>Salmonella</i> sp.	13
3.1.2. Izolacija i određivanje <i>Escherichia coli</i>	13
3.1.3. Izolacija i određivanje <i>Listeria monocytogenes</i>	13
3.1.4. Izolacija i određivanje sulfitreducirajućih klostridija.....	13
3.1.5. Izolacija i određivanje <i>Staphylococcus aureus</i>	13
3.2. Metode rada	14
3.2.1. Odabir i izuzimanje uzoraka	14
3.2.2. Odabir mikrobioloških analiza	15
3.2.3. Postupak izolacije i određivanje <i>Salmonella</i> sp.	15

3.2.4. Postupak izolacije i određivanje <i>Escherchia coli</i>	15
3.2.5. Postupak izolacije i određivanje <i>Listeria monocytogenes</i>	15
3.2.6. Postupak izolacije i određivanje sulfitreducirajućih klostridija	16
3.2.7. Postupak izolacije i određivanje <i>Staphylococcus aureus</i>	16
3.2.8. Obrada podataka.....	16
4. REZULTATI	17
5. RASPRAVA	22
6. ZAKLJUČCI	23
7. LITERATURA	24

1. UVOD

Meso je kao nezamjenjiv izvor proteina, masti, vitamina, mineralnih tvari i drugih nutritivno vrijednih sastojaka. Pod mesom na tržištu ili u preradi podrazumijeva se mišićje (ili mišićno tkivo) s kožom ili bez nje, ovisno o vrsti stoke, peradi ili divljači, s pripadnim masnim i vezivnim tkivom, kostima i hrskavicama, krvnim i limfnim žilama, limfnim čvorovima i živcima u prirodnoj vezi (Narodne novine, 2007). Zbog svog kemijskog sastava, meso je vrlo pogodan supstrat za rast različitih mikroorganizama. Stoga, meso je namirnica koja se vrlo lako kvari ukoliko nije pravilno pohranjena, obrađena i pakirana, a vrlo brzo može postati i opasna za konzumaciju. Mikroorganizmi mesa, kao i ostalih namirnica, mogu se podijeliti u tri osnovne skupine: korisni, štetni i patogeni. Korisni mikroorganizmi svojim metabolizmom sudjeluju u procesima prerade i sazrijevanja proizvoda (npr. bakterije mliječne kiseline). Štetni mikroorganizmi dovode do kvarenja mesa te rastom i enzimskim reakcijama uzrokuju degradaciju arome, teksture i boje mesa. Patogeni mikroorganizmi uzrokuju različite bolesti koje mogu biti manje ili više opasne po život (Kegel i sur., 2012; Ray i Bhunia, 2014).

Cilj ovoga rada bio je istražiti mikrobiološku ispravnost narezaka 6 različitih vrsta salama pakiranih u modificiranoj atmosferi i to nakon pakiranja i 85 dana čuvanja pri 4°C (istek roka trajnosti). Mikroorganizmi indikatori odabrani su prema Uredbi Komisije (EZ) br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu i Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu (2011).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Mikrobiološki problemi mesa i proizvoda od mesa

Kvarenje se može opisati kao izostanak pouzdane, svrhovite i djelotvorne kakvoće. Kada je namirnica pokvarena, njezine osobine su promijenjene tako da tijekom dužeg vremenskog razdoblja nije upotrebljiva (Duraković i sur., 2002). Te promjene mogu biti uzrokovane oštećenjima, isušivanjem, promjenom boje, starošću ili užeglošću mesa, ali najčešće se pojavljuju kao rezultat djelovanja mikroorganizama. Kvarenje mesa kao rezultat rasta bakterija odvija se u dva stadija. Prvi stadij u naseljavanju i rastu uključuje slabo pričvršćivanje mikrobnih stanica na površinu, odnosno, reverzibilna adsorpcija koja je uzrokovana van der Waalsovima silama ili nekim drugim fizičko-kemijskim faktorom. Drugi stadij je ireverzibilno pričvršćivanje što uključuje tvorbu glikokaliksa, izvanstaničnog polisaharidnog sloja koji ima bitnu funkciju kod bakterijskih stanica (Rogina, 2021).

Mikroorganizme možemo podijeliti na korisne, štetne i patogene (Kegalj i sur., 2012). Brojnost i vrsta mikroorganizama prisutnih na površini mesa mogu značajno utjecati na sigurnost, kvalitetu i rok trajanja proizvoda. Općenita karakteristika mikrobnog rasta je da ne možemo točno golim okom odrediti kada je taj proces započeo. Neki od faktora koji nam ukazuju na kvarenje mesa jesu promjena boje, promjena sastava, neobičan miris, sluzavost, itd. Faktori koji utječu na pričvršćivanje bakterija su tip površine, faza rasta, temperatura, pokretljivost, prisustvo ostalih vrsta bakterija. Smatra se da najviše bakterija na mesu potječe s kože. U početku, površina tkiva ispod kože ne sadrži nikakve bakterije, ali nakon izlaganja okolini vrlo lako može doći do kontaminacije bakterijama iz okoliša. Nakon uklanjanja kože u procesu obrade mesa, bakterije se prenose iz aerosola i prašine te prilikom dodira s rukama radnika. Također, mikroorganizmi dospijevaju na površinu trupa prilikom vađenja utrobe, a kontaminacija se u tom slučaju pojavljuje ukoliko je probijen probavni sustav ili ako je fekalni materijal iz rektuma došao u dodir s trupom. Osim bakterija s kože i iz utrobe, moguća su onečišćenja bakterijama koje se nalaze u okolini gdje se provodi prerada – s podova, zidova, dodirnih površina, noževa i ruku radnika. U slučaju da se ne zadovolje mikrobiološki standardi u mesnoj industriji prilikom prerade mesa doći će do gubitka kvalitete, kraćeg roka trajanja, ekonomskih gubitaka, a također može se uzrokovati trovanje hranom kod ljudi što u najgorem slučaju može izazvati smrt (Rogina, 2021).

Primarna mikroflora mesa rezultat je načina klanja i obrade trupa, mikroorganizmi se s vanjskih površina životinje i njezinog probavnog sustava prenose na trup zbog neadekvatne

higijene radnika, opreme i proizvodnog pogona. U cilju sprječavanja treba se primijeniti dobra higijenska praksa i uspostaviti HACCP sustav u proizvodnom pogonu.

Kvarenje mesa i proizvoda od mesa događa se uslijed biokemijske aktivnosti mikroorganizama koji rastu u mesnim proizvodima. Zbog senzorskih promjena (teksture, mirisa, vanjskog izgleda i okusa) potrošač može lako posumnjati da je došlo do rasta neželjenih mikroorganizama. Upravo ove promjene štite milijune ljudi od bolesti koje uzrokuju patogene bakterije. Unatoč tome, senzorske promjene koje se događaju uslijed mikrobiološkog kvarenja mesa i proizvoda od mesa uočljive su tek kad njihov broj dosegne otprilike 10^7 CFU/g. Ove promjene događaju se kao posljedica razgradnje različitih sastojaka od strane mikroorganizama – razgrađuju se šećeri, kompleksni ugljikohidrati, proteini i masti. TVC (Total viable count) broj je koji predstavlja koncentraciju mikroorganizama na nekom uzorku i ovisno o vrijednosti tog broja pojavljuju se određene vizualne promjene (Hui, 2012).

Mikroorganizmi koji se najčešće pojavljuju na sirovom mesu i proizvodima od mesa uzrokuju infekcije i intoksikacije su *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *C. botulinum*, *Bacillus cereus* i mnoge druge (Hui, 2007; Hui, 2012).

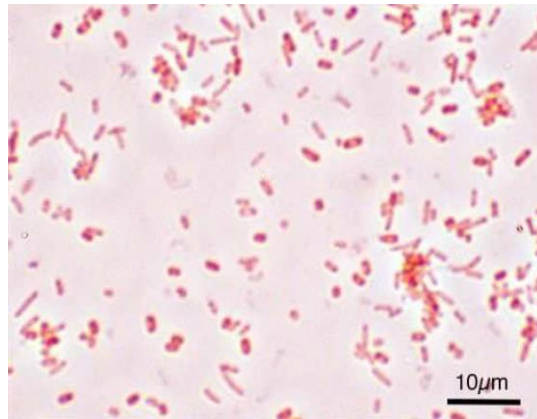
2.2. Patogeni mikroorganizmi u mesu

Zoonoze su zarazne bolesti koje se prenose sa životinja na ljude i pritom predstavljaju veliku prijetnju za zdravlje (Chlebicz i Slizewska, 2018). Najčešće patogene bakterije koje se povezuju s ovim bolestima su *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* i *Listeria monocytogenes*, a 2010. je prema podacima WHO (2020) bilo zabilježeno 350 000 slučajeva zaraze koji se povezuju upravo s patogenima.

2.2.1 Bakterije iz roda *Salmonella*

Bakterije iz roda *Salmonella* pripadaju enterobakterijama, gram negativne su i nesporogene. Od otprilike 2300 opisanih serotipova salmonela, većina njih ima mogućnost kretanja. *Salomonella* spp. raste u temperaturnom rasponu od 5 do 45°C, a optimalnom temperaturom za njezin rast smatra se oko 37°C. pH vrijednosti kod kojih može rasti kreće se od 4 do 9 pH jedinica, dok minimalna pH vrijednost za rast ovisi o soju mikroorganizma. Osim toga, što smo bliže optimalnoj temperaturi za rast, organizam će se lakše prilagoditi na širi raspon pH vrijednosti. Zatim, važan nam je i aktivitet vode (a_w), *Salmonella* se brzo razmnožava u okolini čija se a_w vrijednost kreće od 0,945 do 0,999.

Salmonella sp. obitava u probavnom sustavu ljudi i životinja, a inficirani organizmi fecesom i urinom kontaminiraju okoliš ovom grupom bakterija. U okolišnim uvjetima može obitavati i do nekoliko mjeseci ako nije izložena ekstremno visokoj temperaturi ili suncu. Budući da je manje od 1% serotipova salmonela vezano uz specifičnu vrstu organizma gdje mogu preživjeti, to za posljedicu ima široku rasprostranjenost ovih bakterija. Serotipovi koji se isključivo pojavljuju kod jedne vrste živog organizma su npr. *S. typhi* kod ljudi, *S. dublin* kod goveda, *S. pollorum* u piletini.



Slika 1. Mikroskopski prikaz bakterije iz roda *Salmonella* (Özkalp, 2012).

Vrlo ju često povezujemo s mesom i mesnim proizvodima te je ona prirodno prisutna mikroflora svježeg mesa, a njezina brojnost ovisi o više faktora – vrsti životinje, uvjetima držanja prije klanja i uvjetima u proizvodnom procesu. Studije su pokazale da je 30% pilećeg mesa, 15% svinjskog mesa i oko 3% govedine, koje se plasira na tržište, kontaminirano *Salmonellom* što ne mora nužno značiti da će to uzrokovati infekciju jer je najčešće riječ tek o nekoliko stotina stanica (Doyle i Cliver, 1990).

Bolesti uzrokovane salmonelom nazivamo salmoneloze, a 4 su glavna čimbenika koja pogoduju njihovom širenju – neprikladna temperatura skladištenja, neadekvatna termička obrada, korištenje kontaminiranog sirovog mesa i unakrsna kontaminacija kao posljedica loše higijenske prakse za vrijeme proizvodnje i pripreme hrane. Prema broju zabilježenih slučajeva koji su prijavljeni, salmonelozu smatramo jednom od najčešćih bolesti koja se prenosi kontaminiranom hranom. Inkubacija traje od 8 do 72 sata, ali prvi simptomi najčešće se pojave u razdoblju od 12 do 48 sati. Najčešći simptomi su bol u želucu, povraćanje, proljev, glavobolja, opća slabost, a moguća je i temperatura oko 38-39°C. Trajanje infekcije najčešće je od 2 do 5 dana, a ovisi i o imunološkom sustavu domaćina kojeg napada ovaj mikroorganizam. Smrtnost je zanemarivo niska, 0,1 do 0,2%, a terapija antibioticima najčešće se ne primjenjuje zbog

visoke rezistencije salmonela na iste. Studije su pokazale da se *Salmonella* sp., nakon nestanka simptoma, kod 50% osoba u probavnom sustavu zadržava još 2 do 4 tjedna, a kod 10-20% zaraženih u fecesu ostaje i do 8 tjedana. Kod malog broja slučajeva *Salmonella* ostaje prisutna u fecesu do 3, a u nekim slučajevima i do 6 mjeseci poslije nestanka simptoma (Doyle i Cliver, 1990).

Kako bi spriječili širenje *Salmonella* sp. najvažnija stvar je da izbjegnemo kontaminaciju vezanu uz sirovo meso koje nije prošlo termičku obradu. Važno je da radnici vode računa o higijeni i pravilnom rukovanju sa sirovim mesom, što možemo poboljšati njihovom edukacijom i nadzorom njihova rada. Osim toga, bitno je da su uređaji i oprema pravilno očišćeni te je potrebno pratiti je li propisan način čišćenja učinkovit. Unakrsnu kontaminaciju sprječavamo tako da pažljivo koristimo opremu, odnosno ne koristimo isti pribor za sirovo i za termički obrađeno meso. Brzim hlađenjem do temperature ispod 7°C te nakon toga skladištenje kod temperatura nižim od 4°C može se spriječiti rast salmonela prilikom skladištenja hrane. Isti učinak imaju temperature iznad 60°C koje inhibiraju njen rast.

2.2.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli dio je normalne crijevne mikroflore kod čovjeka i većine toplokrvnih životinja, a najčešće je prisutna u fecesu. Do zaraze dolazi konzumacijom kontaminirane hrane ili vode, direktnim kontaktom sa zaraženom životinjom ili kontaktom sa zaraženom osobom. Istraživanja su pokazala da je od 1 do 3% svježe govedine, svinjetine, piletine i janjetine, koje se prodaju u trgovačkim centrima, kontaminirano s bakterijom *E. coli* O157:H7.



Slika 2. Mikroskopski prikaz stanica *E. coli* (Islam i sur., 2016).

Postoje 4 vrste *E. coli* koji se smatraju odgovornima za bolesti koje se povezuju s hranom – enteropatogena *E. coli*, enteroinvazivna *E. coli*, enterotoksična *E. coli* i

enterohemoragična *E. coli*. Prve 3 vrste – enteropatogen, enteroinvazivan i enterotoksičan tip *E. coli* najčešće uzrokuju ozbiljnija oboljenja u zemljama u razvoju, gdje su higijenski standardi niski. Četvrti tip je *E. coli* O157:H7 o kojoj najčešće govorimo kada pričamo o bolestima uzrokovanim hranom. Kod ovog tipa *E. coli* tri su glavna simptoma – hemoragičan kolitis, hemolitično uremičan sindrom i trombocitička trombocitopenična purpura (TTP). Hemoragičan kolitis vrsta je gastroenteritisa kod kojeg se pojavljuje krv u stolici. Kod drugog simptoma, hemolitično uremičnog sindroma dolazi do zatajenja bubrega iz razloga što krvni ugrušci začepi tubule u bubregu, a to dovodi do nakupljanja otpadnih tvari u krvi. To može rezultirati smrću kod djece, a isto tako i kod starijih osoba. Trombocitička trombocitopenična purpura uzrokuje oštećenje mozga, smrtnost je visoka, ali ovaj simptom se rijetko razvija kod zaraze sa *E. coli* O157:H7. *E. coli* O157:H7 prvi puta je izolirana u SAD-u 1975. godine, a kasnije je većina trovanja hranom povezana upravo sa serotipom O157:H7. Unatoč tome, serotipovi O26, O111, O103 i O121 također su povezivani s krvavom stolicom, hemoragičnim kolitisom i hemolitičkim uremičkim sindromom.

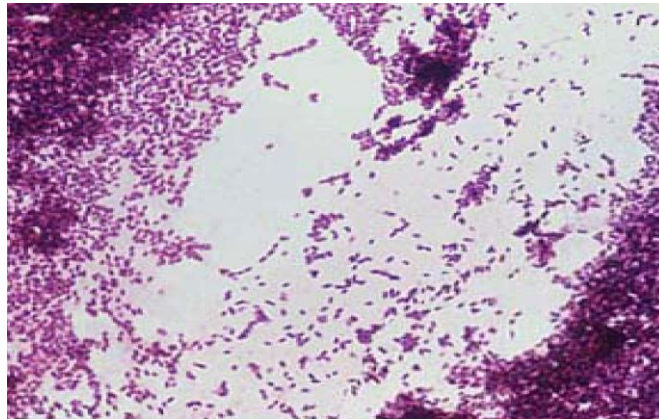
2.2.3. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes jedna je od sedam vrsta iz roda *Listeria*, a jedina se povezuje s bolestima koje uzrokuje kod čovjeka i kod životinja. Ona je gram pozitivna, nesporogena, fakultativno anaerobna ili aerobna bakterija. Katalaza je pozitivna, Voges- Proskauer pozitivna i može proizvesti β -hemolizu na krvnom agaru. Raste u širokom temperaturom rasponu, optimalna temperatura za rast *L. monocytogenes* je od 30 do 37°C, a budući da spada u skupinu psihrotrofnih bakterija dobro raste i kod niskih temperatura. *Listeria* može rasti u temperaturnom rasponu od 1 do 45°C, što znači da je njezin rast moguć i prilikom skladištenja mesa u hladnjaku. pH vrijednosti kod kojih obično raste kreće se od 5,2 do 9,6 pH jedinica (Johnson i sur., 1990).

L. monocytogenes široko je rasprostranjena u okolišu, a ljudi u doticaj s njom dolaze na različite načine. Izolirana je iz zemlje, prašine, stočne hrane, vode te ljudskog i životinjskog fecesa. Istraživanja su pokazala da je zavidan postotak životinja koje žive u stadima bio zaražen bez da su pokazivali simptome. Prisutnost *L. monocytogenes* u mesu i mesnim proizvodima ovisi o brojnim faktorima – geografski čimbenici, način uzgoja, uvjetima tijekom proizvodnog procesa, načinu i temperaturi skladištenja. Vrlo je važna dobra higijenska praksa, nadzor proizvodnog procesa i prikladna termička obrada kako bi spriječili širenje ovog patogena.

Listerioza je bolest uzrokovana bakterijom *L. monocytogenes*, a većina zaraženih ne

pokazuje znakove bolesti. Simptomi se manifestiraju kod imunokompromitiranih osoba, trudnica i njihovih fetusa te starijih osoba, a najčešće su to malaksalost, proljev i blaga temperatura. Prisutnost listerije na svježem mesu najčešće predstavlja opasnost u slučajevima kada meso koje konzumiramo nije dovoljno kuhano ili ako je došlo do unakrsne kontaminacije. Prema podacima, 90% slučajeva koji se povezuju s ovom bakterijom bilo je uzrokovano konzumacijom „ready to eat“ mesnih proizvoda (Fernandes, 2009).



Slika 3. Mikroskopski prikaz stanica *L. monocytogenes* (Nwachukwu i sur., 2012).

2.2.4 *Campylobacter jejuni*

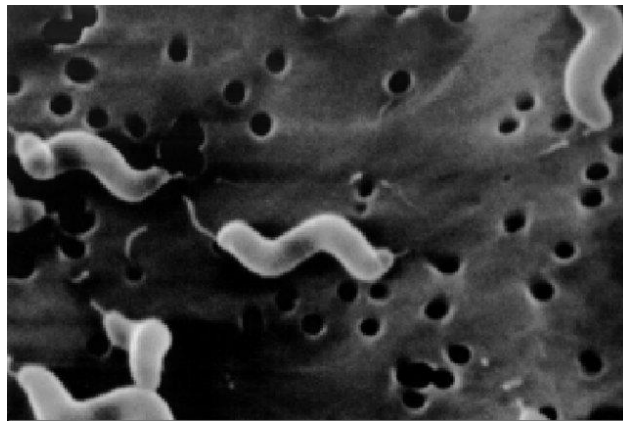
Campylobacter jejuni je gram negativna bakterija iz roda *Campylobacter* koja se pokreće se pomoću flagela, mikroaerofilna je, nesporeotvorna te katalaza i oksidaza pozitivna. Budući da je mikroaerofilna, za rast zahtjeva da koncentracija O₂ bude oko 5%, a koncentracija CO₂ oko 10%. Može rasti u temperaturnom rasponu od 30 do 46°C, dok je optimalna temperatura za njezin rast od 40 do 42°C što ju svrstava u skupinu termofilnih mikroorganizama. pH vrijednosti pri kojima raste kreće se od 4,9 do 9,5, iako najbolje raste u rasponu od 6 do 8 pH jedinica.

Campylobacter jejuni nađena je u ustima, crijevima i u reproduktivnim organima kod ljudi i životinja, a često ju nalazimo na proizvodima životinjskog porijekla jer dolazi do kontaminacije u tijeku proizvodnog procesa. Ova bakterija nema velike izgleda za preživljavanjem izvan domaćina jer kada dospije u okoliš više se ne umnožava budući da joj za rast pogoduju temperature od 30°C i više. U nepovoljnim uvjetima ima sposobnost stvaranja biofilma kojim osigurava hranjive tvari i zaštitu te omogućava preživljavanje.

Vrlo male količine bakterije *Campylobacter jejuni* izazivaju gastrointestinalne smetnje, infektivna doza koja je potrebna je tek 500 mikroorganizama po gramu mesa, a upravo je ona

najčešći uzrok bakterijskog gastroenteritisa kod ljudi.

Istraživanja u osam bolnica diljem SAD-a pokazala su da se upravo *Campylobacter jejuni* izolira iz fecesa češće nego *Salmonella* i *Shigella* zajedno, a isto tako utvrđeno je da *Campylobacter* spp. uzrokuje više od 500 miliona infekcija diljem svijeta godišnje (Kashoma i sur., 2016). Period inkubacije traje od 1 do 7 dana, a simptomi su vrlo slični ostalim gastroenteritisima uzrokovanim patogenima, uključuju proljev, bol u trbuhu, temperaturu, mučninu i povraćanje. Većina bolesnika oporavi se u roku od tjedan dana, a tek u 1% bolesnika kampilobakterioza uzrokuje ozbiljnije posljedice.



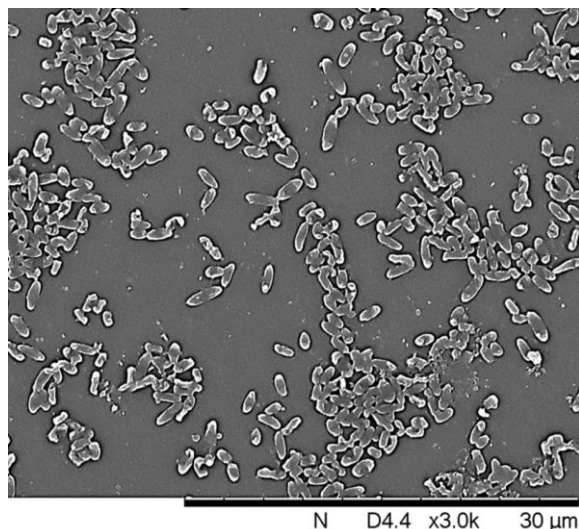
Slika 4. Prikaz bakterije *C. jejuni* na pretražnom elektronskom mikroskopu (Altekruse i sur., 1999).

Najčešći prijenosnik *C. jejuni* je perad budući da su istraživanja potvrdila da je ova bakterija prisutna u 30 do 100% uzetih uzoraka njihova fecesa (McClure, 2000). Najviše ju povezujemo sa sirovom hranom životinjskog porijekla, 5% sirovog crvenog mesa i 30% piletine u trgovačkim lancima kontaminirano je ovom bakterijom (Levak, 2015).

2.2.5. Bakterije iz roda *Yersinia*

Opisano je ukupno 17 vrsta iz roda *Yersinia* koji pripada obitelji *Enterobacteriaceae*. Od toga su samo 3 vrste patogene – *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* i *Y. enterocolitica*. *Yersinia enterocolitica* jedina uzrokuje gastrointestinalne probleme kod ljudi, to je gram negativna bakterija, fakultativni anaerob, oksidaza je pozitivna i katalaza negativna. Pokretljivost joj ovisi o temperaturi, kod 37°C nepokretna je, dok se pri temperaturama nižim od 30°C pokreće pomoću flagela. Temperature kod kojih raste *Y. enterocolitica* kreću se u rasponu od 1 do 44°C, dok je optimalna temperatura za rast od 25 do 32°C. pH vrijednosti u kojima može rasti kreću se od 4,4 do 9 pH jedinica, a optimalan pH je u rasponu od 7 do 8.

Različiti serotipovi karakteristični su za različite dijelove svijeta, u Europi su najrasprostranjeniji serotipovi O3 i O9 koji se najviše povezuju sa svinjama. Kod svinja je najčešće nalazimo u usnoj šupljini i crijevima. Osim kod svinja, *Yersinia enterocolitica* nađena je kod goveda, peradi, koza, ovaca i divljih životinja. Budući da je ova bakterija psihrotrofna može preživjeti na niskim temperaturama i meso koje skladištimo u hladnjaku također može prouzrokovati infekciju. U Australiji je zabilježen rast *Y. enterocolitice* izolirane iz svježeg mesa, a brojke su pokazale da je učestalija čak od *Salmonelle* (Fernandes, 2009).



Slika 5. Izgled stanica bakterije *Y. enterocolitica* u biofilmu S-oblika (Lenchenko i sur., 2019).

Bolest uzrokovana bakterijom *Y. enterocolitica* naziva se jersenioza. Period inkubacije najčešće traje od 3 do 7 dana, simptomi koji se javljaju ovise o općem stanju pacijenta, a oni najčešći su bol u trbušnoj šupljini, proljev, povraćanje, temperatura, glavobolja te ju je nemoguće razlikovati od drugih infekcija uzrokovanih patogenim mikroorganizmima bez odgovarajućih seroloških testova (Fernandes, 2009). Da bi došlo do bolesti potreban je veći broj mikroorganizama nego je inače slučaj kod infekcija uzrokovanih patogenima, $10^8 - 10^9/g$ mesa. Infekcije uzrokovane *Y. enterocoliticom* praćene su u razvijenim zemljama, ali u nerazvijenim afričkim zemljama i Bliskom istoku najčešće prođu nezapaženo tako da točan broj slučajeva infekcije ovom bakterijom nije poznat.

2.2.6. Sulfitreducirajuće klostridije

Bakterije roda *Clostridium* obitavaju u tlu, prašini, mulju i probavnom sustavu ljudi i životinja. Razmnožavaju se u anaerobnim uvjetima, stoga su zdrava tkiva otporna na njihovo djelovanje, a bolest tkiva zaraženog bakterijom ovog roda javit će se tek nakon što je tkivo bilo

oštećeno nekom drugom infekcijom. Sulfitreducirajuće klostridije je naziv koji u praksi označava sve sulfitreducirajuće, gram-pozitivne, anareobne bakterije (Prukner-Radovčić, 1994). *Clostridium* vrste podrazumijevaju *Clostridium perfringens* i *Clostridium botulinum*, dvije vrste koje najčešće obitavaju u namirnicama. Kako je ranije rečeno, radi se o anaerobnim bakterijama koje su izrazito otporne na nepovoljne uvjete, visoka i niska temperatura ili kemijska obrada te sušenje, budući da stvaraju spore. *Clostridium perfringens* predstavlja rizik u namirnicama kao što su mljeveno meso, piletina, mlijeko i mliječni proizvodi, u kojima stvara toksine koji uzrokuju trovanje hranom. *Clostridium botulinum* stvara toksine koji dovode do izuzetnog biološkog otrovanja, a sama konzumacija namirnicama kontaminiranih ovom bakterijom može dovesti do smrtnog ishoda, a rizične namirnice su konzerve i sušeno meso (Ray i Bhunia, 2014).

2.3. Načini suzbijanja kvarenja mesa i proizvoda od mesa

Rast mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje mesa i proizvoda od mesa može se spriječiti promjenom vanjskih čimbenika kao npr. temperatura prostorija u kojima je proizvod pohranjen. Trajnost prerađenog mesa može se produljiti primjenom postupaka prerade i dodataka koji sprječavaju rast mikroorganizama kvarenja. Prisutnost velikog broja bakterija na površini proizvoda prije skladištenja rezultira smanjenom trajnošću proizvoda. Ako je početni broj mikroorganizama kvarenja na proizvod velik, brže će doći do kvarenja. Velike populacije mikroorganizama na površinama trupova u formi biofilma također mogu omogućiti pričvršćivanje velikih brojeva bakterija. Pričvršćene se bakterije teže odstranjuju pranjem ili drugim postupcima dekontaminacije i mogu biti otpornije na temperaturne postupke tijekom prerade. Ako su mikrobne populacije prekomjerno visoke, mikroorganizmi kvarenja, a također i patogeni, mogu preživjeti postupke prerade, a u neadekvatnim uvjetima skladištenja brzo se i obilato razmnožiti i proizvesti pogreške u proizvodu. Pranje vodom, uranjanje i sustavi za prskanje bili su korišteni radi uklanjanja fizičke kontaminacije s trupova. I dok se upotreba tople i hladne vode pokazala primjerenom za uklanjanje fizičkih nečistoća, za smanjenje mikrobne populacije značajna je bila povišena temperatura vode (Rogina, 2021). Prskanje s vodom pod visokim pritiskom također pospješuje uklanjanje bakterija. Pranje prskanjem upotrebljava se u preradi peradi nakon klanja i uklanjanja utrobe radi uklanjanja organskog materijala i smanjuje mikrobnu populaciju prije nego se trupovi uranjaju u hladnu vodu. Osim pranja, upotrebljavaju se i antimikrobni kemijski spojevi poput klora i organskih kiselina. Primjena strogih postupaka sanitacije, što uključuje organske kiseline u vodi za ispiranje i kontrolu tijekom rukovanja, pakiranja u vakuumu i temperature skladištenja, dokazano produljuje trajnost trupova više

konvencionalni postupci prerade.

2.3.1. Hlađenje

Temperatura je najvažniji okolišni čimbenik koji utječe na rast mikroorganizama proizvodima od mesa. Ukoliko se temperatura snizi ispod optimalne za rast mikroorganizama, produljuje se generacijsko vrijeme i vrijeme trajanja lag-faze (faza prilagodbe stanica na nove uvjete), stoga je i rast sporiji.

Ukoliko je temperatura smanjena na minimalnu temperaturu rasta, produljuje se lag-faza sve do prestanka razmnožavanja. Temperatura pri kojoj se proizvodi od mesa pohranjuju konačno utječe na vrstu mikroorganizama koji će porasti i konačno uzrokovati kvarenje, kao i na iznose pri kojima će rast biti vidljiv.

2.3.2. Pakiranje u vakuumu i modificiranoj atmosferi

Trajnost mesa i proizvoda od mesa može se produljiti pakiranjem u vakuumu ili modificiranoj atmosferi. Pakiranje u modificiranoj atmosferi uključuje pohranjivanje u atmosferi visoke koncentracije kisika ili sastava atmosfere različitog od sastava zraka. U proizvodima pakiranim u vakuumu, zbog uklanjanja zraka iz pakiranja i polagane difuzije atmosferskog kisika, kroz barijeru filma s visokom koncentracijom kisika nalazi se samo zaostali kisik. U svježim mesnim proizvodima se rasporacijom u tkivima iskoristi preostali kisik u ambalaži i stvara se ugljični dioksid (Plazonić i sur., 2010).

2.3.3. Termička obrada u ovitcima i pasterizacija

Proizvodi od mesa mogu se termički obraditi u savitljivom plastičnom materijalu za pakiranje i tako pakirani raspačavati. Takvim pakiranjem izbjegava se unošenje mikroorganizama kvarenja nakon termičke obrade, a kao rezultat toga je duža trajnost proizvoda. Ukoliko se termički obrađeno meso izvadi iz pakiranja, potom preradi i raspodjeljuje radi raspačavanja, trajnost mu se smanjuje. U nekim se slučajevima može primijeniti površinska pasterizacija proizvoda od mesa nakon ponovnog pakiranja da bi se inaktivirali naknadno uneseni mikroorganizmi kvarenja. Takav proces tipično uključuje izlaganje površine proizvoda temperaturama od 82 do 96°C u vremenu od 30 s do 6 min.

2.3.4. Ionizirajuće zračenje

Ionizirajuće zračenje mesa povećava mikrobiološku sigurnost i kakvoću jer značajno

reducira populaciju patogenih mikroorganizama i mikroorganizama kvarenja. Učinkovitost samog procesa ovisi o dozi zračenja; veće doze ionizirajućeg zračenja značajnije će smanjiti broj mikrobne populacije (Herceg, 2009).

Doza ionizirajućeg zračenja mora inaktivirati 90% vegetativnih bakterijskih stanica i ukloniti sve patogene mikroorganizme. Ona može varirati ovisno o uvjetima prerade (temperatura, prisutnost ili izostanak zraka). U nekim istraživanjima je objavljeno produljenje trajnosti zračenog mesa od 14 do 21 dan, što je bilo ustanovljeno praćenjem mikroorganizama i promjenom senzorskih svojstava. Malim dozama ionizirajućeg zračenja uspješno se reducira broj patogenih mikroorganizama te se one mogu koristiti kao postupci pasterizacije za svježe meso (Lovrić, 2003).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Izolacija i određivanje *Salmonella* sp.

- Puferirana peptonska voda (Biohar)
- RVS bujon (Rappaport Vassiliadus Soy Borth, Biolife, Italija)
- MKTT bujon (Müller-Kauffmann tetrathionate broth; Biolife, Italija)
- XLD agar (Xylose Lysine Deoxycholate agar; Biolife, Italija)
- Api testovi

3.1.2. Izolacija i određivanje *Escherchia coli*

- TBX agar (Tryptone Bile X-glucuronide Agar, Biolife, Italija)

3.1.3. Izolacija i određivanje *Listeria monocytogenes*

- Listeria Fraser bujon (Listeria Fraser Broth Base; Biolife, Italija)
- $(\text{NH}_4)_5[\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7)_2]$ (suplement za Listeria Fraser bujon; Biolife, Italija)
- ALOA agar (Agar Listeria acc. to Ottaviani & Agosti agar; Biolife, Italija)
- ALOA suplement za obogaćivanje (Biolife, Italija)
- Oxford agar (BioMerieux, Francuska)
- Columbia agar (Columbia Agar +5% Sheep Blood, BioMerieux, Francuska)
- API testovi za *Listeria monocytogenes* (BioMerieux, Francuska)

3.1.4. Izolacija i određivanje sulfitreducirajućih klostridija

- TSC agar (TSC Agar Base, Biolife, Italija)

3.1.5. Izolacija i određivanje *Staphylococcus aureus*

- MDR (Mximum Recovery Diluent; Biolife, Italija)
- Telurit jajčana emulzija (Egg Yolk Tellurite Emulsion 50%; Biolife, Italija)
- Ani *S. aureus* Test (Ani Biotech Oy, Finska)
- Mozak- srce bujon (Brain Hearth Broth; Merck, Njemačka)
- Zečja plazma test (Rabbit Plasma Test wuth EDETA; Merck, Njemačka)

3.2. Metode rada

3.2.1. Odabir i izuzimanje uzoraka

Za istraživanje odabrano je 6 različitih vrsta salama koje su bile narezane i pakirane u modificiranoj atmosferi. Od svake vrste uzeto je po 5 uzoraka iz svake šarže odmah nakon pakiranja i ponovno po 5 uzoraka na kraju čuvanja (85 dana / 8°C). Plan uzorkovanja i analize prikazan je u tablici 1.

Tablica 1. Plan uzorkovanja narezane salame pakirane u modificiranoj atmosferi 0 dan i nakon 85 dana čuvanja pri 8°C.

Vrsta proizvoda	Oznaka šarže	Broj uzoraka	
		Nakon pakiranja	Nakon 85 dana čuvanja
Dalmatinska salama	1	5	5
	2	5	5
	3	5	5
	4	5	5
	5	5	5
Osječka salama	1	5	5
	2	5	5
	3	5	5
	4	5	5
	5	5	5
Čajna salama	1	5	5
	2	5	5
	3	5	5
	4	5	5
	5	5	5
Zimska salama	1	5	5
	2	5	5
	3	5	5
	4	5	5
	5	5	5
Kulen	1	5	5
	2	5	5
	3	5	5
	4	5	5
	5	5	5

3.2.2. Odabir mikrobioloških analiza

Mikrobiološke analize i odabir mikroorganizama proveden je prema kriterijima navedenim u Uredbi Komisije (EZ) br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu i Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu (2011).

3.2.3. Postupak izolacije i određivanje *Salmonella* sp.

Prisutnost *Salmonella* sp. utvrđena je postupkom prema HRN ISO 6579 – 1 (2017). Odvagalo se 25 g uzorka i homogenizira u puferiranoj peptonskoj vodi. Tako homogeniziran uzorak inkubiran je pri 37°C / 18 sati (predobogaćivanje). Nakon inkubacije otpipetiralo se 0,1 mL suspenzije i prenese u RVS bujon, te se ponovno otpipetirao 1 mL suspenzije i prenio u MKTT bujon (selektivno obogaćivanje). Inkubacija je provedena pri 45°C / 24 sata. Otpipetirao se obogaćeni uzorak RVS bujona i MKTT bujona i prenesen je na XLD agar te inkubiran pri 37 °C / 24 sata (inokulacija na čvrste podloge i indentifikacija). Ukoliko su na XLD agaru porasle kolonije, odabire se ciljana kolonija i testira biokemijskim nizom, a preostale kolonije se prenose sojin bujon, inkubiraju pri 37°C / 24 sata te se ponovo provodi indentifikacija biokemijskim nizom (potvrđivanje).

3.2.4. Postupak izolacije i određivanje *Escherichia coli*

Prisutnost *Escherichia coli* utvrđena je postupkom prema HRN ISO6579 – 1 (2001). Odvagalo se 20 g uzorka i preliveno je s 180 mL puferirane peptonske vode (osnovno razređenje). Iz dobivene suspenzije prenesen je 1 mL na Petrijevu zdjelicu i zaliven s TBX agarom te inkubiran pri 44°C / 18 – 24 sata. Nakon inkubacije izdvajaju se Petrijeve zdjelice s tipično plavim poraslim kolonijama i to one na kojima je poraslo od 150 do 300 kolonija.

3.2.5. Postupak izolacije i određivanje *Listeria monocytogenes*

Prisutnost *Listeria monocytogenes* utvrđena je postupkom prema HRN EN ISO 11290 – 1 (2017). Odvagalo se 25 g uzorka i preneseno je u 225 mL Fraser bujona te inkubirano na 30°C / 24 sata. Nakon inkubacije 1 mL suspenzije prenese se na ALOE agar i ponovno inkubira pri 37°C / 24 sata. Porasle kolonije potvrđuju se presađivanjem na kosom agaru, dokazivanjem katalazne aktivnosti, β- hemolize na krvnom agaru i biokemijskim nizom.

3.2.6. Postupak izolacije i određivanje sulfitreducirajućih klostridija

Prisutnost sulfitreducirajućih klostridija utvrđena je postupkom prema HRN ISO 152013 (2004). Iz uzorka napravljeno je osnovno razrjeđenje koje se zagrijava na 80°C / 10 minuta. Nakon toga se naglo ohladi i 1 mL se inokulira na Petrijevu zdjelicu te zalije s TSC agarom. Inkubacija se provodi pri 37 °C / 24 – 48 sati. Kao potvrđni test koristi se biokemijski nizom.

3.2.7. Postupak izolacije i određivanje *Staphylococcus aureus*

Prisutnost *Staphylococcus aureus* utvrđena je postupkom prema HRN ISO 6888 – 1 (2004). Odvagalo se 20 g uzorka i razrijedi s 180 mL MRD otopine. Sterilnom pipetom prenese se 0,1 mL dobivene suspenzije na Braid - Parker agar. Inokulum se pažljivo razvuče po površini agara štapiće po Dirigalskom pazeći pritom da se ne dotaknemo stjenke Petrijeve zdjelice. Inkubacija se provodi pri 35 – 37°C / 24 sata. Odabiru se tipične kolonije (crne, sive, konveksne, okružene čistom zonom) i testiraju se na koagulaza testom. Kolonije koje pokazuju pozitivnu reakciju koagulaza testa inokuliraju se u mozak – srce bujon i inkubiraju pri 35 – 37°C / 24 sata. Nakon inkubacije prenese se 0,1 mL suspenzije bujona u u Eppendorf epruvetu i doda 0,3 mL krvne plazme te inkubira na 35° - 37°C / 4 – 6 sati. Test koagulaza smatra se pozitivnim ukoliko je više od pola početnog volumena plazme u epruveti koagulirano.

3.2.8. Obrada podataka

Deskriptivna statistička analiza je provedena u Microsoft Office Excel-u 2018. Rezultati su prikazani u tablicama kao srednja vrijednost.

4. REZULTATI

Tablica 2. Mikrobiološka ispravnost narezane Dalmatinske salame (100 g) pakirane u modificiranoj atmosferi 0 dan i nakon 85 dana čuvanja pri 8°C.

Pokazatelj kakvoće	Oznaka šarže	Dani čuvanja	
		0 dan	85 dan
<i>Salmonella</i> sp.	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
<i>Escherichia coli</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
Sulfitoreducirajuće klostridije	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10

Tablica 3. Mikrobiološka ispravnost narezane Osječke salame (100 g) pakirane u modificiranoj atmosferi 0 dan i nakon 85 dana čuvanja pri 8°C.

Pokazatelj kakvoće	Oznaka šarže	Dani čuvanja	
		0 dan	85 dan
<i>Salmonella</i> sp.	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
<i>Escherichia coli</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
Sulfitoreducirajuće klostridije	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Staphylococcus aureu</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10

Tablica 4. Mikrobiološka ispravnost narezane Čajne salame (100 g) pakirane u modificiranoj atmosferi 0 dan i nakon 85 dana čuvanja pri 8°C.

Pokazatelj kakvoće	Oznaka šarže	Dani čuvanja	
		0 dan	85 dan
<i>Salmonella</i> sp.	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
<i>Escherichia coli</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
Sulfitoreducirajuće klostridije	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10

Tablica 5. Mikrobiološka ispravnost narezane Zimske salame (100 g) pakirane u modificiranoj atmosferi 0 dan i nakon 85 dana čuvanja pri 8°C.

Pokazatelj kakvoće	Oznaka šarže	Dani čuvanja	
		0 dan	85 dan
<i>Salmonella</i> sp.	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
<i>Escherichia coli</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
Sulfitoreducirajuće klostridije	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10

Tablica 6. Mikrobiološka ispravnost narezanog Kulena (100 g) pakiranog u modificiranoj atmosferi 0 dan i nakon 85 dana čuvanja pri 8°C.

Pokazatelj kakvoće	Oznaka šarže	Dani čuvanja	
		0 dan	85 dan
<i>Salmonella</i> sp.	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
<i>Escherichia coli</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
Sulfitoreducirajuće klostridije	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	< 10	< 10
	2	< 10	< 10
	3	< 10	< 10
	4	< 10	< 10
	5	< 10	< 10

5. RASPRAVA

Za istraživanje odabrano je 6 različitih vrsta salama koje su bile narezane i pakirane u modificiranoj atmosferi. Od svake vrste uzeto je po 5 uzoraka iz svake šarže odmah nakon pakiranja i ponovno po 5 uzoraka na kraju čuvanja (85 dana / 8°C). U svim uzorcima utvrđena je prisutnost bakterija *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, sulfitoreducirajuće klostridija i *Staphylococcus aureus*. Svi istraživani uzorci udovoljili su mikrobiološkim kriterijima (tablica, 2, 3, 4, 5 i 6.). *Salmonella* sp. i *Listeria monocytogenes* nisu pronađene niti u jednoj salami nakon pakiranja, niti nakon 85 dana čuvanja n 8°C. Isto tako nisu pronađene niti sporogene sulfitoreducirajuće klostridije. Bakterije *E. coli* i *S. aureus* nisu izolirane u istraživanim uzorcima, makar Vodič odobrava njihovu prisutnost i to < 10 CFU / g.

Valja naglasiti da su u ovom istraživanju analizirani industrijski proizvodi koji su već dugo prisutni na tržištu, proizvedeni kvalitetnom (i skupom) tehnologijom. Također, osoblje koje radi u proizvodnji ima adekvatno iskustvo i znanje. Međutim, ukoliko bi se analizirali proizvodi malih privatnih proizvođača obrtničkog ili poluindustrijskog tipa, a koji često ne raspolažu prikladnom tehnologijom, a osoblje im tek stječe iskustvo u ovoj dosta zahtjevnoj i osjetljivoj proizvodnji, vjerojatno bi dobili nešto drugačije rezultate.

Mikrobiološku ispravnost mesa i mesnih proizvoda treba pripisati primarno dobroj higijenskoj kakvoći svježeg sirovog mesa. Ne smijemo zanemariti utjecaj uporabe odgovarajuće proizvodne opreme i /ili nepravilnosti u njenoj primjeni, naročito u tehnološkom procesu, potom na pravilnu i temeljitost u provedbi mjera čišćenja, pranja i dezinfekcije opreme i prostora u pogonu kao i brigu za osobnu higijenu osoblja koje sudjeluje u proizvodnji.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju analize podataka mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Mikroorganizmi kvare meso i proizvode od mesa, a prisutnost patogenih mikroorganizama može ih činiti opasnim po život.
2. Istraživani uzorci salama bili su mikrobiološki ispravni nakon pakiranja i nakon 85 dana čuvanja na 8°C.
3. Samo odgovarajuća proizvodna oprema, pravilne i temeljne mjere čišćenja, pranja i dezinfekcije opreme i prostora u pogonu te briga za osobnu higijenu osoblja važni su za mikrobiološku ispravnost proizvoda.

7. LITERATURA

1. Altekruze, S.F. Stern, N.J. Fields, P.I., Swerdlow, D.L: (1999): *Campylobacter jejuni*—An Emerging Foodborne Pathogen, *Emerging Infectious Diseases*, 5 (1), 28 – 35.
2. Benussi-Skukan, A., Boroš, K., Brlek-Gorski, D., Grizelj, N. Hegedušić, P., Hengl, B., Humski, A., Karačić, T., Kovaček, I., Majić, K., Palčić-Jakopović, K., Putnik, P., Vazdar, R. (2011): *Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu*, 3. izmijenjeno izdanje, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, Zagreb.
3. Chlebicz A. i Slizewska K. (2018) Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **15**, 863.
4. Doyle M. P, Cliver D. O. (1990) *Salmonella, Foodborne Diseases*, Cliver D.O., Academic Press, San Diego, 188-189.
5. Duraković S., Delaš, F., Duraković, L. (2002): *Moderna mikrobiologija namirnica*, knjiga prva, Kugler, 9, 21-22, 40-41.
6. EZ (2005): Uredbi Komisije (EZ) br. 2073/2005.
7. Fernandes R. (2009): *Microbiology handbook: Meat products*, Leatherhead Food Research, 11-12.
8. Herceg, Zoran: (2009): *Procesi konzerviranja hrane – novi postupci*, Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb.
9. HRN EN ISO (2004): Mikrobiologija hrane i stočne hrane – Vodoravni postupak brojenja koagulaza pozitivnih stafilokoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste), Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
10. HRN EN ISO 11290 – 1 (2017): Mikrobiologija u lancu hrane – Horizontalna metoda dokazivanja i određivanje broja *Listeria monocytogenes* i drugih *Listeria* sp.
11. HRN EN ISO 15213 (2004): Mikrobiologija hrane i stočne hrane – Horizontalna metoda za brojenje sulfitoreducirajućih bakterija u anaerobnim uvjetima, Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
12. HRN EN ISO 16649 – 2 (2001): Mikrobiologija hrane i stočne hrane – Metoda brojenja beta-glucouronidasa pozitivne *Escherichia coli*, Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
13. HRN EN ISO 6579 – 1 (2017): Mikrobiologija u lancu hrane – Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizacija *Salmonella*, Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

14. Hui, Y.H. (2007): Factors Affecting Food Quality: *A Primer, Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality*, Nollet, L.M.L (ur.), Blackwell Publishing, Iowa, 3 – 6.
15. Hui, Y.H. (2012): Sanitation Performance Standards, *Handbook of meat and Meat Processin*, 2 ed. Hui, Y.H. (ur.), Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, 715 – 740.
16. Islam, M.A., Kabir, S.M.L., Seel, S.K. (2016): Molecular detection and characterization of *Escherichia coli* isolated from raw milk sold in different markets of Bangladesh., **14** (2), 271-275.
17. Johnson J.L., Doyle M.P., Cassens R.G (1990) *Listeria monocytogenes* and Other *Listeria* spp. in Meat and Meat Products, *Journal of Food Protection*, **53**, 81-91.
18. Kashoma I., Kassem I.I., Rajashekara G., Julius J., Kessy B.M., Gebreyes W., Kazwala R.R. (2016) Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Isolated From Dressed Beef Carcasses and Raw Milk in Tanzania, *Microb Drug Resist*, **22**, 40-52.
19. Kegalj A., Krvavica M., Ljubičić I. (2012) Raznolikost mikroflore u mesu i mesnim proizvodima, *Meso*, **3**, 240-244.
20. Kegalj, A., Krvavica, M., Ljubičić, I. (2012): Raznolikost mikroflore u mesu i mesnim proizvodima, *Meso*, **14** (3), 239 – 246.
21. Lenchenko, E., Lozovoy, D., Strizhakov, A., Vatnikov, Y., Byakhova, V., Kulikov, E., Sturov, N., Kuznetsov, V., Avdotin, V., Grishin, V. (2019): Features of formation of *Yersinia enterocolitica* biofilms, *Veterinary World*, **12**, 136 – 140.
22. Levak S. (2015) *Campylobacter* spp. u mesu peradi, *Meso* **12**: 558-562.
23. Lovrić T. (2003): *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*, udžbenik Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2003
24. McClure P.J. (2000.) *Microbiological hazard identification in the meat industry. HACCP in the meat industry*, Brown M., Woodhead Publishing Ltd., 157-168.
25. Narodne novine (2007): Pravilnik o proizvodima od mesa, Narodne Novine, 1/07, Zagreb.
26. Özkalp, B. (2012): Isolation and Identification of *Salmonellas* from Different Samples, *Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen*, Mahmoud, B.S.M. (ur.), IntechOpen, London.
27. Plazonić, Z., Mioković, B., Njari, B. (2010): Pakiranje mesa u modificiranoj atmosferi, *Meso*, **12** (1), 44 – 49.
28. Ray, B., Bhunia, A. (2014): *Fundamental Food Microbiology*, 5th edition CRC Press, Boca Raton.
29. Rogina, L. (2021): Kontaminacija mesa mikroorganizmima prilikom proizvodnog procesa i patogeni koji najčešće uzrokuju bolesti kod ljudi, Završni rad, Prehrambeno –

biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.