

Utjecaj toplinske obrade barenjem i skladištenja na održivost bakterije *Listeria monocytogenes* u hrenovkama

Čaklovića, K., M. Smajlović, F. Čaklovića, Alagić D, E. Članjak¹

Znanstveni rad

Sažetak

Listeria monocytogenes se s više aspekata razlikuje od drugih patogena prenosivih hranom. S obzirom na njenu široku rasprostranjenost i značajnu rezistentnost na različite nepovoljne uvjete rasta i razvoja, kao što su niske vrijednosti pH i visoke koncentracije NaCl, njena mikroaerofilna i psihotropna svojstva, onečišćenje hrane ovim patogenom je postala jedan od vodećih problema javnog zdravlja i prehrambene industrije. Pored toga, opasnost od onečišćenja postrojenja za proizvodnju hrane temelji se i na njeznoj sposobnosti da preživi dugo vremena u vanjskoj sredini kako na veoma niskim temperaturama (od 0°C do 7°C), pa čak i na temperaturama dubokog smrzavanja (>-20°C), tako i na visokim temperaturama (od 60°C do 90°C). Poznavajući osnovne karakteristike *L. monocytogenes*, s namjerom doprinosa unapređenja higijenske ispravnosti namirnica i zaštite zdravlja potrošača, ciljevi istraživanja su bili ispitivanje utjecaja različitih temperaturnih režima toplinske obrade hrenovki na opstanak eksperimentalno inokulirane *L. monocytogenes* te ispitivanje utjecaja različitog inicijalnog broja eksperimentalno inokulirane *L. monocytogenes* i tehnološkog procesa proizvodnje i skladištenja na dinamiku njenog opstanka i rasta u ispitivanim mesnim prerađevinama. Dobiveni rezultati našeg istraživanja su ukazali na mogućnost opstanka *L. monocytogenes* u hrenovkama, uz utjecaj različitih temperaturnih režima toplinske obrade i skladištenja. Na osnovu naših rezultata preporučamo obaveznu mikrobiološku kontrolu namirnica na prisutnost *L. monocytogenes* uz neophodnu edukaciju proizvođača hrane, farmera i šire javnosti o osnovnim mjerama zaštite od onečišćenja hrane patogenom, kao i mjerama prevencije alimentarne listerioze.

Ključne riječi: mikrobiološka kontrola, *Listeria monocytogenes*, hrenovke

Uvod

Bakterija *Listeria monocytogenes* se u više pogleda razlikuje od drugih patogena prenosivih hranom. Kako je široko rasprostranjena, rezistentna je na različite uvjete sredine, uključujući niske vrijednosti pH i visoke koncentracije NaCl-a. Ona je mikroaerofilna i psihofilna bakterija. Postala je jedan od najvećih problema u prehrambenoj industriji zbog svoje sposobnosti da na različite načine onečisti postrojenja za proizvodnju hrane, preživi dugo vremena u vanjskoj sredini (Fenlon, 1999; Warriner i sur. (2009.)), kao i sposobnosti da raste pri veoma niskim temperaturama (od 0°C do 7°C), te da preživi u hrani ili na hrani duže vrijeme u lošim uvjetima na temperaturama dubokog smrza-

vanja (Fraber i sur., 1994.).

Teški simptomi i stopa smrtnosti uzrokovani bakterijom *L. monocytogenes* zahtijevaju odgovarajuće preventivne mjere koje su uvjetovane spomenutim karakteristikama patogena, tako da je nerealno očekivati da sve namirnice animalnog i biljnog porijekla budu slobodne od listerije. Posebnost i karakteristike listerioze su proizvele vrlo živu znanstvenu diskusiju, te potakle istraživanja u različitim područjima, kao što su konvencionalne i metode brze detekcije listerije u hrani, njeno ponašanje u hrani, genetika virulencije i molekularno tipiziranje, a isto tako i epidemiološka istraživanja ovog oboljenja, a sve u cilju suzbijanja listerioze.

Podaci dobiveni tijekom zadnjih deset godina po pitanju izbijanja masovnih oboljenja izazvanih trovanjem nakon konzumacije mesa i mesnih proizvoda, ukazuju da su neki mesni proizvodi sve više podložni mikrobiološkom onečišćenju zbog složenosti postupka proizvodnje i prerade. Poznavajući mnogobrojne načine mikrobiološkog onečišćenja mesa i mesnih proizvoda tijekom proizvodnje, prerade i skladištenja, jasno se uočava glavna odrednica mikroflora u mesnim proizvodima. Mesni proizvodi rizični s aspekta onečišćenja bakterijom *L. monocytogenes* su gotova i polugotova jela koja se čuvaju u hladnjaku duži vremenski period, te jela onečišćena

¹ mr. Kenan Čaklovića, viši asistent; dr. Muhamed Smajlović, docent; dr. Faruk Čaklovića, redoviti profesor; mr. Davor Alagić, viši asistent; mr. Enida Članjak, suradnik; Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, Zmaja od Bosne 90, 71 000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

mikroorganizmima u broju od >100 CFU/g ili ml (Walker i sur., 1999.). Mikroorganizmi koji su dospjeli u meso iz prostorija za klanje, preradu i skladištenje, mogu izazvati promjenu senzoričkih svojstva i kvarenje mesa i mesnih prerađevina, a neki i alimentarna trovanja s težim ili lakšim posljedicama po konzumenta. Skupini rizičnijih proizvoda pripadaju i mesni proizvodi koje smo koristili u eksperimentu - hrenovke.

Materijal i metode

Istraživanje utjecaja tehnološkog procesa proizvodnje i skladištenja na održivost bakterije *L. monocytogenes* u mesnim prerađevinama - hrenovkama obavljeno je u razdoblju 2008-2009. godine.

Eksperimentalno je proizvedeno 69 uzoraka hrenovki a' 100 g. Priprema nadjeva za hrenovke je obavljena u pogonu mesne kompanije „Bećarević“ Sarajevo, a inokulacija patogena i završetak tehnološkog procesa proizvodnje mesnih proizvoda u laboratorijama Katedre za higijenu i tehnologiju namirnica Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, gdje su obavljene mikrobiološke i fizikalno-kemijske analize uzoraka eksperimentalno proizvedenih mesnih proizvoda.

Priprema inokulata *L. monocytogenes* i inokulacija

Za inokulaciju je korišten komercijalni referentni soj bakterije *L. monocytogenes* ATCC 13932. Iz konzerviranog stanja (polužitkog agara) kolonije bakterije *L. monocytogenes* su ezom prenesene u Brain-Heart Infusion Broth (BHI., Ref M 210 Himedia, India) hranjivi bujon. Nakon 24 h inkubacije na 37°C, inokulum je precijepljen na *Listeria* agar (Fluka Rb 16233, Sigma-Aldrich, India), koji je inkubiran 48 h na 37°C. Karakteristične porasle kolonije s agara su ezom (1-2 kolonije) inokulirane u 10 ml Fraser secondary enrichment



Slika 1. Toplinska obrada hrenovki na temperaturama 65°C i 72°C. (Tehnološki laboratorij Katedre za higijenu i tehnologiju namirnica)

broth base (Fluka Sigma-Aldrich, PW 10043RB, SAD). Poslije 24 h termostatiranja na 37°C uzet je 1 ml inokuliranog bujona, od kojeg su napravljena decimalna razrjeđenja od -1 do -10. Iz svakog razrjeđenja zasijano je po 0,1 ml na *Listeria* agar da bi se utvrdio točan broj bakterija/ml koje će se inokulirati u mesne proizvode.

Prethodno pripremljene različite koncentracije *L. monocytogenes* u Fraser Broth, su inokulirane u nadjev i smjesu za mesne proizvode prethodno steriliziranim raspršivačem, nakon čega je izvršena homogenizacija sirovine i dodanog inokulata. Nakon inokulacije i homogenizacije slijedile su dalje faze tehnološkog postupka proizvodnje.

Eksperimentalna proizvodnja hrenovki

Za proizvodnju hrenovki korišteno je goveđe/juneće meso, prve i druge kategorije, te mješavina začina i aditiva koji se dodaju u odgovarajućoj količini prema proizvođačkoj specifikaciji i važećim normativnim aktima, Pravilnik o kvalitetu mesnih proizvoda (Sl. List BiH br. 2/92, 13/94 i 14/94). Ukupna količina pripremljenog mesnog nadjeva za inokulaciju je iznosila 10 kg. Od toga je 2,5 kg sirovine korišten za pripremu kontrolnih uzoraka hrenovki, a 7,5 kg

za pripremu hrenovki korištenih za inokulaciju bakterijom *L. monocytogenes*.

Rashlađeno meso I i II kategorije je samljeveno u stroju za usitnjavanje („wolf“), zatim usitnjeno u kuteru („Bizerba“) gdje mu je dodana mješavina pripremljenih začina prema proizvođačkoj specifikaciji. Nakon homogenizacije i oblikovanja nadjeva smjesa je inokulirana bakterijom *L. monocytogenes* inicijalnog broja 10^3 - 10^4 /g. U narednoj fazi obavljeno je punjenje inokuliranog nadjeva u ovitak promjera 1,8 cm (ovčje crijevo) ručnom punilicom (TEFAL „Le Hachoir 1500“) dijametra 1,8 cm. Kao završna faza (Slika 1) uslijedilo je toplo dimljenje, barenje i tuširanje u atmosferi laboratorijskog tipa (SPAKO MCTT 6, Holandija). Temperature barenja bile su 65°C i 72°C u sredini proizvoda u trajanju od 30 minuta. Tako pripremljene hrenovke su ohlađene (hladno tuširanje), pakovane u vakuum-pakovanje (Krups F380 – China) te skladištene u hladnjak na temperaturu od 0,5°C do uzorkovanja.

Uzorkovanje

Označavanje uzoraka je izvršeno na osnovu vrste proizvoda i vremena skladištenja te toplinske obrade. Svi uzorci eksperimentalno proizve-



Slika 2. Kolonije *L. monocytogenes* na selektivnoj podlozi Aloa agar (zbirka Katedre za higijenu i tehnologiju namirnica)

denih proizvoda kod svih analiza rađeni su u trpliku.

Nakon opisane eksperimentalne proizvodnje i inokulacije, uzorci hrenovki su podijeljeni u skupine prema temperaturama toplinske obrade i skladištenja na 0,5°C. Vrijeme skladištenja od 45 dana i spomenuta temperatura su odabrani na osnovu proizvođačke specifikacije. Raspored uzorkovanja hrenovki za oba toplinska tretmana (65°C i 72°C) u svrhu analiza je rađeno: jedan, pet, deset, 15, 20, 25, 30, 35, 40 i 45 dana od dana inokulacije i toplinske obrade. Pored detekcije i brojanja bakterije *L. monocytogenes* rađene su i fizikalno-kemijske pretrage te je određena aktivnost vode (aw).

Princip izolacije i brojanja *L. monocytogenes*

Izolacija i brojanje bakterije *L. monocytogenes* u eksperimentalno inokuliranim hrenovkama rađena je službenom NMLK metodom Nordic Committee no Food Analysis No 136 rd ed. 2004., (Lončarević i sur., 2008.).

Procedura pripreme uzorka za analizu

Aseptički je uzeto približno 50 g uzorka i homogenizirano u stomacheru (Lab-Blender 3500) 30-60 sekundi. Nakon homogenizacije, za dalju analizu je uzeto 20 g za primarno obogaćivanje. Ostatak homogeniziranog uzorka je skladišten na temperaturi 0,5°C do završetka analize.

Tablica 1. Mikrobiološki status sirovine za proizvodnju hrenovki prije eksperimentalne inokulacije

<i>Salmonella</i> spp. / 25 g	<i>E.coli</i> / 0,01 g	Koagulaza pozitivni stafilokoki / 0,1 g	Sulfit reducirajuće klostridije / 0,1 g	<i>Proteus</i> spp. / 0,01 g	<i>L. monocytogenes</i> / 0,1 g
Negativno	Negativno	Negativno	Negativno	Negativno	Negativno

Procedure obogaćivanja, izolacije i očitavanja

Procedure izolacije i brojanja mogu se provoditi simultano ili brojanje može započeti tek nakon što tipične ili sumnjive kolonije budu izolirane na selektivnom mediju, nakon primarnog ili sekundarnog obogaćivanja. Istovjetna inicijalna razrjeđenja uzorka mogu se iskoristiti za brojanje kao i procedure obogaćivanja. Alternativno, ove procedure se mogu izvesti i iz zasebnih razrjeđenja, ali pri tome je važno da se započne od istog homogeniziranog uzorka. Kod metode izolacije, korištena je procedura dvostupanjskog obogaćivanja.

Za primarno obogaćivanje aseptički je uzeto 20 g homogeniziranog uzorka i dodano 225 ml primarnog bujona za obogaćivanje (Half Fraser Broth), prethodno zagrijanog na 30°C - 37°C, nakon čega je izvršena homogenizacija u trajanju od 30 sekundi. Homogenizirani uzorak s primarnim bujonom za obogaćivanje je inkubiran na temperaturi od 30,0 ± 1,0°C kroz 24 ± 3 h. Poslije 24 h inkubacije, uslijedilo je sekundarno obogaćivanje prebacivanjem 0,1 ml primarno obogaćene kulture u 10 ml sekundarnog bujona za obogaćivanje (Fraser Broth – Fluka pune snage) i inkubirano na temperaturi od 37,0 ± 1,0°C u trajanju od 48 ± 4 h.

Nakon sekundarnog obogaćivanja iz epruveta je mikropipetom prebačeno po 0,1 ml uzorka na površinu prethodno pripremljene podloge za detekciju i brojanje *L. monocytogenes* - Listeria Agar Fluka. Sadržaj je ravnomjerno raspoređen po

cijeloj površini podloge staklenim štapićem, nakon čega su podloge inkubirane na temperaturi od 37,0 ± 1,0°C u trajanju od 24 ± 3 h. Kod zanemarivog rasta ili u situacijama kada nije bilo porasta kolonija ili ako nisu uočene tipične kolonije nakon 24 ± 3 h inkubacije, rađena je re-inkubacija ploča na dodatnih 24 ± 3 h, a zatim očitavanje. Bakterija *L. monocytogenes* je potvrđena na osnovu odgovarajućih testova (Gram-bojenja, pokretljivosti, enzimskoj reakciji-katalazi i β – hemolizi na krvnom agaru). Karakteristične zeleno-plave kolonije bakterije *L. monocytogenes* okružene mutnim vijencem (Slika 2) su nakon toga prebrojavane, te je njihov broj bio pomnožen sa razrjeđenjem da bi se dobio konačan broj cfu/g.

Fizikalno-kemijski parametri mesnih prerađevina (voda, mast, NaCl, a_w i pH vrijednost)

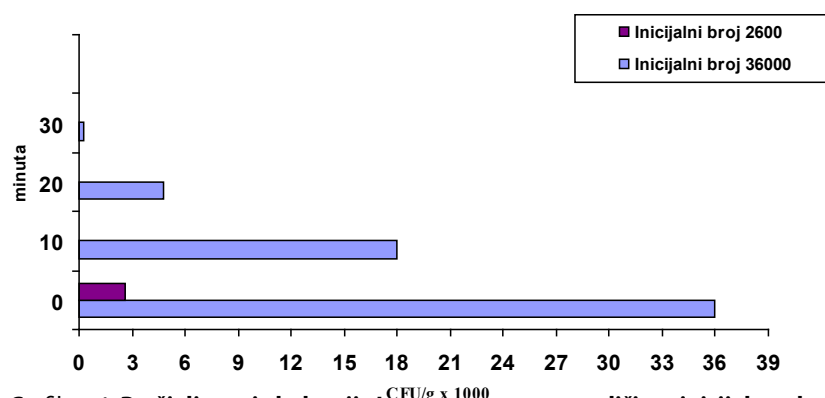
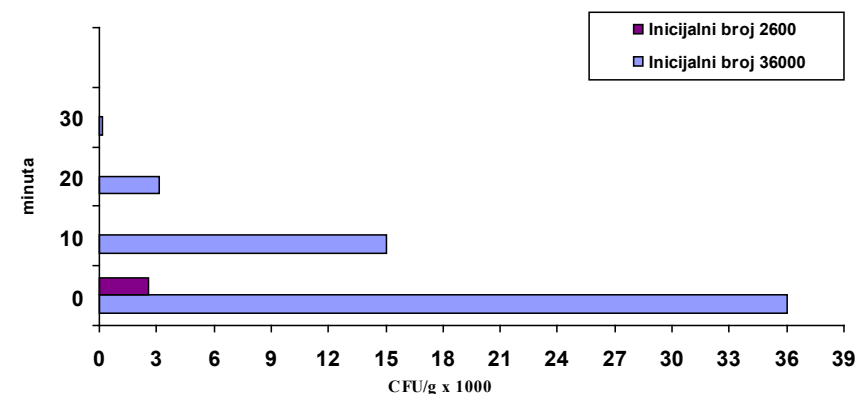
Određivanje parametra sadržaja vode, masti i NaCl kod eksperimentalno proizvedenih hrenovki je vršeno u skladu sa odredbama Pravilnika o metodama vršenja hemijskih analiza i superanaliza proizvoda od mesa, masti i ulja (Uredba Sl.I. BiH 2/92, 13. i 14./94). Određivanje aktivnosti vode u eksperimentalno proizvedenim mesnim proizvodima je vršeno sa aparatom za određivanje aktivnosti vode „Testo 650“ (Schwarzwald) prema uputama proizvođača. Određivanje vrijednosti pH kod hrenovki je rađeno potenciometrijskom metodom pH-metrom tipa „Hanna 210“ (Italy) prema uputama proizvođača.

Tablica 2. Fizikalno-kemijske vrijednosti eksperimentalno proizvedenih hrenovki prije toplinske obrade

Voda %	Mast %	NaCl %	a_w	pH
65,89	17,1	1,98	0,975	6,00

Tablica 3. Fizikalno-kemijske vrijednosti hrenovki skladištenih do 45 dana na 0,5°C

Uzorak	Nakon toplinske obrade					Nakon 45 dana skladištenja				
	Voda %	Mast%	NaCl%	a_w	pH	Voda%	Mast%	NaCl%	a_w	pH
Hrenovke 65°C	64,02	18,98	2,34	0,970	5,50	58,82	22,68	4,54	0,940	5,0
Hrenovke 72°C	59,58	21,05	2,77	0,964	5,50	54,08	24,25	5,17	0,930	4,8

Grafikon 1. Preživljavanje bakterije *L. monocytogenes* različitog inicijalnog broja u uvjetima toplinske obrade hrenovki barenjem na temperaturi od 65°C u sredini proizvoda u trajanju od 30 minutaGrafikon 2. Preživljavanje bakterije *L. monocytogenes* različitog inicijalnog broja u uvjetima toplinske obrade hrenovki barenjem na temperaturi od 72°C u sredini proizvoda u trajanju od 30 minuta

Rezultati

Rezultati analiza su predstavljani za svaki od eksperimentalno proizvedenih proizvoda (hrenovke), tabelarno i grafički. Svaki rezultat predstavlja broj srednje vrijednosti od tri mjerenja kod svih rađenih analiza.

Mikrobiološki status rađen prema Pravilniku o uslovima u pogledu mikrobiološke ispravnosti kojima moraju udovoljavati živežne namirnice u prometu (Sl. l. BiH br. 2/92, 13 i 14/94), sirovine korištene za proizvodnju spomenutih proizvoda i

provjera prisutnosti *L. monocytogenes* prije inokulacije su predstavljeni u tablici 1.

Rezultati detekcije i brojanje bakterije *L. monocytogenes*

Rezultati mikrobioloških analiza utjecaja tehnološkog postupka proizvodnje i skladištenja hrenovki na rast i razvoj bakterije *L. monocytogenes* su prikazani na grafikonima 1, 2 i 3.

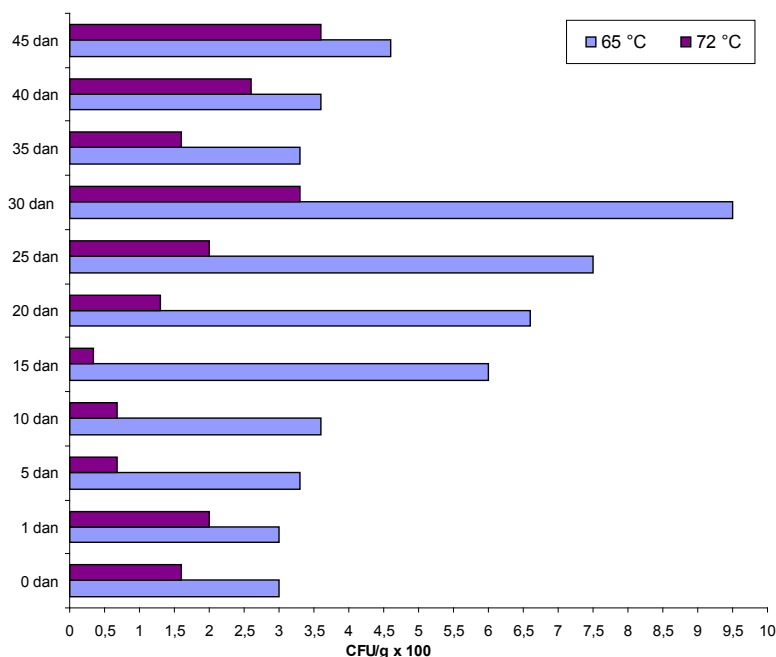
Rezultati ispitivanja fizikalno-kemijskih parametara

Određivanje sadržaja vode, masti, NaCl, a_w i pH vrijednosti je rađeno kod svih eksperimentalno proizvedenih hrenovki na početku i na kraju procesa tehnološkog postupka prerade, te skladištenja. Rezultati su predstavljeni u tablicama 2 i 3.

Rasprava

Polugotovi mesni proizvod - hrenovke, inokulirane s dva različita inicijalna broja bakterije *L. monocytogenes* izložene su toplinskoj obradi barenjem na temperaturama od 65° i 72°C u trajanju od 30 minuta, kako zahtijeva tehnološki proces proizvodnje (Hadžibeganović, 1975.; Živković, 2001.). Rezultati mikrobioloških analiza predstavljeni u Tablici 1. ukazuju da je sirovina za proizvod bila negativna na prisutnost bakterije *L. monocytogenes* i druge bakterijske onečišćivače i patogene. Pored toga, vrijednosti fizikalno-hemijskih parametara (Tablica 2.) su odgovarale odredbama Pravilnika o metodama obavljanja mikrobioloških analiza i superanaliza živežnih namirnica (Sl. l. BiH br. 2/92, 13 i 14/94) i tehnološkim zahtjevima proizvodnje (Hadžibeganović, 1975.;1983.; Živković, 1986.).

Dobiveni rezultati utjecaja različitih režima toplinske obrade na bakteriju *L. monocytogenes* u hrenovkama ukazuju na sličnost s rezultatima drugih autora (Čaklovića,



Grafikon 3. Preživljavanje bakterije *L. monocytogenes* u prethodno toplinski obrađenim (65°C i 72°C) hrenovkama pri skladištenju na temperaturi od 0,5°C u trajanju od 45 dana

2010.; Houben i sur., 2006.). U Grafikonu 1 prikazani su rezultati preživljavanja bakterije *L. monocytogenes* u hrenovkama eksperimentalno inokuliranim u inicijalnoj koncentraciji od 36 000 CFU/g, koja je na kraju toplinske obrade barenjem u trajanju od 30 minuta na temperaturi od 65°C iznosila 300 CFU/g. Pri djelovanju iste temperature u istom vremenskom intervalu i supstratu s inicijalnim brojem od 2 600 CFU/g već kod 10-te minute broj bakterija *L. monocytogenes* je reduciran u potpunosti.

Temperatura barenja od 72°C kod hrenovki s inicijalnim brojem od 36 000 CFU/g smanjuje broj tijekom 30 minuta na 200 CFU/g, dok je inicijalni broj bakterije *L. monocytogenes* od 2 600 CFU/g ponovo bio u potpunosti smanjen u prvih 10 minuta. (Grafikon 2). Na osnovu ovih rezultata zaključujemo da preživljavanje bakterije *L. monocytogenes* u hrenovkama na navedenim temperaturama i vremenskim intervalima direktno zavisi od veličine inicijalnog broja mikroorganizama. Do sličnih rezultata

došli su i drugi autori (Bersot i sur., 2001.; Fraber i sur., 1990.; Jemmi i sur., 2006.; Ryser i sur., 2001.; Shigenobu i sur., 2007.). Ovaj podatak je naročito važan za proizvođače mesnih proizvoda ovog tipa, jer ukazuje na važnost pridržavanja standardnih operativnih procedura u proizvodnji.

Praćenje utjecaja temperature skladištenja od 0,5°C tijekom 45 dana na razvoj i održivost bakterije *L. monocytogenes* u eksperimentalno proizvedenim hrenovkama, predstavljeno je u Grafikonu 3. Rezultati jasno ukazuju ne samo na preživljavanje već i na evidentan rast populacije bakterije *L. monocytogenes*, ujedno opravdavaju i postavljenu hipotezu, da duže skladištenje može povoljno djelovati na njen oporavak nakon toplinske obrade na temperaturama barenja, što u svojim radovima objašnjavaju Gill i sur. (1989.), McClure i sur. (1997.) i Uyttendaele i sur. (2009.).

Poslije barenja na temperaturi od 65°C, 0-tog dana skladištenja hrenovke su imale 300 CFU/g *L. monocytogenes*, da bi 30-og dana taj broj bio tri

puta veći, a na kraju 45-dana iznosio je 460 CFU/g. Nakon toplinske obrade hrenovki na temperaturi od 72°C i njihovog skladištenja, broj bakterije *L. monocytogenes* 0-tog dana je iznosio 160 CFU/g, zatim 30-og dana broj je bio dva puta veći, i na kraju skladištenja bilježi najveći rast od 310 CFU/g. Različitu dinamiku rasta bakterije *L. monocytogenes* kod spomenutih toplinskih obrada u hrenovkama tijekom skladištenja pojašnjavaju i fizikalno-kemijski parametri predstavljeni u Tablici 3. Rezultati za hrenovke nakon toplinske obrade na temperaturi od 65°C za vodu iznose 64,02%, zatim NaCl 2,34% i aktivnosti vode od 0,970, dok su kod toplinske obrade od 72°C dobivene manje vrijednosti za iste parametre, osim pH sredine koja je u obje toplinske obrade iznosila 5,5. Nakon 45-dana skladištenja fizikalno-kemijski parametri hrenovki, kod temperaturnog režima od 65°C, voda, NaCl, aktivnost vode i pH vrijednost su i dalje nešto veći od vrijednosti spomenutih parametara kod toplinske obrade od 72°C. (Tablica 3.). Dobiveni rezultati nam ukazuju da povećanjem temperature barenja dolazi do gubitka vode što se odražava na vrijednosti postotka vode i aktivnosti vode koji su u padu, te je broj bakterija *L. monocytogenes* neznatno veći na kraju skladištenja kod hrenovki podvrgnutih barenju na temperaturi od 65°C pri vrijednostima pH koje se nisu značajno promijenile.

Dobivene vrijednosti sadržaja vode, kuhinjske soli, aktivnosti vode i pH kod različitih toplinskih obrada hrenovki i dalje predstavljaju povoljnu sredinu za rast i razmnožavanje bakterije *L. monocytogenes*, zbog čega je njen broj pri temperaturi od 0,5°C tijekom skladištenja veći 45-tog u odnosu na broj nultog dana.

Rezultati su pokazali da opstanak i dinamika razvoja bakterije *L. monocytogenes* u hrenovkama poslije toplinske obrade barenjem na ra-

zličitim temperaturama s jednakim vremenom skladištenja pored inicijalnog broja direktno zavisi od zastupljenosti vode u proizvodu i aktivnosti vode što je neophodno za opstanak i razvoj svih mikroorganizama te kompetitivne mikroflore. I drugi autori, Jemmi i sur. (2006.), Kanabel i sur. (1990.) i Ryser i sur. (2001.), navode mogućnost oporavka bakterije *L. monocytogenes* poslije toplinske obrade i nastanak razvoja kod dužeg skladištenja proizvoda u okruženju s pH vrijednostima ispod 5 što su naši rezultati i potvrdili.

Kao nedostatak, a ujedno i prednost ovog rada je njegov koncept koji je samo od značaja za Bosnu i Hercegovinu, jer se radi o mesnim proizvodima za koje još nisu određene mjere kontrole kada je u pitanju bakterija *L. monocytogenes*. Ukazivanjem na impliciranu hranu i preporukom značaja kontrole, kao i poduzimanjem odgovarajućih mjera da se spriječi onečišćenje s bakterijom *L. monocytogenes* u postrojenjima za proizvodnju i rukovanje prehrambenim proizvodima može se prekinuti lanac onečišćenja i spriječiti nastanak velikih epidemija.

Spoznajom da eksperimentalno istraživani proizvod pripada skupini mesnih proizvoda s povećanim rizikom opstanka listerije i mogućeg prijenosa na ljude a usvajanjem rezultata ispitivanja utjecaja različitih tehnoloških postupaka proizvodnje, skladištenja, te opstanka i razvoja listerije u hrenovki, u preventivne svrhe upotpunjuje se opravdanost ovog eksperimentalnog istraživanja.

Zaključci

Na osnovu rezultata ispitivanja razvoja i održivosti bakterije *L. monocytogenes* tijekom tehnološkog procesa proizvodnje, prerade i skladištenja eksperimentalno proizvedenih mesnih proizvoda – hrenovki, može se zaključiti slijedeće:

Temperatura skladištenja od 0,5°C

ne zaustavlja razvoj bakterije *L. monocytogenes* kod hrenovki.

Potvrđeno je da je bakterija *L. monocytogenes*, u usporedbi s većinom patogenih uzročnika trovanja hranom, izuzetno otporna na utjecaje različitih temperatura toplinske obrade (65 °C, 72 °C) kod onečišćenih proizvoda.

Dobiveni rezultati ukazuju na neophodnost uvođenja HACCP sistema kontrole kod proizvodnje hrenovki, te njegove striktno primjene u cilju eliminacije rizika onečišćenja ovih proizvoda bakterijom *L. monocytogenes*, zatim učinkovitije zaštite zdravlja krajnjeg konzumenta i sprečavanja pojave alimentarne listerioze.

Rezultati našeg rada ukazuju na obavezu usklađivanja BiH legislativne s europskom po pitanju nadzora bakterije *L. monocytogenes* u namirnicama animalnog porijekla. Naime, još uvijek važeći Pravilnik o uslovima u pogledu mikrobiološke ispravnosti namirnica kojima moraju udovoljavati živežne namirnice u prometu (Uredba SI.I. BiH 2/92, 13 i 14/94) ne predviđa pretrage namirnica na prisutnost bakterije *L. monocytogenes*, dok slični pravilnici u EU predviđaju ne samo zakonski obaveznu kontrolu namirnica na pristunost ovog patogena, nego i primjenu šireg programa monitoringa *L. monocytogenes* u hrani.

Literatura

Bersot, L. S., M. Landgraf, B.D.G.M. Franco, M.T. Destro (2001.): Production of mortadella: behavior of *Listeria monocytogenes* during processing and storage conditions, *Meat Science*, Volume 57, Issue 1, January, pp. 13-17.

Čaklović, K. (2010.): Uticaj tehnološkog postupka proizvodnje prerade i skladištenja na održivost *Listeria monocytogenes* u mesnim proizvodima, magistarski rad, Sarajevo.

Farber J.M., E. Daley (1994.): Presence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally-contaminated meats, *International Journal of*

Food Microbiology, Volume 22, Issue 1, April, pp. 33-42.

Fenlon D.R. (1999.): *Listeria monocytogenes* in the natural environment, p. 21-37., in E.T. Ryser, and E.H. Marth, (ed.) *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, 2 nd, Marcel Dekker, New York, 1999.

Fraber J.M. and Brown, B.E. (1990.): Effect of prior heat shock on heat resistance of *Listeria monocytogenes* in meat, *Applied Environmental Microbiology* 56(6), pp.1684-7.

Gill C.O. and Reichel M.P., (1989.): Growth of the cold-tolerant pathogens *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high-pH beef packaged under vacuum or carbon dioxide, *Food Microbiology* 6, pp.223-30.

Hadžibeganović A. (1975.): Mikrobiologija mesa i mesnih prerađevina. Univerzitet u Sarajevu, Sarajevo, 1975.

Hadžibeganović A. (1983.): Veterinarsko-sanitarni nadzor proizvodnje i prometa mesa, Veterinaria, Sarajevo, 1983.

Houben J. H., Eckenhausen F. (2006.): Surface pasteurization of vacuum-sealed precooked ready-to-eat meat products. *Journal of food protection*, vol. 69 (issue 2), p. 459-68.

Jemmi T., Stephan R. (2006.): *Listeria monocytogenes* food-borne pathogen and hygiene indicator, *Revue scientifique et technique* (International Office of Epizootics) (Rev Sci Tech), published in France, vol 25 (issue 2), pp. 571-80.

Kanabel S. J., Walker H.W., Hartman P.A. and Mendonca A.F. (1990.): Effects of Growth temperature and strictly anaerobic recovery on the survival of *Listeria monocytogenes* during pasteurization, *Applied Environmental Microbiology* 56 (2), pp. 370-6.

Loncarevic S., Økland M., Sehic E., Norli H.S. and Johansson T. (2008.): Validation of NMKL method No. 136 — *Listeria monocytogenes*, detection and enumeration in foods and feed *International Journal of Food Microbiology*, Volume 124, Issue 2, 31 May, pp. 154-163.

McClure P.J., Beaumont A. L., Sutherland J.P. and Roberts T. A., (1997.): Predictive modelling of growth of *Listeria monocytogenes* The effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO₂, *International Journal of Food Microbiology*, Volume 34, Issue 3, 3 March, pp. 221-232.

Nordic Committee on Food Analysis No 136 3rd ed. (2004.): *Listeria monocytogenes* Detection in Foods.

Pravilnik o kvalitetu mesnih proizvoda (SI.

Einfluss der Wärmebehandlung durch Abbrühen und Lagerung auf die Erhältbarkeit der Bakterie *Listeria monocytogenes* in Frankfurterwürstchen

Zusammenfassung

Listeria monocytogenes unterscheidet sich mehrfach von anderen pathogenen Bakterien, die durch die Nahrung übertragen werden. In Bezug auf ihre hohe Ausbreitung und bedeutende Resistenz auf verschiedene ungünstige Wuchs- und Entwicklungsbedingungen, wie z.B. niedrige pH Werte und hohe Konzentrationen von NaCl, ihre mikroaerophile und psychrotrophe Eigenschaften, ist die Nahrungskontamination mit diesem Pathogen zu einem der führenden Probleme des öffentlichen Gesundheitswesens und der Nahrungsmittelindustrie geworden. Außerdem besteht die Kontaminationsgefahr der Herstellungsanlage für Nahrungsmittel. Dies gründet auf ihrer Fähigkeit, eine längere Zeit draußen auf niedrigen Temperaturen (0°C bis 7°C) zu überleben, sogar auf Tiefkühltemperaturen (>-20°C) und auf hohen Temperaturen (60°C bis 90°C). Mit Bezug auf diese Grundcharakteristiken von *Listeria monocytogenes*, mit der Absicht der Förderung der hygienischen Richtigkeit von Nahrungsmitteln und Schutz der Verbrauchergesundheit, waren die Ziele dieser Untersuchung darauf gerichtet, die Einflüsse verschiedener Temperaturenregime der Wärmebehandlung von Frankfurterwürstchen auf das Überleben der experimental inokkulierten *L. monocytogenes* zu prüfen, sowie die Prüfung des Einflusses der verschiedenen Initialzahl der experimental inokkulierten *L. monocytogenes* und des technologischen Herstellungsprozesses und der Lagerung auf die Dynamik deren Überlebens und Wachses in den geprüften Fleischerzeugnissen. Die bekommenen Resultate unserer Untersuchung haben gezeigt, dass das Überleben von *L. monocytogenes* in Frankfurterwürstchen unter Einfluss von verschiedenen Temperaturenregime der thermischen Behandlung und Lagerung möglich ist. Auf Grund unserer Resultate empfehlen wir eine verpflichtende mikrobiologische Nahrungsmittelkontrolle auf Anwesenheit von *L. monocytogenes*, sowie eine nötige Edukation der Nahrungsmittelhersteller, der Landwirte und der breiteren Öffentlichkeit über die Grundmaßnahmen gegen die Kontamination der Nahrung mit diesem Pathogen, sowie Präventionsmaßnahmen hinsichtlich alimentare Listeriose.

Schlüsselwörter: mikrobiologische Kontrolle, *Listeria monocytogenes*, Frankfurterwürstchen

Effetto del trattamento termico di bollimento e delle condizioni di conservazione alla vitalità del battero *Listeria monocytogenes* nei würstel

Sommario

Listeria monocytogenes è differente da altri patogeni trasmessi dal cibo in diversi aspetti. Vista la sua ampia diffusione e una notevole resistenza nelle diverse condizioni sfavorevoli sulla crescita e sviluppo come il basso pH ed elevate concentrazioni di NaCl, le sue proprietà microaerofili e psihrotropiche, la contaminazione del cibo con questo patogeno è diventato uno dei maggiori problemi della salute pubblica e dell'industria alimentare. Inoltre, il rischio di contaminazione degli impianti per la produzione alimentare si basa sulla sua capacità di sopravvivere a lungo nell'ambiente esterno sia a temperature molto basse (da 0°C a 7°C), addirittura alle temperature di congelamento profondo (> -20°C), che ad alte temperature (da 60°C a 90°C). Conoscendo le caratteristiche di base di *L. monocytogenes*, con l'intenzione di dare il contributo all'igiene dei alimentari e la protezione della salute pubblica, gli obiettivi della ricerca sono stati esaminare l'influenza di trattamento termico dei würstel ai regimi di temperatura differenti sulla sopravvivenza di *L. monocytogenes* sperimentalmete inoculata, e di esaminare l'impatto del diverso numero iniziale di sperimentalmente inoculata *L. monocytogenes*, del processo tecnologico e le condizioni di conservazione sulla dinamica della sua sopravvivenza e la crescita nei prodotti a base carne usati. I risultati ottenuti nel nostro studio hanno indicato la possibilità di sopravvivenza di *L. monocytogenes* nei würstel, sotto l'influenza di differenti regimi di temperatura di trattamento termico e di condizioni della conservazione. Sulla base dei nostri risultati, si consiglia il controllo microbiologico obbligatorio degli alimenti alla presenza di *L. monocytogenes* e la necessaria dell'educazione dei produttori degli alimentari, gli agricoltori, ed il pubblico, sulle misure di base della protezione contro la contaminazione degli alimenti con i patogeni, nonché le misure di prevenzione listeriosi alimentare.

Parole chiave: controllo microbiologico, *Listeria monocytogenes*, würstel

List BiH broj 2/92, 13/94 i 14/94)

Pravilnik o metodama obavljanja mikrobioloških analiza i superanaliza živežnih namirnica (Sl. l. BiH br. 2/92, 13 i 14/94).

Pravilnik o uslovima u pogledu mikrobiološke ispravnosti kojima moraju udovoljavati živežne namirnice u prometu (Sl. l. BiH broj 2/92, 13 i 14/94).

Pravilnika o metodama vršenja hemijskih analiza i superanaliza proizvoda od mesa, masti i ulja (Uredba Sl. l. BiH 2/92, 13. i 14./94).

Ryser E.T. and Donnelly C.W. (2001.): *Listeria*, in Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods, Edited by Frances Pouch Downes Keith Ito, Fourth edition, American Public Health Associaton, pp. 343-356.

Shigenobu K., Yasuko M., Kazutaka Y. (2007):

Predictive modelling of the recovery of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked ham after high pressure processing, *International Journal of Food Microbiology* 119, pp. 300-307.

Uyttendaele M., Busschaert P., Valero A., Geeraerd A.H., Vermeulen A., Jacxsens L., Goh K.K., De Loy A., Van Impe J.F. and Devlieghere F. (2009.): Prevalence and challenge tests of *Listeria monocytogenes* in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007, *International journal of food microbiology*, vol. 133, issues 1-2, 31 July, pp. 94-104

Walker S.J., Archer, P. and Banks, J.G. (1990.): Growth of *Listeria monocytogenes* at

refrigeration temperatures, *Journal of Applied Bacteriology* 68:157-62.

Warriner K. and Namvar A. (2009.): What is the hysteria with *Listeria*?, *Trends in Food Science and Technology*, Volume 20, Issue 6-7, July, pp. 245-254.

Živković J., (1986.): Higijena i tehnologija mesa. II dio: Kakvoća i prerada. Gro Tipografija, Đakovo i Veterinarija, Zagreb, 1986.

Živković J., (2001.): Higijena i tehnologija mesa. I dio: Veterinarsko-sanitarni nadzor proizvodnje i prometa mesa, III dopunjeno izdanje. Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2001.

Dostavljeno: 23.3.2011.

Prihvaćeno: 22. 4. 2011. 