

Bakterije mliječne kiseline u proizvodnji tradicionalnih trajnih kobasica

Žgomba Maksimović¹, A.; N. Hulak¹, M. Vuko¹, V. Kovačević¹, I. Kos², M. Mrkonjić Fuka¹

Pregledni rad

SAŽETAK

Spontano fermentirane trajne kobasice, koje se proizvode u domaćoj radinosti, prepoznati su i cijenjeni tradicionalni proizvodi. Odlikuju se specifičnim senzornim karakteristikama i izvor su vrijednih hranjivih sastojaka. Međutim, različit izbor sirovine i dodataka te varijabilni uvjeti proizvodnje dovode do neujednačene mikrobiološke i senzorne kvalitete tradicionalnih kobasica. Ključnu ulogu u osiguravanju zdravstvene ispravnosti takvih proizvoda imaju prirodno prisutne, autohtone populacije bakterija mliječne kiseline (BMK). Selektirane i aplicirane kao starter kulture autohtone populacije BMK mogle bi smanjiti rizike uzorkovane mikrobiološkom kontaminacijom za vrijeme klanja, odnosno lova i tijekom prerade mesa te povoljno utjecati na organoleptičke karakteristike krajnjeg proizvoda. Stoga je cilj ovog rada pokazati specifičnosti bakterija mliječne kiseline i mogućnosti njihove aplikacije u fermentaciji tradicionalnih suhih kobasica proizvedenih od mesa domaćih ili divljih životinja.

Ključne riječi: bakterije mliječne kiseline, fermentirane kobasice, domaće ili divlje životinje

UVOD

Trajne fermentirane kobasice proizvedene od mesa domaćih ili divljih životinja zauzimaju značajno mjesto u gastronomskoj kulturi Hrvatske, a osim karakteristične arome i okusa, odlikuje ih i produženi rok trajanja. Takve kobasice se proizvode u domaćoj radinosti i po tradicionalnim recepturama čime dodatno dobivaju na vrijednosti, budući da je danas evidentan trend povećane potražnje za hranom koja nosi oznaku autentično ili tradicionalno (Trichopoulou i sur., 2007). Pozitivan stav kupaca prema tradicionalnim proizvodima rezultat je vrednovanja ovakve hrane kao dijela lokalnog ili regionalnog kulturološkog nasljeđa, a lova kao rekreativne aktivnosti i dijela osobnog identiteta. Tradicionalne fermentirane kobasice proizvode se od različitih vrsta mesa, od kojih dominira meso obične svinje, a sve je popularnija i proizvodnja kobasica od mesa divljači, poput divlje svinje i jelena. Različiti izvor sirovine, sezonski karakter i varijabilni uvjeti proizvodnje, te različit izbor dodataka često rezultiraju senzorno (organoleptički) i mikrobiološki upitnim proizvodima neujednačenog sastava i kvalitete (Kovačević i sur., 2009; Kos i sur., 2015).

Budući da se proizvode bez dodatka starter kultura, organoleptičke karakteristike i mikrobiološka stabilnost spontano fermentiranih tradicionalnih kobasica ovise o metaboličkoj aktivnosti prirodno prisutne mikrobiote, uglavnom bakterija mliječne kiseline (BMK) i koagulaza negativnih koka, te enzima mesa. Bakterije mliječne kiseline čini vrlo heterogena skupina Gram pozitivnih, koagulaza negativnih bakterija, od kojih vrste unutar rodova *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus* i *Streptococcus* dominiraju tijekom zrenja tradicionalnih kobasica (Lund i Baird - Parker, 2000). BMK su široko rasprostranjene u prirodi i često ih se može izolirati iz slina i fecesa ljudi i životinja, te zajedno s ostalim mikroorganizmima iz okoliša i opreme kontaminiraju mješavinu mesa tijekom proizvodnje kobasica. Za povećanje prepoznatljivosti, konkurentnosti i osiguravanja mikrobiološke ispravnosti spontano fermentiranih kobasica nužno je kontrolirati cijeli proizvodni proces. Selekcija i primjena sojeva bakterija mliječne kiseline (BMK) kao starter kultura u suvremenoj proizvodnji može osigurati mikrobiološku kvalitetu i stabilnost krajnjeg proizvoda, a često ima pozitivan učinak na senzorna svojstva trajnih kobasica

¹ Ana Žgomba Maksimović, stručni suradnik; dr. sc. Nataša Hulak, poslijedoktorand; Miljenka Vuko; Vjera Kovačević; dr. sc. Mirna Mrkonjić Fuka, docent, Zavod za mikrobiologiju, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

² dr. sc. Ivica Kos, docent; Zavod za specijalno stočarstvo, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Autor za korespondenciju: mfuka@agr.hr

(Cenci – Goga i sur., 2012; Frece i sur., 2014). Stoga je cilj ovog rada bio temeljem detaljnog pregleda literature prikazati specifičnosti uloge BMK u spontano fermentiranim trajnim kobasicama kao i mogućnost njihove upotrebe kao starter, bioprotektivnih ili probiotičkih kultura.

Primarna mikrobiota trupla životinja

Primarna mikrobiota trupla ovisi o nizu čimbenika, poput tipa mikroorganizama na koži životinje, u gastrointestinalnom traktu i mišićnom tkivu, te o uvjetima prilikom klanja ili odstrjela kao i načina daljnje obrade mesa (Gill, 2007; Kegalj i sur., 2012). Kontaminirajuća mikrobiota uključuje tehnološki važne mikroorganizme, ali i mikroorganizme kvarenja i patogene bakterije. Ukoliko se meso odmah ne konzumira ili na neki način ne konzervira, nakon kontaminacije ubrzo dolazi do pada kvalitete i nastanka opasnosti za zdravlje ljudi. Mikrobiota sirovog mesa uglavnom se sastoji od Gram – negativnih, većinom psihrotrofnih bakterija. Najzastupljeniji su rodovi *Pseudomonas*, *Acinetobacter* i *Moraxella*, zatim *Brochothrix thermosphacta*, enterobakterije, stafilokoki, mikrokoki, sporogene bakterije, BMK te kvasci (Lawrie, 1998). Istraživanje Deutz i sur. (2006) o utjecaju načina odstrjela divljači na mikrobiotu trupla pokazuje kako je kod životinja odstrijeljenih u prsa ukupni broj aerobnih bakterija bio 4,6 CFU / cm², dok je kod životinja odstrijeljenih u abdomen bio 5,6 CFU / cm². U sličnom istraživanju, Avagnina i sur. (2012) ističu kako je broj aerobnih bakterija veći kod životinja pogođenih u abdomen, u usporedbi sa životinjama odstrijeljenima u ostale dijelove tijela.

Mikrobiološki kriteriji za namirnice su definirani europskom legislativom br. 2073 / 2005 (EC 2005), a odnose se na higijenske kriterije obrade trupla domaćih životinja dok standardi za obradu mesa divljači nisu obuhvaćeni. Posljednjih godina provedena su istraživanja mikrobne raznolikosti i zastupljenosti pojedinih vrsta u mesu divljači s ciljem definiranja granica prihvatljivosti. Paulsen (2011) predlaže da mikrobiološki standardi mesa divljači budu slični onima domaćih životinja, odnosno da broj ukupnih aerobnih bakterija ne prelazi 6 log CFU / cm², a *E. coli* ne više od 2 log CFU / cm².

Značaj bakterija mliječne kiseline u proizvodnji tradicionalnih trajnih kobasica

Broj BMK na početku fermentacije kobasica obično iznosi 3,2 do 5,3 log CFU / g (Drosinos i sur., 2005; Fontana i sur., 2005; Comi i sur., 2005), a u prvim danima fermentacije raste na 7 – 9 log CFU / g (Comi i sur., 2005) i ostaje konstantan tijekom zrenja (Cocolin i sur., 2001). Unutar skupine BMK u kobasicama su najzastupljeniji laktobacili, a različita istraživanja su pokazala da su najčešće izolirane vrste *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus curvatus* (Andrighetto i sur., 2001; Fontana i sur.,

2005; Rantsiou i sur., 2005; Kozačinski i sur., 2008; Lebert i sur., 2007). Istraživanje Papamanoli i sur. (2003) pokazalo je da je čak 90 % izolata BMK izoliranih iz trajnih prirodno fermentiranih kobasica pripadalo rodu *Lactobacillus*.

Glavna uloga BMK u proizvodnji kobasica je acidifikacija smjese kroz proizvodnju organskih kiselina (uglavnom mliječne kiseline) čime se inhibira rast i produkcija toksina od strane nepoželjnih mikroorganizama. Tijekom pada pH vrijednosti uslijed rasta populacije BMK u prvoj fazi procesa proizvodnje kobasica, dolazi do kemijskih, fizikalnih i mikrobioloških reakcija zbog čega acidifikacija ima središnju ulogu ne samo u kontroli nepoželjnih mikroorganizama, već i u razvoju okusa, boje i teksture kobasice tijekom fermentacije.

Aktivitet vode (a_w), odnosno, voda raspoloživa za odvijanje metabolizma prisutnih mikroorganizama i pH vrijednost su ograničavajući faktori za rast mikroorganizama. Svježe meso ima pH vrijednost povoljnu za rast mikroorganizama (pH 5,6 – 6,0) i relativno visok aktivitet vode (0,98 – 0,99), dok je za trajne fermentirane kobasice karakteristično da na kraju zrenja imaju pH vrijednost između 5,2 i 5,8, a aktivitet vode između 0,85 – 0,91 (Vignolo i sur., 2010). BMK, stafilokoki i mikrokoki nisu osjetljivi na niske vrijednosti pH pa tako nakon tjedan dana fermentacije oni čine dominantnu bakterijsku floru.

Rast i preživljavanje patogena, kao što su *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* i *Campylobacter*, uglavnom su suzbijeni u fermentiranim mesnim proizvodima zbog niskih pH vrijednosti u kombinaciji s proizvedenom mliječnom kiselinom i niskom a_w vrijednosti. *Listeria monocytogenes* ima nešto bolju stopu preživljavanja, ali u trajnim kobasicama najčešće nestaje tijekom trećeg tjedna zrenja (Työppönen i sur., 2003). Proizvodnja neurotoksina i rast *Clostridium botulinum* kontrolirani su dodatkom nitrita te niskim vrijednostima pH i a_w (Peck i Stringer, 2005) dok su na uvjete tijekom fermentacije i zrenja kobasica najotpornije vrste *Staphylococcus aureus* i patogeni sojevi *Escherichia coli* koje predstavljaju i najveću potencijalnu opasnost. Međutim, taj rizik kod fermentiranih mesnih proizvoda nije velik (Erkkilä i sur., 2000).

Prema zaključcima panela o sigurnosti i stabilnosti hrane američke Agencije za hranu i lijekove (USFDA, 2001), pH vrijednost od 4,6 inhibira rast sporulirajućih patogena, dok je za vegetativne patogene ta vrijednost niža i iznosi 4,2. Rast većine patogenih bakterija je ograničen aktivitetom vode od 0,86 (USFDA, 2001), iznimka je *Staphylococcus aureus* koji raste pri aktivitetu vode od 0,83 i može producirati toksine na 0,88 (NSW Food Authority, 2008).

Osim sniženja pH, BMK doprinose mikrobiološkoj sigurnosti i senzoričkoj kvaliteti mesnih proizvoda sintezom antimikrobnih spojeva i spojeva zaslužnih za aromu gotovog proizvoda (Lücke, 2000; Talon i sur., 2002). Vodikov peroksid, kojeg uz mliječnu kiselinu proizvode

BMK, također može suzbiti rast ostalih bakterija. Velik broj BMK proizvode bakteriocine, odnosno proteine ili peptide koji imaju antimikrobno djelovanje na druge bakterije (Cleveland i sur., 2001). Do sada su za komercijalnu upotrebu u proizvodnji hrane odobreni nizin, koji nastaje metabolizmom *Lactococcus lactis* i koji je u upotrebi već dugi niz godina te je licenciran kao prehrambeni aditiv u preko 45 zemalja (Settanni i Corsetti, 2008; Gupta i sur., 2015), i bakteriocini (CclA, CbnBM1 i PisA) nastali metabolizmom *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307 koji su u SAD-u i Kanadi odobreni kao inhibitori *L. monocytogenes* u prerađenom mesu (Martin – Visscher i sur., 2011). Upotreba nizina u mesu nije efektivna, zato jer je pH mesa veći od optimalnog pH za aktivnost enzima (Rayman i sur., 1983) te zbog interferencija s komponentama mesa poput fosfolipida (De Vuyst i Vandamme, 1994) i glutationa (Rose i sur., 1999). Trenutno se intenzivno radi na pronalaženju novih bakteriocina dobivenih iz BMK, radi se na njihovom pročišćavanju, detaljnoj karakterizaciji i mogućnostima upotrebe u bioprezervaciji različitih namirnica i krmiva (Parada i sur., 2007; Nespolo i Brandelli, 2010). Razvoj suvremenih metoda poput sekvenciranja nove generacije i metagenomički pristup istraživanju mikrobnih zajednica tijekom fermentacije omogućio je efikasniju identifikaciju sojeva koji produciraju bakteriocine u odnosu na metode ovisne o uzgoju (O'Connor i sur., 2015). Osim BMK, u zrenju fermentiranih kobasica sudjeluju i koagulaza-negativni stafilocoki (CNC) i bakterije roda *Kocuria*, a važni su zbog izražene nitritne i nitratne reduktazne aktivnosti koja dovodi do razvoja i stabilizacije poželjne crvene boje (Liepe, 1983), razgradnje peroksida (Samelis i sur., 1998), ograničavanja oksidacije lipida i sprječavanja užeglosti, a doprinose i razvoju arome zbog proteolize i lipolize čime nastaju esteri i drugi aromatski spojevi (Cai i sur., 1999).

Poznato je da lipoliza ima središnju ulogu u razvoju aroma. Razgradnjom lipida dolazi do oslobađanja slobodnih masnih kiselina prvenstveno djelovanjem lipaza iz mesa (Kenneally i sur., 1998; Galgano i sur., 2003) i u manjoj mjeri enzimatskom aktivnošću autohtone mikroflore. Oksidativnom degradacijom otpuštenih masnih kiselina nastaju alkeni, alkani, alkoholi, aldehidi, ketoni i furani (Viallon i sur., 1996; Chizzolini i sur., 1998), spojevi odgovorni za specifičnu aromu i okus kobasica. Bakterije mliječne kiseline imaju slabu lipolitičku aktivnost, a dosadašnja istraživanjima su pokazala kako su za razgradnju masti u kobasicama najznačajniji stafilocoki (Montel i sur., 1998). Metabolizam proteina mesa je također od velike važnosti za razvoj okusa. Sadržaj proteina u mesu može varirati ovisno o vrsti i prehrani životinje. Tijekom proizvodnje trajnih fermentiranih kobasica, proteaze iz mesa i mikrobnih enzimi uzrokuju razgradnju proteina

mesa i nastajanje malih peptida i slobodnih amonokiselina koji su prekursori aromatskih spojeva (Aristoy i Toldrá, 1995; Sanz i Toldrá, 1997; Sanz i sur., 1998). Pri tome su proteaze iz mesa, naročito enzimi katepsin – D tipa, odgovorni za proteolizu i nastanak peptida (Hiero i sur., 1999; Molly i sur., 1997), dok mikrobnih enzimi više djeluju na nastale oligopeptide tijekom kasnijih faza zrenja (Hughes i sur., 2002). Iako u malom opsegu i ovisno o soju, mikrobnih proteolitička aktivnost doprinosi inicijalnoj razgradnji proteina (Kenneally i sur., 1999; Molly i sur., 1997; Sanz i sur., 1999; Fadda i sur., 2002). U fermentiranim mesnim proizvodima proteoliza se najvećim dijelom pripisuje bakterijama iz skupine BMK, od kojih se kao proteolitički značajne vrste spominju *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* i *Lactobacillus acidophilus* (Toledano i sur., 2011).

Potencijal korištenja sojeva BMK u proizvodnji tradicionalnih trajnih kobasica

Prema Hammes i sur. (1990) mesne starter kulture su preparati koji sadrže aktivne ili dormantne mikroorganizme koji razvijaju željenu metaboličku aktivnost u mesu te uzrokuju promjene senzornih svojstava namirnice. Većina komercijalno dostupnih starter kultura je mješavina BMK, i to rodova *Lactobacillus* i *Pediococcus* (Demeyer i Toldrá, 2004) sa stafilokokima i / ili mikrokokima. Ammor i Mayo (2007) u svom preglednom radu predlažu nove kriterije za izbor sojeva BMK kao starter kultura u proizvodnji trajnih kobasica. Heterofermentativne BMK nisu prikladne kao starteri budući da proizvode velike količine CO₂ što može rezultirati nepoželjnom teksturom, te octenu kiselinu u koncentraciji koja može rezultirati narušavanjem organoleptičkih karakteristika. Uz homofermentativni put razgradnje ugljikohidrata nužna je i sposobnost brze produkcija mliječne kiseline u dovoljnoj mjeri da se pH spusti < 5,1, kao i kompetitivnost soja sa prirodnom mikrobiotom sirovog mesa, odnosno sposobnost preživljavanja i održavanja metaboličke aktivnosti u anaerobnoj atmosferi, visokoj koncentraciji soli (2 – 10 %), niskoj temperaturi (2 – 24 °C) i niskoj pH vrijednosti (4,2 – 6). Odabrani soj mora imati dobru katalaznu, proteolitičku i lipolitičku aktivnost, mora reducirati nitrate i nitrite i pokazivati toleranciju ili sinergiju s ostalim mikrobiološkim komponentama startera. Ne smije biti patogen niti pokazivati toksičnu aktivnost, ne smije imati amino dekarboksilaznu aktivnost kako bi se izbjeglo nakupljanje biogenih amina i ne smije imati gene za antibiotsku rezistenciju kako bi se izbjegao horizontalni transfer gena.

Mikrobna raznolikost tradicionalnih proizvoda predstavlja poželjan izvor divljih sojeva koji dominiraju u spontanoj fermentaciji i u usporedbi s komercijalnim starterima imaju veću metaboličku aktivnost koja može

doprinijeti kvaliteti proizvoda u vidu formiranja aroma ili povećanja sigurnosti hrane (Leroy i sur., 2006). U svom istraživanju, Frece i sur. (2014) su usporedili utjecaj autohtonih sojeva izoliranih iz tradicionalnih kobasica i utjecaj komercijalnih startera na kvalitetu industrijskih kobasica. Rezultati ovog istraživanja su pokazali da autohtoni sojevi imaju sposobnost preživljavanja tijekom industrijske proizvodnje, a također su pokazali bolje rezultate u razvoju senzornih karakteristika, stabilnosti i mikrobiološke sigurnosti kobasica, u usporedbi s komercijalnim sojevima. Uz navedeno, imajući na umu da komercijalni starteri nisu jednako uspješni u svim tipovima kobasica, naglašena je potreba za selekcijom prikladnih sojeva koji mogu održati brojnost i metaboličku aktivnost u određenoj mješavini mesa i načinu fermentacije. Stoga za fermentaciju tradicionalnih kobasica najviše obećavaju sojevi izolirani iz mikrobiote takvih kobasica (Dalla Santa i sur., 2014; Palavecino Prpich i sur., 2015). Međutim, zbog velikog tehnološkog potencijala njihove primjene, razmatraju se različiti pristupi selekcije odgovarajućih sojeva. Primjerice, Cenci – Goga i sur. (2012) su pokazali kako primjena izabranih sojeva laktokoka i laktobacila, izoliranih iz tradicionalnih sireva i primijenjenih u proizvodnji kobasica od mesa divljači, dovodi do inhibicije rasta potencijalnih patogena i poboljšanja senzornih karakteristika. U sličnom istraživanju, Mrkonjić Fuka i sur. (2015) su utvrdili tehnološke karakteristike sojeva BMK izoliranih iz tradicionalnih hrvatskih sireva prije primjene kao mikrobnih kultura u proizvodnji kobasica od divljači. Autori ove studije ističu kako navedeni sojevi BMK imaju proteolitički i antimikrobni potencijal, kao i sposobnost acidifikacije, čime su stvoreni preduvjeti za njihovu selekciju i primjenu u različitim fermentiranim proizvodima. Osim kao starter kultura, zbog pozitivnog učinka na zdravlje u smislu poboljšanja mikrobne ravnoteže probavnog trakta domaćina, sojevi BMK među kojima naročito laktobacili, imaju potencijal upotrebe kao probiotici. Donedavno su se probiotici povezivali prvenstveno s mliječnim proizvodima, no pokazano je kako je matriks kobasica pogodan medij za prijenos probiotičkih sojeva (Klingberg i Budde, 2006; Rubio i sur., 2014). Stoga su mnogobrojne studije usmjerene na ispitivanje sposobnosti preživljavanja izabranih probiotičkih sojeva tijekom fermentacije, njihovih funkcionalnih karakteristika i sigurnosnih aspekata (Ruiz – Moyano i sur., 2010; Nogueira Ruiz i sur., 2014). Primjerice, u *in vivo* istraživanju na miševima, Frece i sur. (2010) su pokazali da bi se soj *Lactobacillus plantarum* 1K izoliran iz slavonskog kulena mogao upotrijebiti kao probiotički soj za uspostavljanje narušene ravnoteže crijevne mikroflore, budući da su rezultati pokazali ograničavanje rasta oportunističkih patogena, a zbog navedene antimikrobne aktivnosti navedeni soj

također ima potencijal za upotrebu kao starter kultura. Intenzivno se istražuju i razne druge mogućnosti proizvodnje što kvalitetnijih, nutritivno uravnoteženih namirnica. Primjerice, Totosaus (2011) ističe da je dodavanje biljnih masti i ulja kuhanim kobasicama dobar način za povećanje njihove nutritivne vrijednosti, Méndez – Zamora i sur. (2015) su pokazali mogućnost proizvodnje frankfurter kobasica na način da se mast zamijeni vlaknima (inulin i pektin), Žochowska – Kujawska i sur. (2013) su pokazali da dodavanjem biljnih sokova koji sadrže proteolitičke enzime dolazi do omekšavanja inače tvrdog mesa divlje svinje, korištenog za proizvodnju trajnih kobasica. Ovakav smjer istraživanja naglašava potrebu za proizvodnjom visokokvalitetne hrane uz korištenje najnovijih znanstvenih spoznaja, prilikom čega korištenje sojeva BMK, samostalno ili u kombinaciji sa drugim (bio)tehnološkim rješenjima, pokazuje veliki potencijal.

ZAKLJUČAK

Suvremeni zahtjevi za visokom razinom sigurnosti hrane i njene kvalitete podrazumijevaju potpunu kontrolu proizvodnog procesa. S tim ciljem je u fokusu znanstvenog interesa istraživanje potencijala primjene izabranih sojeva bakterija mliječne kiseline u proizvodnji tradicionalnih kobasica. Dosadašnja istraživanja pokazala su obećavajuće rezultate, u vidu sprječavanja proliferacije potencijalnih patogena i poboljšanja organoleptičkih karakteristika.

Zahvala

Ovaj pregledni rad je ostvaren u sklopu projekta "Očuvanje mikrobne raznolikosti povezane s proizvodnjom hrvatskih tradicionalnih kobasica od divljači: biotehnoška i sigurnosna karakterizacija" (miCROgame UIP-11-2013-6640) financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost.

LITERATURA

- Ammor, M. S., B. Mayo (2007):** Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science* 76, 138 – 146.
- Andrighetto, C., L. Zampese, A. Lombardi (2001):** RAPD-PCR characterization of lactobacilli isolated from artisanal meat plants and traditional fermented sausages of Veneto region (Italy). *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 26 – 30.
- Aristoy, M. C., F. Toldrá (1995):** Developments in Food science. Isolation of flavour peptides from raw pork meat and dry – cured ham. Elsevier Science. Amsterdam, 1995.
- Avagnina, A., D. Nucera, M. A. Grassi, E. Ferroglio, A. Dalmasso, T. Civera (2012):** The microbiological conditions of carcasses from large game meat animals in Italy. *Meat Science* 9, 266 – 271.
- Cai, D., Y. Shen, M. De Bellard, S. Tang, M. T. Filbin (1999):** Prior exposure to neurotrophins blocks inhibition of axonal regeneration by MAG and myelin via a cAMP-dependent mechanism. *Neuron* 22, 89 – 101.
- Cenci-Goga, B. T., P. V. Rossitto, P. Sechi, S. Parmegiani, V. Cambiotti, J. S. Cullor (2012):** Effect of selected dairy starter cultures on microbiological, chemical and sensory characteristics of swine and venison (Dama dama) nitrite-free dry-cured sausages. *Meat Science* 90, 599 – 606.

- Chizzolini, R., E. Novelli, E. Zanardi (1998):** Oxidation in traditional Mediterranean meat products. *Meat Science* 49, 87 – 99.
- Cleveland, J., T. J. Montville, I. F. Nes, M. L. Chikindas (2001):** Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 71, 1 – 20.
- Cocolin L., M. Manzano, C. Cantoni, G. Comi (2001):** Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in the bacterial population during fermentation of Italian sausages. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 5113 – 5121.
- Comi, G., R. Urso, L. Iacumin, K. Rantsiou, P. Cattaneo, C. Cantoni, L. Cocolin (2005):** Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science* 69, 381 – 392.
- Dalla Santa, O. R., R. E. F. D. Macedo, H. S. D. Santa, C. M. Zanette, R. J. S. D. Freitas, N. N. Terra (2014):** Use of starter cultures isolated from native microbiota of artisanal sausage in the production of Italian sausage. *Food Sci. Technol. (Campinas)* 34, 780 – 786.
- Demeyer, D.I., F. Toldrá (2004):** Encyclopedia of meat Science. Fermentation. Elsevier Science Ltd. London, 2004.
- Deutz, A., F. Völk, P. Pless, H. Fötschl, P. Wagner (2006):** Game meat hygiene aspects of dogging red and roe deer. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 57, 197 – 202.
- De Vuyst, L., E. Vandamme (1994):** Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetics and applications. Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*: properties, biosynthesis and applications. Blackie Academic and Professional. London, 1994.
- Drosinos, E.H., M. Mataragas, N. Xiraphi, G. Moschonas, F. Gaitis, J. Metaxopoulos (2005)** Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science* 69, 307 – 317.
- Erkkilä, S., M. Venäläinen, S. Hielm, E. Petäjä, E. Puolanne, T. Mattila – Sandholm (2000):** Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry sausage fermented by probiotic lactic acid bacteria. *J. Sci. Food Agr.* 80, 2101 – 2104.
- European Commission (2005):** [https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg2073_2005\(1\).pdf](https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg2073_2005(1).pdf)
- Fadda, S., G. Oliver, G. Vignolo (2002):** Protein degradation by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* in a sausage model system. *J. Food Sci.* 67, 1179 – 1183.
- Fontana C., S. P. Cocconcelli, G. Vignolo (2005):** Monitoring the bacterial population dynamics during fermentation of artisanal Argentinean sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 25, 131 – 42.
- Frece, J., D. Čvek, D. Kovačević, I. Gobin, T. Krcivoj, K. Markov (2010)** Karakterizacija bakterijskog soja *Lactobacillus plantarum* 1K izoliranog iz "slavonskog kulena" kao probiotičke funkcionalne starter kulture. *Meso* 12, 210 – 216.
- Frece, J., D. Kovačević, S. Kazazić, J. Mrvčić, N. Vahčić, D. Ježek, M. Hruškar, Ivona Babić, K. Markov (2014)** Comparison of Sensory Properties, Shelf-Life and Microbiological Safety of Industrial Sausages Produced with Autochthonous and Commercial Starter Cultures. *Food Technol. Biotechnol.* 52, 307 – 316.
- Galgano, F., F. Favati, M. Schirone, M. Martuscelli, M. Crudele (2003):** Influence of indigenous starter cultures on the free fatty acids content during ripening in artisan sausages produced in the Basilicata region. *Food Technol. Biotech.* 41, 253 – 258.
- Gill, C.O. (2007):** Microbiological conditions of meats from large game meat animals and birds. *Meat Science* 77, 149 – 160.
- Gupta, A., N. Sharma, N. Gautam (2015):** Preservative potential of purified bacteriocin produced from *Brevibacillus borstelensis* AG1 isolated from Marcha – A traditional wine starter culture cake in tomato paste. *JMBFS* 5, 448 – 451.
- Hammes, W.P., A. Bantleon, S. Min (1990):** Lactic acid bacteria in meat fermentation. *FEMS Microbiol Rev* 87, 165 – 174.
- Hierro, E., L. De la Hoz, J. A. Ordoñez (1999):** Contribution of the microbial and meat endogenous enzymes to the free amino acid and amine contents of dry fermented sausages. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1156 – 1161.
- Hughes, M. C., J. P. Kerry, E. K. Arendt, P. M. Kenneally, P. L. McSweeney, E. E. O'Neill (2002):** Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. *Meat Sci.* 2, 205 – 216.
- Kegalj, A., M. Krvavica, I. Ljubičić (2012)** Raznolikost mikroflore u mesu i mesnim proizvodima. *Meso* 14, 234 – 245.
- Kenneally, M., G. Fransen, H. Grau, E. O'Neill, K. Arendt (1999):** Effects of environmental conditions on microbial proteolysis in a pork myofibril model system. *J. Appl. Microbiol.* 87, 794 – 803.
- Kenneally, P. M., Schwarz, G., Fransen, N. G., Arendt, E. K. (1998):** Lipolytic starter culture effects on production of free fatty acids in fermented sausages. *J Food Sci* 63, 538 – 543.
- Klingberg, T. D., B. B. Budde (2006):** Survival and persistence in the human gastrointestinal tract of five potential probiotic lactobacilli consumed as freeze – dried cultures or as probiotic sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 109, 157 – 159.
- Kos, I., M. Gredičak, B. Sinčić Pulić, I. širić, M. Mrkonjić Fuka. (2015)** Senzorna svojstva trajnih kobasica od mesa domaće i divlje svinje. Pedeseti hrvatski i deseti međunarodni simpozij agronomija. Opatija, 16. – 20. veljače. Zbornik radova, Opatija, 438 – 442.
- Kovačević, L., K. Suman, D. Šubarić, K. Mastanjević, S. Vidaček (2009)** Investigation of homogeneity and physicochemical characterisation of the Homemade Slavonian Sausage. *Meso* 11, 338 – 344.
- Kozačinski, L., E. Drosinos, F. Čaklovića, L. Cocolin, J. Gasparik – Reichardt, S. Vesko- vić (2008):** Investigation of Microbial Association of Traditionally Fermented Sausages. *Food Technol. Biotechnol.* 46, 93 – 106.
- Lawrie, R. A. (1998):** Lawrie's Meat Science. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 1998.
- Lebert, I., S. Leroy, P. Giammarinaro, A. Lebert, J. P. Chacornac, S. Bover – Cid, M. C. Vidal – Carou, R. Talon (2007):** Diversity of microorganisms in environments and dry fermented sausages of French traditional small units. *Meat Science* 76, 112 – 122.
- Leroy, F., J. Verluuyten, L. De Vuyst (2006):** Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 106, 270 – 285.
- Liepe, H. U. (1983)** Starter cultures in meat production. *Biotechnology.* Verlag chemie, Weinheim, 1983.
- Lund, B. i T. Baird – Parker (2000)** Microbiological Safety and Quality of Food. Microbial ecology of different types of food. Springer Science & Business Media, 2000
- Lücke, F. K. (2000):** Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Sci.* 56, 105 – 115.
- Martin – Visscher, L. A., S. Yoganathan, C. S. Sit, C. T. Lohans, J. C. Vederas (2011):** The activity of bacteriocins from *Carnobacterium maltaromaticum* UAL307 against Gram-negative bacteria in combination with EDTA treatment. *FEMS Microbiol. Lett.* 317, 152 – 159.
- Méndez – Zamora, G., J. A. García – Macías, E. Santellano – Estrada, A. Chávez – Martínez, L. A. Durán – Meléndez, R. Silva – Vázquez, A. Quintero – Ramos (2015):** Fat reduction in the formulation of frankfurter sausages using inulin and pectin. *Food Sci. Technol.* 35, 25 – 31.
- Molly, K., D.I. Demeyer, G. Johansson, M. Raemaekers, M. Ghistelink, I. Geenen (1997):** The importance of meat enzymes in ripening and flavor generation in dry fermented sausages. First results of a European project. *Food Chem.* 54, 539 – 545.
- Montel, M.C., Masson, F., Talon, R. (1998):** Bacterial role in flavour development. *Meat Sci.* 49, 111 – 123.
- Mrkonjić Fuka, M., A. Žgomba Maksimović, I. Tanuwidjaja., J. Kajić, M. Žunabović, I. Kos (2015):** Tehnološka karakterizacija mikrobnih kultura izoliranih iz tradicionalnih sireva za proizvodnju kobasica od divljači. Pedeseti hrvatski i deseti međunarodni simpozij agronomija. Opatija, 16. – 20. veljače. Zbornik radova, Opatija, 456 – 460.
- Nespolo, C. R., A. Brandelli (2010):** Production of bacteriocin – like substances by lactic acid bacteria isolated from regional ovine cheese. *Braz. J. Microbiol.* 41, 1009-1018.
- NSW Food Authority (2008):** http://www.foodauthority.nsw.gov.au/_Documents/science/potentially-hazardous-foods.pdf
- Nogueira Ruiz, J., N. D. Montes Villanueva, C. S. Favaro – Trindade, C. J. Contreras – Castillo (2014):** Physicochemical, microbiological and sensory assessments of Italian salami sausages

with probiotic potential. *Sci. Agric.* 71, 204 – 211.

O'Connor, M. P., R. P. Ross, C. Hill, P. D. Cotter (2015): Antimicrobial antagonists against food pathogens; a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Food Science* 2, 51 – 57.

Palavecino Prpich, N. Z., M. P. Castro, M. E. Cayré, O. A. Garro, G. M. Vignolo (2015): Indigenous starter cultures to improve quality of Artisanal dry fermented sausages from Chaco (Argentina). *International Journal of Food Science* 2015, 9 stranica.

Papamanoli, E., N. Tzanetakis, E. Litopoulou – Tzanetaki, P. Kotzekidou (2003): Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry – fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci.* 2, 859 – 867.

Parada, J. L., C. Ricoy Caron, A. B. P. Medeiros, C. R. Soccol (2007): Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, Properties and use as Biopreservatives. *Braz. arch. biol. technol.* 50, 521 – 542.

Paulsen, P. (2011): Game meat hygiene in focus. An Austrian view. Wageningen Academic Publisher. Wageningen, 2011.

Peck, M. W., S. C. Stringer (2005): The safety of pasteurised in – pack chilled meat products with respect to the foodborne botulism hazard. *Meat Sci.* 70, 461 – 475.

Rantsiou, K., E. H. Drosinos, R. Urso, J. Krommer, J. Gasparik – Reichardt, S. Tóth, I. Metaxopoulos, G. Comi, L. Cocolin (2005): Molecular characterization of Lactobacillus species isolated from naturally fermented sausages produced in Greece, Hungary and Italy. *Food Microbiol.* 22, 19 – 28.

Rayman, K., N. Malik, A. Hurst (1983): Failure of nisin to inhibit outgrowth of Clostridium botulinum in a model cured meat system. *Appl. Environ. Microbiol.* 46, 1450 – 1452.

Rose, N.L., P. Sporns, M. E. Stiles, L. M. McMullen (1999): Inactivation of nisin by glutathione in fresh meat. *J. Food Sci.* 5, 759 – 762.

Rubio, R., A. Jofré, T. Aymerich, M. D. Guàrdia, M. Garriga (2014): Nutritionally enhanced fermented sausages as a vehicle for potential probiotic lactobacilli delivery. *Meat Sci.* 96, 937 – 942.

Ruiz – Moyano, S., R. Martin, M. J. Benito, A. Hernández, R. Casquete, R. D. Guia Córdoba (2010): Safety and functional aspects of pre – selected pediococci for probiotic use in Iberian dry – fermented sausages. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45, 1138 – 1145.

Samelis, J., J. Metaxopoulos, M. Vlassi, A. Pappa (1998): Stability and safety of traditional Greek salami – a microbiological ecology study. *Int. J. Food Microbiol.* 44, 69 – 82.

Sanz, Y., S. Fadda, G. Vignolo, M. C. Aristoy, G. Oliver, F. Toldrá (1999): Hydrolysis of

muscle myofibrillar proteins by Lactobacillus curvatus and Lactobacillus sakei. *Int. J. Food Microbiol.* 53, 115 – 125.

Sanz, Y., F. Mulholland, F. Toldrá (1998): Purification and characterization of a tripeptidase from Lactobacillus sake. *J. Agric. Food Chem.* 46, 349 – 353.

Sanz, Y., F. Toldrá (1997): Aminopeptidases activities from Lactobacillus sake in models of curing ingredients and processing conditions for dry sausage. *J. Food Sci.* 62, 1211–1213.

Settanni, L., A. Corsetti (2008): Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.* 121, 123 – 138.

Talon, R., S. Leroy – Sétrin, S. Fadda (2002): Research Advances in the Quality of Meat and Meat Products. Bacterial starters involved in the quality of fermented meat products. *Research Signpost.* Trivandrum, 2002.

Toledano, A., R. Jordano, C. López, LM. Medina (2011): Proteolytic activity of lactic acid bacteria strains and fungal biota for potential use as starter cultures in dry-cured ham. *J Food Prot.* 74, 826-9.

Totosaus, A. (2011): Vegetable fats and oils as functional ingredients in meat products. *N-cameh* 5, 108 – 118.

Trichopoulou, A., S. Soukara, E. Vasilopoulou (2007): Traditional foods: A science and society perspective *Trends. Food Science & Technology* 18, 498 – 504.

Työppönen, S., A. Markkula, E. Petäjä, M. L. Suihko, T. Mattila - Sandholm (2003): Survival of Listeria monocytogenes in North European type dry sausages fermented by bioprotective meat starter cultures. *Food Control* 14, 181 – 185.

USFDA – United States Food and Drug Administration (2001): <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/RetailFoodProtection/FoodCode/ucm2016794.htm>

Viallon, C., J. L. Berdagué, M. C. Montel, R. Talon, J. F. Martin, N. Kondjoyan, C. Denoyer (1996): The effect of stage of ripening and packaging on volatile content and flavor of dry sausages. *Food Res. Int.* 29, 667 – 674.

Vignolo, G., C. Fontana, S. Fadda (2010): Handbook of Meat Processing. Semidry and Dry Fermented Sausages. Wiley. Published Online, 2010.

Żochowska-Kujawska, J., K. Lachowicz, M. Sobczak, A. Nędzarek, A. Tórz (2013): Effects of natural plant tenderizers on proteolysis and texture of dry sausages produced with wild boar meat addition. *Afr. J. Biotechnol.* 12, 5670 – 5677.

Dostavljeno 15.11.2015.

Prihvaćeno: 18.11.2015.

Milchsäurebakterien in der Herstellung von traditionellen Dauerwürsten

ZUSAMMENFASSUNG

Hausgemachte spontan fermentierte Dauerwürste aus Wildfleisch sind ein anerkanntes und geschätztes Traditionsprodukt, das sich durch besondere sensorische Eigenschaften auszeichnet und eine Quelle von hochwertigen Nährstoffen darstellt. Die Wahl von unterschiedlichen Rohstoffen und Zusätzen sowie die veränderlichen Produktionsbedingungen führen zu einer unausgewogenen mikrobiologischen und sensorischen Qualität solcher Würste. Eine ausschlaggebende Rolle bei der Sicherstellung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit solcher Produkte haben die von Natur aus anwesenden, autochthonen Populationen der Milchsäurebakterien. Als Starterkulturen selektiert und appliziert, könnten die Populationen der Milchsäurebakterien die durch die mikrobiologische Kontamination während der Jagd und/oder während der Fleischverarbeitung verursachten Risiken reduzieren und sich günstig auf die organoleptischen Eigenschaften des Endprodukts auswirken. Das Ziel dieser Arbeit ist es daher, die Besonderheiten der Milchsäurebakterien und die Möglichkeiten ihrer Anwendung in der Fermentierung von Wildwurst aufzuzeigen.

Schlüsselwörter: Milchsäurebakterien, Würste, Wildfleisch

Las bacterias del ácido láctico en la producción de los chorizos crudo-fermentados tradicionales

RESUMEN

Los chorizos crudo-fermentados de la carne de caza fermentados espontáneamente y hechos en casa son productos tradicionales reconocidos y valiosos. Son caracterizados por sus propiedades sensoriales específicas y son la fuente de los ingredientes altamente nutritivos. No obstante, tanto la selección diferente de la materia cruda y de los aditivos como las condiciones variables llevan a las calidades microbiológicas y sensoriales desniveladas de estos tipos de chorizos. Las bacterias del ácido láctico (BAL) autóctonas, que están presentes de forma natural, tienen el papel clave en la provisión de la seguridad sanitaria de este tipo de productos. Seleccionadas y aplicadas como cultivos iniciadores de la población autóctona, las BAL podrían disminuir el riesgo causado por la contaminación microbiológica durante la caza y/o durante el procesamiento de la carne y de esta manera influir positivamente sobre las propiedades organolépticas del producto final. Por lo tanto el fin de este trabajo fue mostrar las especificidades de las bacterias del ácido láctico y las posibilidades de su aplicación durante la fermentación de los chorizos de carne de caza.

Palabras claves: bacterias del ácido láctico, chorizos, caza

I batteri lattici nella produzione delle tradizionali salsicce a lunga conservazione

SUNTO

Le salsicce di selvaggina a lunga conservazione, fermentate spontaneamente e prodotte artigianalmente, sono un prodotto noto e apprezzato. Esse hanno specifiche caratteristiche sensoriali e sono fonte d'ingredienti altamente nutrienti. Tuttavia, una differente scelta delle materie prime e degli additivi e la variabilità delle condizioni di produzione rendono la qualità microbiologica e sensoriale di queste salsicce non uniforme. La popolazione autoctona di batteri lattici (BL), naturalmente presente, svolge un ruolo chiave nel garantire l'idoneità sanitaria di simili prodotti. Selezionati e applicati come cultura starter della popolazione autoctona di BL, potrebbero ridurre i rischi causati dalla contaminazione microbiologica durante la caccia e/o durante la lavorazione delle carni e incidere positivamente sulle caratteristiche organolettiche del prodotto finale. L'obiettivo di questo lavoro, quindi, consiste nel mostrare la specificità dei batteri lattici e la possibilità della loro applicazione nella fermentazione delle salsicce di selvaggina.

Parole chiave: batteri lattici, salsicce, selvaggina



NOACK

GROUP OF COMPANIES

Vaš partner u kvaliteti!

Za Vas distribuiramo dijagnostičke testove i instrumente za kemijsku i mikrobiološku analizu hrane te kontrolu kvalitete higijene i čišćenja.

Između ostalog nudimo Vam:

Luminometar Uni-Lite NG - brza kontrola higijene.

Hranjive podloge - klasična mikrobiologija hrane.

PETRIFILM - inovativna mikrobiološka kontrola.

Kompletan program za uzorkovanje - abrazivne spužvice, brisevi...

Enzimatski testovi - određivanje kemijskog sastava hrane.

FTIR analizatori, laboratorijski NIR instrumenti, kao i NIR ONLINE aplikacije.

Brze metode detekcije patogenih mikroorganizama!

NOACK d.o.o. Hrvatska

Getaldićeva 8, Zagreb

Tel: 385 1 369 20 10

Fax: 385 1 369 20 11

office@noack.hr

www.noackgroup.com

Sa zadovoljstvom ćemo Vam dostaviti dodatne informacije ili osigurati prezentaciju o svakom od naših proizvoda!

AUSTRIA BULGARIA CROATIA CZECH REPUBLIC HUNGARY POLAND ROMANIA SERBIA SLOVAKIA SLOVENIA

Želimo Vam Čestit Božić i uspješnu novu 2016. godinu!