

Utvrđivanje prisustva gljivica *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus* u goveđem suhom mesu

Smajlović¹, A., Z. Maksimović², M. Rifatbegović², M. Smajlović³, E. Članjak³, I. Mujezinović¹

Prethodno priopćenje

SAŽETAK

Za potrebe istraživanja ukupno je uzeto 139 uzoraka goveđeg suhog mesa od individualnih i industrijskih proizvođača suhomesnatih proizvoda. Kada su u pitanju zanatlijski proizvođači sa sarajevskog tržišta, uzorkovano je ukupno 110 uzoraka goveđeg suhog mesa u rinfuznom stanju i vakuum pakovanju. Također, ispitano je ukupno 29 uzoraka goveđeg suhog mesa porijeklom od industrijskih proizvođača, u rinfuzi i vakuum pakovanju. Cilj je istraživanja bio izolirati potencijalno prisutne gljivice *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus* i odrediti njihovo prisustvo u spomenutim suhomesnatim proizvodima.

Cljučne riječi: *Aspergillus, flavus, parasiticus, goveđe suho meso*

UVOD

Veliki broj sojeva mikroskopskih filamentoznih gljivica izoliranih s površine različitih mesnih proizvoda pokazalo je *in vitro* sposobnost proizvodnje mikotoksina (Laciaková i sar., 2004). Ipak, trenutno ne postoji veći broj informacija i radova koji govore o kontaminaciji mesa i mesnih proizvoda ovim vrstama gljivica, a pogotovo tradicionalnih suhomesnatih proizvoda u Bosni i Hercegovini.

Izvori kontaminacije trajnih suhomesnatih proizvoda gljivicama i mikotoksinima su različiti. Najčešće, potencijalni izvori su kontaminirana hrana za životinje, nakon čega rezidue mikotoksina mogu dospjeti u meso (Duraković i Duraković, 2003; Mirić i Šobajić, 2002). Potom, izvori kontaminacije su i začini koji se koriste u izradi ovih proizvoda, a jednako tako treba uzeti u obzir i aerogenu kontaminaciju (Mandić i sur., 2007a). Također, mogući izvori kontaminacije su radne površine, oprema, komore za zrenje, ruke radnika itd. (Mandić i sur., 2007b).

Istraživanja nalaza gljivica u suhomesnatim proizvodima provedena su i u našem bližem okruženju. U trogodišnjem istraživanju koje je provedeno u R. Hrvatskoj u 420 uzoraka suhomesnatih proizvoda prikupljenih iz individualnih domaćinstava, utvrđeno je da njih 17,8% sadrži sojeve *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*, dok je sposobnost proizvodnje toksina testirana samo kod 75 sojeva. Utvrđene količine aflatoksina B1 kojega proizvodi gljivica *A. flavus* kretale su se od 1,4 do 3,12 mg/kg (Cvetnić i Pepeljnjak, 2006).

U istraživanju u R. Srbiji (Škrinjar i Horvat-Skenderović, 1989), u 31 ispitanom uzorku čajnih kobasica nije utvrđeno prisustvo gljivica *A. flavus* i *A. parasiticus*, niti aflatoksina. Međutim, 87 % uzoraka bilo je kontaminirano drugim plijesnima iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium*.

Cilj našeg istraživanja je bio utvrditi zastupljenost, vrstu i soj izolata gljivica roda *Aspergillus* izoliranih nakon proizvodnje i skladištenja tradicionalnog suhome-

¹ Dr. sc. Ahmed Smajlović dr. vet. med., docent; dr. sc. Indira Mujezinović, vanredni profesor Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo

² Dr. sc. Zinka Maksimović dr. vet. med., docent; Dr. sc. Maid Rifatbegović dr. vet. med., redovni profesor, Katedra za mikrobiologiju, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo

³ Dr. sc. Muhamed Smajlović dr. vet. med., redovni profesor, mr.sc. Enida Članjak dr. vet. med., viši asistent, Zavod za higijenu i tehnologiju živežnih namirnica animalnog porijekla, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo

Autor za korespondenciju: ahmed.smajlovic@vfs.unsa.ba

snatog proizvoda, goveđe suho meso, iz zanatske i industrijske proizvodnje, uzetih sa tržišta u Sarajevu.

MATERIJAL I METODE

Istraživanja su obavljena u Laboratoriju za toksikološke analize, laboratorijima Zavoda za higijenski nadzor namirnica i zaštitu životne sredine, te u Laboratoriju za bakteriologiju i mikologiju Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu.

Materijal

Za potrebe istraživanja, ukupno je na sarajevskom tržištu uzorkovano 139 uzoraka goveđeg suhog mesa (goveđa pečenica). Od toga je 110 uzoraka bilo porijeklom od individualnih/zanatskih proizvođača (75 uzoraka u rinfuzi i 25 u vakuum pakovanju), a 29 uzoraka od industrijskih proizvođača, od čega je bilo 12 uzoraka u rinfuzi, a 17 u vakuum pakovanju.

U istraživanju su u svrhu identifikacije izoliranih sojeva korišteni sljedeći referentni sojevi: *Aspergillus parasiticus* ATCC 26864 i *Aspergillus flavus* ATCC 32592 (American Type Culture Cole – ATCC, Manassas, VA, USA).

Metode

Metoda pripreme uzoraka

Priprema uzoraka goveđeg suhog mesa za mikrobiološko ispitivanje obavljena je prema standardnoj metodi BAS EN ISO 6887-2:2005 (Anon., 2005).

Osim ove, korištena je i metoda direktnog uzorkovanja sterilnim brisom s površine uzorka i zasijavanja na SDA (Samson i sur., 2004). Na ovaj način, zasijavanje materijala s brisa može se obaviti direktno na selektivnu podlogu, s tim da se umjesto uzorka, vrh brisa potopi u peptonsku vodu.

Izolacija vrsta *Aspergillus*

Za izolaciju vrsta *A. flavus* i *A. parasiticus* korišten je Sabouraud dekstrozni agar (SDA), a za njihovu daljnju kultivaciju Sabouraud dekstrozni bujon (SDB). Petrijeve ploče potom su aerobno inkubirane tijekom 5-7 dana pri temperaturi od 30 °C. Mikroskopsko ispitivanje obavljeno je stereomikroskopom (Leicka Zoom 2000) in situ, kako bi se utvrdio izgled konidija aspergila, a mikroskopom s tamnim poljem (Olympus CX 41) promatran je nativni preparat da bi se utvrdilo jesu li hife septirane, a pritom je promatran i sam izgled konidija (Quinn i sur., 2000; Samson i sur., 2004).

REZULTATI I DISKUSIJA

Od ukupno 139 analiziranih uzoraka goveđeg suhog mesa, kod sedam uzoraka utvrđeno je prisustvo gljivica roda *Aspergillus* (Tabela 1. i 2.).

Nakon rutinske izolacije, makroskopske i mikroskopske identifikacije vrsta roda *Aspergillus*, utvrđeno je da

svi izolirani sojevi pripadaju vrsti *A. parasiticus* (sedam izolata), dok prisustvo vrste *A. flavus* nije potvrđeno. Nije primijećena značajna razlika u dokazivanju gljivica standardnom u odnosu na metodu korištenja brisa.

Od ukupnog broja uzoraka goveđeg suhog mesa, 110 je uzeto iz zanatske proizvodnje. Rezultati istraživanja pokazuju da je pet uzoraka u rinfuzi (od ukupno njih 75) bilo pozitivno (4,54 %) na prisustvo *A. parasiticus*, dok niti u jednom od 35 uzoraka goveđeg suhog mesa u vakuum pakovanju iz zanatske proizvodnje, nije utvrđena gljivica *A. parasiticus*.

Od 29 ispitanih uzoraka goveđeg suhog mesa iz industrijske proizvodnje u rinfuzi je kontrolirano njih 12, od čega su dva uzorka bila pozitivna na prisustvo *A. parasiticus* (16,66 %), a od ispitanih 17 uzoraka u vakuum pakovanju nijedan nije bio pozitivan na prisustvo spomenute vrste gljivice.

Kako je već rečeno, u svijetu je proveden veliki broj istraživanja na prisustvo mikotoksinogenih, a naročito aflatoksinogenih vrsta gljivica i njihovih toksina u različitim namirnicama, ali je relativno malo onih koji govore o njihovom prisustvu u proizvodima koji su slični onima koji se tradicionalno proizvode i konzumiraju u Bosni i Hercegovini. Prema nama dostupnoj literaturi naše istraživanje je prvo ovakve vrste provedeno u našoj zemlji.

Naše rezultate možemo usporediti jedino s rezultatima istraživanja prisutnosti gljivica u suhomesnatim proizvodima od svinjskog mesa u R Hrvatskoj (Cvetnić i Pepeljnjak, 2006), prema kojima je 17,8 % uzoraka sadržavalo sojeve *A. flavus* i *A. parasiticus*. dok je sposobnost proizvodnje toksina testirano samo kod 75 sojeva. ruženju (Hrvatska i Srbija). Za razliku od naših istraživanja i sitraživanja Cvetnića i Pepeljnjaka (2006), Škrinjar i Horvat-Skenderović (1989) su u uzorcima trajnih kobasica (čajna kobasica) utvrdili kontaminaciju gljivicama roda *Aspergillus* i *Penicillium*, ali nije utvrđeno prisustvo *A. flavus* i *A. parasiticus*.

Također, u dostupnoj literaturi nismo uspjeli naći rezultate istraživanja utjecaja načina proizvodnje i pakovanja suhomesnatih proizvoda na njihovu mikološku kontaminaciju, za koje smo vjerovali da će imati veći značaj. Tome u prilog govore i rezultati analize uzorka goveđeg suhog mesa iz zanatske i industrijske proizvodnje prikazani u Tablicama 1 i 2). Razlog utjecaja načina pakiranja na onečišćenje proizvoda gljivicama leži i u činjenici da se kod pakiranja u vakuumu kisik evakuira na način da ga u pakovanju ostaje manje od 1 %. Poznato je da su sve gljivice, pa tako i vrste roda *Aspergillus* striktni aerobi, pa vakuum pakovanje ne pogoduje održavanju njihovih osnovnih životnih funkcija. Također, industrijski proces proizvodnje i provođenje dobre proizvođačke (GMP, Good manufacturing practice) i dobre higijenske prakse (GHP; Good hygiene practice) uz

Tablica 1. Rezultati analize uzoraka goveđeg suhog mesa iz zanatske proizvodnje na prisustvo gljivica roda *Aspergillus*

Zanatska proizvodnja			
Pakovanje	Broj uzoraka	Broj pozitivnih	Postotak (%) pozitivnih
Rinfuza	75	5	4,54
Vakuum pakovanje	35	-	-
Ukupno	110	5	5,5

implementaciju sustava HACCP-a mogu, uz upotrebu vakuum pakiranja, doprinijeti smanjenju kontaminacije suhomesnatih proizvoda različitim vrstama gljivica.

Iz navedenog se vidi da proizvodi od goveđeg suhog mesa iz industrijske proizvodnje u vakuum pakovanju predstavljaju zdravstveno sigurnije proizvode, jer niti jedan ovakav proizvod nije bio pozitivan na prisustvo gljivica *A. flavus* i *A. parasiticus*. Međutim, iako zdravstveno sigurniji, tradicionalno potrošači suhomesnatih proizvoda u BiH rjeđe kupuju vakumirane proizvode zbog drugačijih organoleptičkih karakteristika (posebno miris i ukus).

ZAKLJUČCI

Kod sedam ispitanih uzoraka goveđeg suhog mesa utvrđeno je prisustvo gljivica roda *Aspergillus*. Tom prilikom ustanovljeno je prisustvo vrste *A. parasiticus*, dok *A. flavus* nije utvrđen niti u jednom uzorku. Ističemo da gljivice nisu utvrđene u vakuumiranim proizvodima iz industrijske proizvodnje što upućuje na činjenicu da takvi proizvodi predstavljaju zdravstveno sigurnije proizvode.

LITERATURA

Anonimno (2005): BAS EN ISO 6887-2:2005. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Priprema ispitnih uzoraka, početnih suspenzija i decimalnih razrjeđenja za mikrobiološka ispitivanja - Dio 2: Specifična pravila za pripremu mesa i proizvoda od mesa

Tablica 2. Rezultati analize uzoraka goveđeg suhog mesa iz industrijske proizvodnje na prisustvo gljivica roda *Aspergillus*

Industrijska proizvodnja			
Pakovanje	Broj uzoraka	Broj pozitivnih	Postotak (%) pozitivnih
Rinfuza	12	2	16,66
Vakuum pakovanje	17	-	-
Ukupno	29	2	6,89

loška ispitivanja - Dio 2: Specifična pravila za pripremu mesa i proizvoda od mesa

Čvetnić Z., S. Pepeljnjak (1995): Aflatoxin-producing potential of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* isolated from samples of smoked-dried meat. *Nahrung*, 37, 4, 302-307.

Duraković S., L. Duraković (2003): Mikologija u biotehnologiji. Kugler, Zagreb.

Kensler T.W., B.D. Roebuck, G.N. Wogan, J.D. Groopman (2011): Aflatoxin: A 50-Year Odyssey of Mechanistic and Translational Toxicology. *Toxicology Sciences*, 120 (S1), 28-48.

Laciaková A., M. Pipová, M. Maté, V. Laciak (2004): Microbial analysis of the meat products focused on the occurrence of microscopic filamentous fungi. *Meso*, 6, 5, 24-28.

Mandić S., R. Grujić, Lj. Topalić-Trivunović, R. Đurica, S. Stojković (2007): Izvori mikološke i mikotoksikološke kontaminacije dimljenih suhomesnatih proizvoda. *Tehnologija mesa*, 49, 3-4, 157-162.

Mandić S., R. Grujić, Lj. Topalić-Trivunović, R. Đurica, S. Stojković (2007): Značaj mikološke kontrole u pogonima za proizvodnju mesa i proizvoda od mesa. *Tehnologija mesa*, 49, 3-4, 163-167.

Mirić M.O., S.S. Šobajić (2002): Zdravstvena ispravnost namirnica. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd.

Quinn P.J., M.E. Carter, B.K. Markey, G.R. Carter (2000): Clinical veterinary microbiology. Mosby UK.

Samson R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad (2004): Introduction to Food- and Airborne Fungi, 7rd edition. Centraalbureau Voor Schimmelcultures - Utrecht.

Škrinjar M., T. Horvat-Skenderović (1989): Kontaminacija trajne kobasice plesnima, aflatoksinima, ohratoksina i zearalenonom. *Tehnologija mesa* 2, 53-59.

Dostavljeno: 21.9.2017.

Prihvaćeno: 20.11.2017.

Establishing the presence of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* fungi in dry beef meat

SUMMARY

139 samples of dry beef meat were taken for the research purposes from the individual and industrial manufacturer of charcuterie. Regarding craft manufacturers from the Sarajevo market, the total of 110 samples of dry beef meat was sampled in bulk and vacuum packaging. Also, the total of 29 samples of dry beef meat was examined from the industrial manufacturers, both in bulk and vacuum packaging. The aim of the research was to isolate potentially present *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* fungi and determine their presence in the mentioned charcuterie.

Key words: *Aspergillus, flavus, parasiticus, dry beef meat*

Festlegung der Anwesenheit der Schimmelpilze *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus* im getrockneten Rindfleisch

ZUSAMMENFASSUNG

Die primäre Bedeutung für die Qualität traditioneller Fleischprodukte liegt in der Wahl des Schweinegenotyps für die Produktion der Fleischrohstoffe. Nicht alle Schweinegenotypen sind für die Herstellung von Dauerfleischprodukten gleichermaßen geeignet. Die Wahl des Genotyps hängt auch vom System ab, wie das Schwein während der Mast gehalten wurde. Für die Schweinemast im offenen und halb offenen System sind weniger produktive und widerstandsfähigere Rassen geeignet, und für die Intensivmast im geschlossenen System sind Schweinegenotypen geeignet, die eine gute Qualität der Schweinehälften und des Fleisches bei höherem Körpergewicht ergeben. Die Wahl des Schweinegenotyps hat bedeutenden Einfluss auf die Produktivität der Schweine während der Mast (täglicher Zuwachs, Futterverwertung), auf die Qualität ihrer Rumpfe (Hälften) und mittelbar auch auf die Qualität der Dauerfleischprodukte.

Schlüsselwörter: traditionelle Dauerfleischprodukte, Schweinegenotypen

Determinación de la presencia de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* en la carne de res seca

RESUMEN

Para fines de investigación fueron tomadas 139 muestras de la carne de res seca de los productores individuales e industriales de los productos cárnicos crudo-curados. Cuando se trata de la fabricación artesanal de carne en el mercado de Sarajevo, fueron muestreadas 110 muestras de la carne de res seca a granel y envasadas al vacío. También fueron investigadas 29 muestras de la carne de res seca de los productores industriales, a granel y envasadas al vacío. El objetivo de la investigación fue aislar hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* potencialmente presentes, y determinar su presencia en los productos cárnicos crudo-curados mencionados.

Palabras claves: *Aspergillus*, *flavus*, *parasiticus*, carne de res seca

Accertamento della presenza dei funghi *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* nella carne bovina essiccata

SUNTO

Per le esigenze della ricerca sono stati prelevati 139 campioni di carne bovina essiccata da produttori artigianali e industriali di salumi. Per quanto riguarda i produttori artigianali operanti sul mercato di Sarajevo, sono stati prelevati 110 campioni d'insaccati commercializzati in parte alla rinfusa, in parte sottovuoto. L'analisi ha anche riguardato complessivamente 29 campioni di carne bovina essiccata di produzione industriale, anch'essi commercializzati in parte alla rinfusa, in parte sottovuoto. Scopo della ricerca era quello d'isolare la potenziale presenza dei funghi *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* e stabilire la loro presenza negli anzidetti prodotti insaccati.

Parole chiave: *Aspergillus*, *flavus*, *parasiticus*, carne bovina essiccata