

# Primjena *Enterococcus faecalis* 101 iz mlijeka u proizvodnji trajnih kobasica



## Implementation of a dairy-origin culture of *Enterococcus faecalis* 101 in the production of dry sausages

Zdolec, N.\*, M. Čop, V. Dobranić

### Sažetak

**E**nterococcus faecalis 101 izoliran je iz sirovog mlijeka i primijenjen u proizvodnji trajnih kobasica od svinjskog mesa u domaćinstvu. Soj pokazuje inhibicijsko djelovanje prema bakteriji *L. monocytogenes* in vitro. Tijekom zrenja kobasica praćen je broj aerobnih mezofilnih bakterija, bakterija mliječne kiseline, enterokoka, kvasaca i plijesni, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas* spp. i *Yersinia enterocolitica*. Patogene bakterije nisu izolirane, a broj enterokoka u inokuliranoj kobasici ostao je nepromijenjen tijekom zrenja (5 log CFU/g). Kultura *E. faecalis* 101 nije utjecala nepovoljno na senzorna svojstva kobasica. Potrebna su dodatna istraživanja sigurnosti soja s obzirom na virulentnost, rezistenciju i biogene amine.

**Ključne riječi:** *Enterococcus faecalis*, trajne kobasice, zaštitna kultura

### Abstract

*Enterococcus faecalis* 101 has been isolated from raw milk and inoculated into home-made fermented pork sausages. The culture shows anti-listeria activity in vitro. Total viable count, lactic acid bacteria, enterococci, yeasts and moulds, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas* spp. and *Yersinia enterocolitica* were monitored during ripening. Foodborne pathogens were absent, while the enterococci count in inoculated sausages remain constant during ripening (5 log CFU/g). Culture of *E. faecalis* 101 did not have a negative influence on the sensory properties of the sausages. Further studies are needed to evaluate virulence factors, resistance and biogenic amines production of the culture.

**Key words:** *Enterococcus faecalis*, dry sausages, protective culture

### Uvod

Trajne kobasice vrlo su cijenjeni mesni proizvodi zbog zahtjevnih procesa proizvodnje, visokokvalitetnih sastojaka i primamljivih senzornih svojstava.

S druge strane, ti se proizvodi mogu razmatrati i kao izvor tvari sa zdravstveno nepoželjnim učincima za potrošače, vezanima uz visok sadržaj soli, zasićenih masti, kolesterola i dr. (Popelka, 2016.). Mikrobiološki, ti su proizvodi rijetko rizični u smislu

Dr. sc. Nevijo ZDOLEC, dr. med. vet., docent, dr. sc. Vesna DOBRANIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; Matea Čop, studentica; \*e-mail: nzdolec@vef.hr

patogene mikroflora, no to ovisi o vrsti proizvoda, fizikalno-kemijskim svojstvima kobasica te eventualnoj naknadnoj kontaminaciji (npr. narezivanje). U posljednje se vrijeme preispituje i pojava prenosivih gena rezistencije u prirodnoj apatogenoj mikroflori kobasica; bakterijama mliječne kiseline ili stafilokokima (Zdolec i sur., 2013.; Zdolec, 2016.). Smanjenje mikrobioloških rizika može se postići različitim tehnologijama i njihovim kombinacijama, poznatih kao *hurdle concept* (Kamenik, 2016.). Najbrojnije i biološki najaktivnije skupine mikroorganizama u nadjevu pojedinih vrsta fermentiranih kobasica jesu bakterije mliječne kiseline, stafilokoki i mikrokoki, te kvasci i plijesni, pa se one mogu primijeniti i u obliku starter-kultura. Svrha dodavanja starter-kultura jest ujednačavanje kakvoće proizvoda (senzorna svojstva) i ubrzavanje proizvodnog procesa. Jedna od mogućnosti sistiranja nepoželjne mikroflora ili autohtone mikroflora u kobasicama jest primjena mikrobnih starter kultura koje pokazuju i antimikrobna svojstva ili primjena njihovih antimikrobnih metabolita poput bakteriocina. Među bakterijama mliječne kiseline enterokoki često pokazuju antimikrobno djelovanje sintezom bakteriocina enterocina (Fraqueza i sur., 2016.).

Mišljenja o higijenskom i tehnološkom značenju enterokoka u nadjevu fermentiranih kobasica često su oprečna; s jedne strane pripisuje im se utjecaj na senzorna svojstva budući da su fermentacijske bakterije, dok su s druge strane pojedine vrste izazivači kvarenja mesa, ali i potencijalni patogeni te nositelji rezistentnih gena. Enterokoki mogu preživjeti i umnažati se tijekom fermentacije u mesnim i mliječnim proizvodima, posebno u proizvodima bez uporabe kompetitivnih starter-kultura (Zdolec, 2007.). Enterokoki su prisutni posvuda u okolišu, a u fermentiranoj hrani imaju tehnološku važnost u razvoju senzornih svojstava. Rabe se i kao starter-kulture u mljekarstvu, no moraju zadovoljiti preduvjete sigurnosti, poput izostanka gena rezistencije, virulentnih faktora ili produkcije biogenih amina. Antimikrobna aktivnost enterokoka ispoljava se primarno prema srodnim gram-pozitivnim bakterijama, a najvažnija je inhibicija rasta bakterije *Listeria monocytogenes* (Sparo i sur., 2008.). Vrlo je malo istraživanja provedeno o primjenjivosti enterokoka u proizvodnji fermentiranih mesnih proizvoda, uglavnom kao biozaštitnih kultura (Rubio i sur., 2013.; Cenci Goga i sur., 2016.). Cilj je ovog rada ispitati inhibicijski potencijal soja *Enterococcus faecalis* 101 izoliranog iz sirovog mlijeka na *L. monocytogenes in vitro* te isti soj primijeniti kao starter-kulturu u tradicionalnoj proizvodnji fermentiranih kobasica u domaćinstvu.

## Materijal i metode

### Identifikacija *Enterococcus faecalis* 101 i njegova antimikrobna aktivnost

*Enterococcus faecalis* 101 izdvojen je iz sirovog mlijeka primjenom *Enterococcus* Compass agara (BI-OKAR, Francuska) u prijašnjem istraživanju (Zdolec i sur., 2016.). Identifikacija soja provedena je pomoću MALDI-TOF prema preporukama proizvođača (Bruker Daltonik, Bremen, Njemačka) i prije opisanom protokolu (Dobranić i sur., 2016.). Antimikrobna aktivnost izolata testirana je agar-difuzijskim testom primjenom bakterije *L. monocytogenes* ATCC 7644 kao indikatorskog mikroorganizma. Soj je namnažan u MRS bujonu (Merck, Darmstadt, Njemačka) tijekom 24 h na 37 °C. Potom je aktivna kultura centrifugirana na 10 000 g tijekom 10 minuta na 4 °C. Supernatant je izdvojen te neutraliziran s 1M NaOH. Brain Heart Infusion agar prekriven je mekim (0,8 % agara) BHI agarom u koji je dodano 0,1 mL kulture *L. monocytogenes*. Potom su načinjene jažice u koje je dodano 100 µL kulture *E. faecalis* 101, supernatanta kulture te neutraliziranog supernatanta. Ploče su potom ostavljene 60 min u hladnjaku i zatim inkubirane 24 h na 37 °C. Nakon inkubacije provjerena je pojava zone inhibicije rasta *L. monocytogenes*. Pojava zone inhibicije oko jažice s neutraliziranim supernatantom smatra se posljedicom djelovanja inhibitora koji nije organska kiselina.

### Priprema inokuluma *Enterococcus faecalis* 101 za primjenu u kobasicama

*Enterococcus faecalis* 101 namnažan je u MRS bujonu tijekom 24 h na 37 °C nakon čega je provjeren broj stanica u 1 mL na MRS agaru. Postupak namnažanja ponovljen je i provedeno je centrifugiranje kulture nakon čega su stanice isprane dvaput u fiziološkoj otopini te potom otopljene u sterilnoj destiliranoj vodi. Ponovno je provjeren broj stanica u mililitru otopine na MRS agaru. Dan prije pripreme nadjeva pripremljen je inokulum tako da je odabrano razrjeđenje koje je inokulirano u 5 kg nadjeva, čime je postignut broj stanica *E. faecalis* od 10<sup>5</sup> po gramu nadjeva kobasica.

### Proizvodnja trajnih kobasica

U pripremi nadjeva korišteno je 10 kg svinjske vratine s pripadajućim masnim tkivom, koja je kupljena u jednom supermarketu gdje je i usitnjena strojem za mljevenje mesa. U domaćinstvu je u sirovinu dodano 2 % kuhinjske soli te komercijalna smjesa začina i aditiva (Derma, Varaždin). Nadjev je podijeljen u dva

jednaka dijela (5 kg svaki) nakon čega je jedan dio inokuliran kulturom *E. faecalis* 101. Nakon miješanja nadjev je punjen ručnom punilicom u svinjska tanka crijeva (38 – 42 mm; Derma, Varaždin). Kobasice su ovješene u pušnicu gdje su dimljene pet puta svaki drugi dan po nekoliko sati hladnim dimom bukve i graba. Nakon faze dimljenja kobasice su ostavljene na sušenju i zrenju u tavanskim prostorijama do 40. dana od dana nadijevanja.

### Uzorkovanje i analize

Dvije skupine kobasica uzorkovane su nulti, 7., 14., 30. i 40. dan proizvodnje te je određivan ukupni broj bakterija na Plate Count Agar (PCA, bioMérieux, Francuska) inkubiranjem 72 h na 30 °C, broj bakterija mliječne kiseline na MRS agaru (Merck, Njemačka) inkubiranjem 48 h na 30 °C, broj enterokoka na Compass Enterococcus agar (Bio-Kar, Francuska) inkubiranjem 24 h na 37 °C, broj kvasaca i plijesni na Yeast Glucose Chloramphenicol agaru (Merck) tijekom 5 dana na 25 °C, broj *Pseudomonas* spp. na Cetrimide agaru (Oxoid, UK) inkubiranjem 24 h na 25 °C, *Staphylococcus aureus* na Baird-Parker agaru (Merck, Njemačka) te *Listeria monocytogenes* na ALOA agaru (Oxoid, UK) inkubiranjem 24-48 h na 37 °C i *Yersinia enterocolitica* na CIN agaru (bioMérieux, Francuska) tijekom 24 h na 30 °C. U uzorcima je određivana aktivnost vode (HigroPalm AW1, Rotronic, Švicarska), količina NaCl po Mohru te pH u iscrpini digitalnim pH-metrom (pH 510 Eutech Instruments, Nizozemska). Kobasice su na kraju istraživanja ocijenjene organoleptički od strane sedam ocjenjivača prema protokolu (Zdolec, 2007.):

#### 1. Prije kušanja:

a) ocjena boje		
loše	(1 do 10)	dobro
b) ocjena izgleda presjeka		
loše	(1 do 10)	dobro
c) ocjena povezanosti nadjeva (povezanost masnog i mišićnog tkiva)		
loše	(1 do 10)	dobro

#### 2. Ocjena mirisa proizvoda

Postoji li neugodan miris?

DA NE

Ako DA:

Opiši

Prekini ocjenjivanje

Ako NE, ocijeni

loše	(1 do 10)	dobro
------	-----------	-------

#### 3. Kušaj proizvod i ocijeni:

a) užeglost		
loše	(1 do 10)	dobro
b) kakvoća masti		
loše	(1 do 10)	dobro
c) kiselost		
loše	(1 do 10)	dobro
d) sočnost		
loše	(1 do 10)	dobro
e) nježnost		
loše	(1 do 10)	dobro
f) okus općenito		
loše	(1 do 10)	dobro

#### 4. Ocjena proizvoda 10 minuta nakon kušanja

loše	(1 do 10)	dobro
------	-----------	-------

#### 5. Ocjena ukupnog dojma senzornih svojstava

loše	(1 do 10)	dobro
------	-----------	-------



Slika 1. Kontrolne i eksperimentalne kobasice prema danima zrenja (slijeva nadesno: nulti, 7., 14., 30. i 40. dan).  
Snimila: Matea Čop.



Slika 2 i 3. Presjek kobasica na kraju zrenja. Snimila: Matea Čop.

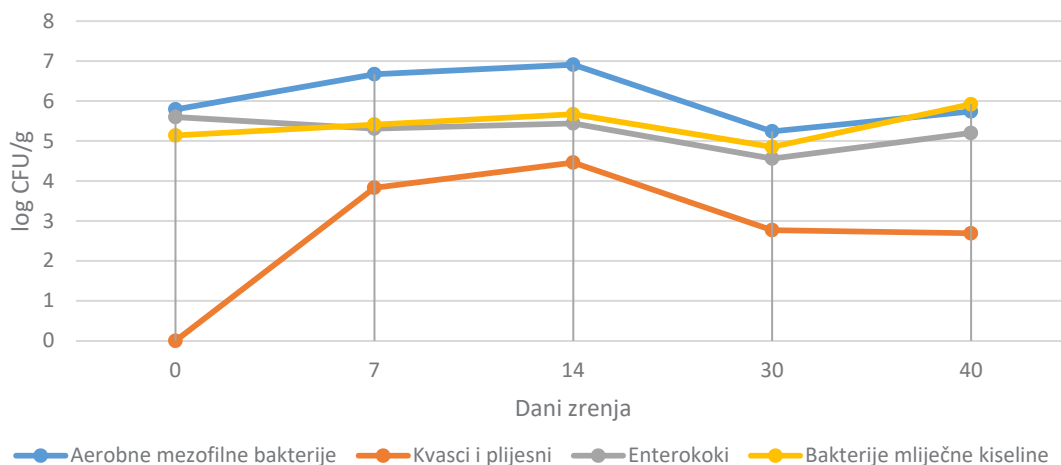
Na slikama 1 – 3 prikazane su kobasice iz istraživanja, prema fazama zrenja (nulti do 40. dan), te presjek kobasica (40. dan).

## Rezultati

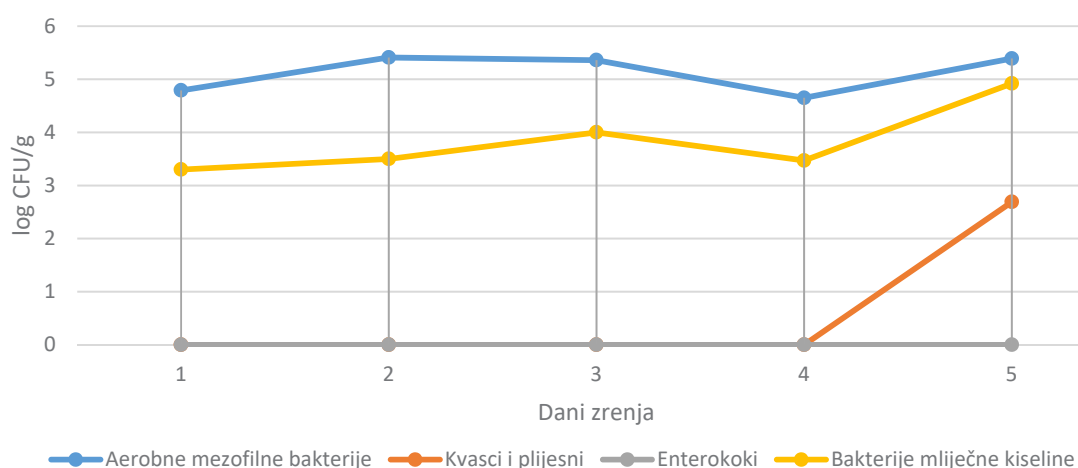
MALDI – TOF MS identifikacijom utvrđeno je da soj pripada vrsti *Enterococcus faecalis* (score 2.163). Preliminarnim testiranjem inhibicijskog djelovanja *E. faecalis* 101 prema *L. monocytogenes* utvrdili smo zone inhibicije rasta patogena aktivnom kulturom i neutraliziranim supernatantom što može upućivati na moguće djelovanje enterocina. Na slikama 4 i 5 prikazan je broj aerobnih mezofilnih bakterija, kvasaca i plijesni, enterokoka i bakterija mliječne kiseline tijekom zrenja kontrolnih kobasica i kobasica inokuliranih kulturom *Enterococcus faecalis* 101.

Rezultati (slike 4 i 5) pokazuju da je broj aerobnih mezofilnih bakterija u kontrolnim kobasicama

bio manji za približno 1 log u odnosu na kobasice s dodatkom *E. faecalis* do 30. dana zrenja, da bi u gotovom proizvodu bio podjednak u objema skupinama kobasica. U kobasicama s kulturom *E. faecalis* broj aerobnih mezofilnih bakterija povećavao se do 14. dana ( $8 \times 10^6$  CFU/g) te potom smanjivao za 1 log prema kraju zrenja. U kontrolnim se kobasicama broj značajno povećavao u ranijoj fazi fermentacije (do 14. dana). Nadalje, broj kvasaca i plijesni u kontrolnim kobasicama bio je ispod granica detekcije metode brojenja ( $< 100$  CFU/g), i tek neznatno veći od tog 40. dana zrenja. U kobasicama s kulturom *E. faecalis* broj kvasaca i plijesni povećavao se do 14. dana ( $2,9 \times 10^4$  CFU/g) te potom smanjivao na neznatnih  $5 \times 10^2$  CFU/g. Broj enterokoka u kontrolnim je kobasicama bio ispod 100 CFU/g što govori o dobroj higijenskoj praksi u proizvodnji. U kobasicama s kulturom *E. faecalis* broj enterokoka bio je na razini  $10^5$  CFU/g tijekom zrenja, bez značajnih odstupanja. Broj bakterija



Slika 4. Kretanje broja odabranih mikroorganizama tijekom zrenja kobasica inokuliranih s *Enterococcus faecalis* 101.



Slika 5. Kretanje broja odabranih mikroorganizama tijekom zrenja kontrolnih kobasica.

mliječne kiseline u kontrolnim kobasicama bio je za 1 – 2 log manji u odnosu na kobasice s kulturom *E. faecalis* u pojedinim fazama zrenja. Porast populacije zabilježen je u kontrolnim kobasicama, dok je primjenom kulture enterokoka broj bakterija mliječne kiseline bio na razini 5 log. Patogene bakterije *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus* te *Pseudomonas* spp. nisu utvrđene ni u jednom uzorku.

Aktivnost vode kontinuirano se smanjivala tijekom zrenja kobasica (s 0,959 na 0,770 u kontrolnim, te s 0,955 na 0,780 u pokusnim kobasicama). Do 14. dana nije se razlikovala između dviju skupina kobasica. U drugoj fazi zrenja aktivnost vode bila je veća u kobasicama s primijenjenom kulturom *E. faecalis* 101. Količina soli (NaCl) kontinuirano se povećavala tijekom zrenja kobasica, značajnije u prvim fazama procesa. Na kraju procesa iznosila je 5,8 %. Vrijednosti pH bila su niže za 0,2 – 0,3 jedinice u kobasicama s dodatkom kulture *E. faecalis*. pH se u obje skupine kobasica smanjivao do 14. dana i potom blago rastao prema kraju zrenja i iznosio 5,6 (pokusne) i 5,9 (kontrolne).

Senzornom ocjenom kontrolnih kobasica najbolje su ocijenjena svojstva kvalitete masti, okusa, mirisa, a najslabijim ocjenama svojstva nježnosti i sočnosti, što je vjerojatno posljedica presušenosti kobasica. Kobasice s kulturom *E. faecalis* ocjenjivane su bez kušanja i nisu pokazale nikakva odstupanja u kvaliteti ocjenjivanih svojstava u odnosu na kontrolne kobasice (tablica 1).

Tablica 1. Senzorna ocjena\* kobasica proizvedenih s kulturom *Enterococcus faecalis* i bez nje.

Pokazatelj	Kontrolne Kobasice	Kobasice s <i>Enterococcus faecalis</i>
Boja	8,71	8,57
Presjek	8,57	8,71
Povezanost nadjeva	9,00	9,00
Neugodan miris		
Da		
Ne	Ne	Ne
Miris	8,71	8,85
Ranketljivost	9,71	/
Kakvoća masti	9,28	/
Kiselost	8,42	/
Sočnost	7,85	/
Nježnost	7,14	/
Okus općenito	9,00	/
Dojam nakon kušanja	8,57	/
Ukupni dojam	9,00	9,00

\* skala ocjena od 1 do 10

## Rasprava

Enterokoki su bakterije koje se često istražuju kao potencijalne zaštitne kulture u proizvodnji hrane budući da brojni sojevi produciraju bakteriocine, peptide s antimikrobnom aktivnošću prema patogenim bakterijama i bakterijama kvarenja (Laukova, 2012.). U našem testiranju soja *E. faecalis* 101 utvrđena je inhibicija rasta *L. monocytogenes* što može biti rezultat djelovanja enterocina, no za tu je tvrdnju potrebna daljnja karakterizacija soja koja je u tijeku. Budući da je soj *E. faecalis* 101 izoliran iz sirovog mlijeka (Zdolec i sur., 2016.), zanimljivo bi bilo istraživanje i njegova antimikrobna djelovanja na patogenu floru iz vimena (mastitis). Svrha pak ovog istraživanja bila je primijeniti navedeni soj iz mlijeka u mesnom supstratu, tj. nadjevu trajne kobasice. Enterokoki su dio uobičajene mikroflore fermentiranih kobasica, no znatno variraju s obzirom na brojnost populacije u različitim tipovima kobasica (Danilović i Savić, 2016.).

U mikrofiori fermentiranih kobasica dominiraju bakterije mliječne kiseline i stafilokoki/mikrokoki. U početku fermentacije, u nadjevu nalazimo brojne kontaminante uključujući enterobakterije, *Pseudomonas* spp. i dr. koji daljnjom fermentacijom i acidifikacijom propadaju (Paramithiotis i Drosinos, 2016.). U našem istraživanju na početku fermentacije nisu utvrđeni kontaminanti poput *E. coli*, enterokoka te patogena *S. aureus*, *L. monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica*. Razlozi dobre mikrobiološke slike sirovine u optimalnoj su higijenskoj praksi u proizvodnji svinjetine koja je za potrebe istraživanja nabavljena u supermarketu. Suprotni su rezultati dobiveni istraživanjem mikroflore nadjeva kobasica dobivenih iz sirovine iz domaćinstva (Zdolec i sur., 2007.) pri čemu je u mesu, masnom tkivu te pripremljenom nadjevu zabilježeno značajno mikrobiološko onečišćenje enterobakterijama ( $3,47 - 3,54 \log_{10}$  CFU/g), enterokokima ( $2 - 4,43 \log_{10}$  CFU/g), klostridijama ( $1 - 2 \log_{10}$  CFU/g) i *S. aureus* ( $2,6 - 3,47 \log_{10}$  CFU/g). U nadjevu kobasica tijekom zrenja broj se bakterija mliječne kiseline višestruko povećao do 21. dana i ostao ustaljen ( $8 \log_{10}$  CFU/g) do kraja proizvodnog procesa. Promjene ukupnog broja bakterija pratile su trend promjena bakterija mliječne kiseline. Populacija enterokoka se nakon 21. dana zrenja smanjivala progresivno i u gotovom proizvodu bila za  $1,7 \log$  manja u odnosu na početni broj. Populacija kvasaca ( $> 5 \log_{10}$  CFU/g) i koagulaza negativnih koka ( $3,5 \log_{10}$  CFU/g) nije se značajno mijenjala tijekom zrenja. Enterobakterije su utvrđene u nadjevu do 60. dana, *S. aureus* do 33. dana, a sulfitreducirajuće klostridije do osmog dana zrenja. Autori stoga zaključuju da tradicionalno proizvedene kobasice u domaćinstvu

pokazuju lošiju higijensku kakvoću sirovine i pripremljenog nadjeva te polaganiji proces acidifikacije s posljedičnim sporijim potiskivanjem nepoželjne mikroflore u odnosu na industrijske brzofermentirane kobasice. S druge strane, proizvodnjom kobasica u kontroliranim uvjetima i bržom fermentacijom postiže se brža eliminacija nepoželjnih bakterija iz nadjeva (Zdolec i sur., 2008.).

Trend rasta u nadjevu fermentiranih kobasica pokazuju bakterije mliječne kiseline i aerobne mezofilne bakterije, ponajviše u početnoj fazi fermentacije (Kožačinski i sur., 2006.; Zdolec i sur., 2008.). Prema Giraffiju (2002.) te Hugasu i suradnicima (2003.) enterokoki mogu preživjeti i umnažati se tijekom fermentacije u mesnim proizvodima, posebno u proizvodima bez uporabe kompetitivnih starter-kultura (tradicionalni fermentirani mesni proizvodi). Istraživanjem autohtonih hrvatskih fermentiranih kobasica zabilježen je kontinuiran porast populacije enterokoka za  $1,53 \log$  (Zdolec i sur., 2008.). U ovom našem istraživanju nije bilo enterokoka u kontrolnim kobasicama. Inokulacijom kulture *E. faecalis* 101 iz mlijeka u nadjev kobasica ( $10^5$  CFU/g) broj se enterokoka nije značajno mijenjao tijekom zrenja. Budući da se populacija održala stabilnom, možemo pretpostaviti da se soj dobro prilagodio uvjetima fermentacije mesa, no potrebna su daljnja istraživanja i pokusne proizvodnje. Rubio i suradnici (2013.) istraživali su primjenjivost tri bakteriocinogena soja enterokoka u slabo kiselim fermentiranim kobasicama s ciljem smanjivanja populacije *L. monocytogenes* i *S. aureus*. Sva tri soja uspješno su prerasla prirodnu mikrofloru enterokoka, a dva su soja potpuno inhibirala rast *L. monocytogenes* tijekom zrenja kobasica, no ne i *S. aureus*. Zanimljivo je istraživanje Sparoa i suradnika (2008.) koji su koristili kulturu *Enterococcus faecalis* mliječnog podrijetla u proizvodnji fermentiranih kobasica. Autori nisu našli statistički značajne razlike između kontrolne skupine i kobasica u koje je inokulirana kultura *E. faecalis* CECT7121 s obzirom na proizvodnju mliječne kiseline, pH-oscilacije, postizanje minimalne vrijednosti pH od 5,1 i senzorne analize u obje serije. Kobasice s inokuliranom *E. faecalis* CECT7121 imale su manji broj populacije enterobakterija, *S. aureus* i drugih gram-pozitivnih koka na kraju fermentacije.

Nadalje, iz rezultata našeg istraživanja može se naglasiti povoljan utjecaj dodane kulture na senzorna svojstva koja su u najmanju ruku na razini kvalitete kontrolnih kobasica. Da bi se mogla provesti potpuna ocjena svojstava kobasica s dodatkom *E. faecalis* 101, potrebno je ispitati potencijalno štetna svojstva soja, poput produkcije biogenih amina, antimikrobne rezistencije i čimbenika virulencije.

## Zahvala

Istraživanje je financirano sredstvima potpore Sveučilišta u Zagrebu, „Rizici antimikrobne rezistencije i biogenih amina iz hrane životinjskog podrijetla“. Rezultati istraživanja dio su diplomskog rada Matee Čop pod mentorstvom doc. dr. sc. Nevija Zdoleca.

## Literatura

- CENCI-GOGA, B.T., M. KARAMA, P. SECHI, M.F. IULIETTO, S. NOVELLI, R. SELVAGINNI, S. BARBERA (2016): Effect of a novel starter culture and specific ripening conditions on microbiological characteristics of nitrate-free dry-cured pork sausages. *Ital. J. Anim. Sci* 15, 358-374.
- DANILOVIĆ, B., D. SAVIĆ (2016): Microbial ecology of fermented sausages and dry-cured meats. U: *Fermented meat products: health aspects*. N. Zdolec (ur.). Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 127-166.
- DOBRANIĆ, V., S. KAZAZIĆ, I. FILIPOVIĆ, N. MIKULEC, N. ZDOLEC (2016): Composition of raw cow's milk microbiota and identification of enterococci by MALDI-TOF MS – short communication. *Vet. arhiv* 86, 581-590.
- FRAQUEZA, M.J., L. PATARATA, A. LAUKOVÀ (2016): Protective cultures and bacteriocins in fermented meats. U: *Fermented meat products: health aspects*. N. Zdolec (ur.). Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 228-269.
- GIRAFFA, G. (2002): Enterococci from foods. *FEMS Microbiol. Rev.* 744, 1-9.
- HUGAS, M., M. GARRIGA, M. T. AYMERICH (2003): Functionality of enterococci in meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 88, 223-233.
- KAMENIK, J. (2016): Hurdle technologies in fermented meat production. U: *Fermented meat products: health aspects*. N. Zdolec (ur.). Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 95-126.
- KOZAČINSKI, L., N. ZDOLEC, M. HADŽIOSMANOVIĆ, Ž. CVRTILA, I. FILIPOVIĆ, T. MAJIĆ (2006): Microbial flora of the Croatian traditionally fermented sausage. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 57, 9/10, 141-147.
- LAUKOVA, A. (2012): Potential applications of probiotic, bacteriocin-producing enterococci and their bacteriocins. U: S. Lahtinen, A.C. Ouwehand, S. Salminen, A. von Wright (UR.). *Lactic Acid Bacteria: microbiological and functional aspects*. 4th ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 39-61.
- PARAMITHIOTIS, S., E.H. DROSINOS (2016): Food-bone pathogens of fermented meat products. U: *Fermented meat products: health aspects*. N. Zdolec (ur.). Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 196-227.
- POPELKA, P. (2016): Fermented meats composition – health and nutrition aspects. U: *Fermented meat products: health aspects*. N. Zdolec (ur.). Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 389-416.
- RUBIO, R., S. BOVER-CID, B. MARTIN, M. GARRIGA, T. AYMERICH (2013): Assessment of safe enterococci as bioprotective cultures in low-acid fermented sausages combined with high hydrostatic pressure. *Food Microbiol.* 33, 158-165.
- SPARO, M., G. G. NUÑEEZ, M. GASTRO, M. L. CALCAGNO, M. A. GARCIA ALLENDE, M. CECI, R. NAJLE, M. MANGHI (2008): Characteristics of an environmental strain, *Enterococcus faecalis* CECT7121, and its effects as additive on craft dry-fermented sausages. *Food Microbiol.* 25, 607-615.
- ZDOLEC, N. (2007): Utjecaj zaštitnih kultura i bakteriocina na sigurnost i kakvoću fermentiranih kobasica. *Disertacija*. Veterinarski fakultet Zagreb.
- ZDOLEC, N., M. HADŽIOSMANOVIĆ, L. KOZAČINSKI, Ž. CVRTILA, I. FILIPOVIĆ, K. LESKOVAR, N. VRAGOVIĆ, D. BUDIMIR (2007): Fermentirane kobasice proizvedene u domaćinstvu-mikrobiološka kakvoća. *Meso*. Vol IX, str. 318-324.
- ZDOLEC, N., M. HADŽIOSMANOVIĆ, L. KOZAČINSKI, Ž. CVRTILA FLECK, I. FILIPOVIĆ, K. LESKOVAR, P. POPELKA, S. MARCINČAK (2008): Pобољшanje sigurnosti i kakvoće fermentiranih kobasica. *Meso*. Vol X, str. 203-206.
- ZDOLEC, N., V. DOBRANIĆ, A. HORVATIĆ, S. VUČINIĆ (2013): Selection and application of autochthonous functional starter cultures in traditional Croatian fermented sausages. *Int. Food Res. J.* 20, 1, 1-6.
- ZDOLEC, N. (2016): Antimicrobial resistance of fermented food bacteria. U: *Fermented Foods: Part 1. Biochemistry and Biotechnology*. D. Montet i R.C Ray (ur.). CRC Press Taylor & Francis, Boca Raton, Florida, USA, 264-282.
- ZDOLEC, N., V. DOBRANIĆ, I. BUTKOVIĆ, A. KOTURIĆ, I. FILIPOVIĆ, V. MEDVID (2016): Antimicrobial susceptibility of milk bacteria from healthy and drug-treated cow udder. *Vet. arhiv* 86, 163-172.