



Mikrobiološka čistoća površina hladnjaka za čuvanje hrane u kućanstvima

Microbial contamination of food refrigerators in households

Vujić, K.¹, M. Kiš^{2*}, N. Zdolec³

¹ Kristina Vujić, dr. med. vet.

² Marta Kiš, dr. med. vet., Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

³ izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec, Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

* e-adresa:
mkis@vef.hr

Sažetak

Istražena je mikrobiološka čistoća unutrašnjih površina hladnjaka za čuvanje hrane u kućanstvima. Obrisci su uzeti u 25 hladnjaka te je određivana prisutnost bakterija *Salmonella* spp. i *Listeria* spp. te broj *Yersinia enterocolitica*, psihofilnih bakterija, kvasaca i plijesni, enterokoka, enterobakterija i *Pseudomonas* spp. *Salmonella* spp. i *Listeria* spp. nisu izolirane, dok je broj *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas* spp. i enterokoka bio ispod praga detekcije. Psihofilne bakterije utvrđene su u 13 obrisaka (52 % hladnjaka), a njihov se broj kretao u rasponu od 1 do 141 CFU/cm². Kvasci i plijesni utvrđeni su u 11 obrisaka (44 % hladnjaka) u broju od 0,1 do 280 CFU/cm². Enterobakterije su pronađene na površini jednog hladnjaka u broju 2,6 CFU/cm². Temperature hladnjaka kretale su se u rasponu od 1 do 11,3 °C uz srednju vrijednost od 6,56 °C. Nije utvrđena povezanost temperature hladnjaka s brojem psihofilnih bakterija i gljivica. Varijabilnost mikrobnih populacija i temperaturnog režima hladnjaka vjerojatno je posljedica različitosti navika i životnog stila vlasnika kućanstava.

Abstract

This paper investigates the microbiological cleanliness of the inner surfaces of food refrigerators in households. Swabs were taken from 25 refrigerators, and the presence of *Salmonella* spp. and *Listeria* spp., and the number of *Yersinia enterocolitica*, psychophilic bacteria, yeasts and molds, enterococci, enterobacteria and *Pseudomonas* spp. was evaluated. *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. were not isolated, while the number of *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas* spp. and enterococci was below the detection level. Psychophilic bacteria were found in 13 swabs (52 % of samples), and their number ranged from 1 to 141 CFU/cm². Yeasts and molds were found in 11 swabs (44%) in numbers from 0.1 to 280 CFU/cm². Enterobacteria were found on the surface of one refrigerator at 2.6 CFU/cm². Refrigerator temperatures ranged from 1 to 11.3 °C with a mean value of 6.56 °C. There was no correlation between the refrigerator temperature and the number of psychophilic bacteria and fungi. The variability of microbial populations and temperature regime of refrigerators was probably due to the diversity of the habits and lifestyles of household owners.

KLjučne riječi: hladnjak u kućanstvu, čuvanje hrane, mikrobiološka čistoća, temperatura

Key words: household food refrigerators, food storage, microbial contamination, temperature

UVOD

Tehnologija hlađenja uvelike je promijenila koncept sigurnosti hrane u smislu očuvanja održivosti i dostupnosti hrane. U domaćinstvima se hladnjaci neprekidno koriste, stoga je važno redovito i primjereno održavati uređaje, ali i njihovu higijenu. Preporučuju se temperature

hlađenja hrane u kućanstvima u rasponu od 0 do 5 °C (James i sur., 2016.). No taj se raspon rijetko bilježi u velikom broju kućanstava, a česte su temperaturne oscilacije odnosno porast temperature hladnjaka zbog različitih čimbenika poput frekvencije otvaranja hladnjaka ili lošeg održavanja sustava hlađenja.

Mikroorganizmi koji rastu na temperatura-ma hlađenja hrane mogu prouzročiti brže kvarenje hrane i zadržavati se na kontaminiranim površinama hladnjaka (Stratford, 2006., Gram i sur., 2002.). Od patogenih bakterija mogu se očekivati *Listeria monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica*, kao i drugi mikroorganizmi iz skupine psihrofilnih mikroorganizama poput kvasaca i plijesni, *Pseudomonas* spp. i drugi (Ray i Bhunia, 2013.). Općenito je nalaz mikroorganizama na unutrašnjim površinama hladnjaka uvjetovan kontaminacijom preko hrane i drugih hlađenih artikala, a opstanak i rast te mikroflora uvjetuju postupci (ne)čišćenja i dezinfekcije te temperatura hlađenja i oscilacije temperatura. Istraživanja mikrobne kontaminacije površina hladnjaka značajno se razlikuju s obzirom na utvrđen broj pojedinih mikrobnih skupina, što je razumljivo zbog utjecaja brojnih čimbenika, od ljudskog faktora, hrane koja se čuva u hladnjaku ili režima hlađenja. Npr. Ye i suradnici (2019.) na površinama hladnjaka utvrdili su ukupan broj bakterija od 3,18 do 7,82 log CFU/100 cm², psihrotrofnih bakterija 2,37 – 8,13 log CFU/100 cm², a gljivica 3,57 – 7,46 log CFU/100 cm² što pokazuje veliku varijabilnost. Patogeni mikroorganizmi rijetko se izoliraju, no ima izuzetaka, posebno u slučaju *L. monocytogenes*. Stoga se hladnjaci iz kućanstava smatraju potencijalnim izvorom uzročnika te alimentarne infekcije (James i sur., 2016.).

U skladu s navedenim cilj je ovog rada bio istražiti mikrobiološku čistoću unutrašnjih površina hladnjaka za čuvanje hrane u kućanstvima na području Zagreba i okolice, uglavnom u kućanstvima s mlađom populacijom. Istodobno je praćena temperatura hlađenja hrane u svakom hladnjaku radi uvida u njezinu povezanost s brojem mikroorganizama na površinama.

MATERIJAL I METODE

Uzorkovanje

Uzorkovane su unutrašnje površine hladnjaka za čuvanje hrane iz 25 kućanstava pri čemu je uzimano po tri brisa (dokaz *Salmonella* spp. i *L. monocytogenes* te brojenje preostalih mikroorganizama). Vlasnici su prethodno obaviješteni o planu i vremenu uzorkovanja, a svoj su pristanak potvrdili potpisom u obrazac.

Primijenjeni su sterilni brisovi, a uzorkovano je po 100 cm² površina hladnjaka na kojoj je čuvana hrana. Prilikom uzorkovanja izmjerena je temperatura u hladnjaku umjerenim termometrom. Brisovi su dopremljeni na analizu u mikrobiološki laboratorij Zavoda za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane Veterinarskog fakulteta u roku od 12 sati od uzorkovanja.

Mikrobiološka obrada uzoraka

Radi određivanja broja mikroorganizama u 1 mL obriska u bris je dodano 10 mL slane peptonske vode te je napravljena homogenizacija i daljnja serijska razrjeđenja. Utvrđivan je broj *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas* spp., enterobakterija, enterokoka, kvasaca i plijesni te psihrofilnih bakterija.

Nakon homogenizacije i serijskih razrjeđivanja uzet je 1 mL ili 0,1 mL inokuluma na hranjive podloge: PCA (BioMerieux, Francuska) za psihrofilne bakterije uz inkubaciju 10 dana na 6,5 °C, VRBG agar (Merck, Njemačka) za enterobakterije uz inkubaciju 24 sata pri 30 °C, CIN agar (Merck, Njemačka) za *Y. enterocolitica* tijekom 24 h pri 30 °C, cetrimidni agar (Merck, Njemačka) za *Pseudomonas* spp. tijekom 48 h pri 25 °C, Compass Enterococcus agar (Biorad, SAD) za enterokoke tijekom 37 h pri 44 °C i YGC agar (Merck, Njemačka) za kvasce i plijesni tijekom 72 h pri 25 °C. Prisutnost *Salmonella* spp. određivana je dodavanjem 10 mL puferirane peptonske vode (Biorad, SAD) u bris (postupak predobogaćivanja). Nakon inkubacije od 24 h pri 37 °C 0,1 mL je prebačen u 10 mL Rappaport Vassiliadis soja bujona (Biorad, SAD). Nakon inkubacije na 41,5 °C tijekom 24 h učinjeno je naciepljivanje na ksiloza-lizin-dezoksikolatni agar (XLD, Biolife, Italija) koji je potom inkubiran tijekom 24 h pri 37 °C. Prisutnost *Listeria* spp. određivana je dodavanjem 10 mL Half-Fraser bujona (Biorad, SAD) u bris (predobogaćivanje) što je inkubirano tijekom 24 h pri 30 °C. Potom je 0,1 mL kulture prebačeno u 10 mL Fraser bujona te inkubirano 24 h pri 37 °C. Oba su obogaćenja ezom nasade na *Listeria* selektivni agar prema Ottaviani i Agosti (ALOA agar) i inkubirana 24 h pri 37 °C.

Nakon provedenih inkubiranja očitani su rezultati u smislu provjere porasta i morfologije kolonija na selektivnim agarima za *Salmonella* spp. i *Listeria* spp. Porasle kolonije na preosta-

lim agarima izbrojene su te je izračunat broj mikroorganizama (CFU) po cm² (CFU/mL x količina dodane otopine (10 mL) / uzorkovana površina (100 cm²)).

Statistička obrada

Rezultati su obrađeni metodama deskriptivne statistike (Statistica 13.5). Statistički je provjerena povezanost broja mikroorganizama s temperaturom hladnjaka testom korelacije (r).

REZULTATI

Iz tablice 1 vidljivo je da s površina hladnjaka za hranu nisu izolirane *Salmonella* spp. ni *Listeria* spp. Broj enterokoka, *Y. enterocolitica* *Pseudomonas* spp. bio je ispod granica detekcije metoda (< 1 CFU/cm²). Psihrofilne bakterije utvrđene su u 13 obrisaka (52 % hladnjaka), a njihov se broj kretao u rasponu od 1 do 141 CFU/cm². Kvasci i plijesni utvrđene su u 11 obrisaka (44 % hladnjaka) i njihov se broj kretao od 0,1 do 280 CFU/cm². Obje skupine mikroorganizama, odnosno psihrofilne bakterije i gljivice istodobno su bile prisutne u osam hladnjaka. Enterobakterije su pronađene na površini jednog hladnjaka u broju 2,6 CFU/cm².

RASPRAVA

Ovim istraživanjem pokazalo se da je mikrobiološka čistoća hladnjaka za čuvanje hrane u pretraženim domaćinstvima zadovoljavajuća. Tomu u prilog ide odsutnost najvažnijih patogena, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* i *Y. enterocolitica*. Pretpostavka mogućnosti nalaza *L. monocytogenes* i *Y. enterocolitica* temelji se na njihovoj psihrotrofnosti, odnosno sposobnosti rasta na temperaturama hladnjaka. Također, pokazatelji onečišćenja – enterobakterije i enterokoki nisu utvrđeni, osim u jednom hladnjaku (enterobakterije). S druge strane, varijabilna populacija psihrofilnih bakterija i gljivica prisutna je u približno pola pretraženih hladnjaka što upućuje na moguće propuste u održavanju higijene. Ye i suradnici (2019.) na površinama hladnjaka utvrdili su ukupan broj bakterija od 3,18 do 7,82 log CFU/100 cm², psihrotrofnih bakterija 2,37 – 8,13 log CFU/100 cm², a gljivica 3,57 – 7,46 log CFU/100 cm² što pokazuje veliku varijabilnost mikrobne populacije utvrđene i u našem istraživanju.

Niz različitih patogenih bakterija pronađen je u kuhinjama i na specifičnim pozicijama, poput ručke vrata hladnjaka koja je njihov najčešći izvor (Haysom i Sharp, 2005.; Azevedo i sur., 2005.). Stoga je uloga hladnjaka u trovanjima hranom u kućanstvima posljednjih godina postala česta tema istraživanja, a poznato je da su *L. monocytogenes* i *Y. enterocolitica* jedine patogene bakterije iz hrane sposobne rasti ispod 5 °C. Naši rezultati u pogledu nalaza patogena u hladnjacima odgovaraju većini istraživanja koja pokazuju njihovu nisku incidenciju u unutrašnjosti hladnjaka (James i sur., 2016.). Ipak, Macías-Rodríguez i suradnici (2013.) izvješćuju o čestom nalazu *L. monocytogenes* (20,5 – 59,5 %) i *Salmonella* spp. (8 – 32,5 %) u hladnjacima na području Meksika. Pri usporedbama ovakvih istraživanja treba u obzir uzeti demografske, kulturološke i socijalne čimbenike koji se znatno razlikuju u različitim regijama svijeta. Kennedy i suradnici (2005.) utvrdili su da je veća incidencija patogena i veći broj aerobnih bakterija u hladnjacima urbanih sredina u odnosu na kućanstva ruralnog područja, kao i da je nalaz patogenih bakterija u hladnjacima vjerojatniji u kućanstvima s mlađim ukućanima (< 25 godina). U našem istraživanju nismo uspoređivali rezultate s obzirom na podrijetlo uzorka (adresu kućanstva) jer su svi bili na području Zagreba i bliže okolice, ali se većinom radilo o studentskoj populaciji.

Istraživanja povezanosti čistoće hladnjaka te ostalih uvjeta u hladnjaku s pojavom trovanja hranom oskudna su, ali upućuju na mogućnost pozitivne korelacije (James i sur., 2016.). Osim opće higijene i sanitacije hladnjaka kao preduvjeta nalaza mikroorganizama, njihov je rast ovisan o temperaturi. U našem istraživanju temperature hladnjaka u kućanstvima kretale su se od 1 pa sve do 11,3 °C. Opsežan pregled temperatura hladnjaka u kućanstvima proveli su James i suradnici (2016.) koji navode ukupnu ponderiranu aritmetičku srednju vrijednost srednjih temperatura izmjerenih u svijetu oko 6,1 °C i bilježe da više od 50 % hladnjaka djeluje na srednjoj temperaturi iznad ove. Obično se preporučuje da hladnjak hladi na temperaturama između 0 i 5 °C. S obzirom na te preporuke u našem istraživanju tek je sedam hladnjaka radilo u tom rasponu. Srednja vrijednost temperature hladnjaka u našem je istraživanju bila nešto iznad svjetskog prosjeka (6,56 °C), no vidljive su ve-

Tablica 1. Rezultati mikrobiološke pretrage (CFU/cm²) obrisaka unutrašnjih površina hladnjaka za čuvanje hrane u kućanstvima.

Oznaka uzorka	T (°C)	Enterokoki	<i>Y. enterocolitica</i>	Psihrofilni	<i>Pseudomonas</i> spp.	Kvasci i plijesni	Enterobakterije
1	8,2	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1
2	7,3	< 1	< 1	1	< 1	< 0,1	< 0,1
3	8	< 1	< 1	1	< 1	< 0,1	< 0,1
4	3,5	< 1	< 1	77	< 1	280	< 0,1
5	8,3	< 1	< 1	1,5	< 1	6	< 0,1
6	6,4	< 1	< 1	126	< 1	30	2,6
7	6,4	< 1	< 1	3	< 1	2	< 0,1
8	4,7	< 1	< 1	20	< 1	< 0,1	< 0,1
9	8,5	< 1	< 1	3	< 1	10	< 0,1
10	7,2	< 1	< 1	2	< 1	10	< 0,1
11	6,7	< 1	< 1	1	< 1	3	< 0,1
12	7,5	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1
13	6,2	< 1	< 1	< 0,1	< 1	0,1	< 0,1
14	9,0	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1
15	4,7	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1
16	3,5	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1
17	1,0	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1
18	6,0	< 1	< 1	10	< 1	< 0,1	< 0,1
19	5,0	< 1	< 1	< 0,1	< 1	0,5	< 0,1
20	8,0	< 1	< 1	141	< 1	0,4	< 0,1
21	4,0	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1
22	7,2	< 1	< 1	< 0,1	< 1	0,1	< 0,1
23	11,3	< 1	< 1	38	< 1	< 0,1	< 0,1
24	8,5	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1
25	7,0	< 1	< 1	< 0,1	< 1	< 0,1	< 0,1

* *Salmonella* spp. i *Listeria* spp. nisu izolirane

Tablica 2. Deskriptivna statistika broja mikroorganizama (CFU/cm²) i temperature hladnjaka (°C).

	Temperatura	Psihrofili	Kvasci i plijesni
X	6,56	32,65	31,1
SD	2,18	49,82	83,01
Min-Max	1 – 11,3	1 – 141	0,1 – 280
Median	7	3	3

like oscilacije odnosno širok raspon izmjerenih vrijednosti. Posebno se širok raspon vrijednosti vidi u broju psihrofilnih bakterija i gljivica, dok im je prosječan broj po četvornom centimetru podjednak. S tim u vezi, povezanost temperature s brojem psihrofilnih bakterija i gljivica nije statistički potvrđena, dok su međusobno slabo korelirali broj gljivica i psihrofilnih bakterija. Mjerenja temperature u našem istraživanju provedena su jednokratno prilikom uzorkovanja te u obzir nisu uzete moguće oscilacije u temperaturama istog hladnjaka, što je uobičajeno i uvjetovano frekvencijom otvaranja vrata. Anketne o temperaturama hladnjaka pokazale su da temperaturne fluktuacije u hladnjacima slične srednje temperature mogu biti vrlo različite, no ne postoje istraživanja dinamike rasta i preživljavanja patogenih bakterija u hladnjacima u kućanstvu (James i sur., 2016.).

Zaključno, mikrobiološka čistoća unutrašnjih površina hladnjaka u smislu sigurnosti potrošača zadovoljavajuća je zbog odsutnosti patogenih bakterija *L. monocytogenes* i *Y. enterocolitica* koje rastu na temperaturama hlađenja hrane. U onečišćenim hladnjacima prisutne su psihrofilne bakterije te kvasci, a njihov se broj, kao i temperature hladnjaka, kreće u širokim rasponima što je vjerojatno posljedica različitosti navika i životnog stila vlasnika kućanstava.

Napomena

Članak je proizašao iz diplomskog rada Kristine Vujić naslova „Mikrobiološka čistoća povr-

šina u hladnjacima za čuvanje hrane“ (mentor izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec). Autori zahvaljuju tehničkoj suradnici Ani Konjević na pomoći pri provedbi laboratorijskih analiza.

LITERATURA

- AZEVEDO, I., M. REGALO, C. MENA, G. ALMEIDA, L. CARNEIRO, P. TEIXEIRA, T. HOGG, P. A. GIBS (2005): Incidence of *Listeria monocytogenes* in domestic refrigerators in Portugal. *Food Control* 16, 121–124.
- GRAM, L., RAVN, L., RASCH, M., BRUHN, J. B., CHRISTENSEN, A. B., GIVSKOV, M. (2002): Food spoilage: interactions between food spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 78, 79–97.
- HAYSOM, I. W., A. K. SHARP (2005): Bacterial contamination of domestic kitchens over a 24-hours period. *Brit. Food J.* 107, 453–466.
- JAMES, C., B. A. ONARINDE, S. J. JAMES (2016): The use and performance of household refrigerators: a review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 16, 160–179.
- KENNEDY, J., V. JACKSON, I. S. BLAIR, D. A. MCDOWELL, C. COWAN, D. J. BOLTON (2005): Food safety knowledge of consumers and the microbiological and temperature status of their refrigerators. *J. Food Prot.* 68, 1421–1430.
- MACIAS-RODRIGUEZ, M. E., V. HAVARRO-HIDALGO, J. R. LINARES-MORALES, M. A. OLEA-RODRIGUEZ, A. VILLARUEL-LOPEZ, J. CASTRO-ROSAS, C. A. GOMEZ-ALDAPA, M. R. TORRES-VITELA (2013): Microbiological safety of domestic refrigerators and the dishcloths used to clean them in Guadalajara, Jalisco, Mexico. *J. Food Prot.* 76, 984–990.
- RAY, B., A. BHUNIA (2013): *Fundamental food microbiology*, 5th ed., CRC Press, Taylor and Francis Group. Boca Ration.
- STRATFORD, M. (2006): Food and beverage spoilage yeasts. U: *Yeast in food and beverages*. (Querol, A., G. Fleet, ur.). Springer. Berlin, Heidelberg. str. 335–379.
- YE, K., J. WANG, Y. HAN, C. WANG, C. QI, X. GE (2019): Investigation on microbial contamination in the cold storage room of domestic refrigerators. *Food Control* 99, 64–67.