

za analitiku namirnica koji su dio infrastrukture koju država mora uspostaviti u svrhu uređivanja odnosa na tržištu u međunarodnoj razmjeni proizvoda, usluga i informacija (Bajzek-Brezak, 2004). Valja imati na umu da je ovlašćivanje nezaobilazan postupak za dokazivanje stručne i tehničke osposobljenosti ustanova koje obavljaju ispitivanja, mjerenja, potvrđivanja proizvoda, procesa, usluga i osoblja te nadzor u dragovoljnom i zakonom uređenom području.

SUMMARY

SIGNIFICANCE OF CHEMICAL ANALYSIS IN THE EVALUATION OF COMPOSITION AND HEALTH SAFETY OF FOOD OF ANIMAL ORIGIN

A large number of analytical methods are used in the analysis of foodstuffs, starting from the determination of basic chemical composition, nutritive elements and even

to contaminants. The results of analysis can be used for various purposes, either for fundamental scientific researches or for the needs of monitoring, depending, of course, on the choice of analytical method. At any rate, it should not be forgotten that the basic requirements for any method are selectivity, accuracy, precision and repeatability.

LITERATURA

Bajzek - Brezak, B. (2004): Akreditacija ispitnih laboratorija. Normirane mikrobiološke metode u kontroli hrane. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Bažulić, D. (1996): Neki osnovni pojmovi u analitici namirnica. Skripta za studente poslijediplomskih studija.

Cerjan-Stefanović, Š. (1983): Osnove analitičke kemije. Tehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, 1983.

James C. S. (1995): Analytical Chemistry of Foods. Blackie Academic & Professional. First Ed.

* Rad je prezentiran na Trećem hrvatskom veterinarskom kongresu s međunarodnim sudjelovanjem (Opatija, 17. do 21. studenoga 2004). ■

UTJECAJ POSTUPAKA UZORKOVANJA NA MIKROBIOLOŠKU ISPRAVNOST NAMIRNICA ANIMALNOG PODRIJETLA

Mioković¹, B., B. Njari¹, L. Kozračinski¹, N. Zdolec¹

SAŽETAK

Postupak uzimanja uzoraka namirnica u svrhu mikrobiološke pretrage može značajno utjecati na rezultate analize. Uzorci moraju biti reprezentativni i predstavljati prosječni sastav cjelokupne namirnice, a uzimaju se slučajnim odabirom koja je dovoljna za obavljanje potrebnih analiza ovisno o stanju namirnice zatečenom prilikom uzimanja uzoraka, njezinoj količini i vrsti te o mjestu i datumu njihove proizvodnje. Ambalaža i pribor za uzorkovanje namirnica moraju biti sterilni. Veoma je važno održavanje temperature uzetih uzoraka do početka

analize (naročito namirnica u smrznutom stanju). Smrzavanje ohlađenih ili postupno i dugotrajno odmrzavanje smrznutih uzoraka može značajno izmijeniti prvobitnu mikrofloru. Stoga će rezultati mikrobiološke pretrage ovisiti i o pravilnom odabiru i uzimanju uzoraka, njihovoj svježini, pakiranju i načinu slanja na pretragu. Pravilo je da uzorak treba čim prije dostaviti u laboratorij. Namirnice se veoma često u ohlađenom ili smrznutom stanju stavljaju na tržište. Temperatura pohrane namirnica u hladnjaku ili temperaturama nižim od +5 °C nije, međutim, jamstvo da neće doći do mikrobiološke razgradnje. Činjenica je

¹Dr.sc. Branimir Mioković, redoviti profesor; dr.sc. Bela Njari, redoviti profesor; dr.sc. Lidija Kozračinski, docent; Nevijo Zdolec, dr.vet.med., znanstveni novak, Zavod za higijenu i tehnologiju animlanih namirnica, Veterinarski fakultet Zagreb, Heinzelova 55

da *Clostridium botulinum* tip E raste i proizvodi toksine na +3 °C, odnosno da *Staphylococcus aureus* na temperaturi držanja od +5 °C do 0 °C tvori također enterotoksin. Jednako tako pojedine gljivice i plijesni na spomenutoj temperaturi čuvanja namirnice tvore toksine.

Ključne riječi: namirnice, mikroflora namirnica, uzorkovanje

UVOD

Na rezultate mikrobiološke pretrage uvelike mogu utjecati način uzimanja uzoraka, uvjeti i trajanje transporta do laboratorija, kao i postupak s uzorcima u samom mikrobiološkom laboratoriju. Pored navedenog, značajan čimbenik u procjeni mikrobiološke kakvoće namirnica predstavlja i primjena standardnih mikrobioloških metoda (Duraković i sur., 2001).

Način uzimanja, kao i najmanje količine uzoraka namirnica za pretragu propisani su Pravilnikom o načinu uzimanja odnosno metodama za obavljanje analiza i superanaliza namirnica i predmeta opće uporabe (NN broj 58/98). Uzorci namirnica moraju biti reprezentativni, sterilno uzorkovani, pakirani u prikladnu ambalažu, označeni, pravilno transportirani i praćeni propisanom dokumentacijom.

Pri uzorkovanju ohlađenih i smrznutih namirnica dešavaju se najčešći propusti koji značajno mogu izmijeniti prvobitnu mikrofloru i time utjecati na rezultate mikrobiološke pretrage. Stoga će u okviru ovoga rada biti prikazan utjecaj postupaka uzorkovanja na mikrobiološku ispravnost tih vrsta namirnica.

UČINAK HLADENJA I SMRZAVANJA NA MIKROORGANIZME

Temperatura je jedan od najvažnijih čimbenika koji utječu na rast mikrobni stanica. Stanice rastu unutar potpuno određenog raspona temperature rasta. Taj raspon rasta određen je minimalnom temperaturom, ispod koje su stanice metabolički neaktivne, i maksimalnom temperaturom, ispod koje stanice također ne rastu. Unutar toga raspona ekstrema nalazi se optimalna temperatura rasta pri kojoj stanice očituju svoje najviše iznose rasta i razmnožavanja (Duraković, 2001).

Potencijalna opasnost patogenih mikroorganizama s obzirom na nastajanje bolesti ovisi o

minimalnoj infektivnoj dozi, tj. od potrebnog broja patogenih mikroorganizama i sekundarno stvorenih toksina, npr. *Clostridium botulinum* i *Staphylococcus aureus*. Jednako se to odnosi i na mikotoksine. Postupak hlađenja namirnica pridonosi produženju održivosti namirnica i sprječavanju razmnožavanja patogenih mikroorganizama. Međutim, pojedini mikroorganizmi mogu rasti i stvarati toksine i na temperaturama hlađenja. Dugo se smatralo da kod temperatura ispod 0 °C do + 5 °C nije više moguće razmnožavanje većine bakterija. Ipak istraživanja su pokazala da primjerice *Clostridium botulinum* tip E ima donju granicu razmnožavanja pri temperaturi od + 3 °C (Duraković i sur., 2002). Također je dobro poznata i sposobnost rasta *Listeria monocytogenes* na temperaturama hlađenja, kao i njezino preživljavanje u smrznutim namirnicama (Palumbo i Williams, 1991).

Smrzavanje je jedan od najsigurnijih načina konzerviranja i očuvanja održivosti različitih vrsta namirnica. Fizikalno-kemijskim promjenama tijekom smrzavanja dolazi do uništavanja i sprječavanja rasta nekih mikroorganizama. Međutim, smrzavanjem neki od njih, pa i patogeni, ostaju "konzervirani" i preživljavaju u takvom mediju dugo vremena.

U smrznutoj hrani mogu opstati različite vrste mikroorganizama poput virusa, bakterija, kvasaca, plijesni i protozoa. Otpornost virusa na smrzavanje proizlazi iz njihove sposobnosti nastanjanja prijemljivih stanica (Archer, 2004). Tako je, primjerice, ustanovljena mogućnost višemjesečnog preživljavanja poliovirusa (Lynt, 1966.; DiGirolamo i sur., 1970; Eyles, 1983) i Norovirusa (Khan i sur., 1994) u smrznutim namirnicama. Ne samo da preživljavaju smrzavanje, već zadržavaju virulentnost i time su smrznute namirnice značajan vektor u širenju zaraze.

Veliku otpornost na smrzavanje i uzastopni postupak smrzavanja-odmrzavanja pokazuju i bakterijske spore (Lund, 2000), a isti je slučaj i s najopasnijim poznatim otrovom - toksinom *Clostridium botulinum* (Schanz i Johnson, 1992). Lund (2000) napominje da su gram-negativne bakterije osjetljivije na smrzavanje od gram-pozitivnih, međutim ipak mogu preživjeti u smrznutoj hrani. Mnogobrojna istraživanja potvrđuju činjenicu da većina patogenih bakterija preživljava smrzavanje, primjerice *Salmo-*

nella typhimurium (Raj i Liston, 1961), *Escherichia coli* O157:H7 (Doyle i Schoeni, 1984), *Campylobacter* spp. (Moorhead i Dykes, 2002), *Staphylococcus aureus* (Lund, 2000), *Listeria monocytogenes* (Palumbo i Williams, 1991).

UZORKOVANJE OHLADENIH I SMRZnutIH NAMIRNICA

Činjenica da postupci hlađenja i smrzavanja mogu utjecati na mikrofloru namirnica, mora se uzeti u obzir i prilikom uzorkovanja ohlađenih i smrznutih namirnica za mikrobiološku pretragu. Naime, ukoliko se želi steći slika o njihovu mikrobiološkom statusu u trenutku uzorkovanja, one moraju biti uzorkovane u uvjetima njihova uskladištenja te dostavljene u laboratorij u stanju u kojem su i uzorkovane. Tijekom transporta potrebno je osigurati sve uvjete koji će spriječiti bilo kakve promjene u broju prisutnih mikroorganizama u uzorku (HRN ISO 7218:1999).

Osim sterilnog rada pri uzimanju uzoraka, na mikrobiološki status namirnice najviše mogu utjecati temperaturni uvjeti u transportu uzoraka do laboratorija. Hrvatska norma ISO 7218:1999 propisuje da se svježe i ohlađene namirnice moraju

transportirati na temperaturi između 0 °C i 4 °C , a smrznute ispod - 18 °C. Ni u kojem slučaju ne smije se dopustiti odmrzavanje smrznutih namirnica, kao ni smrzavanje ohlađenih. Mikrobiološka pretraga takvih uzoraka nema smisla, budući da takvim manipuliranjem mikrobiološka slika postaje sasvim drugačija.

Pored pravilnog uzorkovanja i transporta, na rezultate mikrobiološke pretrage može utjecati i postupak s uzorcima u samom laboratoriju. Mikrobiološka pretraga svježih i ohlađenih uzoraka namirnica mora uslijediti najkasnije 24 sata nakon zaprimanja.

Uzorci uzeti iz smrznutih blokova moraju se pripremiti za pretragu pomoću primjerenog pribora poput ručnih ili električnih bušača, noževa, skalpela i sl. Ako se radi o manjim smrznutim uzorcima poput trupova ili konficioniranog mesa peradi i kunića, tada ih treba prije pretrage postupno odmrzavati 15-16 sati na temperaturi od 0 °C do 4 °C (ISO/FDIS 6887-2).

NAJMANJA KOLIČINA UZORKA NAMIRNICE ZA PRETRAGU

Za procjenu mikrobiološke kakvoće namirnica važna je i količina i broj dostavljenih uzoraka. Uzorci za mikrobiološku pretragu moraju predstavljati prosječan sastav cjelokupne količine namirnica. Broj uzoraka određuje se ovisno o stanju namirnica zatečenom pri uzimanju uzoraka i o njihovoj količini i vrsti, te o mjestu i datumu njihove proizvodnje (Pravilnik o načinu uzimanja uzoraka odnosno o metodama za obavljanje analiza i superanaliza namirnica i predmeta opće uporabe, NN broj 58/98). U tablici 1 i 2 prikazan je najmanji potreban broj uzoraka namirnice za pretragu ovisno o broju ambalažnih jedinica, te najmanja potrebna količina uzorka pojedinačne namirnice.

▼ **Tablica 1.** Najmanja količina uzorka namirnice za pretragu prema broju ambalažnih jedinica (NN broj 58/89)

BROJ AMBALAŽNIH JEDINICA	UZIMANJE UZORAKA
do 5	iz svake ambalažne jedinice
6 - 10	iz svake treće ambalažne jedinice
11 - 100	najmanje iz 6 ambalažnih jedinica
101 - 500	najmanje iz 10 ambalažnih jedinica
501 - 1000	najmanje iz 15 ambalažnih jedinica
1001 - 2000	najmanje iz 25 ambalažnih jedinica
više od 2000	najmanje iz 50 ambalažnih jedinica

SUMMARY INFLUENCE OF SAMPLING PROCEDURE ON MICROBIOLOGICAL QUALITY OF FOODSTUFFS OF ANIMAL ORIGIN

Food sampling procedure for microbiological analysis can have a significant impact on the results of analysis. Samples must be representative and represent the

average composition of the entire foodstuff. Samples are collected at random, sufficient for performing the required analyses, depending on the condition of a foodstuff at the time of sampling, its quantity, type, and place and date of production. Containers and accessories for food sampling must be sterile. It is of utmost importance to maintain the temperature of collected samples until analysis (particularly in case of frozen food). Freezing of cooled samples or their gradual and prolonged defrosting may significantly alter the original microflora. Consequently, the results of microbiological analysis will depend also on correct selection and taking of samples, their freshness, packing and mode of transportation to analytical laboratory. As a rule, food samples should be despatched to laboratory soonest possible. Foodstuffs are often distributed for sale in cooled or frozen state. However, temperature of foodstuff storage in refrigerators or at temperatures below 5°C is not a guaranty that microbiological disintegration will not occur. It is a well-known fact that *Clostridium botulinum* type E grows and produces toxins at +3°C, and that *Staphylococcus aureus* also produces enterotoxin at the storage temperature of +5°C to 0°C. Similarly, some fungi and moulds also produce toxins at the indicated storage temperature.

Key words: Foodstuffs, foodstuff microflora, sampling

LITERATURA

Archer, D. L. (2004): Freezing: an underutilized food safety technology? *International Journal of Food Microbiology*, vol 90, 127-138.

DiGirolamo, R., J. Liston, J. R. Matches (1970): survival of virus in chilled, frozen and processed oysters. *Applied Microbiology* 20, 58-63.

Doyle, M. P., J. L. Schoeni (1984): Survival and growth characteristic of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Applied and Environmental Microbiology* 48, 855-856.

Duraković, S., F. Delaš, L. Duraković (2002): Moderna mikrobiologija namirnica. Kugler, Zagreb.

Duraković, S., L. Duraković (2001): Mikrobiologija namirnica: osnove i dostignuća. Kugler, Zagreb.

b. (1983): Assessment of cooked prawns as a vehicle for transmission of viral diseases. *Journal of Food Protection* 46, 426-428.

International Organization for Standardization (1996): International Standard ISO 7218:1996: Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations.

International Organization for Standardization (1999): International Standard ISO 6887-2:1999: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilution for microbiological examination - Part 2: specific rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions of meat and meat products.

Khan, A. S., C. L. Moe, R. I. Glass, S. S. Monroe, X. Jiang, J.

▼ **Tablica 2.** Najmanja količina uzorka pojedinačnih namirnica za pretragu (NN broj 58/89)

VRSTA NAMIRNICE	NAJMANJA KOLIČINA ZA PRETRAGU
meso u četvrtima i većim komadima te meso krupne divljači	1000 g
meso, konfekcionirano pakiranje	originalno pakiranje, ili najmanje 1000 g
meso peradi u trupovima	cijeli trup s unutrašnjim organima ili originalno pakiranje
meso peradi, konfekcionirano	1 komad od svake rasječene regije
meso sitne divljači	1 trup s kožom ili perjem
kobasice u parovima užeg dijametra	najmanje 500 g
kobasice težine do 1000 g	1 komad
kobasice šireg dijametra iznad 1000 g	1 kg
riba, svježa	najmanje 200 g
jaja u ljusci	najmanje 500 g
jaja u prahu i smrznuti proizvodi od jaja	najmanje 250 g
mlijeko i jogurt	originalno pakiranje ili najmanje 1000 ml
sladoled	originalno pakiranje ili najmanje 250 g

Wang, M. K. Estes, Y. Seto, C. Humphrey, E. Pon, J. K. Iskander (1994): Norwalkvirus-associated gastroenteritis traced to ice consumption aboard a cruise ship in Hawaii: comparison and application of molecular method-based assays. *Journal of Clinical Microbiology and Immunology* 39, 213-215.

Lund, B. M. (2000): Freezing. U: Lund, B. M., T. C. Baird Parker, G. W. Gould, Editors, *The Microbiological Safety and Quality of Food Vol I*, Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, 122-145.

Lynt, R. K. (1966): Survival and recovery of enteroviruses from foods. *Applied Microbiology* 14, 218-222.

Moorhead, S. M., G. A. Dykes (2002): Survival of *Campylobacter jejuni* on beef trimmings during freezing and frozen storage. *Letters in Applied Microbiology* 34, 72-76.

Palumbo, S. A., A. C. Williams (1991): Resistance of *Listeria*

monocytogenes to freezing. *Food microbiology* 8 (1), 63-68.

Xxx Pravilnik o načinu uzimanja uzoraka odnosno o metodama za obavljanje analiza i superanaliza namirnica i predmeta opće uporabe (NN 58/98)

Raj, H., J. Liston (1961): Survival of bacteria of public health significance in frozen sea foods. *Food Technology* 15, 429-434.

Shantz, E. J., E. A. Johnson (1992): properties and use of botulinum toxin and other microbial neurotoxins in medicine. *Microbiological Reviews* 56, 80-89.

* Rad je prezentiran kao poster na 3. hrvatskom mikrobiološkom kongresu s međunarodnim sudjelovanjem (Poreč, 4. - 7. listopada 2004). ■

PRIMJENA EPR SPEKTROSKOPIJE PRI KONZERVIRANJU NAMIRNICA IONIZACIJSKIM ZRAČENJEM

II DIO. PROVJERA ISPRAVNOSTI DOZE U RAZNIM NAMIRNICAMA ŽIVOTINJSKOG PORIJEKLA KONZERVIRANIH IONIZACIJSKIM ZRAČENJEM

Maltar-Strmečki¹, N., B. Rakvin²

SAŽETAK

Primjena ionizacijskog zračenja u konzerviranju namirnica na svjetskom tržištu, zakonska regulativa vezana uz upotrebu tehnologije zračenja i zahtjev potrošača za jasnom deklaracijom ozračenih namirnica naglasila je potrebu razvoja analitičkih metoda za detekciju namirnica konzerviranih na takav način. Jedna od najpreciznijih metoda za identifikaciju ozračenih namirnica je metoda elektronske paramagnetske rezonancije (EPR). EPR spektroskopija

je fizikalna metoda koja promatra nesparene elektrone, posebno slobodne radikale uzrokovane primjenom zračenja. Može se upotrijebiti kao identifikacijski test ako su radikali stabilni tijekom komercijalnog roka upotrebe ozračenih namirnica, čije su komponente u čvrstom i suhom stanju, gdje je reaktivnost radikala međusobno i s vodom mala. Primjenjuje se na kostima u mesu i ribi, voću i povrću, te proizvodima takvih namirnica (čaj, začini i sl.), te namirnicama iz mora itd. U ovom radu opisana je primjena EPR spektroskopije u provjeri ispravnosti doze

¹Mr. sc. Nadica Maltar-Strmečki, asistent, Zavod za fiziku i biofiziku, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb

²Dr. sc. Boris Rakvin, znanstveni savjetnik, Institut "Ruđer Bošković", Zavod za fizičku kemiju, voditelj Laboratorija za magnetske rezonancije, Bijenička cesta 54, Zagreb, redoviti profesor, Zavod za fiziku i biofiziku, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb