

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE**

**Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla**

**Jelena S. Ivanović  
Doktor veterinarske medicine**

**ISPITIVANJE UTICAJA RAZLIČITIH  
NAČINA PAKOVANJA NA RAST  
*YERSINIA ENTEROCOLITICA* U  
MESU SVINJA**

Doktorska disertacija

**Beograd, 2014. godine**

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Department of Food Hygiene and Technology of Animal Origin

**Jelena S. Ivanović**  
Doctor of veterinary medicine

**INVESTIGATION OF THE EFFECT  
OF DIFFERENT WAYS PACKAGE ON  
GROWTH *YERSINIA*  
*ENTEROCOLITICA* IN PIG MEAT**

**PhD THESIS**

**Belgrade, 2014.**

## **MENTOR**

**Dr Milan Ž. Baltić**, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

## **ČLANOVI KOMISIJE**

**Dr Milan Ž. Baltić**, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

**Dr Vlado Teodorović**, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

**Dr Dejan Krnjaić**, vanredni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za mikrobiologiju

**Dr Mirjana Dimitrijević**, vanredni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

**Dr Vesna Đorđević**, naučni saradnik

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

**Datum odbrane doktorske disertacije**

.....

\*\*\*

*Rezultati istraživanja ove doktorske disertacije deo su istraživanja u okviru projekta „Odabране биолошке опасности за безбедност/квалитет hrane animalnog porekla i kontrolne mere od farme do potrošača“ (Ev. br. TR 31034). Ovaj projekat finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije u periodu 2011-2014. godine.*

*Ovom prilikom želim da se zahvalim svim ljudima koji su mi pomogli u izradi ove doktorske disertacije,*

*Puno hvala mom mentoru i dragom profesoru na svemu sto me je naučio i što me uči svakodnevno. Trudiću se da opravdam poverenje koje ste mi ukazali. Bez Vaše pomoći ova doktorska disertacija ne bi imala ovakav izgled i težinu;*

*Hvala članovima komisije na korektnom i profesionalnom odnosu, korisnim i konstruktivnim savetima;*

*Prijateljstvo je najveće blago, zato hvala mojim devojkama, našem Timu snova, na strpljenju i podršci koju mi pružaju od prvog dana našeg zajedničkog rada;*

*Posebnu zahvalnost dugujem mojoj drugarici i koleginici dr Jeleni Janjić na nesebičnoj pomoći koju mi je pružila tokom izrade ove doktorske disertacije;*

*Zahvaljujem zaposlenima FVM- a, Ljubi i Đoletu na velikoj pomoći koju su mi ukazali tokom izvođenja eksperimentalnog dela ove doktorske disertacije;*

*Veliko hvala mojim roditeljima i bratu na podršci i strpljenju koje su uvek imali za mene!*

*Kada čovek nađe pravog prijatelja onda je našao blago, a kada spoji ljubav i prijateljstvo onda je najsrećniji čovek. Hvala Đoletu što je uvek uz mene, bez njega ništa ne bi bilo kao što jeste. Svaki moj uspeh je podjednak i tvoj!*

*Autor*

## **ISPITIVANJE UTICAJA RAZLIČITIH NAČINA PAKOVANJA NA RAST *YERSINIA ENTEROCOLITICA* U MESU SVINJA**

### ***Rezime***

Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (WHO), bolesti prenosive hranom predstavljaju narastajući problem javnog zdravlja u zemljama u razvoju, zemljama u tranziciji, ali i u razvijenim zemljama. Najčešći izazivači alimentarnih infekcija porekлом из mesa су: *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella*. Jersinioza ljudi je oboljenje koje se dovodi u vezu sa svinjskim mesom i proizvodima od svinjskog mesa. U svetu je zabeležen porast slučajeva ovog oboljenja. Posle salmoneloze i kampilobakterioze uzročnik jersinioze sa svrstava na treće mesto po učestalosti infekcije. Zbog toga prema preporukama Evropske agencije za bezbednost hrane (EFSA) utvrđivanje prisustva *Yersinia enterocolitica* bi trebalo da bude jedna od četiri biološke opasnosti, pored *Salmonella spp.*, *Toxoplasma spp.* i *Trichinella spp.* koja će biti obavezan deo inspekcijskog pregleda trupova svinja. Zbog poboljšanja kvaliteta i duže održivosti sirovog mesa većina proizvođača koristi različita pakovanja. Vakuum pakovanja i pakovanja sa modifikovanom atmosferom (gde je odnos gasova tačno definisan) mogu uticati na kvalitet i bezbednost sirovog mesa.

Cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije bio je utvrđivanje uticaja različitih načina pakovanja (vakuum i različite modifikovane atmosfere) sirovog svinjskog mesa na rast *Yersinia enterocolitica* i mikrobiološki status (ukupan broj bakterija, broj bakterija mlečne kiseline i broj bakterija iz familije *Enterobacteriaceae*), promena pH vrednosti, sadržaja ukupnog isparljivog azota i promena senzornih osobina. Mleveno meso svinja je kontaminirano referentnim sojem *Yersinia enterocolitica* (ATCC 9610), zatim pakovano u vakuum i dve različite modifikovane atmosfere (20%O<sub>2</sub>, 50%CO<sub>2</sub> i 30%N<sub>2</sub>-MAP 1 i 20%O<sub>2</sub>, 30%CO<sub>2</sub> i 50%N<sub>2</sub>- MAP 2). Kao kontrola služilo je nekontaminirano mleveno meso svinja koje je pakovano na isti način kao i kontaminirano. Uzorci su skladišteni pri 4 °C i sukcesivno ispitivani (ispitivanje broja *Yersinia enterocolitica*, ukupnog broja bakterija, ukupnog broja bakterija iz familije

*Enterobacteriaceae*, određivanje bakterija mlečne kiseline, kao i merenje pH vrednosti, sadržaja ukupnog isparljivog azota i senzorne analize).

Porast broja bakterija *Yersinia enterocolitica* zabeležen je u svim grupama eksperimentalno kontaminiranih uzoraka a zatim pakovanog svinjskog mesa u toku dvanaestodnevnog skladištenja, ali je bio veći u uzorcima pakovanih u vakuumu u odnosu na uzorce pakovane u modifikovanu atmosferu. Intenzivniji porast broja bakterija *Yersinia enterocolitica* kod eksperimentalno kontaminiranih uzoraka svinjskog mesa, bez obzira na način pakovanja, zapažen je posle šestog dana skladištenja. Kod oglednih i kontrolni grupa uzoraka pakovanog svinjskog mesa takođe je intenzivniji porast broja enterobakterija zabeležen posle šestog dana skladištenja a bakterija mlečne kiseline već posle trećeg dana skladištenja. Promena ukupnog broja bakterija u toku skladištenja pakovanog svežeg svinjskog mesa bila je najmanje izražena. U oglednim uzorcima pakovanog svinjskog mesa ukupan broj bakterija bio je svih dana skladištenja veći od ukupnog broja bakterija u kontrolnim pakovanim uzorcima svinjskog mesa, što nije bilo izraženo pri poređenju broja enterobakterija, odnosno broja bakterija mlečne kiseline u oglednim i kontrolnim pakovanim uzorcima svinjskog mesa. Sadržaj ukupnog isparljivog azota u uzorcima pakovanog svinjskog mesa značajnije je rastao posle šestog dana skladištenja kada je u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima zapažen intenzivniji porast *Yersinia enterocolitica*, odnosno kada je u svim grupama uzoraka uočen i intenzivniji porast enterobakterija. Sadržaj ukupnog isparljivog azota bio je veći u uzorcima svinjskog mesa pakovanog u vakuumu u odnosu na uzorce koji su pakovani u modifikovanu atmosferu. Devetog dana skladištenja sadržaj ukupnog isparljivog azota u svim grupama uzoraka, oglednih i kontrolnih, bio je iznad granične vrednosti za sveže svinjsko meso.U toku skladištenja u svim grupama uzoraka pakovanog svinjskog mesa zapaženo je smanjenje pH vrednost, a bilo je najizraženije u uzorcima pakovanim u vakuum u odnosu na uzorce pakovane u modifikovanoj atmosferi. Senzorna ocena prihvatljivosti mirisa pakovanog svinjskog mesa bila je šestog dana skladištenja znatno iznad granice prihvatljivosti, devetog dana skladištenja na graničnoj vrednosti a dvanaestog dana skladištenja ispod granične vrednosti prihvatljivosti. Do šestog dana skladištenja svinjskog mesa pakovanog u vakuum odnosno modifikovanu atmosferu ne dolazi do značajnijih promena bakteriološkog statusa niti znakova kvara kako oglednih (eksperimentalno kontaminiranih uzoraka sa *Yersinia enterocolitica*) tako i kontrolnih

uzoraka. Daljim skladištenjem u oglednim uzorcima dolazi do povećanja broja *Yersinia enterocolitica*. U kontrolnim i oglednim grupama uzoraka pakovanog svinjskog mesa dolazi do povećanja broja svih ispitivanih grupa bakterija, povećanja sadržaja ukupnog isparljivog azota i znatnih promena mirisa.

**Ključne reči:** meso, kontaminacija, *Yersinia enterocolitica*, hrana

**Naučna oblast:** Veterinarska medicina

**Uža naučna oblast:** Higijena i tehnologija mesa

**UDK broj:** 613.28:579.84

## **INVESTIGATION OF THE EFFECT OF DIFFERENT WAYS PACKAGE ON GROWTH *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IN PIG MEAT**

### ***Summary***

According to the World Health Organization (WHO), foodborne diseases represent a growing public health problem in developing countries, countries in transition, but also in developed countries. The most frequent causes of foodborne infections originating from the meat: *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella*. Yersinia of people is a disease that is associated with pork and pork products. The world saw a rise in cases of the disease. After salmonellosis and campylobacteriosis causes yersiniosis with ranks in third place in the incidence of infection. Therefore, as recommended by the European Food Safety Agency ( EFSA ) to establish the presence of *Yersinia enterocolitica* should be one of the four biological hazards, in addition to *Salmonella spp.*, *Toxoplasma spp.* and *Trichinella spp.* which will be a compulsory part of the inspection of carcasses of pigs. To improve the quality and more sustainable raw meat most manufacturers use different packages. Vacuum packaging and packaging with modified atmosphere (where the ratio of gases accurately defined ) may affect the quality and safety of raw meat.

The aim of the research within this dissertation was to determine the effect of different ways of packaging (vacuum and different modified atmospheres) raw pork on the growth of *Yersinia enterocolitica* and microbiological status (total number of bacteria, the number of lactic acid bacteria and the number of bacteria in the family *Enterobacteriaceae*), pH changes values of total volatile nitrogen and changes in sensory properties. Minced meat that is contaminated with reference strain of *Yersinia enterocolitica* (ATCC 9610), and then packed in two different vacuum and modified atmosphere ( 20%O<sub>2</sub> , 50%CO<sub>2</sub>, 30 %N<sub>2</sub>- MAP 1 and 20%O<sub>2</sub> , 30%CO<sub>2</sub>, 50%N<sub>2</sub> - MAP 2 ). The control group was uncontaminated minced meat that is packaged in the same manner as the contaminated. Samples were stored at 4 °C, and successively tested (testing the number of *Yersinia enterocolitica*, the total number of bacteria, the total number of bacteria in the family *Enterobacteriaceae*, lactic acid bacteria determination, and measuring the pH value, the content of total volatile nitrogen and sensory analysis).

The increase in the number of bacteria *Yersinia enterocolitica* was observed in all groups of experimentally contaminated samples and then packaged pork during the twelve-day storage, but was higher in the samples packaged under vacuum in relation to the samples packed in modified atmosphere. A more intensive increase in the number of bacteria *Yersinia enterocolitica* in experimentally contaminated samples taken from pigs, regardless of the manner of packaging, was observed after six days of storage. Experimental and control groups of samples packaged pork is also more intense increase in the number of *Enterobacteriaceae* was noted after the sixth day of storage and lactic acid bacteria, but after the third day of storage. Changing the total number of bacteria during the storage of packaged fresh pork was least prevalent. The experimental samples packaged pork total number of bacteria was all days of storage is greater than the total number of bacteria in the control samples packaged pork, which was not expressed when comparing the number of enterobacteria, the number of lactic acid bacteria in experimental and control samples packaged pork. The content of total volatile nitrogen in samples of packaged pork products grew significantly after the sixth day of storage when in experimentally contaminated samples observed intense growth of *Yersinia enterocolitica*, and when all groups of samples was observed and intense growth of enterobacteria. The content of total volatile nitrogen was higher in the samples of pork packaged in a vacuum as compared to the samples, which were packed in modified atmosphere. On the ninth day of storage the content of total volatile nitrogen in all sample groups, experimental and control, were above the threshold values for fresh pork meat. During storage in all groups of samples packaged pork was observed decrease in pH value, and it was most pronounced in the samples packed in a vacuum in relation to the samples packed in modified atmosphere. Sensory evaluation of the acceptability of smell packaged pork was the sixth day of storage well above acceptable limits, the ninth day of storage at the limit value and the twelfth day of storage below the threshold of acceptability. By the sixth day of storage of pork packed in vacuum or modified atmosphere there is no significant change bacteriological status or signs of failure to sample (samples experimentally contaminated with *Yersinia enterocolitica*) and control samples. Subsequent storage in the experimental samples leads to an increase in the number of *Yersinia enterocolitica*. The control and

experimental samples packaged pork comes an increase in the number of all the groups of bacteria, the increase of total volatile nitrogen and significant changes in odor.

**Key words:** meat, contamination, *Yersinia enterocolitica*, food

**Scientific field:** Veterinary Medicine

**Field of academic expertise:** Meat Hygiene and Technology

**UDK number:** 613.28:579.84

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1 Značaj svinjskog mesa u ishrani ljudi.....	3
2.2 Proizvodnja svinjskog mesa.....	3
2.3 Vrednost pH mesa i ukupan isparljiv azot .....	3
2.4 Kvar mesa i senzorne osobine.....	4
2.5 Bakteriološki status pakovanog mesa.....	6
2.6 Istorijat roda <i>Yersinia</i> .....	7
2.7 Klasifikacija roda <i>Yersinia</i> .....	8
2.8 Taksonomija roda <i>Yersinia</i> .....	8
2.8.1 Karakteristike <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	9
2.9 Rasprostranjenost <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	12
2.9.1 Prisustvo <i>Yersinia enterocolitica</i> kod životinja.....	12
2.9.2 Prisustvo <i>Yersinia enterocolitica</i> u hrani.....	13
2.10 Faktori vezani za opstanak i rast <i>Yersinia enterocolitica</i> u hrani.....	15
2.10.1 Uticaj temperature na rast <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	15
2.10.2 Uticaj pH vrednosti na rast <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	16
2.10.3 Uticaj aktivnosti vode na rast <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	16
2.10.4 Uticaj pakovanja namirnica na rast <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	16
2.11 Jersinioza, oboljenje ljudi i infektivna doza .....	17
2.11.1 Izvori i putevi infekcije ljudi .....	17
2.11.2 Patogenost i virulencija.....	19
2.11.3 Odnos doza- odgovor.....	22
2.12 Epidemiološki podaci.....	22
2.13 Pakovanje hrane.....	27
2.13.1 Istorija pakovanja hrane .....	27
2.13.2 Vrste pakovanja hrane .....	30
2.13.2.1 Pakovanje namirnica u MAP.....	32
2.13.2.2 Pakovanje namirnica u vakuumu.....	36
2.13.3 Upotreba nanotehnologije u pakovanju hrane.....	37
2.13.3.1 Nanočestice srebra.....	37
2.13.3.2 Nanočestice oksida metala.....	39
3. CILJ I ZADACI.....	41
4. MATERIJAL I METODE.....	43
4.1 Materijal.....	43
4.2 Metode.....	43
4.2.1 Mikrobiološke metode.....	44
4.2.2 Hemijska i fizičko hemijska ispitivanja.....	44
4.2.3 Senzorna ocena.....	45
4.2.4 Statistička analiza.....	45

<b>5. REZULTATI ISPITIVANJA.....</b>	<b>46</b>
<b>5.1 Osnovni hemijski sastav svinjskog mesa.....</b>	<b>46</b>
<b>5.1.1 Hemijski sastav svinjskog mesa pre pakovanja .....</b>	<b>46</b>
<b>5.2 Mikrobiološki status mlevenog svinjskog mesa .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2.1 Ispitivanje promene broja bakterija <i>Yersinia enterocolitica</i> u uzorcima mlevenog svinjskog mesa tokom skladištenja.....</b>	<b>47</b>
<b>5.2.2 Ispitivanje promene ukupnog broja bakterija u uzorcima mlevenog svinjskog mesa tokom skladištenja.....</b>	<b>49</b>
<b>5.2.3 Ispitivanje promene ukupnog broja enterobakterija u uzorcima mlevenog svinjskog mesa tokom skladištenja.....</b>	<b>55</b>
<b>5.2.4 Ispitivanje promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u uzorcima mlevenog svinjskog mesa tokom skladištenja.....</b>	<b>60</b>
<b>5.3 Promene sadržaja ukupnog isparljivog azota i pH vrednosti u svinjskom mesu tokom skladištenja.....</b>	<b>65</b>
<b>5.3.1 Promene sadržaja ukupnog isparljivog azota u svinjskom mesu tokom skladištenja.....</b>	<b>65</b>
<b>5.3.2 Promene pH vrednosti u svinjskom mesu tokom skladištenja.....</b>	<b>66</b>
<b>5.4.Ispitivanje prihvatljivosti mirisa mlevenog svinjskog mesu.....</b>	<b>69</b>
<b>6. DISKUSIJA.....</b>	<b>71</b>
<b>6.1 Osnovni hemijski sastav svinjskog mesa.....</b>	<b>71</b>
<b>6.2 Mikrobiološki status mlevenog svinjskog mesa .....</b>	<b>72</b>
<b>6.2.1 Promene prosečnog broja bakterija <i>Yersinia enterocolitica</i> u svinjskom mesu tokom skladištenja.....</b>	<b>72</b>
<b>6.2.2 Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u svinjskom mesu tokom skladištenja.....</b>	<b>74</b>
<b>6.2.3 Promene prosečnog broja enterobakterija u svinjskom mesu tokom skladištenja.....</b>	<b>77</b>
<b>6.2.4 Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u svinjskom mesu tokom skladištenja.....</b>	<b>80</b>
<b>6.3 Promene sadržaja ukupnog isparljivog azota i pH vrednosti u mesu svinja tokom skladištenja.....</b>	<b>83</b>

---

6.3.1 Promene sadržaja ukupnog isparljivog azota u svinjskom mesu tokom skladištenja.....	83
6.3.2 Promene pH vrednosti u svinjskom mesu tokom skladištenja.....	85
6.4. Ocena prihvatljivosti mirisa.....	87
7. ZAKLJUČCI.....	90
8. SPISAK LITERATURE.....	92
PRILOZI.....	119

---

## 1. UVOD

Bolesti koje se prenose hranom definišu se kao svaka bolest koja je povezana sa hranom ili kod koje je uzročnik unet u organizam preko hrane. Pod pojmom takve bolesti smatra se slučaj kada dve ili više osoba dožive sličnu bolest, obično gastrointestinalnu, nakon konzumiranja hrane, ako analize ukažu na to da je izvor te bolesti hrana. Približno 66% pojava bolesti koje se prenose putem hrane su izazvane bakterijskim patogenima. Najčešći izazivači trovanja hransom su: *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, neki tipovi *Escherichia coli*, *Shigella*. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization- WHO), bolesti prenosive hranom predstavljaju narastajući problem javnog zdravlja u zemljama u razvoju, zemljama u tranziciji, ali i u razvijenim zemljama. Podaci zdravstvene statistike Republike Srbije pokazuju da se prijavljeni broj slučajeva ove preventibilne grupe bolesti svake godine povećava i da se svake godine beleže i slučajevi sa smrtnim ishodom. Najveći broj prijavljenih slučajeva akutnih infektivnih bolesti prenosivih hranom u našoj zemlji, oko 70 % nije u celini epidemiološki obraden, odnosno ne postoje laboratorijski potvrđeni nalaz o infektivnom agensu uzročnika bolesti, dok je zanemarljiv broj slučajeva u kojima postoji evidencija o vrsti namirnica koja je bila put prenosa infektivnog agensa. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (WHO) pojava crevnih bolesti posledica je nepravilnog postupanja sa hranom kao što su priprema hrane pre njenog posluživanja, nedovoljna termička obrada hrane, kliconoše među zaposlenima, neadekvatno hlađenje (na visokoj temperaturi kroz dugi vremenski period). Mnogi mikroorganizmi (*Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella* i dr. ) prisutni u hrani predstavljaju veliku opasnost za zdravlje ljudi. Mikroorganizmi su prisutni u velikom broju namirnica i prehrambenim proizvodima u situaciji kada higijenski uslovi njegove proizvodnje ili uslovi skladištenja nisu zadovoljavajući. Rizik od bolesti uzrokovane nezadovoljavajućim higijenskim uslovima proizvodnje ili skladištenje hrane povećao je važnost mikrobiološke kontrole proizvoda i potrebu za pouzdanim standardizovanim metodama identifikacije i proveravanja mikrobiološkog stanja namirnica. Jersinioza ljudi obično podrazumeva gastroenterokolitis sa pojavom dijareje, akutni limfadenitis,

pseudoappenditis, artritis i septikemiju. Na ovog patogena su posebno osetljiva deca u starosti do četiri godine. Tokom 2007. godine u Evropi je bilo zabeleženo 8.792 slučaja jersinioze ljudi. Infekcija sa *Yersinia enterocolitica* je na trećem mestu, odmah iza infekcija sa *Campylobacter spp.* i *Salmonella spp.* Izvori infekcije za ljudi su svinjsko meso i kontaminirani proizvodi od mesa. Zbog psihrotrofnih karakteristika *Y.enterocolitica* ima sposobnost umnožavanja tokom skladištenja mesa i proizvoda od mesa.

Meso predstavlja dobar medijum za rast i razmnožavanje mikroorganizama. Sa svojim osobinama po hemijskom sastavu odgovara kao idealna podloga za uvećanje broja mikroorganizama. Rast mikroorganizama u mesu i proizvodima od mesa prouzrokuje promene u teksturi, boji, mirisu, ukusu i nutritivnoj vrednosti. Ove promene meso i proizvode od mesa čine neprihvatljivim za ljudsku upotrebu a ne retko i nebezbedno po zdravlje potrošača. Čuvanje mesa i proizvoda od mesa u smeši gasova, može se odrazati na kvalitet i produžiti rok trajanja, usporavanjem biohemiskih i hemijskih reakcija, a takođe i usporavnjem, a u nekim situacijama i onemogućavanjem rasta mikroorganizama. Modifikovana atmosfera postala je mnogo dostupnija u tehnologiji pakovanja mesa, kao posledica težnje proizvođača mesa i proizvoda od mesa da zadovolje zahteve potrošača koji žele sveže, ohlađeno meso koja je održivo. Upotreba MAP (MAP –*Modified Atmosphere Packaging*) u pakovanju mesa produžava održivost hrane, tako što usporava rast mikroorganizama. Pokazalo se da MAP inhibira floru koja dovodi do kvara i značajno produžava rok trajanja. Pored MAP tehnike pakovanja, industrija mesa je uvela i pakovanje mesa i proizvoda od mesa u vakuum pakovanja. Kod pakovanja mesa u vakuumu, uklanjanjem vazduha u ambalaži nepropusnoj za kiseonik, stvaraju se anaerobni/mikroaerofilni uslovi, koji vrše inhibiciju rasta mikroorganizama. Pored MAP-a i vakuum pakovanja, savremena tehnologija hrane uvodi nanotehnologiju, čija će upotreba tek pokazati kako prednosti, tako i nedostatke upotrebe nanotehnologija.

## **2. PREGLED LITERATURE**

### **2.1 Značaj svinjskog mesa u ishrani ljudi**

Meso i proizvodi od mesa predstavljaju visoko kvalitetnu hranu, imaju izražena hranljiva i biološka svojstva. Najznačajnije gradivne komponente mišićnog tkiva su proteini (~19%), rastvorljive neproteinske supstance (~3,5%) i lipidi (~2,5%), dok ostatak čini voda (~75%) (Dokmanović, M., 2012). Meso predstavlja osnovni izvor visokovrednih proteina, kao i vitamina B grupe. Meso sadrži i male količine A, C, D, E i K vitamina. Pored toga, meso je dobar izvor minerala, posebno gvožđa, cinka i fosfora, ali nema dovoljno kalcijuma. Takođe, masti u mesu su izvor polinezasićenih masnih kiselina koje su esencijalne za čoveka. Svinjsko meso je visoko vredan proizvod u biološkom smislu ishrane, i u poređenju sa goveđim mesom, sadrži više esencijalnih aminokiselina, nekih vitamina i masnih kiselina (Baltić i sar., 2010).

### **2.2 Proizvodnja svinjskog mesa**

Proizvodnja svinjskog mesa je značajna grana stočarstva u Srbiji i Evropskoj Uniji. Ukupna proizvodnja mesa u svetu za 2010. godinu iznosila je 286,2 miliona tona, pri čemu je učešće svinjskog mesa bilo 37,39 % (107 miliona tona), živinskog mesa 33,44 % (95,7 miliona tona), goveđeg mesa 22,71 % (65 miliona tona) i ovčijeg mesa samo 4,54 % (13 miliona tona) (Dokmanović, M., 2012). Od ukupne potrošnje mesa po stanovniku u Srbiji (64 kg), Evropskoj Uniji (92 kg) i svetu (42 kg), svinjsko meso je učestvovalo sa 58 % (37 kg), odnosno 47 % (42 kg) i 39 % (16,4 kg) (Ivanović, S. i sar., 2012).

### **2.3 Vrednost pH mesa i ukupan isparljiv azot**

Vrednost pH je značajan kriterijum u određivanju inicijalnog kvaliteta mesa i proceni njegovog stanja za vreme skladištenja (Allen i sar., 1998). Nakon klanja životinje, mišići nastavljaju da stvaraju energiju, kontrahuju se i proizvode toplotu. Kako se posle klanja zaustavlja krvotok, mišići se više ne snabdevaju kiseonikom i hranljivim materijama, pa se kao izvor energije koristi depo glikogena u ćeliji koji se razgrađuje u anaerobnim uslovima. Razgradnjom glikogena nastaje mlečna kiselina, a pH vrednost

mesa se snižava. Sa padom pH vrednosti u toku zrenja dolazi do denaturacije proteina i preobražaja mišića u meso. Pored toga, delovanjem na proteine mesa, pH vrednost posredno utiče i na druge parametre kvaliteta mesa (sposobnost vezivanja vode, boju, električnu provodljivost i mekoću mesa (Baltić, T., 2014). Posle klanja životinje, pH vrednost opada sa 7,2 na vrednosti oko 5,3 do 5,7, što zavisi od vrste životinje, postupka sa njom pre klanja, temperature tokom postmortalnog procesa, vrste mišića itd. Dužina trajanja anaerobne glikolize zavisi od vrste životinje, kao i vrste mišića gde se ona prati. Snižavanjem temperature opada stepen postmortalne glikolize, pri čemu se zaustavlja dalje opadanje pH vrednosti. Temperatura, pored toga što utiče na brzinu opadanja pH vrednosti mesa, utiče i na razvoj bledog mekog i vodnjikavog mesa - PSE (engl. *PSE-Pale, Soft, and Exudative*) mesa, jer ono nastaje istovremenim delovanjem visoke temperature i niže pH vrednosti. Suprotno tome, prekomerno hlađenje trupova dovodi do hladnog rigora (skraćivanja), što nepovoljno utiče na mekoću mesa. Vrednosti pH i temperature mesa najčešće se mere 15 min nakon klanja (inicijalna kiselost). Međutim, merenje pH može da se izvrši i 5 min nakon klanja. Preporučeno vreme za merenje pH je još 30, 60, 120 i više minuta nakon klanja (Petracci i Baeza, 2009).

Pored pH vrednosti, merenje koncentracije ukupno isparljivog azota (Total volatile basic nitrogen-TVB- N) u mesu može poslužiti kao indikator svežine mesa. Isparljivi amini u mesu nastaju kao posledica dekarboksilacije aminokiselina usled enzimske aktivnosti mikroorganizama. Sa porastom broja mikroorganizama u mesu posledično raste i koncentracija TVB- N. Granična vrednosti TVB- N za ocenu svežine mesa utvrđena je za svinjsko meso i iznosi 30 mg N/ 100g (Connelle, 1990).

## **2.4 Kvar mesa i senzorne osobine**

Zbog specifičnog fizičko-hemijskog sastava, meso je jedna od najkvarljivijih namirnica. Za industriju mesa, maloprodajne lance i potrošače, kvar svežeg mesa predstavlja ekonomski gubitak koji može da iznosi i preko 40% (Sperber, 2010). Na dužinu održivosti svežeg mesa, odnosno brzinu kvara utiču fiziološki status životinja pre klanja, kontaminacija za vreme klanja i rasecanja trupova, pH vrednost mesa, sastav i tekstura mesa, način i vrsta pakovanja, temperatura i drugi ambijentalni uslovi čuvanja za vreme distribucije (Ercolini i sar., 2006; Li i sar., 2006; Nychas i sar., 2008). Uzroci

nastanka kvara mesa su rast i razmnožavanje mikroorganizama kvara, oksidacija lipida i/ili oksidacija mioglobina, usled kojih dolazi do stvaranja mirisa i ukusa, gasova, produkcije sluzi ili promene boje mesa. Kritičan faktor pri određivanju dužine održivosti svežeg mesa je inicijalna bakterijska kontaminacija neposredno nakon klanja. Meso zdravih životinja u dubljim slojevima, po pravilu je sterilno (Petäjä-Kanninen i Puolanne, 2007; Talon i sar., 2004), a kontaminacija mesa nastaje, uglavnom, tokom klanja i obrade trupa, a povećava se u toku prerade.

Rasecanjem i daljom obradom trupova povećavaju se slobodne površine, a voda i hranljive materije postaju dostupnije mikroorganizmima, pa se mikroorganizmi prenose sa površine na ostale delove trupa (Doyle, 2007). Sveže meso, odmah nakon klanja, sadrži manje od  $10^4$  mikroorganizama po  $\text{cm}^2$  površine (Prändl i sar., 1988).

Kvar mesa je proces u kome se senzorne osobine mesa (miris, ukus, boja itd.) menjaju tako da ono postaje neprihvatljivo za konzumiranje (Fung, 2010), a nastaje usled produženog vremena skladištenja i distribucije, nepropisne temperature skladištenja i distribucije i/ili razmnožavanja mikroorganizama (Dave i Ghaly, 2011). Mnogobrojni faktori utiču na održivost mesa, odnosno brzinu nastanka kvara mesa. Dave i Ghaly (2011) opisuju tri mehanizma nastanka kvara mesa i proizvoda od mesa: mikrobiološki kvar, kvar usled užeglosti i kvar usled autolize. Razlaganjem strukturalnih komponenti mesa nastaju promene u ukusu, mirisu, boji, mekoći, sočnosti i teksturi mesa, što je posledica akumulacije metaboličkih produkata ili aktivnosti ekstracelularnih enzima psihrotrofnih bakterija prisutnih na površini mesa. Kada je ukupan broj bakterija mali, bakterije koriste glukozu kao primarni izvor energije, a krajnji proizvodi metabolisanja glukoze ne utiče na promenu senzornih osobina mesa. Sa porastom broja bakterija, smanjuje se količina raspoložive glukoze, pa bakterije počinju da koriste druge supstrate kao izvor energije, kao što su proteini. Krajnji proizvodi razlaganja proteina utiču na promenu mirisa mesa. Neki autori smatraju da inicijalna promena mirisa mesa ne potiče od razlaganja proteina kože i mišića, već od direktnog razlaganja azotnih jedinjenja male molekulske mase- aminoiselina na površini mesa od strane mikroorganizama (Mead, 2004).

U trenutku nastanka kvara dominantnu populaciju mikroorganizama čine bakterije mlečne kiseline, ali se i druge Gram- pozitivne i Gram- negativne bakterije mogu naći u relativno velikom broju (Björkroth, 2005). Uslovi skladištenja utiču na vrstu mikroflore

prisutne u mesu i proizvodima od mesa. Prema navodima Cerveny i sar. (2009) *Pseudomonas spp.*, *Moraxella spp.*, *Psychrobacter spp.*, *Acinetobacter spp.* i psihrotrofne enterobakterije čine mikrofloru proizvoda od mesa čuvanih pri temperaturi frižidera. Osim bakterija, kvar mesa mogu da izazovu plesni (najčešće *Cladosporium*, *Sporotrichum*, *Geotrichum*, *Penicillium* i *Mucor*) i kvasci (najčešće *Candida spp.*, *Cryptococcus spp.* i *Rhodotorula spp.*) (Garcia- Lopez i sar., 1998). Kojom brzinom će se mikroorganizmi razmnožavati u mesu zavisi od vrste mikroorganizma, dostupnosti hranljivih materija, pH sredine, temperature, količine vlage i načina pakovanja (MAP, vakuum) (Cerveny i sar., 2009).

## **2.5. Bakteriološki status pakovanog mesa**

Preživljavanje i rast mikroorganizama kvara, u velikoj meri, zavise od sastava gasova u pakovanju (Doulgeraki i sar., 2012). Poznato je da skladištenje mesa u aerobnim uslovima može da ubrza kvar usled brzog rasta *Pseudomonas* vrsta, dok vakuum i MAP pakovanje favorizuju dominaciju fakultativno anaerobne populacije, uključujući bakterije mlečne kiseline i *Brochothrix thermosphacta* (Enfors i sar., 1979; Lambropoulou i sar., 1996). Unutar vakuum pakovanja, rezidualni kiseonik se koristi za tkivnu respiraciju i zamenjuje CO<sub>2</sub>, zbog čega dolazi do inhibicije rasta *Pseudomonas*, *Acinetobacter* i *Moraxella* vrsta i produženja održivosti proizvoda. Ove aerobne bakterije troše sav rezidualni kiseonik, a kao posledica toga dolazi do rasta *Brochothrix thermosphacta* i bakterija iz familije *Enterobacteriaceae*, kao fakultativnih anaeroba. Na kraju dolazi do rasta Gram pozitivnih bakterija, odnosno bakterija mlečne kiseline. Enterobakterije iz rodova *Serratia*, *Enterobacter*, *Pantonea*, *Klebsiella*, *Proteus* i *Hafnia* često doprinose kvaru mesa (Nychas i sar., 1998), kao i kvaru vakuum upakovanih mesa. Bakterije mlečne kiseline su važan kompetitor drugim bakterijama kvara u vakuum ili modifikovanoj atmosferi (Nychas i Scandamis, 2005). Bakterije mlečne kiseline, kao slabi proteoliti, ne proizvode velike količine amina i sulfita i promene koje nastaju u mesu usled njihovog rasta nisu toliko drastične. *Clostridium* vrste, u vakuum upakovanim svežem mesu, mogu dovesti do obimnog stvaranja gasa (*blown pack*) (Adam i sar., 2010) i veoma neprijatnog mirisa.

## **2.6 Istorijat roda *Yersinia***

Istorija *Yersinia* vrsta potiče iz 1884. godine, kada je *Y. pseudotuberculosis* prvi put izolovana i opisana kao uzročnik pseudotuberkuloze kod zamoraca (Malassez i Vignal, 1884). Bakterija je iste godine nazvana *Bacillus pseudotuberculosis*. Ubrzo nakon toga, francuski bakteriolog Aleksandar Jersin prvi put izoluje *Y. pestis* 1894. godine u Hong Kongu, kada se kuga proširila do kopna Kine (Yersin, 1894). Rod *Yersinia* definisan je od strane Van Loghem (1944) a naziv roda je predložen u čast A.J.E. Jersina. Ovaj rod je trebalo da obuhvati *Y. pestis* i *Y. pseudotuberculosis*, poznate u to vreme kao *Pasteurella pestis* i *Pasteurella pseudotuberculosis*. Kasnije, Schleifstein i Coleman su predložili naziv bakterije *Yersinia enterocoliticum* (Schleifstein i Coleman, 1943). Godine 1964., sadašnji naziv *Y. enterocolitica* je predložio Frederiksen (1964). Prvi naziv *Y. enterocolitica* vrste uveden je 1978. godine, kada je i opisana *Y. ruckeri* (Aleksić i sar., 1987a; Aleksić i sar., 1986). Taksonomija roda *Yersinia* je bila proširena uvođenjem DNK - DNK hibridizacije (Brener i sar., 1976). To je dovelo do opisa novih vrsta *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia* (Brener i sar., 1980), *Y. frederiksenii* (Aleksić i sar., 1984; Ursing i sar., 1980) i *Y. kristensenii* (Bercovier i sar., 1980). Nekoliko godina kasnije, Bercovier i saradnici opisuju nekoliko novih vrsta roda *Yersinia*. Ubrzo nakon 1987. godine, Aleksić i sar. su predložili naziv vrste *Y. rohdei*, za bakterije izolovane iz fecesa čoveka, pasa i površinskih voda (Aleksić i sar., 1987b). Godine 1988. izvršena je reklassifikacija roda *Yersinia*. Vrsta *Y. enterocolitica* biotip 3A i 3B dobijaju naziv vrste *Y. mollaretii* i *Y. bercovieri*, pojedinačno. Rod *Yersinia* je reklassifikovan 2000. godine, kada Neubauer i saradici predložu podelu *Y. enterocolitica* u dve podvrste, *Y. enterocolitica* podvrsta *enterocolitica* i *Y. enterocolitica* podvrsta *palearctica*. Vrste novijeg datuma koje su dodate rodu *Yersinia* su *Y. aleksiae*, *Y. massiliensis*, *Y. similis* (Merhej i sar., 2008; Sprague i sar., 2008; Sprague i Neubauer 2005). Naziv vrste *Y. aleksiae* je predložio Sprague i Neubauer (2005) za grupu sojeva izolovanih iz različitih sredina (ljudski izmet, pacovi, irvasi i svinje, mlečni proizvodi).

*Yersinia enterocolitica* je veoma prilagodljiv alimentarni patogen, prilagođen da preživi u različitim uslovima, kako unutar organizma domaćina tako i izvan njega. Veoma je značajan uzročnik infekcija ljudi, naročito u razvijenim delovima sveta (Andualem i

sar., 2005). Infekcija se najčešće dovodi u vezu sa svinjskim mesom ali istraživanja su pokazala da bilo koje drugo meso može biti nosilac ovog patogena (EFSA, 2007a, 2007b, EFSA 2006a, 2006b).

## **2.7 Klasifikacija *Yersinia* vrsta**

Rod *Yersinia* pripada familiji *Enterobacteraceae* (Baltić Ž.M. i sar., 2013a; Fredriksson- Ahomaa i sar., 2003a) i trenutno je opisano 14 vrsta ove bakterije. Tri vrste se smatraju patogene: *Yersinia pestis*, visoko patogena, uzročnik bubonske kuge i dve enteropatogene: *Yersinia pseudotuberculosis*, koja je povezana sa zoonotskim infekcijama i *Yersinia enterocolitica* (Mills, 2004). Od 310 izolovanih sojeva 221 (71%) su identifikovani kao *Y.enterocolitica*, 89 kao *Y. frederiksenii* (12%), *Y. intermedia* (8%), *Y. kristensenii* (5%) i ostale vrste koje su zastupljene sa oko 4%. Većina ovih sojeva (92%) su biotipa 1. Samo 4% od ukupnog broja izolata pripada serotipovima O:3 i O:9 koji su izolovani i iz pacijenata obolelih od jersinioze (Aleksić i sar., 1999; Aleksić, 1991).

## **2.8 Taksonomija *Yersinia* vrsta**

Carstvo: Bacteria

Filum: Proteobacteria

Klasa: Gammaproteobacteria

Red: Enterobacteriales

Familija: *Enterobacteraceae*

Rod: *Yersinia*

Vrste: *Y.pseudotuberculosis*, *Y.pestis*, *Y.enterocolitica*, *Y. ruckeri*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y.al dovae*, *Y. rohdei*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*, *Y. aleksiiae*, *Y. massiliensis*, *Y.similis*

Podvrste:

*Y. pestis* (*Y. pseudotuberculosis* subsp. *pestis*)

*Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica*

*Y. enterocolitica* subsp. *palearctica*

### **2.8.1 Karakteristike *Yersinia enterocolitica***

*Yersinia enterocolitica* je Gram-negativna, ne sporogena, najčešće štapićasta bakterija, ali često i kokoidnog oblika prečnika 0,5-0,8 µm i dužine 1-3,5 µm. Pripada grupi fakultativno anaerobnih mikroorganizama, katalaza pozitivna, oksidaza negativna, nitrat reduktaza pozitivna, uteaza pozitivna, H<sub>2</sub>S negativna, fermentuje glukozu sa malo ili bez gasa a ne fermentuje laktozu. Nema sposobnost stvaranja spora i kapsula. Fenotipske karakteristike variraju u zavisnosti od temperature. Na temperaturi od 35 °C do 37 °C je nepokretna, a na temperature od 22 °C do 25 °C je pokretna i tada poseduje flagele. Ima mogućnost rasta od -2 °C do 42 °C (Bercovier i Mollaret, 1984). Optimalna temperetura rasta je od 28 °C do 29 °C (Bercovier i Mollaret, 1984). *Y.enterocolitica* ima sposobnost umnožavanja u hrani, pre svega mesu, na temperaturi ispod 0 °C (Lee i sar., 1981). *Yersinia enterocolitica* je posebno značajna zbog svoje sposobnosti razmnožavanja pri temperaturi frižidera, vakuum pakovanjima ili u pakovanjima sa modifikovanom atmosferom (Bercovier i sar., 1984). Može da preživi u zamrznutoj hrani duži vremenski period (Aleksić, 1995). U svinjskom mesu, u vakuum pakovanju, čuvanom između 2 °C i 7 °C, nakon pet nedelja čuvanja, *Y.enterocolitica* nema sposobnost rasta (Hayashidani i sar., 2008). U svinjskom mesu, čuvanom pri 4 °C, u modifikovanoj atmosferi sa 100% CO<sub>2</sub> rast *Y. enterocolitica* je suprimiran (Bodnaruk i Draughon, 1998). Međutim, Strotmann i sar. (2008) navode da na rast *Y. enterocolitica* različite koncentracije CO<sub>2</sub> nemaju uticaj. U pakovanjima sa modifikovanom atmosferom gde je odnos O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub> u različitim koncentracijama moguć je rast *Y. enterocolitica*. Takođe, u modifikovanoj atmosferi, u svinjskom mesu, gde je odnos O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub> 50: 50% uočen je rast ovog mikroorganizma (Strotmann i sar., 2008). Prema Strotmanu, prateća mikroflora u ovim uslovima podrazumevala je prisustvo *Pseudomonas* i *Acinetobacter*.

Na umnožavanje *Y. enterocolitica* ne utiču prateća mikroflora mesa, čuvanom na 10 °C (Nissen i sar., 2000). Uticaj visoke koncentracije O<sub>2</sub> u modifikovanoj atmosferi, u mlevenom svinjskom mesu, pokazuje inhibitorni efekat pri temperaturi od 4 °C na rast *Y. enterocolitica* (Pin i sar., 2000).

Bakterije koje su trenutno klasifikovane kao *Y. enterocolitica* ne predstavljaju homogenu grupu. U okviru vrste postoji širok spektar biohemijskih varijacija. Takve varijacije predstavljaju osnove za podelu *Y. enterocolitica* u šest biotipova. Wautters (1991) je prikazao razlike između patogenih biotipova (1B, 2, 3, 4, 5) i nepatogenih biotipova (1A biotip) (tabela 2.1). Biotipizacija sojeva je najvažniji korak i ispitivanju *Y. enterocolitica*. *Yersinia enterocolitica* se može podeliti u serotipove pomoću O-antigena. Do danas je poznato preko 76 različitih serotipova. U Evropi se najčešće javlja biotip 4.

**Tabela 2.1.** Biotipovi *Y. enterocolitica*

Biotip	Serotip	Virulentnost za čoveka	Učestalost pojave u Evropi
4	O:3	Patogena	++++
2	O:9, O:5, 27	Patogena	++
3	O:3, O:5, 27	Patogena	+
1B	O:8, O:21, O:13	Slabo patogena	0
5	O:3, O:2, 3 O:1,2, 3	Patogena	0
1A	Veliki broj	Nepatogena	++++

Legenda: 0- nije zabeležena, +- sporadično se javlja, +--- često se javlja

Biotip 1A uključuje veliki broj serotipova koji se nalaze u okruženju, hrani i povremeno u digestivnom traktu životinja i ljudi (tabela 2.2). Oni ne poseduju svojstva virulencije i imaju jako mali klinički značaj za ljude.

**Tabela 2.2.** *Biotipovi i serotipovi Yersinia enterocolitica*

Biotip	Serotip
1A	O:4; O:5; O:6,30; O6,31; O :10; O:14; O:7,8; O:7,13; O:16; O:21; O:22; O:25; O:37; O:41,42; O:46; O:47; O:57
1B	O:4,32; O:8; O:13,13; O:16; O:18; O:20; O:21; O:25; O:41,42;
2	O:5,27; O:9; O:27
3	O:1,2,3; O:3; O:5,27
4	O:3
5	O:2,3

Biotipovi 1B, 2, 3 ,4 i 5 su potencijalni patogeni za čoveka i životinje. Sojevi biotipa 1B pripadaju malom broju visoko patogenih serotipova, najčešće su O:8, O:21, O:13b, dok se O:4,O:18 i O:20 javljaju znatno ređe. Oni su uglavnom izolovani u SAD pa se zato nazivaju američki sojevi. Od početka 1990. godine ovi sojevi su takođe izolovani u Evropi, Japanu, Indiji, Čileu (Wauters, 1991).

Biotip 2 obuhvata dva serotipa, O:9 i O:5,27 koji su patogeni za čoveka. Serotip O:9 se najčešće javlja u Belgiji, Holandiji i Francuskoj, dok je O:5,27 uobičajen u SAD (WHO, 1994; Mollaret i sar., 1979).

Biotip 3 uključuje serotipove O:1, 2, 3, koji su izolovani uglavnom kod činčila i glodara, a retko kod čoveka (Huovinen i sar., 2010; Mollaret i sar., 1979). Opisano je i nekoliko serotipova O:5,27 u ovom biotipu (Wauters, 1991; WHO, 1987).

Biotip 4 sadrži jedan serotip, O:3, koji predstavlja glavnog patogena za čoveka. Rasprostranjen je u celom svetu ali je dominantan u Evropi. Izolovan je iz organizama zdravih svinja (Carniel i sar., 2007).

Biotip 5 nije od značaja za čoveka. On uključuje serotipove O:2 i O:3 a može se izolovati kod zečeva i nekih drugih životinja (EFSA, 2009a; Wauters, 1991).

Podvrsta *Y.enterocolitica* subsp. *palearctica* obuhvata sojeve evropskog porekla koji obuhvataju 4/O:3, 2/O:9, 2, 3/O:5,27, 1A/O:7,8, 1A/O:6,3 i 1A/O:5 serotipove. *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* obuhvata sojeve američkog porekla 1B/O:8,

1B/O:13, 1B/O:18, 1B/O:20, 1B/O:21 i 1A/O:7,8. Međutim, samo određeni sojevi se dovode u vezu sa infekcijom ljudi a to su 4/O:3, 2/O:9, 2/O:5,27, 3/O:3 i 1B/O:8. Pojava jersinioze i odgovarajućih sojeva može se povezati i sa geografskim regionima. Soj 3/O:3 je odgovoran za jersiniozu u Japanu i Kini (Fukushima i sar., 2001; Zheng i Xie, 1996;). Soj 1B/O označen kao američki soj, izaziva jersiniozu u Francuskoj, Italiji i Japanu, a nedavno je izolovan kod obolelih ljudi u Nemačkoj. Učestalost infekcija zavisi od samog soja. *Y.enterocolitica* biotip 1A je heterogena grupa sojeva koja predstavlja različite serotipove i zauzima širok spektar ekoloških niša. Smatra se da je nepatogena ali njena nedovoljno istražena virulentnost ne može je svrstati u nepatogene bakterije (Tennant i sar., 2003).

## **2.9 Rasprostranjenost *Yersinia enterocolitica***

### **2.9.1 Prisustvu *Yersinia enterocolitica* kod životinja**

U Evropi, svinje su najčešći asimptomatski nosioci za ljude patogenih sojeva *Y.enterocolitica*, posebno soja biotipa 4 (serotipa O:3) i ne tako učestalog biotipa 2 (serotip O:9 i O:27). Uzročnici su najčešće lokalizovani u oralnoj duplji, posebno u tonsilama, submaksilarnim limfnim čvorovima, crevima i fecesu (Fondrevet i sar., 2010; Gutler i sar., 2005; Nesbakken i sar., 2003; Ackers i sar., 2000a). Postoje izveštaji da je učestalost *Y.enterocolitica* čak preko 80% zapata svinja (Grahek-Ogden i sar., 2007; Bottone, 1997). Od 30% do 80% uzoraka tonsila svinja utvrđeno je kao pozitivno, oko 25% fekalnih kliconoša i 10-25% trupova svinja bilo je pozitivno nakon klanja. Tokom klanja, trupovi svinja mogu lako da budu kontaminirani ovim patogenom putem fekalne kontaminacije i iz usne duplje, pa se sojevi biotipa 4 (serotip O:3) mogu često naći na površinama trupova svinja (Fredriksson-Ahomaa i sar., 2007; Hayashadani i sar., 2003). Tehnika klanja i sama higijena klanja imaju veliki uticaj na učestalost kontaminacije. Fekalna kontaminacija može biti značajno redukovana podvezivanjem rektuma, pri evisceraciji. Postupci sa glavom tokom obrade trupa (uklanjanje tonsila, razdvajanje trupova i post mortem inspekcija) može da dovede do širenja *Y.enterocolitica* koje se nalaze na ovom delu trupa.

Učestalost *Y. enterocolitica* kod svinja kao rezervoara ovog patogena ne varira samo od zemlje do zemlje, već i unutar mnogih zemalja. *Yersinia enterocolitica*, O:3 je češće izolovana u evropskim zemljama, Danska, Belgija, Finska, Nemačka, Švedska, dok je niža prevalenca bila u Italiji, Grčkoj i Poljskoj. U Sjedinjenim Američkim državama je zabeležen broj obolelih od oko 115.000 ljudi u toku 2010.godine (Scallan i sar., 2011).

Pozitivni testovi u serološkim kontrolama na brucelozu kod brucela negativnih grla u nekim slučajevima su pokazali unakrsnu reakciju na *Y. enterocolitica* serotip O:9, što ukazuje da goveda mogu biti asimpomatski nosioci ovog serotipa (Malašević, 2012; Krnjaić, 2000). U Norveškoj pojava infekcija sa *Y. enterocolitica* kod koza je izazvana sa biotipom 5 (serotip O:2). Biotip 5 je takođe izolovan kod koza sa Novog Zelanda. Enteritis kod koza i ovaca izazvan sa *Y. enterocolitica* biotip 5 (serotip O:2,3) je utvrđen u Australiji. Biotip 4 (serotip O:3) je izolovan iz rektalnog sadržaja jagnjadi sa Novog Zelanda, kao i kod jelena.

U Nemačkoj *Y. enterocolitica* biotip 4 (serotip O:3) i biotip 2 (serotip O:9) su izolovani kod živine (Stengel, 1985).

*Yersinia enterocolitica* biotip 4 (serotip O:3) infekcija se pojavljuje kod pasa i mačaka (Byun i sar., 2011, Greene, 2006; Fredriksson- Ahomaa i sar., 2001a). Ove životinje mogu često biti asimptomatski nosioci enteropatogenih *Yersinia* (Fredriksson-Ahomaa i sar., 2001b). Izvor infekcije za ljude i ovom slučaju je najčešće pljuvačka, feses i ostali ekskreti kućnih ljubimaca koji dolaze u kontakt sa čovekom (Stamm i sar., 2013; Wang i sar., 2010; Fenwick i sar., 1994).

Glodari su rezervoari biotipa 1B (serotip O:8 i O:21) u Japanu i potencijalno u Severnoj Americi. Biotip 3 je odgovoran za pojavu infekcija kod činčila kao u Evropi tako i u Americi.

## **2.9.2 Prisustvo *Yersinia enterocolitica* u hrani**

Zbog psihrotrofnih karakteristika *Y. enterocolitica* ima sposobnost umnožavanja tokom skladištenja mesa i proizvoda od mesa. Međutim, sposobnost da opstane, pored velikog broja psihrotrofnih mikroorganizama koji se nalaze uobičajeno u mesu, pri odgovarajućoj pH vrednosti, jeste mala, posebno pri niskim temperaturama. Na većim

temperaturama ( $>5^{\circ}\text{C}$ ) i u mesu sa većom pH vrednošću, *Y.enterocolitica* se može umnožavati. Ovaj patogen nema sposobnost preživljavanja pasterizacije i kuvanja.

Unakrsna kontaminacija trupova svinja sa *Yersinia enterocolitica* je moguća u objektima za proizvodnju u preradu mesa (Ivanović, J. i sar., 2013). Najčešće su izvori kontaminacije usna duplja i creva. Takođe unakrsna kontaminacija je moguća i na temperaturi frižidera, što se posebno odnosi na “ready-to-eat” hrani (Jackson i sar., 2007).

U tabeli 2.3 su prikazani podaci iz EFSA izveštaja za monitoring zoonoza i zoonotskih agenasa u periodu 2008-2010. godine u Evropskoj Uniji o prisustvu *Y.enterocolitica* kod svinja i svinjskom mesu (EFSA, 2012).

**Tabela 2.3.** Monitoring zoonoza i zoonotskih agenasa u periodu 2008-2010. godine u Evropskoj Uniji o prisustvu *Y.enterocolitica* kod svinja i svinjskom mesu

Zemlja	Uzorak	2010		2009		2008	
		%	izolati	%	izolati	%	izolati
Nemačka	Zapat svinja	2,7	O:3 O:9	1	O:3	1	O:3 O:9
Italija	Svinje	0	-	0	-	10,2	O:3
Holandija	Svinje	0	-	0	-	0,4	-
Slovenija	Svinje na klanju	-	-	19,8	-	19,3	-
Španija	Svinje na klanju	39	O:3	48,4	O:3	20	Biotip 4
Rumunija	Iznutrice u klanici	2,7	O:3	-	-	-	-
Austrija	Meso u prodaji	1,2	-	-	-	1,6	Biotip 1A
Portugal	Mleveno meso u prodaji	52	O:3	40	-	2,7	O:9
Engleska	Meso u prodaji	-	-	-	-	9,2	Biotip 1A, biotip 3, O:5, O:5, 27, O:9

*Yersinia enterocolitica* biotip 1B (serotip O:8) (Ackers i sar., 2000b) je najčešće izolovana iz mleka i mlečnih proizvoda. Izvori kontaminacije su verovatno kontaminirani sastojci nakon pasterizacije, slabo oprane boce, kontaminirana spoljašnja

ambalaža ili kontaminirani krajnji proizvodi od sirovog mleka. Pasterizovano mleko je idealan medijum za rast i razmožavanje *Y. enterocolitica*. Sojevi *Y. enterocolitica* su izolovani iz mleka i mlečnih proizvoda, ali je većina izolata bila nepatogena. Kontaminirano pasterizovano mleko i kontaminirano čokoladno mleko se dovode u vezu sa *Y. enterocolitica* (Ackers i sar., 2000b). *Yersinia enterocolitica* je izolovana iz tofu sira (Anachaipattana i sar., 2012a). Takođe je izolovana i iz junećeg mesa (Anachaipattana i sar., 2012b).

U Finskoj *Y. enterocolitica* je izolovana u 8% uzoraka pripremljenog, predhodno isečenog povrća, a u Novreškoj je *Y. enterocolitica* izolovana PCR metodom iz zelene salate (Johannessen i sar., 2000).

Bunari, reke i izvori su podložni kontaminaciji sa fesesom od divljih i domaćih životinja, ali i izlivanjem sadržaja iz septičkih jama, tako da je voda je moguć izvor *Y. enterocolitica*. U vodi je najčešće izolovana *Y. enterocolitica* biotip 1A.

## **2.10 Faktori vezani za opstanak i rast *Y. enterocolitica* u hrani**

### **2.10.1 Uticaj temperature na rast *Yersinia enterocolitica***

*Yersinia enterocolitica* ima sposobnost umnožavanja na niskim temperaturama, odnosno ona pripada grupi psihrotrofnih mikroorganizama. Zabeležen je opseg rasta od -2 °C do 42 °C (Bercovier i Mollaret, 1984). Optimalna temperatura rasta je od 28 °C do 29 °C (Bercovier i sar., 1984). *Yersinia enterocolitica* ima sposobnost unmožavanja u hrani kao što je meso i mleko, na temperaturi koja je ispod 0 °C (Lee i sar., 1980). Važno je napomenuti da *Yersinia enterocolitica* ima znatno veći potencijal razmnožavanja na temperaturi frizidera u odnosu na *L. monocytogenes* (Bhaduri, 2005). Rezultati istraživanja su pokazali da u hrani sa neutralnom pH vrednosti, skladištene na 5 °C, broj *Y. enterocolitica* sa 10/ml može se povećati na  $2.8 \times 10^7$ /ml u periodu od 5 dana. *Yersinia enterocolitica* pokazuje osetljivost i znatno smanjenu sposobnost umnožavanja u zamrznutoj hrani koja se čuva na -20 °C.

### **2.10.2 Uticaj pH vrednosti na rast *Yersinia enterocolitica***

Minimalan pH za rast *Y. enterocolitica* je između 4,2 i 4,4 (Kendall i Gilbert, 1980). Prisustvo organske kiseline smanjuje sposobnost *Y. enterocolitica* da se umnožava na niskim vrednostima pH. Sirćetna kiselina deluje više inhibitorno nego mlečna kiselina i limunska kiselina (Brocklehurst i Lund, 1990). Nema mogućnost rasta na pH ispod 4,2 ili iznad 9 (Kendall i Gilbert, 1980). Bhaduri (2011) je izveo eksperiment promenom pH vrednosti hrane, gde su vrednosti pH bile 4,5 i 6. Broj ćelija sa smanjenom patogenošću je bio oko 5%, dok je 95% ćelija zadržalo svoju patogenost. Međutim na pH vrednosti 3, sve ćelije su bile apatogene.

### **2.10.3 Uticaj aktivnosti vode na rast *Yersinia enterocolitica***

Vrednost aktivnosti vode pri kojoj je optimalan rast *Yersinia enterocolitica* je oko 0,96 (Bonardi i sar., 2003). Ovaj alimentarni patogen ima sposobnost rasta u uslovima sa dodatkom 5% kuhinjske soli. Međutim, u uslovima sa 7% kuhinjske soli nema sposobnost rasta. Bhaduri i sar. (2011) su došli do rezultata da dodatak kuhinjske soli u namirnice u koncentraciji od 0,5, 2 i 5% znatno smanjuje umnožavanje *Yersinia enterocolitica*.

### **2.10.4 Uticaj pakovanja namirnica na rast *Yersinia enterocolitica***

Sposobnost razmožavanja na temperaturi frižidera u vakuum pakovanjima sa produženim rokom trajanja (Bercovier i Mollaret, 1981) jeste od velikog značaja u higijeni namirnica. Toplotni tretman sirovog mleka na temperaturi od 60 °C do 70 °C u trajanju od 16,2 sekunde brzo inaktivise *Y. enterocolitica*. Toplotni tretman mesa na 60 °C tokom 1-3 minuta inaktivise *Y. enterocolitica* što ukazuje da je uobičajan tretman pasterizacije i kuvanja na 70 °C dovoljan za inaktivaciju patogena.

Upotreba fermentacijskih i starter kultura može da spreči rast *Y. enterocolitica*. Antagonistički efekat odabranih mlečno-kiselinskih bakterija na *Y. enterocolitica* sojeve su prikazali na nizu proizvoda, mesnim i fermentisanim kobasicam (Gomolka-Pawlicka

i Uradzinski, 2003). Bakterije mlečne kiseline su imale antagonistički efekat u mesnim proizvodima i kobasicama. Postoje primeri opstanka *Y.enterocolitica* u feta siru u kojem je za kontrolu korišćena *Streptococcus cremoris* (Erkmen, 1996). *Yersinia enterocolitica* dobro raste na 8 °C u vakuum pakovanju kuvane šunke i kobasica u prisustvu  $10^{-5}$  CFU/g bakterija mlečne kiseline (BMK). Efekat mlečne kiseline na rast *Y.enterocolitica* je veći u anaerobnim nego pod aerobnim uslovima, iako se pokazalo da je bakterija više tolerantna prema niskoj pH u anaerobnoj atmosferi nego aerobnoj u odsustvu mlečne kiseline.

Kao fakultativan anaerobni mikroorganizam, gasovita atmosfera ima efekat na rast *Y.enterocolitica*. Rast *Y.enterocolitica* je bio u potpunosti inhibiran na 4 °C i 10 °C u mešavini od 60%CO<sub>2</sub>/40%CO, dok je broj bakterija u uzorcima sa visokom mešavinom O<sub>2</sub> (70%O<sub>2</sub> 30%CO<sub>2</sub>) bio uvećan. Rast u debelim pakovanjima (u plastičnim omotima) je bio još veći (Nissen i sar., 2000).

*Yersinia enterocolitica* je među najosetljivijim bakterijama kojima je potrebna najmanja doza zračenja za eliminaciju (D10-0,20 kGy) (Molins i sar. 2001).

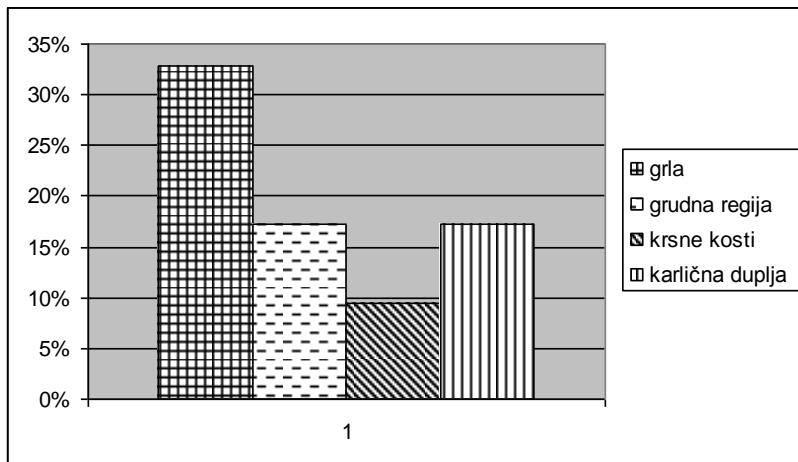
## **2.11 Jersinioza, oboljenje ljudi i infektivna doza**

### **2.11.1 Izvori i putevi infekcije ljudi**

Bakterije iz grupe *Y. enterocolitica* se mogu naći širom sveta i široko su rasprostranjene u spoljašnjoj sredini, upravo zbog ne tako male sposobnosti mikroorganizama da ostane metabolički aktivan na ekstremnim temperaturama, oskudnoj ishrani i pH vrednosti (Fredriksson- Ahomaa i sar., 2006a; 2003b). *Y. enterocolitica* je izolovana iz jezera, izvora, bunara, zemlje i biljaka, svinja, pasa, mačaka, preživara, jelena, glodara, majmuna, čoveka, kao i kod beskičmenjaka kao što su rakovi, puževi i kod mekušaca. Međutim, daleko najčešći izvor patogena sojeva su svinje. Postoji uska povezanost sa svinjskim tonzilama (krajnicima) ali su studije pokazale da u iznutricama, jeziku, srcu, jetri i bubrežima, zajedno sa mlevenim svinjskim mesom postoji značajna kontaminacija sa *Y. enterocolitica* (Lai Kuan Tan, 2014; Fredriksson- Ahomaa i sar., 2001c). U istraživanju koje se sproveli Lai Kuan Tan i sar. (2014) u periodu od juna

2010. do marta 2011. godine obuhvaćeno je ukupno 58 uzoraka sirovog svinjskog mesa koje je podrazumevalo i iznutrice. Uzorci su sakupljeni u marketima. Od tog broja u 20% uzoraka je utvrđeno prisustvo *Y. enterocolitica*. Takođe, u ovom istraživanju obuhvaćene su bile i iznutrice, gde je učestalost *Y. enterocolitica* u jetri bila 60%, creva 87,5%, srce 60% i bubrega 25%. U studijama koje sprovedene u Australiji, ustanovljena je podudarnost između sojeva *Y. enterocolitica* O:3 izolovanih iz zdravih svinja sa onim sojevima izolovanim iz obolelih ljudi. Smatra se da je kontaminacija mesa sa *Y. enterocolitica* najučestalija tokom procesa klanja i obrade u klanici (Fredriksson-Ahomaa, 2003a, 2003b). Utvrđeno je da se unakrsna kontaminacija vrši direktno ili indirektno na svinjsko meso preko opreme, vazduha, rukovaoca hransom u procesu obrade mesa, prodajnim mestima u i domaćinstvima. Kao psihrotrofni mikroorganizmi, *Y. enterocolitica* (Annamalai i Venkitanarayanan, 2005; Neuhaus i sar., 1999) može da se umnožava tokom hladnog lanca od procesa proizvodnje mesa pa do domaćinstava. Kućni ljubimci su potencijalni prenosioci ovog oboljenja i izvor infekcije za malu decu. Direktna transmisija sa čoveka na čoveka je moguća preko feko-oralne kontaminacije, kao i preko asimptomatskih kliconoša (Wesley i sar., 2008; Firouzi i sar., 2007; Fearnley i sar., 2005). Pored svinjskog mesa, *Y. enterocolitica* se takođe može pronaći u goveđem, jagnjećem i pilećem mesu a često do kontaminacije može doći i pranjem u vodi koja nije higijenski ispravna (Weagant i sar., 2008; Wojciech i sar., 2004). Epidemija *Y. enterocolitica* se povezuje i sa bunarima, izvorima, čokoladom i povrćem (Fredriksson-Ahomaa i sar., 2002; Thibodeau i sar., 1999). Međutim, trebalo bi da se naglasi da su svinjsko meso i sveži svinjski proizvodi glavni izvori za izbijanje jersinioze. Najčešći prouzrokovac jersinioze ljudi je biotip 4/O:3 je izolovan iz tonsila svinja i sirovog svinjskog mesa (Fredriksson-Ahomaa i sar., 1999; Butler i sar., 1984). *Yersinia enterocolitica* se može naći u crevnom traktu i fekalijama divljih i domaćih životinja (Bansal i sar., 2000). Ostali izvori su sirova hrana životinjskog porekla i nehlorisana voda iz bunara, potoka, jezera i reka. Takođe, ovaj mikroorganizam može da se prenosi i sa čoveka na čoveka. Većina vrsta koje su izolovane iz hrane i životinja nisu virulentne. *Yersinia enterocolitica* je izolovana iz sirovog ili nedovoljno pečenog crvenog mesa; krajnika svinje i živinskog mesa (Dallai i sar., 2010); mlečnih proizvoda (Yucel i Ulosoy, 2006) kao što su mleko, sladoled, pavlaka, punč od jaja, većine morske hrane i svežeg povrća (Xanthopoulos i sar., 2010).

Značajan izvor unakrsne kontaminacije su sadržaj creva i tonzila. Prateći pojedine linije klanja Van Damme i De Zutter (2011), ukazuju da je medijalni deo grla najčešće kontaminiran ovim patogenom (32,8%), zatim grudna regija (17,2%), medijalna strana pre krsne kosti (9,4%) i karlična duplja (17,2%). Ovi rezultati su prikazani grafikonom 2.1.



**Grafikon 2.1.** Učešće *Y.enterocolitica* u pojedinim regijama (Van Damme i De Zutter, 2011)

Potrošači su uglavnom izloženi ovim alimentarnim patogenom preko sirovog svinjskog mesa, bilo direktno, putem konzumiranja nedovoljno termički obrađenog mesa ili indirektno putem kontaminacije sa drugih namirnica u toku pripreme obroka (Fredriksson- Ahomaa i sar., 2006b; Virdi i sar., 2005; Vishnubhatla i sar., 2001). Posebno je značajna, sa aspekta bezbednosti hrane, konzumacija svežeg svinjskog mesa kao što je začinjeno meso, kobasice, slanina i dimljeni proizvodi, delikatesi koji nisu termički obrađeni i koji su popularni u velikom broju zemalja (Sakai i sar., 2005; Thiisted i sar., 2005).

### **2.11.2 Patogenost i virulencija**

*Yersinia enterocolitica*, kao enteropatogeni mikroorganizam ulazi u organizam preko alimentarnog trakta, najčešće konzumiranjem kontaminiranim mesom svinja (Martinez i sar., 2011; Vlachaki i sar., 2007; Fredriksson-Ahomaa i sar., 2006b). Ne izazivaju svi

tipovi *Y. enterocolitica* bolest kod ljudi (Moriki i sar., 2010; Nesbakken i sar., 2003). Patogeni sojevi se unose preko kontaminirane hrane ili vode, prolaze kroz nisku pH želudca (<3) uz pomoć aktivnosti enzima ureaze i oslobođenog amonijaka. Kada dospeju u distalni ileum, patogeni sojevi *Y. enterocolitica* se prvo vezuju za epitelne ćelije, penetriraju interstinalnu mukozu kroz M ćelije, vrše kolonizaciju Pajerovih ploča, gde se umnožavaju (Iyad i sar., 2011; Kanan i sar., 2009). Sa Pajerovih ploča inficiraju limfni sistem, vrše invaziju susednih mezenteričnih limfnih sudova, a u retkim slučajevima jetru, slezinu i krvotok. Proliferacija je na nivou mononuklearnih ćelija i ekstacelularno, rezultirajući nastankom enterokolitisa kao fokalne ulceracije u mukoznoj membrani i granulomatoznih apscesa u limfnom tkivu. Kod teških infekcija dolazi do nekroze i ulceracije ovih granuloma. Tropizam ka limfnom tkivu i sposobnost rezistencije na nespecifične odbrambene mehanizme domaćina deli zajedno sa *Y. pestis* i *Y. pseudotuberculosis*. Patogeni sojevi se mogu podeliti na grupu onih koji su manje patogeni, koji obuhvataju biotipove od 2 do 4 i grupu visoko patogenih sojeva. Sojevi koji su nisko patogeni poseduju više faktora virulencije, neke hromozomski posredovane, a neke izvedene iz 70-75 kbp plazmida, (pYV). Oba, i plazmidski i hromozomski posredovani faktor virulencija su neophodni za punu ekspresiju virulencije (Bari, 2011).

Nepatogeni sojevi nemaju pYV plazmid i hromozomski posredovani virulentni protein. Trenutno identifikovani mehanizmi virulencije kod *Yersinia enterocolitica* su (Mills, 2004):

1. Ćelijska adhezija koja je omogućena pomoću dva proteina (YadA), kodiran po virulenciji (pYV) plazmida, koji omogućava bakterijsku autoaglutinaciju i vezivanje za ćeliju domaćina, i hromozomski posredovanog (MyfA), koji sintetiše fibrilarnu strukturu.
2. Ćelijska invazija je indukovana proteinom koji se nalazi na spoljašnjoj bakterijskoj membrani (invasin) kodiranog od strane (*inv*) gena. Drugi homozomski gen (*ail*), kodira protein na spoljašnjoj membrani, nije u vezi sa invazinom, doprinosi perzistenciju u Pajerovim pločama.
3. Ćelijska intoksikacija. Hromozom kodira termostabilan enterotoksin (*Yst*), koji izaziva dijareju.

Jersinioza je akutno infektivno oboljenje koje se odlikuje febrilnim stanjem i pojavom enterokolitisa koji je praćen dijarejom. Ovakva klinička slika je najčešće opisana kod male dece, starosti do pet godina i kod adolescenata (Rosner i sar., 2010). Inkubacija traje od 1 do 4 dana. Bolest prolazi kroz dve faze, akutnu i subakutnu. Početak akutne faze protiče sa znacima glavobolje, povišene temperature i bolom u abdomenu sa povremenom vodenom dijarejom. Kod dece se može javiti i hemoragični kolitis. Kolitis se obično održava od 3 do 4 dana sa periodima smirivanja i pogoršanja bolesti. Subakutna faza bolesti odlikuje se reaktivnim promenama, koje se javljaju četvrte nedelje od početka bolesti. Opisano je nekoliko kliničkih formi ovog oboljenja:

- **Gastroenterokolitični oblik** se odlikuje naglim početkom, povišenom telesnom temperaturom i bolovima u abdomenu. Bolovi su na početku lokalizovani u predelu želudca, a potom i u nižim partijama abdomena. Kao propratni simptom može se javiti osećaj mučnine i nagon na povraćanje. Dijareja se može javiti povremeno a obično se normalizuje za 3-5 dana.
- **Apendikularni oblik** se odlikuje znacima opšte intoksikacije, pojavom povišene temperature i sa znacima apendicitisa. Ovaj oblik jersinioze se češće javlja kod starije dece i kod adolescenata. Obično počinje kao enteritis, sa izraženim jakim bolom u desnoj iliјačnoj jami, a iz tog razloga liči na akutni apendicitis. Kod operacije ovih pacijenata može se naći otok mezenterijalnih limfnih čvorova i terminalni ileitis. Za ovakve slučajeve je vrlo korisna serološka reakcija jer je ona u ranom periodu pozitivna.
- **Septični oblik** se karakteriše intermitentnom temperaturom, obilnim i čestim preznojavanjem, uvećanjem jetre i slezine a često mogu biti zahvaćeni pluća, mozak, koštani sistem i drugi organi. Ovakav oblik spada u veoma teške slučajeve i veoma često ima smrti ishod. Može da počne kao trbučni tifus ili kao holestitis sa pojavom ikterusa.
- **Polartritis** se često javlja u severnoj Evropi. Javlja se od 5 do 30 dana nakon pojave enteritisa. Zahvata jedan ili više velikih zglobova u organizmu. Najčešće zahvaćeni zglobovi su: prsti, lakt, koleno, gležanj. Ovaj oblik jersinioze je više opisan kod žena, u starijem dobu.
- **Ekstraintestinalni oblik** se manifestuje pojavom meningitisa, pleuritisa i apscesa, čija se etiologija dokazuje izolovanjem uzročnika.

- **Subklinički oblik** protiče bez jasne kliničke simptomatologije a uzrok oboljenja se dokazuje pregledom fecesa.

### **2.11.3 Odnos doza –odgovor**

Odnos doza-odgovor predstavlja vezu između stepena izloženosti domaćina, patogenu dozu i frekvenciju i/ili težinu posledice od štetnog efekta na zdravlje (odgovor, koji može biti infekcija, oboljenje, hronične posledice i smrt). Veoma se malo zna o odnosu doza-odgovor za *Yersinia enterocolitica* (Hussein i sar., 2001; Jiang i sar., 2000). Infektivna doza je manja od  $10^4$  ćelija (Robins-Browne, 2007). Međutim, do nedavno se smatralo da je za nastanak infekcije neophodna određena doza patogena. Ovaj pristup je prevaziđen jer se smatra da je za nastanak bolesti dovoljno uneti u teoriji i jednu virulentnu ćeliju patogena, odnosno nezavisno od toga koliko je doza visoka, uvek postoji veća ili manja mogućnost infekcije i bolesti. Modeli odnosa doze-odgovora daju procenu verovatnoće nastanka bolesti za datu dozu i takvi modeli su razvijeni za neke patogene ali ne i za *Yersinia enterocolitica* (Liang i sar., 2012; Margas i sar., 2008).

## **2.12 Epidemiološki podaci jersinioze**

*Yersinia* je treći najčešći uzročnik bolesti koji se prenosi hranom (EFSA, 2012). U 2010. godini prijavljeno je ukupno 6776 slučajeva jersinioze u Evropskoj uniji, što je 1,58 slučajeva na 100.000 stanovnika. U većini slučajeva glavni uzročnik bolesti je bila *Y. enterocolitica* dok je samo mali broj članica zemalja Evropske unije izvestio da je uzročnik *Y. pseudotuberculosis* (EFSA, 2012).

Jersinioza je oboljenje koje se javlja u svim državama članicama Evropske Unije ali karakterističan je podatak da se znatno više slučajeva ovog oboljenja beleži u razvijenim zemljama. Tako se često prijavljuje u Norveškoj i Danskoj kao treći uzročnik akutnog enteritisa odmah posle salmoneloze i kampilobakterioze (EFSA, 2009b). U poslednjih 10 godina zabeleženo je 80 do 150 slučajeva oboljenja u Norveškoj na godišnjem nivou (Grahek- Ogden i sar., 2006). Tokom 2009. godine je prijavljena u Litvaniji i Finskoj (12,9 i 9,8 slučajeva na 100.000 stanovnika). U početku je vladalo mišljenje da je bolest sezonskog karaktera i da se javlja uglavnom u periodu hladnih jesenjih i zimskih meseci

(Verhaegan i sar., 1998). Međutim, u 2010. godini Evropski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC) na osnovu trogodišnjih istraživanja podneo je izveštaj da bolest nema sezonski karakter. U Francuskoj je potvrđeno 16 slučajeva oboljenja jersinioze na 100,000 stanovništva u toku 2003. godine (Leclercq i Carniel, 2004). Biotip 4 je bio najčešći uzročnik koji je izolovan kod obolelih pacijenata (69%), biotip 2 oko 30%, dok je biotip 3 bio zastupljen u najmanjem broju slučajeva (1%) (Savin i Carniel, 2008).

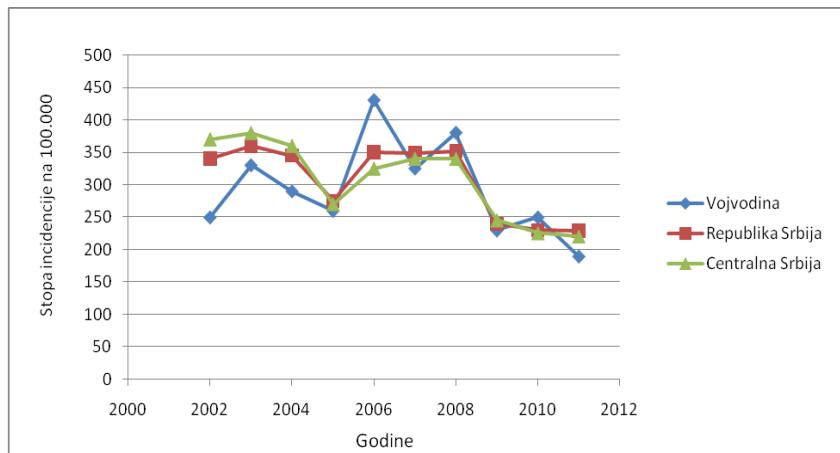
*Yersinia enterocolitica* je čest uzročnik jersinioze ljudi u umerenim zonama ali se infekcije ovim patogenom javljaju sporadično i u tropskim oblastima (Wang i sar., 2009). Mikroorganizam je izolovan iz velikog broja namirnica, ali su infekcije retke i sporadične. Kliničke manifestacije zavise od starosti i opšteg stanja pacijenta.

Broj izveštaja o slučajevima jersinioze u Engleskoj i Velsu je relativno mali (tabela 2.4). Zabeležen je 0,1 slučaj na 100.000 stanovnika u 2005. godini, u poređenju sa 12,2 u Finskoj i 6,8 u Nemačkoj iste godine (EFSA, 2012; Martinez i sar., 2010). U 2010. godini Irska i Italija su imale najmanji broj potvrđenih slučajeva 0,7 i 0,2 potvrđena slučaja jersinioze na 100.000 stanovnika (EFSA, 2012). Prvi prijavljen slučaj severno-američkog soja *Y. enterocolitica*, biotipa 1B/O:8 je identifikovan u Nemačkoj 2003. godine. Soj je izolovan kod četvorogodišnjeg dečaka koji je zadržan u bolnici zbog karakterističnih simptoma abdominalnog bola, groznice i dijareje. Od ostalih simptoma dečak je pokazivao znake anemije i leukocitoze.

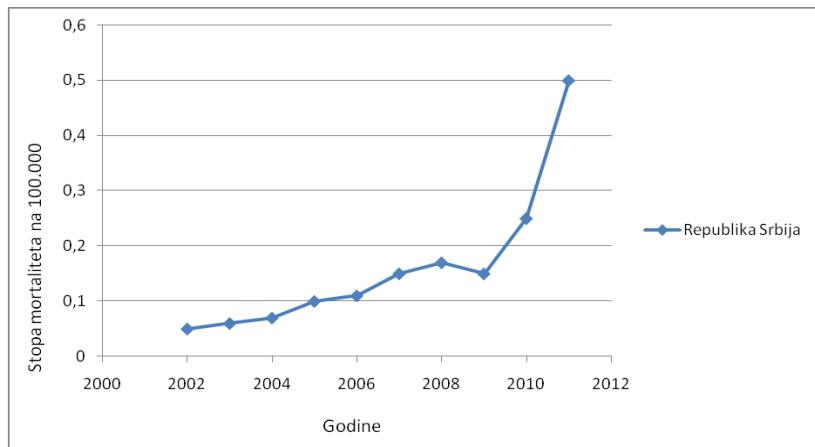
**Tabela 2.4** Broj prijavljenih slučajeva oboljenja ljudi od jersinioze (Nesbakken, 2005)

Zemlja ljudi)	Broj slučajeva	Incidenca (u 100.000
Australija	73 (2000)	0,6
Austrija	94 (1998)	1,2
Belgija	8291 (1994)	8,5
Nemačka	7113 (2001)	8,7
Finska	647 (2003)	12,4
Grčka	10 (1998)	0,1
Japan	4 (2001)	< 0,01
Norveška	862 (2003)	1,9
Španija	425 (1998)	1,1
Švedska	7142 (2003)	8,0
Švajcarska	51 (1998)	0,7
Engleska	27 (2000)	0,05
SAD	87.000 (1997)	33,4
Srbija	22 (2012)	0,30

Prema podacima Instituta za javno zdravlje Srbije u ukupnom broju obolelih od zaraznih bolesti u 2011. godini crevne zarazne bolesti zauzimaju drugo mesto, sa učešćem u strukturi od 3,7%. Stopa incidence crevnih zaraznih bolesti registrovana u 2011. godini najniža je u posmatranom desetogodišnjem periodu (grafikon 2.2). U 2011. godini u Republici Srbiji prijavljeno je 16.770 lica obolelih od crevnih zaraznih bolesti (incidenca 230,00/100.000) i 37 umrlih osoba (mortalitet 0,5/100.000) (grafikon 2.3). U periodu od 2002. do 2011. godine, najveći broj obolelih od crevnih zaraznih bolesti (27.394 sa incidentom 365,35/100.000) u Republici Srbiji registrovan je 2003. godine (grafikon 2.4). U 2006. i 2008. godini registrovana je visoka stopa incidence crevnih zaraznih bolesti na teritoriji Vojvodine.

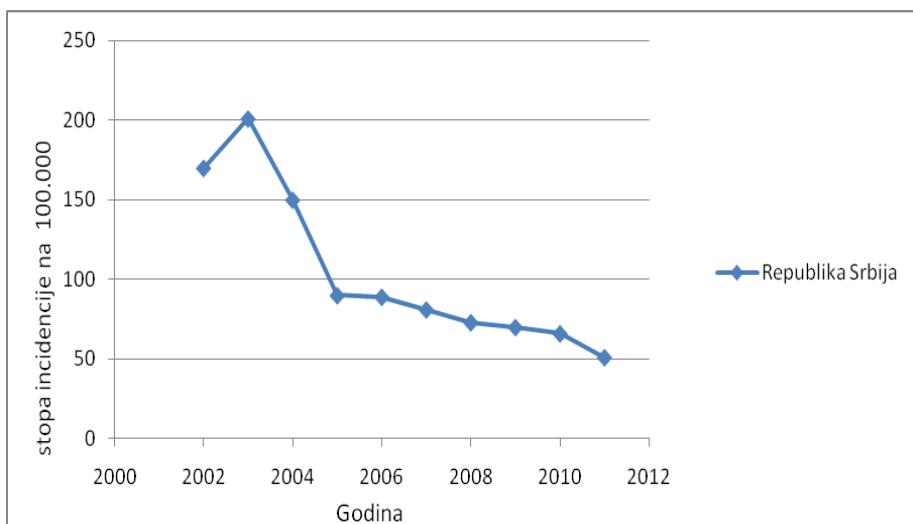


**Grafikon 2.2.** Incidencija pojave crevnih zaraznih bolesti u periodu 2002-2011.



**Grafikon 2.3.** Stopa mortaliteta usled crevnih zaraznih bolesti u periodu 2002-2011.

Najviša uzrasno-specifična incidenca bakterijskih intestinalnih infekcija registrovana je u uzrasnoj grupi od 0 do 4 godine ( $143,98/100.000$ ), a najniža ( $29,63/100.000$ ) u uzrasnoj grupi od 40 do 49 godina. Takođe, u uzrasnoj grupi od 0 do 4 godine godine registrovana je najviša incidenca kod dijareje i gastroenteritisa infektivne prirode ( $438,3/100.000$ ), kod salmoneloza ( $165,62/100.000$ ) i kod šigeloza ( $4,03/100.000$ ). Najviše uzrasno-specifične incidence bakterijskih alimentarnih intoksikacija registrovane su u uzrasnim grupama od 20 do 29 ( $29,45/100.000$ ) i od 15 do 19 godina ( $26,53/100.000$ ).



**Grafikon 2.4.** Incidenca pojave crevnih bakterijskih bolesti u periodu 2002-2011.

Broj obolelih sa simptomima gastroenteritisa i dijareje u periodu 2012. godine iznosio je 8810, sa incidencom 121,37. Najčešće oboljenje koje se dovodi u vezu sa hranom je bila salmoneloza, gde je broj obolelih iznosio 1494, sa incidencom 20,58, za 2012. godinu. Posle salmoneloze, kampilobakterioza je najzastupljenija sa 315 potvrđenih slučajeva u toku 2012. godine, sa incidencom 4,34. Broj potvrđenih slučajeva u periodu 2012. godine obolelih od jersinioze bio je 22, sa incidencom 0,3. Prema ovim statističkim podacima, jersinioza je na trećem mestu u odnosu na sve alimentarne infekcije. Međutim, ovi podaci se odnose samo na obolele i prijavljene slučajeve ali ne treba isključiti činjenicu da je taj broj obolelih znatno veći. Tokom oboljenja veći broj ljudi nije zatražio medicinsku pomoć kod pojave simptoma gastroentritisa, samim tim statistički podaci nisu relevantni i ne pokazuju realno stanje incidence jersinioze u Srbiji.

Ne postoje još uvek relavantni podaci o tome da li su ljudi rezervoari *Yersinia enterocolitica*. Postoji manji procenat onih koji se svrstavaju u asimptomatsku grupu. Međutim, pored ljudi, značajno veći procenat kao rezervoari *Yersinia enterocolitica* predstavljaju životinje. Naime životinje su pre svega, primarni izvori infekcije za ljude. Najveći broj patogene *Yersinia enterocolitica* je izolovan iz krajnika i sa jezika svinja, nešto manji broj iz uzoraka fecesa (Martinez i sar., 2010).

## **2.13 Pakovanje hrane**

Savremen potrošač traži hranu visokog kvaliteta koja je zadržala senzorne karakteristike i nutritivnu vrednost sirovine od koje je proizvedena, i da je uz to i bezbedna po zdravlje. Taj zahtev se u velikoj meri postiže pakovanjem proizvoda u vakuum ili modifikovanu atmosferu. Osim što se na ovaj način zadovoljavaju zahtevi potrošača, i proizvođači su na dobitku – ne samo da uspevaju da zadrže, već su na ovaj način u mogućnosti i da prošire tržište. Pored osnovne funkcije koju pruža, a to je što duže održavanje originalnih svojstava namirnice tokom procesa proizvodnje, distribucije i prodaje, postoje i druge važne funkcije pakovanja hrane. Pakovanjem hrane u različite vrste ambalaže, omogućava se njena zaštita od dejstva bioloških, fizičkih i hemijskih opasnosti, zatim zaštita od oksidacije, obezbeđuje se održavanje originalnih senzornih svojstava hrane tokom čuvanja, odnosno održava se kvalitet namirnica i bezbednost koji su postignuti nekim od procesa konzervisanja. Ambalaža koja se koristi pri pakovanju hrane ima za cilj i da potrošačima pruži informaciju o hrani. Podatke o sastavu, hranljivoj vrednosti, poreklu, datumu proizvodnje i roku upotrebe, kao i da se sa jedinstvenih bar kodova može utvrditi sledljivost upakovane namirnice. Još jedna od funkcija pakovanja hrane je ta što potrošačima olakšava rukovanje namirnicama i nosi sa sobom niz pogodnosti prilikom korišćenja hrane što se odnosi na veličinu pakovanja, lakoću otvaranja i mogućnost ponovnog zatvaranja, odnosno omogućava lakšu manipulaciju hranom (Cutter Katherine, 2002).

### **2.13.1 Istorija pakovanja hrane**

Prema tržišnim pokazateljima, industrija ambalaže je trenutno jedan od najbrže rastućih industrijskih sektora, posebno u prehrani. Danas se unapređuju postojeći i pronalaze novi načini pakovanja hrane, a sve u cilju produženja njene održivosti, zadržavanju originalnih svojstava, poboljšanju kvaliteta i pre svega proizvodnji hrane koja je bezbedna po zdravlje potrošača. Tome doprinose razvoj zakona i regulativa koje u velikoj meri obezbeđuje bezbednost potrošača, što i predstavlja imperativ u proizvodnji hrane.

Kroz istoriju, ljudi su se trudili da razviju sredstva koje će obezbediti zaštitu hrane od dejstva vremena i uticaja okoline. Pakovanje hrane ima duboke korene u ljudskoj istoriji, kroz koju je čovek neprekidno unapređivao procese proizvodnje i prerade hrane. Načini pakovanja hrane su se razvijali kroz vreme i uvek su oslikavali evoluciju tehnologije, društva, nauke, zakona i politike. Rani čovek hranio se hranom koju je sakupljaо na licu mesta i nije postojala potreba za skladištenjem hrane ili njenom daljom distribucijom. Ipak, kako su se ljudske veštine razvijale, čovek je naučio mnogo efikasnije da lovi, a samim tim je ujedno pronašao načine i metode da zaštitи hranu od oštećenja i brzog kvara. U tu svrhu, najpre je koristio prirodne posude koje su bile napravljene od stabla drvećа, kamena, tikvi, školjki, listova, papirusa, grančica, kože životinja i drugih njihovih delova, kao što su rogovi i mokraćna bešika. Postoje podaci i da su se kao posude za čuvanje hrane koristile i ljudske lobanje. Verovatno da je pronalazak i početak upotrebe ovakvih posuda za hranu, doveo do pronalaska posuda od drveta, stakla i keramike, koje su okarakterisale naredni period u ljudskoj istoriji pakovanja hrane. Jedan od prvih i najranijih primera ovog razvoja pojavio se kada je čovek počeo od vinove loze, rogoza i trave da plete korpe. Iako je namena ovih prvih pletenih korpi nije bila konzervisanje hrane, već pre svega, prenošenje hrane sa jednog na drugo mesto, sigurno je da su imale uticaja na održivost namirnica (Kilibarda, N., 2010).

Pronalasci brojnih amfora na Srednjem Istoku, koje datiraju od 8000 godina pre nove ere, svedoče da su narodi na tom području, u to vreme koristili posude kako bi zaštitili hranu od delovanja različitih agenasa. Veruje se da su Stari Egipćani, 3000 godina pre nove ere, poznavali tehnike grnčarenja, kao i da su 2500 godina pre nove ere, Feničani i Sirijci za skladištenje hrane koristili posude od stakla. I dok su svi ovi otkriveni materijali, korišćeni u cilju očuvanja hrane, predstavljali pravu inovaciju i unapređenje u tehnikama koje su doprinisile povećanju održivosti namirnica, oni ipak nisu štitili namirnice od štetnog uticaja insekata, glodara, bakterija, vlage ili vazduha. Nešto kasnije, Egipćani su pronašli način kako da zaštite hranu u posudama od vazduha, koristeći se različitim tehnikama i materijalima koji su im bili dostupni. U tu svrhu upotrebljavali su pčelinji vosak ili katran, med, topljenu mast ili ulje kojima su oblagali hranu u posudama, a takođe, koristili su se zapušaćima napravljenim od tkanine kojima su zatvarali otvore posuda (Kilibarda, N., 2010).

Vlakna celuloze počela su se koristiti 2000 godina pre nove ere, što je predstavljao preteču pravog, komercijalnog papira, koji je prvi put proizведен u Engleskoj, u Bristolu, 1844. godine. Poznato je da su Kinezi koristili listove dudove kore, da bi obmotali hranu, još prvog i drugog veka pre nove ere. Oko 600 godina pre nove ere, pluta je postala dostupna Rimljanim i Grcima, i vrlo je intenzivno, u to vreme, korištena kao zatvarač za posude u kojima se čuvala hrana. Sledećih sedam vekova su obeležili napreci u proizvodnji posuda od drveta, papaira, metala, keramike i stakla što je neizostavno dovelo do unapređenja konzervisanja hrane.

Period nove ere doneo je sa sobom i niz novih otkrića u načinu pakovanja hrane. Oko 1200 godina posle nove ere, proizведен je kalaisani čelični lim koji je kasnije doveo do razvoja fabričke proizvodnje konzervi. Proces zaštite čelika od korozije kalajem razvijen je u Bohemiji (područje centralne Evrope, sadašnje Češke) sa osnovnom namenom da spreči rđanje šlemova. Međutim, ovaj proces bio je strogo čuvana tajna sve do 1600. godine. Zahvaljujući Vojvodi od Saksonije, koji je ukrao tajnu izvođenja ove tehnike, ona je počela da se ravija i u Evropi, a stigavši u Ameriku, tehnika je pretrpela modifikacije, pa je čelik zamenjen gvožđem, što je doprinelo poboljšanju kvaliteta ovog proizvoda.

Narednih godina 19. veka, dolazilo se do saznanja i pronalazaka koji su sve više unapređivali postupke čuvanja hrane. 1864. godine Pasteur je došao do zaključka da su mikroorganizmi odgovorni za kvar hrane, osetljivi na zagrevanje i sterilizaciju parom i da ih ti primenjeni temperaturni režimi mogu inaktivisati.

Tokom ranih godina dvadesetog veka, inovacije u načinu pakovanja hrane su se odnosile na čvrstinu i na fleksibilnost materijala za pakovanje. Prva aluminijumska folija napravljena je desetih godina prošlog veka, dok je dvadesetih godina prošlog veka, upotreba celofana nepropusnog za vlagu, pružila mogućnost da se hrana zaštiti od dejstva vlage i topote. U 1929. godini, White je razvio metod, koji je omogućio stvaranje vakuma u posudama u kojima se drži hrana, uvođenjem kondenzovane vodene pare u prostor ispunjen gasovima, iznad sadržaja hrane upakovane u staklenu ili metalnu ambalažu.

Drugi svetski rat ubrzao je razvoj polietilena, polivinilhlorida (PVC) i polivinilidienhlorida (PVDC). Pedesetih godina, guma i adhezivni materijali su postali široko rasprostranjeni i dostupni. Tih godina, najlon je integriran u filmove za

pakovanje, modifikovane su čelične konzerve u smislu dizajniranja različitih zatvarača, razvijaju se konzerve sa aluminijumskim legurama. Šezdesetih i sedamdesetih godina prošlog veka, najveće unapređenje u pakovanju hrane bio je razvoj plastičnih tegli, boca i filmova napravljenih od polivinila, polietilena, vinilidena, vinil hlorida i najlona. Njihova primena u pakovanju hrane zavisila je od njihovih osnovnih karakteristika (stepen propustljivosti za vlagu, stepen snage rastegljivosti, čvrstina, temperaturna rezistencija). Tih godina, istraživači su proizveli i jestive omotače za hranu od sojinih proteina, hitina, prolamina iz kukuruza, celuloze, proteina mleka i skroba. Dalje pronalaženje najadekvatnijih rešenja u pakovanju hrane nastavlja se osamdesetih godina i rezultiralo je uvođenjem aseptičnih preduslova u proizvodnji, kao i početkom upotrebe fleksibilnih i autoklaviranih konzervi, zatim apsorbenata gasa, kao i polimera rezistentnih na mikro talase (Kilibarda, N., 2010).

Nastanak i vreme pojave kvara proizvoda, odnosno održivost, u velikoj meri zavisi od načina pakovanja gotovog proizvoda. Pakovanje mesa i proizvoda od mesa u vakuumu, odnosno modifikovanoj atmosferi, može u velikoj meri uticati na održivost proizvoda (Cutter Katherine, 2002).

### **2.13.2. Vrste pakovanja hrane**

Kod pakovanja mesa u vakuumu, uklanjanjem vazduha u ambalaži nepropusnoj za kiseonik, stvaraju se anaerobni/mikroaerofilni uslovi. Kiseonik zaostao u ambalaži prelazi u ugljen dioksid zbog respiracije mesnog tkiva i bakterijske aktivnosti. Ovako nastali uslovi suzbijaju rast aerobnih bakterija i omogućuju rast fakultativnih anaeroba. Običnim vakumiranjem produžuje se održivost, ali se namirnica tako isušuju. Zato je pakovanje namirnica u smeši gasova, tj. modifikovanoj atmosferi, vodeća tehnologija pakovanja 21. veka. Tehnologija pakovanja u modifikovnoj atmosferi sastoji se u primeni gasova u cilju održanja kvaliteta od proizvođača do potrošača, odnosno održavanja originalnih svojstava proizvoda (Cutter Katherine, 2002).

Konzervišuće delovanje gasova primenjenih u pakovanju namirnica zasniva se na njihovoj sposobnosti da onemogućavanjem ili usporavanjem razmnožavanja mikroorganizama, utiču na zaustavljanje, odnosno usporavanje procesa razlaganja koje prouzrokuju mikroorganizmi ili fizičko hemijski agensi koji dubinski menjaju proizvod

čineći ga neupotrebljivim za konzumiranje. Da bi se gasovi ispravno upotrebili moraju se dobro poznavati svojstva i uloge zaštitnih gasova ali i priroda i karakteristike proizvoda koji se pakuje, kao na primer: procenat sadržaja vlažnosti, nivo lipida, boja, pH vrednost itd. Pakovanje u modifikovanoj atmosferi uglavnom zahteva primenu mešavine najmanje dva gasa, a njihovi optimalni odnosi variraju u zavisnosti od vrste hrane. Najčešća kombinacija gasova koja se primenjuje kod pakovanja mesa su ugljen dioksid i azot. Kiseonik se može koristiti u smeši gasova s obzirom na činjenicu da njegovo prisustvo utiče na očuvanje prirodne boje (Sivertsvik i sar., 2002).

U današnje vreme koriste se različite tehnike pakovanja hrane, koje se iz godine u godinu stalno unapređuju i rezultiraju pronalaženjem još savršenijih metoda. Prema Odredbi Evropske Unije o materijalima i predmetima koji dolaze u dodir s hranom koja je stupila na snagu 2004. godine (Regulation 1935/2004), dopušteno je uvođenje "aktivne" i "inteligentne" ambalaže (Anon, 2009b).

Pod pojmom "aktivna" ambalaža definiše se materijal koji je konstruisan na način da otpušta aktivne komponente u hranu ili ih apsorbuje iz hrane s ciljem produžavanja roka trajanja ili održavanja ili poboljšavanja uslova pakovanja (Anon, 2009c).

Pod "inteligentnom" ambalažom se podrazumeva materijal koji dolazi u dodir s hranom i koji ujedno ukazuje na stanje upakovane hrane, te daje informaciju o svežini, odnosno kvalitetu proizvoda, a da pri tome nije potrebno otvaranje ambalaže da bi se proverio kvalitet (Lončina i sar., 2013). Tipični primeri "inteligentne" ambalaže sadrže pokazatelje vremena i temperature, a učvršćuju se na površinu ambalaže (Yam i sar., 2009, Kerry i sar., 2008). Na isti način se mogu upotrebiti i pokazatelji prisutnosti kiseonika i ugljen dioksida. Postoje i pokušaji upotrebe pokazatelja razvoja kvara proizvoda koji reaguju sa isparljivim supstancama nastalim u hemijskim, enzimskim ili mikrobnim reakcijama razgradnje (Yam i sar., 2005). Takođe, postoji i mogućnost ispitivanja prisustva i kontrolisanja neželjenih mikroorganizama. Zato sa pravom, ovu vrstu pakovanja hrane, u svetu nazivaju "pakovanje koje oseća i informiše" (McMillin, 2008).

U kategoriji intelligentne ambalaže posebno mesto zauzima "elektronski papir". Radi se o tehnologiji tankog displeja, mikročipa, koji emituju radio signale koji omogućavaju proizvođačima i prodavcima da ih kontinuirano prate dok se kreću od fabričkih hala do prodavnica i naplatnih kasa. Aplikovan na ambalažu, mikročip, sadrži gotovo sve

informacije važne proizvođaču i krajnjem korisniku. To može biti datum proizvodnje, rok trajanja proizvoda, oznake šarže ili proizvodne linije, sastav proizvoda, njegov serijski broj, nutritivna vrednost, način upotrebe, čuvanja itd.. Trenutno problem nije u tehnologiji, već u ceni, koja dostiže i do nekoliko desetina dolara po mikročipu (Dainelli i sar. 2008).

U današnje vreme koriste se različite tehnike pakovanja hrane, koje se iz godine u godinu stalno unapređuju i rezultiraju pronalaženjem još savršenijih metoda. Jedna od najefikasnijih tehnika koja se koristi danas jeste pakovanje hrane u modifikovanoj atmosferi (MAP). Tehnologija pakovanja u modifikovanoj atmosferi sastoji se u primeni gasova prilikom pakovanja različitih proizvoda u cilju održanja kvaliteta od proizvođača do potrošača. Ovakav način pakovanja obezbeđuje da se hrana koja sadrži masti i aromatične materije zaštiti od oksidacije, da se održi svežina namirnica, kao i da se postigne duži rok trajanja (Kilibarda, N., 2010).

#### **2.13.2.1 Pakovanje namirnica u modifikovanoj atmosferi gasova – MAP (*Modified Atmosphere Packaging*)**

Pakovanje životnih namirnica (MAP –Modified Atmosphere Packaging) je poseban tretman već gotovih proizvoda koji štiti od oksidacije namirnice koje sadrže masti i aromatične materije, održava svežinu namirnica, obezbeđuje duži rok trajanja proizvoda bez promene boje. Modifikovana atmosfera predstavlja vodeću tehnologiju očuvanja prehrambenih proizvoda. Tehnologija pakovanja u modifikovanoj atmosferi sastoji se u primeni gasova prilikom pakovanja različitih proizvoda u cilju održanja kvaliteta od proizvođača do potrošača. Pakovanjem životnih namirnica u modifikovanoj atmosferi ostvaruju se sledeće prednosti:

- povećanje veka trajanja upakovanih proizvoda za dva do pet puta, što znači povećanje količine stalno sveže hrane na tržištu
- smanjenje količine proizvoda koji se kvare
- povećanje efikasnosti proizvodnje i distribucije i smanjenje troškova
- povećanje prodaje proizvoda koji zadovoljavaju sve strožije zahteve potrošača za prirodnim očuvanjem kvaliteta hrane, bez aditiva i konzervansa; povećanje ukupne prodaje jer se ovako upakovani proizvodi mogu ponuditi novim tržištima

- jača ambalaža- veća fleksibilnost pakovanja i distribucije
- bolji izgled.

Dobar kvalitet prehrambenih proizvoda je preduslov za opšte zadovoljstvo i potrošača i proizvođača. Sve veći interes za svežim, prirodno očuvanim i kvalitetnim prehrambenim proizvodima koji su što je moguće manje hemijski tretirani nameće proizvođačima zadatku da obrate posebnu pažnju na usavršavanje metoda koje produžavaju trajanje i koje isključuju veštačke aditive i konzervanse. Samo tako će zahtevi potrošača biti ispunjeni, a i proizvođači su na dobitku, ne samo da će uspeti da zadrže, već će biti u prilici i da prošire tržište (Kilibarda, N., 2010).

Svrha pakovanja u modifikovanoj atmosferi je povećanje roka trajanja proizvoda. Delovanje gasova se posmatra u pogledu njihove sposobnosti da onemogućavaju ili usporavaju, utiču na zaustavljanje procesa razgradnje koje prouzrokuju mikroorganizmi ili fizičko hemijski agensi koji dubinski menjaju proizvod čineći ga nepodobnim za konzumiranje. Da bi se gasovi ispravno upotrebili moraju se dobro poznavati svojstva i uloge zaštitnih gasova ali i priroda i karakteristike proizvoda koji se pakuje, kao na primer: procenat sadržaja vlažnosti, nivo lipida, boja, pH vrednosti itd. Svi gasovi koji se koriste u prehrambenoj industriji, nalaze se na pozitivnoj listi aditiva-gasova (FOOD GRADE) čiji se kvalitet proverava i ima deklaraciju po Pravilniku o kvalitetu i drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine za prehrambene proizvode (“Sl. list SCG”, br. 56/2003, 4/2004 – dr. pravilnik, 5/2004 – ispr. i 16/2005), i kao takvi imaju označenu nomenklaturu:

- Azot je inertan gas, nema hemijske interakcije sa supstancama sa kojima dolazi u kontakt. Korišćenje azota omogućava manji efekat skupljanja (sužavanja) prevlake za pakovanje koje nastaje zbog prisustva CO<sub>2</sub> (mada se koriste njihove mešavine); sprečava oksidaciju, užegnuće, razmnožavanje plesni, napade insekata.
- Ugljen dioksid se lako rastvara u tečnosti i mastima proizvoda. Usporava razvoj mikroorganizama, bakterija i pojavi plesni i na taj način povećava konzervaciju (rok trajanja) namirnica. Bakteriostatski efekat CO<sub>2</sub> optimalan je na temperaturama nižim od 5 °C. Efekat CO<sub>2</sub> na rast bakterija je kompleksan, a četiri mehanizma uticaja CO<sub>2</sub> na mikroorganizme su identifikovana:

- Promena funkcije ćelijske membrane, uključujući efekat na procese apsorpcije i transporta nutritijenata.
- Direktna inhibicija enzima ili smanjenje stepena enzimskih reakcija.
- Penetracija kroz bakterijsku membranu što dovodi do promena u intraćelijskoj pH vrednosti.
- Direktne promene na fizičko-hemijskim osobinama proteina.  
Najverovatnije je da kombinacija svih mehanizama obezbeđuje bakteriostatski efekat.
- Kiseonik je generalno nepoželjan prilikom pakovanja i cilj je da se u pakovanju svede na minimum. Odgovoran je za razvoj aerobne mikroflore i za oksidaciju nekih hranljivih sastojaka (vitamini, lipidi) što dovodi do gubljenja hranljive vrednosti i promene boje kao i pojave neprijatnih mirisa. Međutim, njegovo prisustvo je neophodno da bi se očuvala crvena boja mesa, određeni vitalni mikroorganizmi (tipično za mlečne proizvode) i sprečio rast anaerobnih mikroorganizama. MAP u principu ima za cilj da eliminiše ili umanji nivo kiseonika (osim u posebnim slučajevima, kao što je pakovanje crvenog mesa, ili da se spriči razvoj anaerobnih bakterija) i da poveća koncentraciju CO<sub>2</sub> do 20% ili više, da bi onemogućili razvoj bakterija i plesni. Ukoliko je potrebno, ravnoteža modifikovane atmosfere uspostavlja se azotom, npr. ukoliko ugljen dioksid ima tendenciju da se rastvori u proizvodu, dovodeći tako do oštećenja na pakovanju. MAP uglavnom zahteva mešavinu najmanje dva gasa, a optimalne proporcije variraju u zavisnosti od proizvoda. Svaki od gasova u smeši zadržava svoje osobine, na osnovu kojih je i primenjen za MAP.

Sveže meso i mesne prerađevine izloženi ambijentnom vazduhu daju odličnu podlogu za razvoj većine bakterija. Kvar počinje odmah, a ako su prisutni i drugi činioci koji favorizuju njihov rast, npr. visoka temperatura, gotovo je sigurno da će proizvod već posle par sati biti neupotrebljiv. Običnim vakuumiranjem može se produžiti vek trajanja mesa ali se namirnica tako isušuje, a ukoliko se pakuju komadi mesa, prilepljuju se jedan uz drugi. Kod MAP-a nema takvih problema. Od posebnog interesa kod pakovanja mesa i mesnih prerađevina je ugljen dioksid, kao nezaobilazan zaštitni gas. Kiseonik daje svežem mesu lepu, crvenu boju. Azot je naročito pogodan za termički

obrađena mesa, tj. mesne prerađevine (Radetić i sar., 2007). MAP kao nenadmašiva tehnologija pakovanja u XXI veku našao je svoju primenu kod skoro svih relevantnih životnih namirnica. Iako je MAP dosta usavršavan decenijama unazad, ne odustaje se od novih istraživanja i eksperimenata sa atmosferama.

Materijali za pakovanje su od odlučujuće važnosti za kvalitet hrane i vek trajanja. Kombinacija različitih plastičnih materijala (PET, APET, HDPE, PP, PVC, CPET, EVA) se bira tako da se postigne:

- mehanička jačina - granica za vodenu paru (da bi se sprečio gubitak težine i dehydratације)
- gasna barijera
- propustljivost gasa
- osobine protiv maglenja
- karakteristike zaptivenosti.

Mašine za pakovanje, bez obzira na vrstu, imaju utvrđeni red operacija prilikom pakovanja:

1. pravi se paket i puni se proizvodom
2. vazduh u paketu se zamenjuje modifikovanom atmosferom
3. paket se zaptiva.

Prilikom zamene vazduha u paketu modifikovanom atmosferom, uobičajena praksa je da se prvo vrši stalno ispiranje MAP – gasom (smešom) kojim se vazduh “razblažuje” dok se potpuno ne istisne. Tek tada se paket hermetički zatvara. Brzina pakovanja je velika jer je ovakav način razblaživanja kontinualan. U vakumskom procesu, vazduh se vadi iz paketa i u dobijeni vakum se unosi željena gasna smeša. Kako je ovo dvostepeni proces brzina pakovanja je manja nego kod metoda ispiranja gasom. Efikasnost ovog procesa u odnosu na količinu zaostalog kiseonika je bolja od one kod slučaja ispiranja gasom. Glavni tipovi mašina za pakovanje:

1. mašina za pakovanje sa horizontalnim tokom (horizontal flow-pack) za pekarske proizvode, pice, sir i kobasice;
2. mašina za pakovanje sa vertikalnim tokom (vertical flow-pack) za kafu, začine, šećer u prahu, kikiriki, pistaće, bademe;
3. mašina sa dubokim izvlačenjem (deepdrawing machine) pogodna za viršle, meso, gotova jela;

4. mašina za zaptivanje kutija, kesa u kutiji prilagođena za velike pakete mesa (piletina, viršle);
5. mašina sa vakuumskom komorom za male proizvodne kapacitete proizvoda koji imaju malu cenu (Kilibarda, N., 2010).

Nedostatak MAP-a je u tome što je relativno skup proces, skuplji dva puta od vakuum pakovanja. Ujedno je i masivniji od ostalih pakovanja, što poskupljuje rukovanje, transport i skladištenje. Zidovi pakovanja mogu kolabirati, zbog visokog sadržaja CO<sub>2</sub>, koji se rastvara u tkivu. To se izbegava pravilnom primenom gasova (Conte- Junior i sar., 2010). Ono što je bitno jeste da se moraju držati pri niskim temperaturama, u suprotnom, svi pozitivni efekti neće biti ostvarljivi.

#### **2.13.2.2 Pakovanje hrane u vakuumu**

Veliki broj prehrabrenih proizvoda potrebno je čuvati od uticaja kiseonika tokom skladištenja, što se može postići eliminacijom vazduha iz ambalažne jedinice. Pakovanje mesa pod vakuumom je alternativa pakovanju svežeg mesa, pogodna za čuvanje proizvoda i do tri nedelje. Kod pakovanja vakuumom, uklanjanjem vazduha u ambalaži nepropusnoj za kiseonik, stvaraju se anaerobni/mikroaerofilni ekosistemi. Kiseonik zaostao u ambalaži prelazi u ugljen dioksid zbog respiracije mesnog tkiva i bakterijske aktivnosti. Stvoreni anaerobni uslovi i inhibirajući učinak CO<sub>2</sub> suzbijaju rast bakterija *Pseudomonas* i *Achromobacter* vrste i omogućuju rast fakultativnih anaeroba poput *Lactobacillus* i *Leuconostoc* vrsta (Vereš, 2004). Pogodan ambalažni materijal u tom slučaju je i poli-viniliden-hlorid (PVDC), koji osigurava nisku propusnost kiseonika i prijanja uz sami proizvod tako da se i veliki komadi mesa mogu očuvati sveži i do 21 dan, uz minimalni gubitak vlage. Takođe, koriste se i laminati kao što su: celofan/polietilen, poliester/polietilen ili poliamid/polietilen niske gustoće (Mullan, 2002).

Uzroci nastanka kvara mesa su rast i razmnožavanje mikroorganizama kvara, oksidacija lipida i/ili oksidacija mioglobina, usled kojih dolazi do stvaranja neprijatnog mirisa i ukusa, gasova, produkcije sluzi ili promene boje mesa. Kritičan faktor pri određivanju dužine održivosti svežeg mesa je inicijalna bakterijska kontaminacija neposredno nakon klanja (Baltić T. i sar., 2012).

Vakuum pakovanje je način pakovanja kojim se uklanja vazduh, odnosno kiseonik, iz pakovanja pre njegovog zatvaranja. Da bi se izbeglo zaostajanje vazduha u ambalaži preporučuje se upotreba termoskupljajućih barijernih folija. Uspešnost pakovanja u vakuumu zavisi od početnog mikrobiološkog i tehnološkog kvaliteta proizvoda, kao i od primene adekvatnih temperatura skladištenja. Takođe, ambalažni materijal treba da ima dobre fizičko-mehaničke i barijerne karakteristike, uz pravilno, hermetično formiranje i zatvaranje ambalaže (Robertson, 2006; Šakota i sar., 2002). Preživljavanje i rast mikroorganizama kvara, u velikoj meri, zavise od sastava gasova u pakovanju (Doulgeraki i sar., 2012). Vakuum pakovanje povoljno utiče na senzorna svojstva mesa: sočnost, mekoću, ukus, kao i zrenje mesa. Vakuum pakovanje se smatra nepodobnim za crvena mesa namenjena maloprodaji, jer u atmosferi sa smanjenim sadržajem kiseonika, nastaje deoksimioglobin usled čega meso dobija plavo-ljubičastu boju i postaje neprihvativljivo za potrošača.

### **2.13.3 Upotreba nanotehnologije u pakovanju hrane**

Aktivni sistemi antimikrobnog pakovanja hrane pored zaštite hrane od spoljašnjih uticaja, treba da spreče i uspore rast mikroorganizama, a na taj način i da produže rok upotrebe takve hrane (Silvestre i sar., 2011). Konvencionalni način pakovanja hrane su napravljeni tako da spreče uticaj okruženja na samu hranu. Danas je sve češća upotreba nanotehnologije i nanočestica u pakovanju hrane, sa ciljem da se hrana što duži vremenski period može čuvati (Baltić i sar., 2013b; Gordon i sar., 2011; Fernandez i sar., 2010a, 2010b;). Kao najčešće nanočestice danas se koristi srebro (Nassar i sar., 2012; Mauricio- Iglesias i sar., 2010; Oskam i sar., 2006).

#### **2.13.3.1 Nanočestice srebra (AgNPs)**

Poznato je da srebro ima antimikrobnu aktivnost, tako što inhibira rast i razmnožavanje velikog broja Gram- negativnih i Gram- pozitivnih bakterija, gljivica, protozoa pa čak i nekih virusa (Lee i sar., 2010; Jin i sar., 2009; Kumar i sar., 2005). Takođe, upotreba srebra u tehnologiji hrane je davno poznata jer srebro ima uticaj na stabilnost temperature (Jing i sar., 2011; Kim i sar., 2010; Kumar i Munstedt, 2005).

Korišćenje srebra kao nanočestice, u nanotehnologiji je danas široko prihvaćeno (Azaredo, 2013; Fernandez i sar., 2009; Murugadoss i sar., 2008). Zahvaljujući tome što nanočestice srebra (AgNPs) imaju veliku površinu, poseduju znatno veću sposobnost da vezu mikroorganizme za sebe nego veći molekuli srebra (Li i sar., 2011; Abdel i sar., 2006). Naime, navedeni autori su istraživali efikasnost poliamid 6- srebra (PA6/Ag) koji sadrži 1,9% srebra i PA6/AgNP koji sadrži 0,06% srebra. Obe čestice su inkubirane sa *E. coli* na sobnoj temperaturi tokom 24h. Poliamid 6- srebro koji je sadržao 1,9% srebra imao je antimikrobni efekat na oko 80% bakterijskih ćelija, dok je PA6-AgNP u potpunosti eliminisao bakterijske ćelije. Ovo se može objasniti malom veličinom nanočestica, koje lako ulaze u ćeliju i dovode do citopatogenog efekta (Jovanović i sar., 2012).

Antibakterijski efekat srebra nije još uvek dovoljno razmotren ali se većina autora slaže da su tri načina najčešća:

- Postepeno otpuštanje jona srebra ima za posledicu inhibiciju proizvodnje ATP i replikacije DNK;
- Oštećenje ćelijske membrane bakterija od strane jona srebra;
- Nastanak reaktivnog kiseonika od strane AgNPs.

Rezultati istraživanja Kumar i Munstedt (2005) prikazuju da antibakterijska efikasnost AgNPs direktno zavisi od sposobnosti nanočestica da oslobodi jone srebra. Joni srebra imaju sposobnost vezivanja za biološke molekule, kao što su fosfati i amini, koji poseduju sumpor, kiseonik i azot (Kumar i Munstedt, 2005). Fabian i sar. (2008) navode da interakcija između jona srebra i amina koji ulaze u sastav nekih proteina ima za posledicu inaktivaciju određenih bakterijskih enzima. Usled denaturacije ovih proteina od strane jona srebra, DNK molekuli bakterija nemaju sposobnost umnožavanja, što dovodi do smrti bakterijske ćelije.

Upotreba nanočestica srebra u tehnologiji pakovanja hrane danas je široko primenjena, zbog sposobnosti srebra da ispolji antibakterijski efekat (Kitajima i sar., 2008). Veliki broj studija je rađen u cilju dokazivanja antibakterijskog dejstva nanočestica srebra. Fayaz, Balaji, Girilal, Kalaichelvant i Venkatesan (2009) su istraživali uticaj nanočestica srebra na *E. coli*, *S. aureus* kao najčešće bakterije koje se mogu izolovati iz hrane. Navedeni autori su koristili bio-film u koji su bile nanete čestice srebra, a zatim

su merili zonu inhibicije, nakon 24h inkubacije na 37 °C. Usled prisustva čestica srebra *E. coli* i *S. aureus* nisu rasli.

### **2.13.3.2 Nanočestice oksida metala**

Pored nanočestica srebra, danas se u pakovanju hrane koriste nanočestice oksida metala najčešće titanium dikosid. Ove nanočestice pokazuju posebanu antibakterijsku aktivnost za *E. coli* (Jing i sar., 2011). Jani i sar. (1994) su dokazali antibakterijski efekat nanočestica cink-oksida (ZnO) na *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* i *E. coli* O157:H7. Čestice cink- oksida ulaze u patogenu bakterijski ćeliju i dovode do njenog razaranja (Keawchaoon i sar., 2011; Li i sar., 2010). Borm i saradnici (2006) su dokazivani antibakterijski efekat magnezijum oksida (MgO) na ćelije *E. coli* i *Bacillus sp.*, gde je liza bakterijskih ćelija bila izazvana velikom koncentracijom superoksida koji je nastao tokom reakcije između magnezijum oksida i karbonilnih grupa unutar bakterijske ćelije.

Pored svih prednosti koje su dokazane u pogledu mikrobiološkog aspekta, kod pakovanja hrane upotrebom nanočestica postavlja se pitanje bezbednosti hrane koja je upakovana na ovakav način (Azeredo, 2013; Lewinski i sar., 2008; Borm i sar., 2006; Hoet i sar., 2004). Poznato je da su teški metali štetni za ljudski organizam, pa se kod potrošača javlja zabrinutost u pogledu bezbednosti upotrebe hrane koja je zapakovana po nanotehnologiji (Bouwmeester i sar., 2009). Upotreba nanočestica u pakovanju hrane može dovesti do širenja nanočestica u životnu sredinu. Takođe su rađene mnogobrojne toksikološke analize u cilju dokazivanja interakcija između samih nanočestica i hrane (Hunt i sar., 2006; Geiser i sar., 2005). Međutim ovi podaci su u stručnoj literaturi veoma mali. Lam i saradnici (2004) navode da je interakcija između hrane i nanočestica neophodna da bi nanočestice ispoljile antibakterijski efekat. U istraživanju koje su radili Poland i saradnici (2008) dokazano je prisustvo nanočestica u upakovanoj hrani, pri čemu je promer tih čestica bio ispod 1nm. Takođe, mali je broj istraživanja rađen o načinu prenose nanočestica kroz organizam i njihovu interakciju sa tkivima. Nanočestice srebra i ugljenika mogu da prodrnu u cirkulaciju iz digestivnog trakta (Fabian i sar., 2008; Gurr i sar., 2005). Prelazak iz hrane i digestivnog trakta je usko povezan sa fizičko-hemijском osobinama i veličinama same nanočestice (Kim i sar.,

2008; Wang i sar., 2007; Rahman i sar., 2002). Nakon prelaska u cirkulaciju, nanočestice bivaju deponovane u jetri i slezini. Opasnost od nanočestica je posebno izražena kada su nanočestice hidrofilne i kada na svoju površinu mogu vezati druge molekule (Carrero- Sanchez i sar., 2006; Mills i sar., 2006). Ovo se posebno odnosi na organe kao što su mozak i testisi. Takođe postoji mogućnost prelaska u krvotok fetusa. Zbog svega navedenog, zabrinutost potrošača o ovakom načinu pakovanja nije bezazlena (Poland i sar., 2008; Helland i sar., 2007; Lam i sar., 2004).

Kako upotreba nanotehnologije dobija na sve većem značaju, bezbednost potrošača i kvalitet proizvoda koji se pakuje sa nanočesticama nisu u dovoljnoj meri istraženi (Mroz i sar., 2008; Wiesner i sar., 2007; Nel i sar., 2006; Powers i sar., 2006). Iz tog razloga nanotehnologija i nanočestice nisu još uvek prihvaćeni kao standardizovane metode u pakovanju hrane.

### **3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA**

Bolesti prenosive hranom zauzimaju značajno mesto sa aspekta zdravlja potrošača. Veliki broj mikroorganizama može biti prouzrokovac različitih alimentarnih infekcija, koje mogu imati veliki uticaj na zdravlje ljudi. Jersinioza ljudi je oboljenje koje ima značaj u pogledu konzumiranja svinjskog mesa, jer je svinjsko meso u većini slučajeva izvor infekcije, kako ljudi tako i dece. Pakovanje mesa u cilju dobijanja bezbednog proizvoda svakako ima svoje prednosti. Kako se poslednjih godina, kao odgovor na sve zahtevnije potrebe potrošača, industrija pakovanja hrane značajno razvija, tako se sve više sredstava i napora ulaže u cilju unapređenja postojećih načina, kao i pronalasku, novih, savremenijih rešenja za pakovanja hrane. Zbog toga je stručno i naučno opravdano, što je cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije, ispitivanje uticaja različitih pakovanja (u vakuumu i modifikovanoj atmosferi) na rast i razmnožavanje *Yersinia enterocolitica*. Takođe, istraživanja u okviru ove disertacije imaju za cilj da pokažu uticaj pakovanja mlevenog svinjskog mesa u modifikovanoj atmosferi, odnosno pakovanje u vakuumu, na opstanak i rast *Yersinia enterocolitica*, sa aspekta bezbednosti.

Shodno cilju istraživanja postavljeni su zadaci da se u oglednim uzorcima mlevenog svinjskog mesa pakovanog u vakuumu (grupa OI), modifikovanu atmosferu MAP 1 (grupa OII) gde je odnos gasova 20%O<sub>2</sub>, 50%CO<sub>2</sub>, 30%N<sub>2</sub> i modifikovanu atmosferu 2 (grupa OIII) gde je odnos gasova 20%O<sub>2</sub>, 30%CO<sub>2</sub>, 50%N<sub>2</sub>, kao i u kontrolnim grupama pakovanih u vakuum (KI grupa), modifikovanu atmosferu 1 (KII grupa) i modifikovanu atmosferu 2 (KIII grupa):

1. ispita sadržaj vode, masti, proteina, pepela u mlevenom svinjskom mesu;
2. u toku dvanaest dana skladištenja (nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog), pri temperaturi 4 °C prate promene:
  - ukupnog broja *Yersinia enterocolitica*
  - ukupnog broja bakterija,
  - ukupnog broja enterobakterija,
  - ukupnog broja laktobacila,

### Cilj i zadaci istraživanja

3. u toku dvanaest dana skladištenja mlevenog svinjskog mesa, pri temperaturi 4 °C (nultog, trećeg, šestog, devetog i dvanaestog dana) prate promene vrednost sadržaja ukupno isparljivog azota;
4. ispita pH vrednost mlevenog svinjskog mesa u toku dvanaest dana skladištenja, pri temperaturi 4 °C (nultog, trećeg, šestog, devetog i dvanaestog dana);
5. prate promene senzornih osobina, u toku dvanaest dana skladištenja, pri 4 °C (nultog, trećeg, šestog, devetog i dvanaestog dana) u mlevenom svinjskom mesu.

## **4. MATERIJAL I METODE**

### **4.1. Materijal**

Sirovo mleveno meso svinja preuzeto je iz lokalne klanice i savlemoeno na mašini za mlevenja mesa promer otvora na ploči 4 mm. Celokupna masa sirovog mlevenog mesa (5 kg) je bila podeljena na dva dela. Polovina mase (2,5 kg) je kontaminirana sa 40 ml inokuluma koji sadrži kulturu *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610 ( $8\text{-}9 \log^{10}$  CFU/ml). Druga polovina (2,5 kg) sirovog mlevenog mesa je ispitivana kao kontrola, bez kontaminacije *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610 sojem. Ovako pripremljeno mleveno svinjsko meso je pakovano u vakuum pakovanje (prva grupa), modifikovanu atmosferu 1 (druga grupa) i modifikovanu atmosferu 2 (treća grupa).

Mleveno meso je zapakovano u vakuum pakovanje i modifikovanu atmosferu. Mleveno meso je zatim pakovano u dve različite atmosfere gde je u prvoj odnos gasova iznosio 20% O<sub>2</sub>, 50% CO<sub>2</sub> i 30% N<sub>2</sub> (MAP 1), a u drugom pakovanju odnos gasova je bio 20% O<sub>2</sub>, 30%CO<sub>2</sub> i N<sub>2</sub> (MAP 2). Za pakovanje uzoraka upotrebljena je mašina za pakovanje „Variovac“ (Variovac Primus, Zarrentin, Nemačka). Kao materijal za pakovanje korišćena je folija OPA/EVOH/PE (orijentisani poliamid/etilen vinil alkohol/polietilen, Dynopack, Polimoon, Kristiansand, Norveška) sa niskom propustljivošću za gas (stepen propustljivosti za O<sub>2</sub> – 3,2 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/dan pri 23 °C; za N<sub>2</sub> – 1 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/dan pri 23 °C; za CO<sub>2</sub> – 14 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/dan pri 23 °C i za vodenu paru 15 g/m<sup>2</sup>/dan pri 38 °C).

Svaki uzorak, kontaminiran i nekontaminiran je zapakovan na isti način. Meso je pakovano u lokalnom objektu koji se bavi ovom delatnošću. Masa svakog pakovanja je iznosila 100 g. Nakon pakovanja uzoreci su čuvani tokom dvanaest dana, pri temperaturi frižidera od 4±1 °C.

Tokom skladištenja izvršene su mikrobiološke analize, ispitivani pojedini hemijski i fizički parametri kao i promena senzornih osobina svinjskog mesa.

### **4.2. Metode**

U eksperimentalnom delu ove doktorske disertacije korišćene su:

- Mikrobiološke analize
- Fizičke i fizičko-hemijske analize
- Senzorne analize

#### **4.2.1 Mikrobiološke metode**

Mikrobiološke metode su podrazumevala ispitivanje:

1. Određivanje prisustva *Yersinia enterocolitica* prema BS EN ISO 10273:2003, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za otkrivanje *Yersinia enterocolitica*.
2. Ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija prema SRPS EN ISO 4833: 2008, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama - Tehnika brojanja kolonija na 30 °C;
3. Ukupnog broj bakterija iz familije *Enterobacteriaceae* prema SRPS ISO 21528-2:2009, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Enterobacteriaceae* - Deo 2: Metoda brojanja kolonija;
4. Bakterija mlečne kiseline prema metodi ISO 15214:1998 (MRS, Merck);

Sva mikrobiološka ispitivanja su rađena u laboratoriji Katedre za higijenu i tehnologiju namirnica, Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu.

#### **4.2.2 Hemijska i fizičko-hemijska ispitivanja**

Za ispitivanje osnovnog hemijskog sastava korištene su sledeće metode:

1. Za određivanje sadržaja- određivanje gubitka mase pri sušenju homogenizovanog uzorka pri  $105\pm1$  °C do konstantne mase ( JUS ISO 1442)
2. Za određivanje sadržaja masti- metoda po Soxhletu, ekstrakcijom masti iz osušenog uzorka petrol etrom, destilacijom i sušenjem pri  $105\pm1$  °C do konstantne mase (JUS ISO 1443 )
3. Za određivanje sadržaja proteina- metoda po Kjeldalh-u primenom uređaja firme Tecator" (JUS ISO 937)
4. Za određivanje pepela- sagorevanje uzorka pri 550 °C do konstantne mase (JUS ISO 936)
5. Za određivanje količine ukupnog isparljivog azota koristiće se reakcija titracije sa hidrochlornom kiselinom uz prisustvo 3 % borne kiseline i indikatora metil crvenog i metilen plavog (Goulas i Kontominas, 2005), Food Chemistry, 93,3, 511-520.

6. Za određivanje vrednosti pH uzoraka mlevenog svinjskog mesa korišćena je direktna metoda ubodnim pH- metrom Testo 150 (Testo, Nemačka), prema uputstvu proizvođača.

#### **4.2.3 Senzorna ocena**

Senzorna ocena uzoraka sirovog mlevenog svinjskog mesa podrazumevala je sledeće metode :

1. Izbor, obuka i trening ocenjivača - ISO 8586-2:2008
2. Kvantitativna deskriptivna analiza (Ocena prihvatljivosti- intenziteta mirisa rađeni su na strukturnoj skali intenziteta/ prihvatljivost sa sedam tačaka, pri čemu ocena 7 označava maksimalan intenzitet/prihvatljivost, a ocena manja od 3,5 neprihvatljiv proizvod) – ISO 6564:1985.

#### **4.2.4 Statistička analiza**

Kao osnovne statističke metode korišćeni su deskriptivni statistički parametri. Deskriptivni statistički parametri, odnosno aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna greška, minimalna, maksimalna vrednost i koeficijent varijacije, omogućavaju opisivanje eksperimentalnih rezultata i njihovo tumačenje. Za testiranje i utvrđivanje statistički značajnih razlika između ispitivanih grupa korišćena su dva testa. Za ispitivanje značajnosti razlika između srednjih vrednosti dve ispitivane grupe je korišćen t-test. Za ispitivanje signifikantnih razlika između tri i više posmatranih tretmana korišćen je grupni test, ANOVA, a zatim pojedinačnim Tukey testom za ispitivanje statistički značajne razlike između tretmana. Signifikantnost razlika je utvrđena na nivoima značajnosti od 5% i 1%. Svi dobijeni rezultati su prikazani tabelarno i grafički. Statistička analiza dobijenih rezultata je urađena u statističkom paketu PrismaPad 5.00.

## 5. REZULTATI ISPITIVANJA

Rezultati ispitivanja, shodno postavljenim zadacima, podeljeni su u četiri celine. Prva celina se odnosi na osnovni hemijski sastav svinjskog mesa, druga na mikrobiološki status, treća na promene sadržaja ukupnog isparljivog azota i pH vrednosti u svinjskom mesu, a četvrta na ocenu prihvatljivosti mirisa mesa svinja.

### 5.1 OSNOVNI HEMIJSKI SASTAV SVINJSKOG MESA

Rezultati ispitivanja osnovnog hemijskog sastava svinjskog mesa, kao sirovine, odnose se na određivanje sadržaja proteina, masti, vode i pepela pre pakovanja.

#### 5.1.1 Hemijski sastav svinjskog mesa pre pakovanja

Osnovni hemijski sastav svinjskog mesa na početku skladištenja, pre pakovanja u vakuum i modifikovanu atmosferu, prikazan je u tabeli 5.1.

**Tabela 5.1.** Osnovni hemijski sastav svinjskog mesa na početku skladištenja

Hemijski sastav	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Voda	70,31	0,22	0,09	70,63	70,10			0,32
Proteini	18,68	0,32	0,13	19,11	18,35			1,72
Mast	10,06	0,22	0,09	10,29	9,77			2,24
Pepeo	1,01	0,03	0,013	1,05	0,97			3,16

Pre pakovanja uzorka svinjskog mesa, prosečan sadržaj vode u svinjskom mesu bio je  $70,31 \pm 0,22$ , prosečan sadržaj proteina je bio  $18 \pm 0,32$ , prosečan sadržaj masti bio je  $10,06 \pm 0,22$  i prosečan sadržaj pepela  $1,01 \pm 0,01$ .

## 5.2 MIKROBIOLOŠKI STATUS MLEVENOG SVINJSKOG MESA

Rezultati mikrobioloških ispitivanja odnose se na utvrđivanje broja *Yersinia enterocolitica*, ukupnog broja bakterija, ukupnog broja enterobakterija i broja bakterija mlečne kiseline.

### 5.2.1. Ispitivanje promene broja bakterija *Yersinia enterocolitica* u uzorcima mlevenog svinjskog mesa tokom skladištenja

Rezultati ispitivanja promene prosečnog broja bakterija *Yersinia enterocolitica* u mlevenom svinjskom mesu tokom dvanaest dana skladištenja prikazani su u tabelama 5.2 i 5.3.

**Tabela 5.2.** Promena prosečnog broja *Yersinia enterocolitica* u oglednim uzorcima svinjskog mesa u toku skladištenja (log CFU/g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
OI	$6,34 \pm 0,21$	$6,52^{AB} \pm 0,05$	$6,67^A \pm 0,04$	$6,81^{AB} \pm 0,04$	$7,56^{Aa} \pm 0,06$
OII	$6,34 \pm 0,21$	$6,11^{AC} \pm 0,05$	$6,64^B \pm 0,05$	$6,61^{AC} \pm 0,07$	$7,32^{AB} \pm 0,07$
OIII	$6,34 \pm 0,21$	$5,81^{BC} \pm 0,04$	$7,10^{AB} \pm 0,03$	$7,67^{BC} \pm 0,05$	$7,47^{aB} \pm 0,04$

Napomena: Ista slova A, B, C-  $p < 0,01$ ; Isto slovo a-  $p < 0,05$

Napomena: Tabele 5.2. do 5.21

OI- Ogledni (kontaminiran) uzorak pakovan u vakuum

OII- Ogledni uzorak pakovan u MAP 1

OIII- Ogledni uzorak pakovan u MAP 2

KI- Kontrolni uzorak pakovan u vakuum

KII- Kontrolni uzorak pakovan u MAP 1

KIII- Kontrolni uzorak pakovan u MAP 2

U uzorcima mlevenog mesa pre inikulacije nije utvrđeno prisustvo *Yersinia enterocolitica*. Nultog dana, pre pakovanja, prosečan broj *Yersinia enterocolitica* u oglednim uzorcima bio je  $6,34 \pm 0,21$  log CFU/g. Trećeg dana skladištenja prosečan broj

*Yersinia enterocolitica* kretao se od  $5,81 \pm 0,04$  log CFU/g (OIII grupa) do  $6,52 \pm 0,05$  log CFU/g (OI grupa). Između prosečnog broja bakterija *Yersinia enterocolitica* poređenih grupa uzoraka utvrđena je statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ).

Prosečan broj bakterija *Yersinia enterocolitica* u uzorcima mlevenog mesa OIII grupe, šestog dana skladištenja, ( $7,10 \pm 0,03$  log CFU/g) bio je statistički značajno veći od prosečnog broja bakterija *Yersinia enterocolitica* uzoraka mlevenog mesa OII grupe ( $6,64 \pm 0,05$  log CFU/g) odnosno prosečnog broja bakterija *Yersinia enterocolitica* uzoraka mlevenog mesa OI grupe ( $6,67 \pm 0,04$  log CFU/g). Između prosečnog broja bakterija *Yersinia enterocolitica* OII i OI grupe mlevenog mesa nije utvrđena statistički značajna razlika.

Devetog dana skladištenja prosečan broj *Yersinia enterocolitica*, kretao se od  $6,61 \pm 0,07$  log CFU/g (OII grupe) do  $7,67 \pm 0,05$  (OIII grupe). Utvrđena je statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ) između prosečnih brojeva *Yersinia enterocolitica* poređenih grupa uzoraka. Prosečan broj bakterija *Yersinia enterocolitica* OII grupe uzoraka mlevenog mesa ( $7,32 \pm 0,07$  log CFU/g), dvanaestog dana skladištenja, bio je statistički značajno manji ( $p < 0,01$ ) od prosečnog broja *Yersinia enterocolitica* u uzorcima mlevenog mesa OI grupe ( $7,56 \pm 0,06$  log CFU/g) odnosno u uzorcima OIII grupe ( $7,47 \pm 0,04$  log CFU/g). Utvrđeno je da je prosečan broj bakterija *Yersinia enterocolitica* uzoraka OI grupe bio je statistički značajno veći ( $p < 0,05$ ) od prosečnog broja bakterija *Yersinia enterocolitica* uzoraka OIII grupe.

Prosečan broj bakterija *Yersinia enterocolitica* rastao je od nultog do dvanaestog dana kod OI grupe od  $6,34 \pm 0,21$  log CFU/g do  $7,56 \pm 0,06$  log CFU/g, kod OII grupe  $6,34 \pm 0,21$  log CFU/g do  $7,32 \pm 0,07$  log CFU/g i kod OIII grupe od  $6,34 \pm 0,21$  log CFU/g do  $7,47 \pm 0,04$  log CFU/g (tabela 5.3). Između poređenih dana ispitivanja kod sve tri grupe uzoraka u većini slučajeva između prosečnih brojeva *Yersinia enterocolitica* utvrđena je statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ ) (tabela 5.3).

**Tabela 5.3.** Statistička značajnost razlika broja *Yersinia enterocolitica* u mesu svinja između dana skladištenja

Dani ispitivanja	Grupa		
	OI	OII	OIII
	( $\bar{X} \pm Sd$ )		
0	6,34 <sup>aABC</sup> $\pm 0,21$	6,34 <sup>aABC</sup> $\pm 0,21$	6,34 <sup>ABCD</sup> $\pm 0,21$
3	6,52 <sup>aDE</sup> $\pm 0,05$	6,11 <sup>aDEF</sup> $\pm 0,05$	5,81 <sup>AEFG</sup> $\pm 0,04$
6	6,67 <sup>AF</sup> $\pm 0,04$	6,64 <sup>ADG</sup> $\pm 0,05$	7,10 <sup>BEHI</sup> $\pm 0,03$
9	6,81 <sup>BDC</sup> $\pm 0,04$	6,61 <sup>BEH</sup> $\pm 0,07$	7,67 <sup>CFH<sup>a</sup></sup> $\pm 0,05$
12	7,56 <sup>CEFG</sup> $\pm 0,06$	7,32 <sup>CFGH</sup> $\pm 0,07$	7,47 <sup>DG<sup>a</sup></sup> $\pm 0,04$

Napomena: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H- p<0,01; Isto slovo a - p<0,05

### **5.2.2. Ispitivanje promene ukupnog broja bakterija u uzorcima mlevenog svinjskog mesa tokom skladištenja.**

Ovaj deo ispitivanja odnosi se na kontaminirane (ogledne) uzorke (OI, OII i OIII) i nekontaminirane uzorke (KI, KII i KIII) mlevenog mesa. Na početku skladištenja (nulti dan) prosečan broj bakterija u oglednim uzorcima mlevenog mesa (kontaminirani sa *Yersinia enterocolitica*) bio je  $8,19 \pm 0,07$  log CFU/g.

Trećeg dana skladištenja, ukupan broj bakterija u oglednim uzorcima mlevenog mesa kretao se od  $8,11 \pm 0,09$  log CFU/g (OI grupa) do  $8,22 \pm 0,02$  log CFU/g (OII grupa). Između prosečnog ukupnog broja bakterija ove dve grupe uzoraka (OI i OII) utvrđena je statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnog ukupnog broja bakterija OIII i OI grupe kao i između OIII i OII grupe uzoraka oglednih uzoraka mlevenog mesa (tabela 5.4).

**Tabela 5.4.** Promena prosečnog ukupnog broja bakterija u oglednim uzorcima svinjskog mesa u toku skladištenja (log CFU/g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
OI	8,19±0,07	8,11 <sup>a</sup> ±0,09	8,14 <sup>AB</sup> ±0,04	8,29 <sup>A</sup> ±0,07	8,39±0,05
OII	8,19±0,07	8,22 <sup>a</sup> ±0,02	8,34 <sup>AC</sup> ±0,05	8,50 <sup>AB</sup> ±0,06	8,45±0,05
OIII	8,19±0,07	8,18±0,05	8,25 <sup>BC</sup> ±0,04	8,26 <sup>B</sup> ±0,05	8,39±0,06

Napomena: Ista slova: A, B, C- p<0,01; Isto slovo a- p<0,05

Između prosečnih vrednosti ukupnog broja bakterija oglednih uzoraka mlevenog mesa (od

8,14±0,04 log CFU/g-OI grupa do 8,34±0,05 log CFU/g- OIIgrupa) sve tri grupe poređenih uzoraka šestog dana skladištenja utvrđena je statistički značajna razlika (p<0,01).

Devetog dana skladištenja prosečan ukupan broj bakterija u oglednim uzorcima OII grupe (8,50±0,06 log CFU/g) bio je statistički značajno veći (p<0,01) od prosečnog ukupnog broja OI grupe (8,29±0,07 log CFU/g) odnosno OIII grupe (8,26±0,05 log CFU/g). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnog ukupnog broja bakterija OI i OIII grupe.

Na kraju skladištenja, dvanaestog dana, prosečan ukupan broj bakterija u oglednim uzorcima mlevenog mesa kretao se od 8,39±0,05 log CFU/g (OI grupa) do 8,45±0,05 log CFU/g (OII grupa). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnih vrednosti ukupnog broja bakterija ispitivanih grupa oglednih uzoraka mlevenog mesa. Između poređenih grupa kontaminiranih uzoraka (OI, OII i OIII grupa), dvanaestog dana skladištenja, nije utvrđena značajna statistička razlika.

Prosečan ukupan broj bakterija u oglednim uzorcima mlevenog mesa rastao je od nultog do dvanaestog dana kod uzoraka OI grupe od 8,19±0,07 log CFU/g do 8,39±0,05 log CFU/g, uzoraka OII grupe od 8,19±0,07 log CFU/g do 8,45±0,05 log CFU/g i kod uzoraka OIII grupe od 8,19±0,07 log CFU/g do 8,39±0,05 log CFU/g (tabela 5.5).

**Tabela 5.5.** Statistička značajnost razlika ukupnog broja bakterija u mesu svinja između dana skladištenja

Dani ispitivanja	Grupa		
	OI	OII	OIII
	$(\bar{X} \pm Sd)$		
0	$8,19^A \pm 0,07$	$8,19^{ABC} \pm 0,08$	$8,19^A \pm 0,07$
3	$8,11^{BC} \pm 0,09$	$8,22^{DEF} \pm 0,02$	$8,18^B \pm 0,05$
6	$8,14^{DE} \pm 0,04$	$8,34^{ADG_a} \pm 0,05$	$8,25^C \pm 0,04$
9	$8,29^{BD} \pm 0,07$	$8,50^{BEG} \pm 0,06$	$8,26^D \pm 0,05$
12	$8,39^{ACE} \pm 0,05$	$8,45^{CFa} \pm 0,05$	$8,39^{ABCD} \pm 0,06$

Napomena: Ista slova A, B, C, D, E, F, G  $p<0,01$ ; Isto slovo a-  $p<0,05$

Statistički značajna porast ukupnog broja bakterija kod oglednih uzoraka OI grupe zapažen je devetog dana skladištenja, OII grupe šestog dana skladištenja a OIII grupe tek dvanaestog dana skladištenja.

Na početku skladištenja, prosečan ukupan broj bakterija u kontrolnim uzorcima (nekontaminirani uzorci sa *Yersinia enterocolitica*) bio je  $8,10 \pm 0,15$  log CFU/g. Trećeg dana skladištenja prosečan ukupan broj bakterija u kontrolnim uzorcima kretao se od  $7,66 \pm 0,29$  log CFU/g (KIII grupa) do  $7,84 \pm 0,23$  log CFU/g (KII grupa). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnih vrednosti ukupnog broja bakterija poređenih grupa uzoraka (KI, KII i KIII) mlevenog mesa.

Posle šestog dana skladištenja prosečan ukupan broj bakterija u uzorcima mlevenog mesa KII grupe ( $8,16 \pm 0,16$  log CFU/g) bio je statistički značajno veći ( $p<0,01$ ) od prosečnog ukupnog broja bakterija u uzorcima KI grupe ( $7,77 \pm 0,29$  log CFU/g) odnosno u uzorcima KIII grupe ( $7,70 \pm 0,08$  log CFU/g) mlevenog mesa (tabela 5.6).

**Tabela 5.6.** Promena prosečnog ukupnog broja bakterija u kontrolnim uzorcima svinjskog mesa u toku skladištenja (log CFU/g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
KI	8,10±0,16	7,74±0,29	7,77 <sup>A</sup> ±0,08	8,42 <sup>AB</sup> ±0,05	8,41 <sup>AB</sup> ±0,09
KII	8,10±0,15	7,84±0,23	8,16 <sup>AB</sup> ±0,16	8,57 <sup>AC</sup> ±0,05	7,66 <sup>AC</sup> ±0,07
KIII	8,11±0,16	7,66±0,14	7,70 <sup>B</sup> ±0,08	8,03 <sup>BC</sup> ±0,10	8,10 <sup>BC</sup> ±0,11

Napomena: Ista slova: A, B, C, -  $p<0,01$ .

Devetog dana skladištenja prosečan ukupan broj bakterija u kontrolnim uzorcima kretao se od  $8,03\pm0,10$  log CFU/g (KIII grupa) do  $8,57\pm0,05$  log CFU/g (KII grupa). Između prosečnih vrednosti ukupnog broja bakterija ispitivanih grupa uzoraka utvrđena je statistički značajna razlika ( $p<0,01$ ).

Statistički značajna razlika utvrđena je između prosečnih vrednosti ukupnog broja bakterija poređenih grupa uzoraka i dvanaestog dana skladištenja. Dvanaestog dana skladištenja prosečan ukupan broj bakterija u uzorcima kontrolne grupe mlevenog mesa kretao se od  $7,66\pm0,07$  log CFU/g (KII grupa) do  $8,41\pm0,09$  log CFU/g (KI grupa).

Prosečan ukupan broj bakterija na početku skladištenja u uzorcima kontrolne grupe bio je  $8,10\pm0,16$  log CFU/g a rastao je do dvanaestog dana ispitivanja u uzorcima KI grupe do  $8,41\pm0,09$  log CFU/g, u uzorcima KII grupe rastao je do devetog dana kada je bio  $8,57\pm0,05$  log CFU/g da bi dvanaestog dana bio manji ( $7,66\pm0,07$  log CFU/g) nego na početku ispitivanja, dok u uzorcima KIII grupe nije zabeležen porast ukupnog broja bakterija u toku skladištenja, tako da je dvanaestog dana bio  $8,10\pm0,11$  log CFU/g (tabela 5.7).

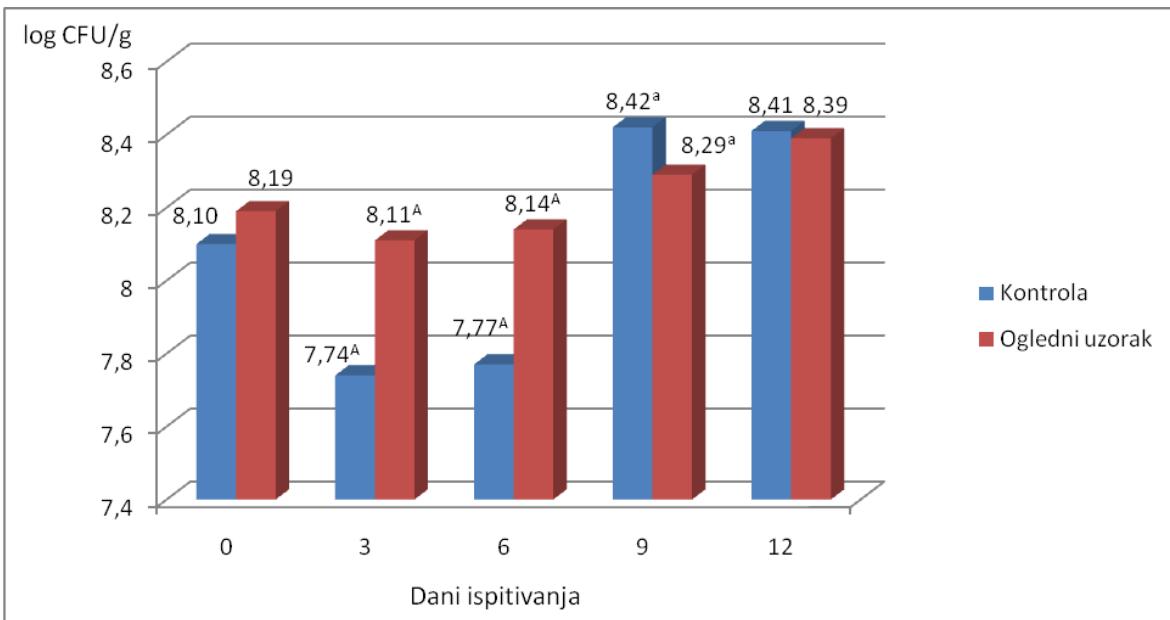
**Tabela 5.7.** Statistička značajnost razlika ukupnog broja bakterija u mesu svinja između dana skladištenja

Dani ispitivanja	Grupa		
	KI	KII	KIII
	$(\bar{X} \pm Sd)$		
0	8,10 <sup>Aabc</sup> $\pm 0,16$	8,10 <sup>aAB</sup> $\pm 0,15$	8,11 <sup>AB</sup> $\pm 0,15$
3	7,74 <sup>ABC</sup> $\pm 0,29$	7,84 <sup>aCD</sup> $\pm 0,23$	7,66 <sup>ACD</sup> $\pm 0,14$
6	7,77 <sup>aDE</sup> $\pm 0,08$	8,16 <sup>CEF</sup> $\pm 0,16$	7,70 <sup>BEF</sup> $\pm 0,08$
9	8,42 <sup>bBD</sup> $\pm 0,05$	8,57 <sup>ADEG</sup> $\pm 0,05$	8,03 <sup>CE</sup> $\pm 0,10$
12	8,41 <sup>cCE</sup> $\pm 0,09$	7,66 <sup>BFG</sup> $\pm 0,07$	8,10 <sup>DF</sup> $\pm 0,11$

Napomena: Ista slova A, B, C, D, E, F, G  $p<0,01$ ; Isto slovo a, b, c-  $p<0,05$

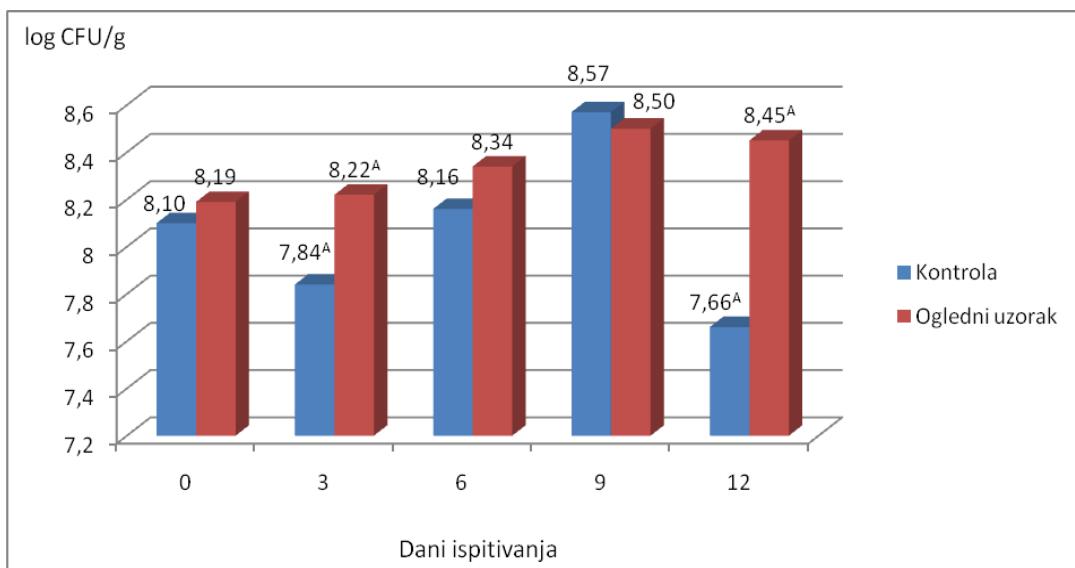
U uzorcima KI grupe prosečan ukupan broj bakterija bio je statistički značajno manji trećeg i šestog dana skladištenja u odnosu na nulti dan, tako da je do statistički značajnog povećanja prosečnog broja bakterija u uzorcima ove grupe došlo devetog odnosno dvanaestog dana skladištenja. Kod uzoraka mlevenog mesa KII grupe trećeg i šestog dana prosečan ukupan broj bakterija bio je statistički značajno manji ( $p<0,01$ ) u odnosu na nulti dan. Devetog i dvanaestog dana skladištenja prosečan ukupan broj bakterija ove grupe bio je statistički značajno veći ( $p<0,01$ ) u odnosu na treći i šesti dan skladištenja ali se nije statistički značajno razlikovao od prosečnog ukupnog broja bakterija na početku (nulti dan) skladištenja.

Utvrđeno je da se prosečan ukupan broj bakterija u uzorcima pakovanih u vakuumu (grupa OI) nije statistički značajno razlikovao (bio je samo numerički veći) od prosečnog ukupnog broja bakterija u uzorcima kontrolne grupe (KI grupe) nultog dana skladištenja. Trećeg i šestog dana skladištenja prosečan ukupan broj bakterija bio je statistički značajno veći ( $p<0,01$ ) u uzorcima OI grupe u odnosu na prosečan ukupan broj bakterija u uzorcima KI grupe. Devetog dana skladištenja prosečan ukupan broj bakterija u uzorcima KI grupe bio je statistički značajno veći ( $p<0,05$ ) od prosečnog ukupnog broja bakterija u uzorcima OI grupe. Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnih vrednosti ukupnog broja bakterija KI i OI grupe dvanaestog dana skladištenja (grafikon 5.1).



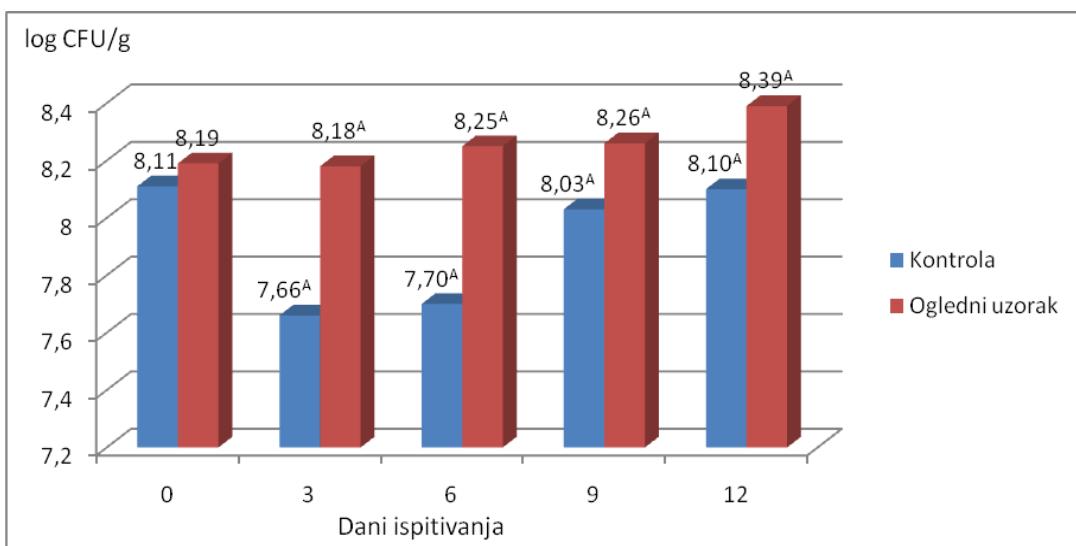
**Grafikon 5.1.** Statistička značajnost razlika između ukupnog broja bakterija kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u vakuumu

U kontaminiranim uzorcima pakovanih u MAP 1 (OII) prosečan ukupan broj bakterija nije se nultog, šestog i devetog dana skladištenja statistički značajno razlikovao od prosečnog broja bakterija KII grupe (kontrolna grupa MAP 1) (Grafikon 5.2).



**Grafikon 5.2.** Statistička značajnost razlika između ukupnog broja bakterija kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u MAP 1

Prosečan ukupan broj bakterija u oglednim uzorcima pakovanih u MAP 2 (OIII grupa) bio je, sa izuzetkom nultog dana skladištenja, u svim ostalim danima skladištenja statistički značajno veći ( $p<0,01$ ) od prosečnog ukupnog broja bakterija u uzorcima KIII grupe (kontrolna grupa MAP 2) (grafikon 5.3).



**Grafikon 5.3.** Statistička značajnost razlika između ukupnog broja bakterija kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u MAP 2

### **5.2.3. Ispitivanje promene ukupnog broja enterobakterija u uzorcima mlevenog svinjskog mesa tokom skladištenja.**

Ukupan broj enterobakterija u oglednim uzorcima mlevenog mesa nultog dana ispitivanja bio je  $7,24\pm0,14$  log CFU/g. Trećeg dana skladištenja prosečan ukupan broj enterobakterija kretao se od  $7,14\pm0,04$  log CFU/g (OIII grupa) do  $7,25\pm0,05$  log CFU/g (OII grupa). Prosečan ukupan broj enterobakterija uzorka OII grupe bio je statistički značajno veći ( $p<0,01$ ) od prosečnog ukupnog broja enterobakterija uzorka OIII grupe. Utvrđeno je, takođe, da je prosečan ukupan broj enterobakterija u uzorcima mlevenog mesa OI grupe bio statistički značajno veći ( $p<0,05$ ) od prosečnog ukupnog broja enterobakterija u uzorcima OIII grupe (tabela 5.8).

**Tabela 5.8.** Promena prosečnog broja enterobakterija u oglednim uzorcima svinjskog mesa u toku skladištenja (log CFU/g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
OI	7,25±0,14	7,23 <sup>a</sup> ±0,05	7,61 <sup>AB</sup> ±0,06	7,54±0,05	7,60 <sup>a</sup> ±0,06
OII	7,25±0,14	7,25 <sup>A</sup> ±0,05	7,34 <sup>aB</sup> ±0,05	7,47 <sup>A</sup> ±0,05	7,58 <sup>A</sup> ±0,07
OIII	7,24±0,15	7,14 <sup>aA</sup> ±0,04	7,45 <sup>Aa</sup> ±0,06	7,59 <sup>A</sup> ±0,06	7,73 <sup>aA</sup> ±0,06

Napomena: Ista slova A, B- p<0,01; Isto slovo a- p<0,05

Prosečan ukupan broj enterobakterija u uzorcima OI grupe mlevenog mesa (7,61±0,06 log CFU/g) šestog dana skladištenja bio je statistički značajno veći (p<0,01) od prosečnog ukupnog broja enterobakterija uzoraka OII grupe (7,34±0,05 log CFU/g) odnosno uzoraka OIII grupe (7,45±0,06 log CFU/g). Utvrđena je statistički značajna razlika (p<0,05) između prosečnog ukupnog broja uzoraka OII i OIII grupe (tabela 5.8). Devetog dana skladištenja prosečan broj enterobakterija uzoraka OIII grupe (7,59±0,06 log CFU/g) bio je statistički značajno veći (p<0,01) od prosečnog ukupnog broja enterobakterija OII grupe (7,47±0,05 log CFU/g). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnog broja enterobakterija uzoraka OI grupe i OII odnosno OIII grupe uzoraka mlevenog mesa. Posle dvanaest dana skladištenja prosečan ukupan broj enterobakterija OIII grupe (7,73±0,06 log CFU/g) bio je statistički značajno veći (p<0,01) od prosečnog ukupnog broja enterobakterija uzoraka OII grupe (7,58±0,07 log CFU/g) odnosno prosečnog ukupnog broja enterobakterija uzoraka OI grupe (7,60±0,06 log CFU/g) ali sa statističkom značajnošću od p<0,05 (tabela 5.8).

Prosečan ukupan broj enterobakterija rastao je u svim grupama oglednih uzoraka mlevenog mesa od nultog do dvanaestog dana skladištenja. Nultog dana ispitivanja prosečan ukupan broj enterobakterija bio je 7,25±0,14 log CFU/g. Kod OI grupe dvanaestog dana bio je 7,60±0,06 log CFU/g, kod OII grupe 7,58±0,07 log CFU/g i kod uzoraka mlevenog mesa OIII grupe 7,73±0,06 log CFU/g. Kod uzoraka OI i OIII grupe značajniji porast ukupnog broja enterobakterija zabeležen je šestog dana skladištenja a kod uzoraka OII grupe devetog dana skladištenja (tabela 5.9).

**Tabela 5.9.** Statistička značajnost razlika prosečnog broja enterobakterija u mesu svinja između dana skladištenja

Dani ispitivanja	Grupa		
	OI	OII	OIII
	$(\bar{X} \pm Sd)$		
0	$7,25^{ABC} \pm 0,14$	$7,25^{AB} \pm 0,14$	$7,24^{ABC} \pm 0,15$
3	$7,23^{DEF} \pm 0,05$	$7,25^{CD} \pm 0,05$	$7,14^{DEF} \pm 0,04$
6	$7,61^{AD^a} \pm 0,06$	$7,34^E \pm 0,05$	$7,61^{AD} \pm 0,06$
9	$7,54^{BE} \pm 0,05$	$7,47^{AC} \pm 0,06$	$7,59^{BE} \pm 0,06$
12	$7,60^{CF^a} \pm 0,06$	$7,58^{BDE} \pm 0,06$	$7,73^{CF} \pm 0,06$

Napomena: Ista slova A, B, C, D, E, F-  $p < 0,01$ ; Isto slovo a -  $p < 0,05$

Nultog dana skladištenja prosečan ukupan broj enterobakterija u uzorcima kontrolnih grupa bio je  $7,16 \pm 0,06$  log CFU/g. Trećeg dana skladištenja prosečan ukupan broj enterobakterija kretao se od  $7,10 \pm 0,07$  log CFU/g (KII grupa) do  $7,17 \pm 0,26$  log CFU/g (KI grupa). Razlike između prosečnih vrednosti ukupnog broja enterobakterija trećeg dana skladištenja kontrolnih uzoraka nisu bile statistički značajne (tabela 5.10).

**Tabela 5.10.** Promena prosečnog broja enterobakterija u kontrolnim uzorcima svinjskog mesa u toku skladištenja (log CFU/g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
KI	$7,16 \pm 0,06$	$7,17 \pm 0,26$	$7,63^{AB} \pm 0,05$	$7,62 \pm 0,04$	$7,72 \pm 0,05$
KII	$7,16 \pm 0,06$	$7,10 \pm 0,07$	$7,62^A \pm 0,05$	$7,65 \pm 0,04$	$7,67 \pm 0,08$
KIII	$7,15 \pm 0,05$	$7,16 \pm 0,06$	$7,46^B \pm 0,04$	$7,62 \pm 0,05$	$7,66 \pm 0,05$

Napomena: Ista slova: A, B -  $p < 0,01$ .

Prosečan ukupan broj enterobakterija uzoraka mlevenog mesa KIII grupe ( $7,46 \pm 0,04$  log CFU/g) šestog dana skladištenja bio je statistički značajno veći ( $p < 0,01$ ) od prosečnog broja enterobakterija uzoraka KI grupe ( $7,63 \pm 0,06$  log CFU/g) odnosno KII grupe ( $7,62 \pm 0,05$  log CFU/g). Dvanaestog dana skladištenja prosečan ukupan broj enterobakterija kretao se od  $7,66 \pm 0,05$  log CFU/g (KIII) grupa do  $7,72 \pm 0,05$  log CFU/g

(KI grupa). Između prosečnih vrednosti ukupnog broja enterobakterija kontrolnih grupa uzoraka mlevenog mesa nije utvrđena statistički značajna razlika (tabela 5.10).

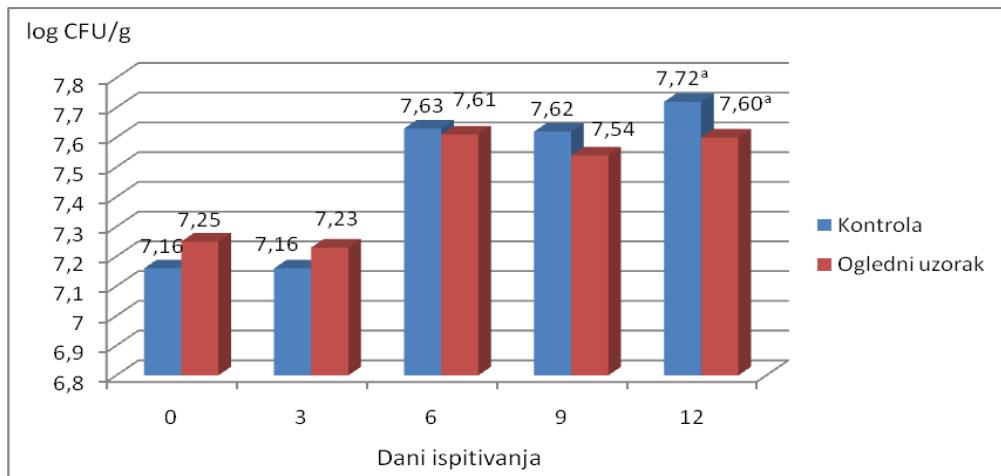
Prosečan ukupan broj enterobakterija kontrolnih uzoraka rastao je od nultog do dvanaestog dana skladištenja. Nultog dana skladištenja prosečan ukupan broj enterobakterija bio je  $7,16 \pm 0,06$  log CFU/g i kod KI grupe bio je dvanaestog dana skladištenja  $7,72 \pm 0,05$  log CFU/g, KII grupe  $7,67 \pm 0,08$  log CFU/g i kod KIII grupe  $7,66 \pm 0,05$  log CFU/g. Kod sve tri grupe uzoraka značajniji porast enterobakterija zabeležen je šestog dana skladištenja i do dvanaestog dana nije se značajnije manjao (tabela 5.11).

**Tabela 5.11.** Statistička značajnost razlika prosečnog broja enterobakterija u mesu svinja između dana skladištenja

Dani ispitivanja	Grupa		
	KI	KII	KIII
	$(\bar{X} \pm Sd)$		
0	$7,16^{ABC} \pm 0,06$	$7,16^{ABC} \pm 0,06$	$7,15^{ABC} \pm 0,05$
3	$7,17^{DEF} \pm 0,26$	$7,10^{DEF} \pm 0,07$	$7,17^{DEF} \pm 0,06$
6	$7,63^{ADa} \pm 0,04$	$7,62^{ADG} \pm 0,05$	$7,46^{AD} \pm 0,04$
9	$7,62^{BE} \pm 0,04$	$7,65^{BE} \pm 0,04$	$7,62^{BE} \pm 0,05$
12	$7,72^{CFa} \pm 0,05$	$7,67^{CFG} \pm 0,08$	$7,66^{CF} \pm 0,05$

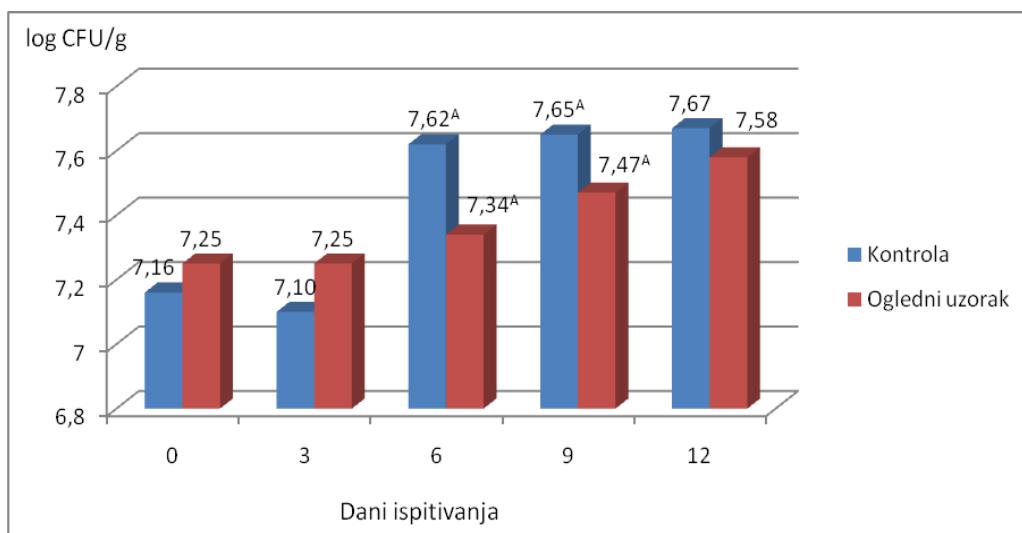
Napomena: Ista slova A, B, C, D, E, F-  $p < 0,01$ ; Isto slovo a -  $p < 0,05$

Poređenjem vakuumiranih kontrolnih (KI) i oglednih uzoraka (OI) nisu utvrđene statistički značajne razlike između prosečnih vrednosti ukupnog broja enterobakterija nultog, treće, šestog i devetog dana skladištenja a dvanaestog dana skladištenja prosečan ukupan broj enterobakterija bio je statistički značajno veći ( $p < 0,05$ ) kod uzoraka KI grupe u odnosu na ukupan broj enterobakterija OI grupe (grafikon 5.4).



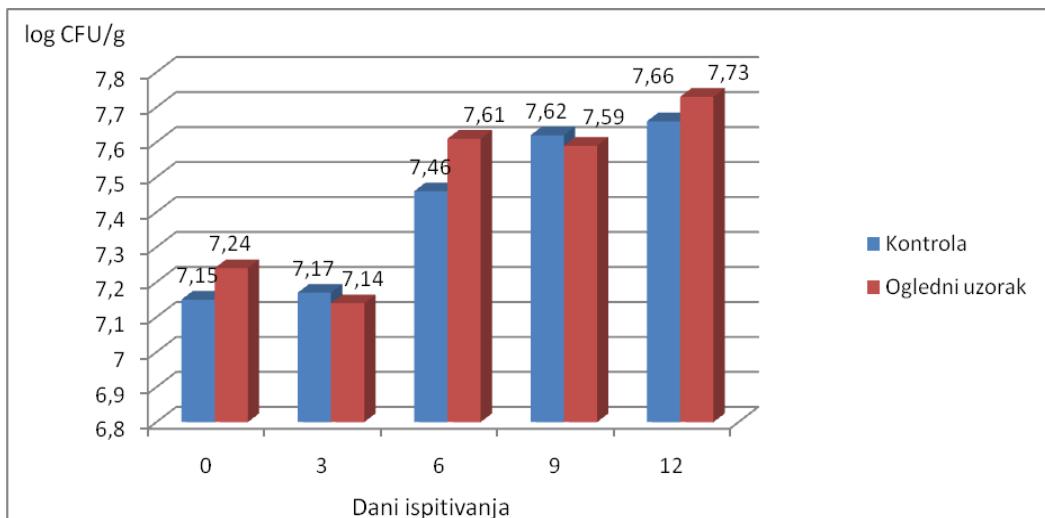
**Grafikon 5.4.** Statistička značajnost razlika između prosečnog ukupnog broja enterobakterija kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u vakuumu

Prosečan ukupan broj enterobakterija KII grupe (MAP 1) bio je šestog i devetog dana skladištenja statistički značajno veći od prosečnog ukupnog broja enterobakterija OII grupe (MAP 1). Ostalih dana skladištenja (nulti, treći i dvanaesti) razlike između prosečnih vrednosti ukupnog broja enterobakterija poređenih grupa uzoraka (KII-OII) nisu bile statistički značajne (grafikon 5.5).



**Grafikon 5.5.** Statistička značajnost razlika između prosečnog ukupnog broja enterobakterija kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u MAP 1

Između prosečnih vrednosti ukupnog broja enterobakterija uzoraka kontrolne (KIII) i ogledne grupe (OIII) pakovanih u MAP 2 svih dana ispitivanja nije utvrđena statistički značajna razlika (grafikon 5.6).



**Grafikon 5.6.** Statistička značajnost razlika između prosečnog ukupnog broja enterobakterija kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u MAP 2

#### **5.2.4. Ispitivanje promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u uzorcima mlevenog mesa tokom skladištenja.**

Na početku skladištenja (nulti dan) prosečan broj bakterija mlečne kiseline (BMK) bio je u uzorcima mlevenog svinjskog mesa  $5,21 \pm 0,07$  log CFU/g. Trećeg dana skladištenja prosečan broj BMK kretao se od  $5,98 \pm 0,06$  (OII grupa) do  $6,06 \pm 0,05$  (OI grupa). Između prosečnog broja BMK OII grupe i OI grupe uzoraka utvrđena je statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) (tabela 5.12).

**Tabela 5.12.** Promena prosečnog broja BMK u oglednim uzorcima svinjskog mesa u toku skladištenja (log CFU/g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
OI	$5,21 \pm 0,07$	$6,06^a \pm 0,05$	$6,14^A \pm 0,04$	$6,24^A \pm 0,05$	$5,91 \pm 1,25$
OII	$5,21 \pm 0,07$	$5,98^a \pm 0,06$	$6,11^B \pm 0,03$	$6,13^A \pm 0,04$	$6,35 \pm 0,05$
OIII	$5,21 \pm 0,07$	$5,99 \pm 0,05$	$6,33^{AB} \pm 0,04$	$6,19 \pm 0,05$	$6,25 \pm 0,04$

Napomena: Ista slova A, B-  $p < 0,01$ ; Isto slovo a-  $p < 0,05$

Prosečan broj BMK uzoraka OIII grupe ( $6,33 \pm 0,04 \log \text{CFU/g}$ ) šestog dana skladištenja bio je statistički značajno veći ( $p < 0,01$ ) od broja BMK uzoraka OII ( $6,11 \pm 0,04 \log \text{CFU/g}$ ) odnosno OI grupe ( $6,14 \pm 0,04 \log \text{CFU/g}$ ). Između prosečnog broja BMK OI grupe i OII grupe nije utvrđena statistički značajna razlika. Devetog dana skladištenja, prosečan broj BMK OI grupe ( $6,24 \pm 0,05 \log \text{CFU/g}$ ) bio je statistički značajno veći ( $p < 0,01$ ) od prosečnog broja BMK OII grupe ( $6,13 \pm 0,04 \log \text{CFU/g}$ ) ali se nije statistički značajno razlikovao od prosečnog broja BMK OIII grupe ( $6,19 \pm 0,05 \log \text{CFU/g}$ ). Takođe nije utvrđena statistički značajna razlika između broja BMK OI i OIII grupe. Na kraju skladištenja (dvanaesti dan) prosečan broj BMK u uzorcima oglednih grupa mlevenog mesa kretao se od  $5,91 \pm 1,25 \log \text{CFU/g}$  (OI grupa) do  $6,35 \pm 0,05 \log \text{CFU/g}$  (OII grupa). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnih vrednosti broja BMK poređenjem oglednih grupa uzoraka mlevenog mesa dvanaestog dana skladištenja (tabela 5.12).

U uzorcima ogledne grupe prosečan broj BMK rastao je od nultog do dvanaestog dana skladištenja. Nultog dana broj BMK u oglednoj grupi bio je  $5,21 \pm 0,07 \log \text{CFU/g}$ . Dvanaestog dana skladištenja u uzorcima OI grupe broj BMK bio je  $5,91 \pm 1,25 \log \text{CFU/g}$ , OII grupe  $6,35 \pm 0,05 \log \text{CFU/g}$  i OIII grupe  $6,25 \pm 0,04 \log \text{CFU/g}$ . Kod sve tri ogledne grupe uzoraka značajniji porast BMK zabeležen je već trećeg dana skladištenja (tabela 5.13).

**Tabela 5.13.** Statistička značajnost razlika prosečnog broja BMK u mesu svinja između dana skladištenja

Dani poređenja	Grupa		
	OI	OII	OIII
	$(\bar{X} \pm S_d)$		
0	$5,21^{\text{a}} \pm 0,07$	$5,21^{\text{ABCD}} \pm 0,07$	$5,21^{\text{ABCD}} \pm 0,07$
3	$6,06 \pm 0,05$	$5,98^{\text{AEFG}} \pm 0,06$	$5,99^{\text{AEFG}} \pm 0,05$
6	$6,14 \pm 0,04$	$6,11^{\text{BEH}} \pm 0,03$	$6,33^{\text{BEH}} \pm 0,04$
9	$6,24^{\text{a}} \pm 0,05$	$6,13^{\text{CFI}} \pm 0,04$	$6,19^{\text{CFH}} \pm 0,05$
12	$5,91 \pm 1,25$	$6,35^{\text{DGHI}} \pm 0,05$	$6,25^{\text{DG}} \pm 0,04$

Napomena: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H-  $p < 0,01$ ; Isto slovo a -  $p < 0,05$

Nultog dana skladištenja prosečan broj BMK u kontrolnim uzorcima bio je  $5,78 \pm 0,06$  log CFU/g. Trećeg dana skladištenja prosečan ukupan broj BMK kretao se od  $5,80 \pm 0,08$  log CFU/g (KI grupa) do  $5,82 \pm 0,05$  log CFU/g (KIII grupa). Između prosečnih vrednosti broja BMK poređenih kontrolnih uzoraka mlevenog mesa trećeg dana nije utvrđena statistički značajna razlika (tabela 5.14).

**Tabela 5.14.** Promena prosečnog broja BMK u kontrolnim uzorcima svinjskog mesa u toku skladištenja (log CFU/g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
KI	$5,78 \pm 0,06$	$5,80 \pm 0,08$	$5,94^a \pm 0,04$	$6,01^{AB} \pm 0,06$	$6,31^A \pm 0,06$
KII	$5,78 \pm 0,06$	$5,81 \pm 0,03$	$5,82^{aA} \pm 0,05$	$6,31^{AC} \pm 0,03$	$6,34^B \pm 0,04$
KIII	$5,78 \pm 0,06$	$5,82 \pm 0,05$	$5,97^A \pm 0,07$	$5,91^{BC} \pm 0,05$	$6,13^{AB} \pm 0,04$

Napomena: A, B, C-  $p < 0,01$ ; Isto slovo a-  $p < 0,05$

Prosečan broj BMK uzoraka KIII grupe ( $5,97 \pm 0,07$  log CFU/g) šestog dana skladištenja, bio je statistički značajno veći ( $p < 0,01$ ) od prosečnog broja BMK KII grupe ( $5,82 \pm 0,05$  log CFU/g) ali se nije statistički značajno razlikovao od prosečnog broja BMK KI grupe ( $5,94 \pm 0,04$  log CFU/g). Utvrđena je statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) između prosečnog broja BMK KI grupe ( $5,94 \pm 0,04$  log CFU/g) i prosečnog broja KII grupe ( $5,82 \pm 0,05$  log CFU/g). Devetog dana skladištenja prosečan broj BMK kretao se od  $5,91 \pm 0,05$  log CFU/g (KIII grupa) do  $6,31 \pm 0,03$  log CFU/g (KII grupa). Između prosečnih vrednosti broja BMK poređenih grupa kontrolnih uzoraka mlevenog mesa utvrđena je statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ) u svim slučajevima poređenja. Na kraju, dvanaestog dana skladištenja, prosečan broj BMK uzoraka KIII ( $6,13 \pm 0,04$  log CFU/g) grupe bio je statistički značajno manji ( $p < 0,01$ ) od prosečnog broja BMK KI grupe ( $6,31 \pm 0,06$  log CFU/g). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnog broja BMK uzoraka KI i KII grupe (tabela 5.14).

Nultog dana pa do dvanaestog dana skladištenja broj BMK je stalno rastao. Prosečan broj BMK nultog dana skladištenja bio je  $5,78 \pm 0,06$  log CFU/g. Kod uzoraka KI grupe dvanaestog dana skladištenja broj BMK je bio  $6,31 \pm 0,06$  log CFU/g, uzoraka KII grupe  $6,34 \pm 0,04$  log CFU/g i uzoraka KIII grupe  $6,13 \pm 0,04$  log CFU/g. Značajniji porast broja

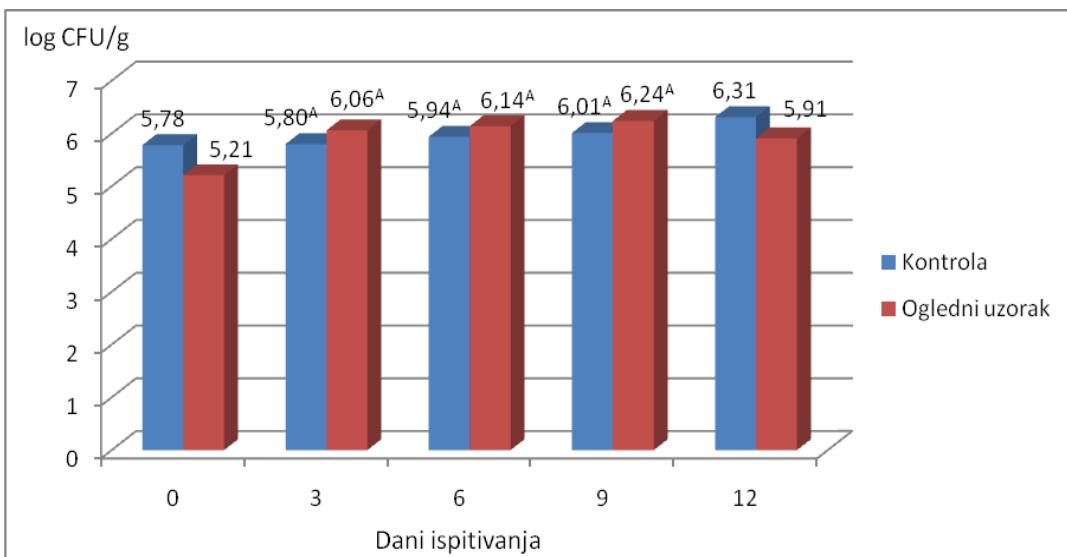
BMK zapažen je kod KI i KIII grupe šestog dana skladištenja a kod uzorka KII grupe devetog dana skladištenja (tabela 5.15).

**Tabela 5.15.** Statistička značajnost razlika prosečnog broja BMK u mesu svinja između dana skladištenja

Dani poređenja	Grupa		
	KI	KII	KIII
	$(\bar{X} \pm Sd)$		
0	5,78 <sup>ABC</sup> $\pm 0,06$	5,78 <sup>AB</sup> $\pm 0,06$	5,78 <sup>ABC</sup> $\pm 0,06$
3	5,80 <sup>DEF</sup> $\pm 0,08$	5,81 <sup>CD</sup> $\pm 0,03$	5,82 <sup>DE</sup> $\pm 0,05$
6	5,94 <sup>ADG</sup> $\pm 0,04$	5,82 <sup>EF</sup> $\pm 0,05$	5,97 <sup>ADF</sup> $\pm 0,07$
9	6,01 <sup>BEG</sup> $\pm 0,06$	6,31 <sup>ACE</sup> $\pm 0,03$	5,91 <sup>BG</sup> $\pm 0,05$
12	6,31 <sup>CFGH</sup> $\pm 0,06$	6,34 <sup>BDF</sup> $\pm 0,04$	6,13 <sup>CEFG</sup> $\pm 0,04$

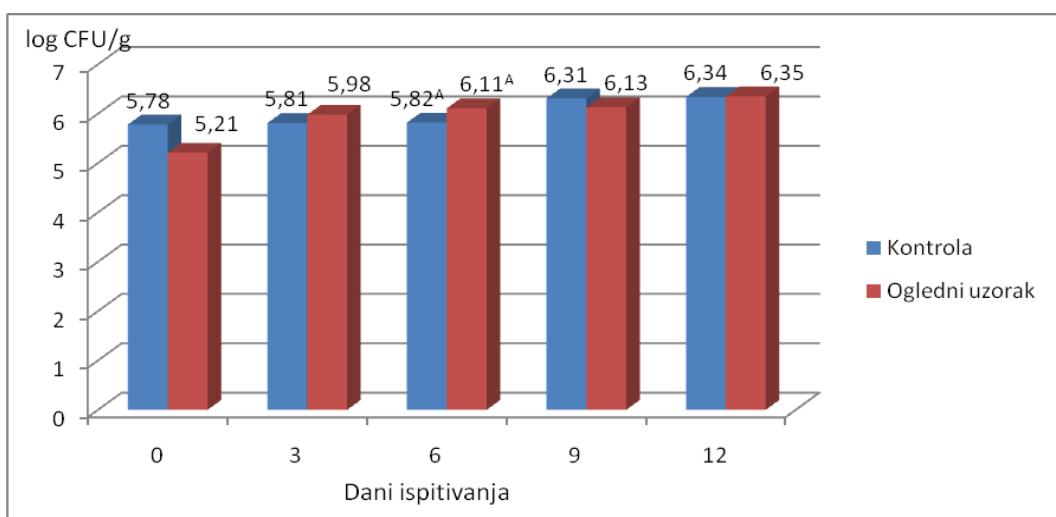
Napomena: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H- p<0,01

Prosečan broj BMK kontrolnih i oglednih uzoraka mlevenog mesa pakovanih u vakuumu nije se statistički razlikovao nultog i dvanaestog dana skladištenja. Ostalih dana poređenja (treći, šesti i deveti) prosečan broj BMK bio je statistički značajno veći kod oglednih (kontaminiranih) uzoraka u odnosu na kontrolne uzorke mlevenog mesa (grafikon 5.7).



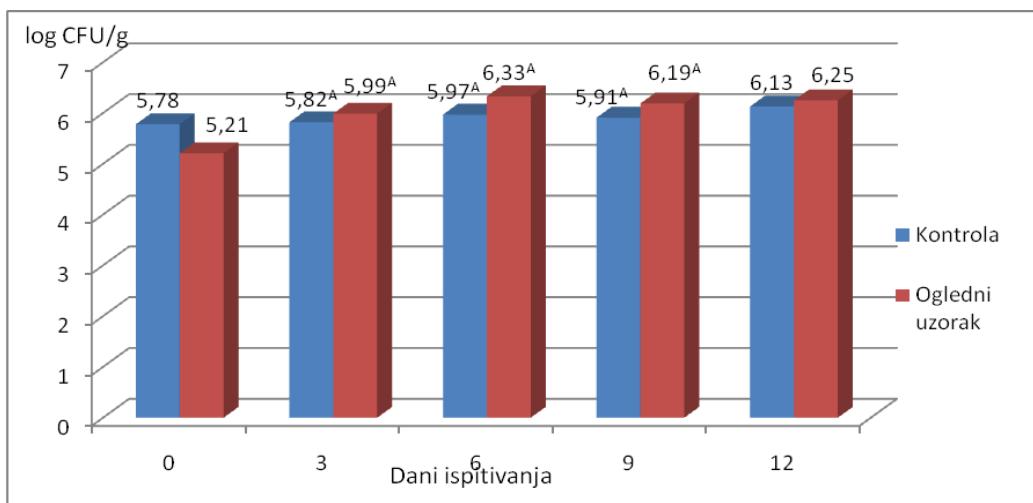
**Grafikon 5.7.** Statistička značajnost razlika između broja BMK kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u vakuumu

Prosečan broj BMK uзорака mlevenog mesa pakovanih u MAP 1 bio je samo šestog dana skladištenja statistički značajno veći ( $p<0,01$ ) kod ogledne grupe uзорaka. Ostalih dana poređenja nije utvrđena statistički značajna razlika između oglednih i kontrolnih grupa uзорaka mlevenog mesa (grafikon 5.8).



**Grafikon 5.8.** Statistička značajnost razlika između broja BMK kontrolnih i oglednih uзорaka svinjskog mesa pakovanih u MAP 1

Kao i kod oglednih i kontrolnih uзоракa pakovanih u vakuumu tako se i prosečan broj BMK kod uзорaka pakovanih u MAP 2 nije statistički značajno razlikovao nultog i dvanaestog dana skladištenja a ostalih dana skladištenja prosečan broj BMK bio je statistički značajno veći trećeg, šestog i devetog dana skladištenja kod oglednih grupa uзорaka (grafikon 5.9).



**Grafikon 5.9.** Statistička značajnost razlika između broja BMK kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u MAP 2

### 5.3 PROMENE SADRŽAJA UKUPNOG ISPARLJIVOOG AZOTA I pH VREDNOSTI U SVINJSKOM MESU TOKOM SKLADIŠTENJA

#### 5.3.1 Promene sadržaja ukupnog isparljivog azota u svinjskom mesu tokom skladištenja

Rezultati ispitivanja promene sadržaja ukupnog isparljivog azota u svinjskom mesu tokom dvanaest dana skladištenja prikazani su u tabeli 5.16 i 5.17.

**Tabela 5.16.** Promena prosečnog sadržaja ukupnog isparljivog azota u oglednim uzorcima svinjskog mesa tokom skladištenja (mg N/100 g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
OI	9,83±0,27	13,58±0,55	21,88±0,86	31,36±1,29	40,23±3,36
OII	9,83±0,27	13,35±0,66	21,01±1,12	30,57±0,86	37,64±1,29
OIII	9,83±0,27	13,51±0,50	21,30±1,01	30,86±0,94	38,39±1,36

Vrednost ukupnog isparljivog azota (mg N/100 g) u svinjskom mesu nultog dana skladištenja bila je  $9,83 \pm 0,27$  mg N/100 g (tabela 5.16).

Prosečan sadržaj ukupnog isparljivog azota rastao je do dvanaestog dana kod prve ogledne grupe do  $40,23 \pm 3,36$  mg N/100g, druge ogledne grupe do  $37,64 \pm 1,29$  mg N/100g i treće ogledne grupe  $38,39 \pm 1,36$  mg N/100g. Kod kontrolne grupe uzoraka dvanaestog dana sadržaj ukupnog isparljivog azota bio je  $38,79 \pm 1,65$  mg N/100g (KI grupa),  $37,63 \pm 1,06$  mg N/100g (KII grupa) i  $37,77 \pm 1,48$  mg N/100g (KIII grupa) (tabela 5.17). I kod ogledne i kod kontrolne grupe uzoraka mlevenog mesa devetog dana skladištenja sadržaj ukupnog isparljivog azota bio je iznad preporučenih vrednosti za svinjsko meso (30 mg N/100g). Značajniji porast ukupnog isparljivog azota zabeležen je od šestog dana skladištenja.

**Tabela 5.17.** Promena prosečnog sadržaja ukupnog isparljivog azota u kontrolnim uzorcima svinjskog mesa tokom skladištenja (mg N/100 g)

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
KI	$9,83 \pm 0,27$	$13,41 \pm 0,47$	$21,18 \pm 0,70$	$30,47 \pm 0,77$	$38,79 \pm 1,65$
KII	$9,83 \pm 0,27$	$13,25 \pm 0,63$	$20,54 \pm 0,86$	$29,91 \pm 0,71$	$37,36 \pm 1,06$
KIII	$9,83 \pm 0,27$	$13,44 \pm 0,25$	$20,70 \pm 0,95$	$30,31 \pm 0,68$	$37,77 \pm 1,48$

### 5.3.2 Promene pH vrednosti u svinjskom mesu tokom skladištenja

Rezultati ispitivanja promene pH vrednosti u mlevenom svinjskom mesu tokom dvanaest dana skladištenja prikazani su u tabelama 5.18 i 5.19.

Na početku skladištenja, nulti dan, prosečna pH vrednost u svim ispitivanim grupama bila je  $6,04 \pm 0,01$ . Trećeg dana skladištenja prosečna pH vrednost u oglednim uzorcima kretala se od  $5,85 \pm 0,01$  (OI grupa) do  $5,87 \pm 0,01$  (OII grupa). Između poređenih grupa nije utvrđena statistički značajna razlika. Prosečna pH vrednost, šestog dana skladištenja bila je statistički značajno veća ( $p < 0,01$ ) u uzorcima OI grupe ( $5,81 \pm 0,01$ ) u odnosu na uzorce OII ( $5,71 \pm 0,02$ ) i OIII grupe ( $5,73 \pm 0,02$ ). Devetog dana skladištenja, utvrđena je statistički značajna razlika između svih poređenih oglednih grupa. Na kraju ogleda, dvanaestog dana skladištenja, prosečna pH vrednost uzorka OI grupe ( $5,60 \pm 0,01$ ) bila je statistički znatno manja ( $p < 0,05$ ) u odnosu uzorce OII grupe ( $5,96 \pm 0,07$ ) grupe

(tabela 5.18). Tokom svih dvanaest dana skladištenja, prosečna pH vrednost u oglednim uzorcima je opadala.

**Tabela 5.18.** Promena prosečne pH vrednosti u oglednim uzorcima svinjskog mesa tokom skladištenja

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
OI	6,04±0,01	5,85±0,01	5,81 <sup>AB</sup> ±0,01	5,67 <sup>AB</sup> ±0,02	5,60 <sup>a</sup> ±0,01
OII	6,04±0,01	5,87±0,01	5,71 <sup>A</sup> ±0,02	5,97 <sup>AC</sup> ±0,01	5,96 <sup>a</sup> ±0,07
OIII	6,04±0,01	5,86±0,01	5,73 <sup>B</sup> ±0,02	5,80 <sup>BC</sup> ±0,01	5,89±0,01

Napomena: Ista slova A, B, C- p<0,01; isto slovo a- p<0,05

Nultog dana skladištenja, prosečna pH vrednost u kontrolnim uzorcima bila je 6,04±0,01. Nakon trećeg dana skladištenja, uzorci KI grupe (6,02±0,01) imali su statistički (p<0,01) veću pH vrednost u odnosu na uzorce KII (5,92±0,01) odnosno KIII grupe (5,90±0,01).

Prosečna pH vrednost u kontrolnim uzorcima, nakon šestog dana skladištenja bila je statistički znatno niža (p<0,01) u uzorcima KIII grupe (5,83±0,01) u odnosu na uzorce KI (5,97±0,01) odnosno KII grupe (5,95±0,01). Devetog dana skladištenja, kao i dvanaestog dana, prosečna pH vrednost KI grupe je bila statistički znatno niža u odnosu na KII (5,94±0,01) odnosno KIII grupu (5,92±0,01) (tabela 5.19).

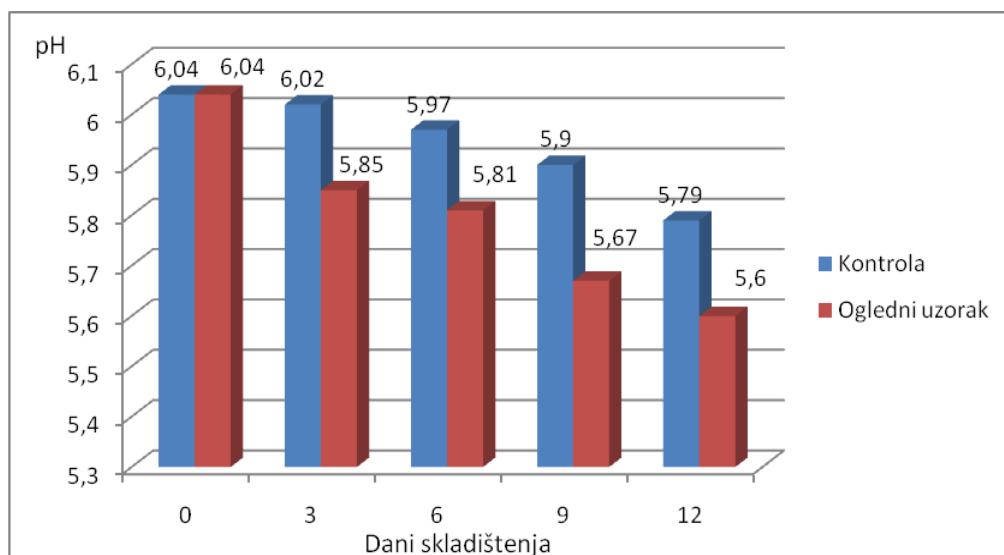
Tokom svih dvanaest dana skladištenja, pH vrednost u kontrolnim uzorcima je opadala.

**Tabela 5.19.** Promena prosečne pH vrednosti u kontrolnim uzorcima svinjskog mesa tokom skladištenja

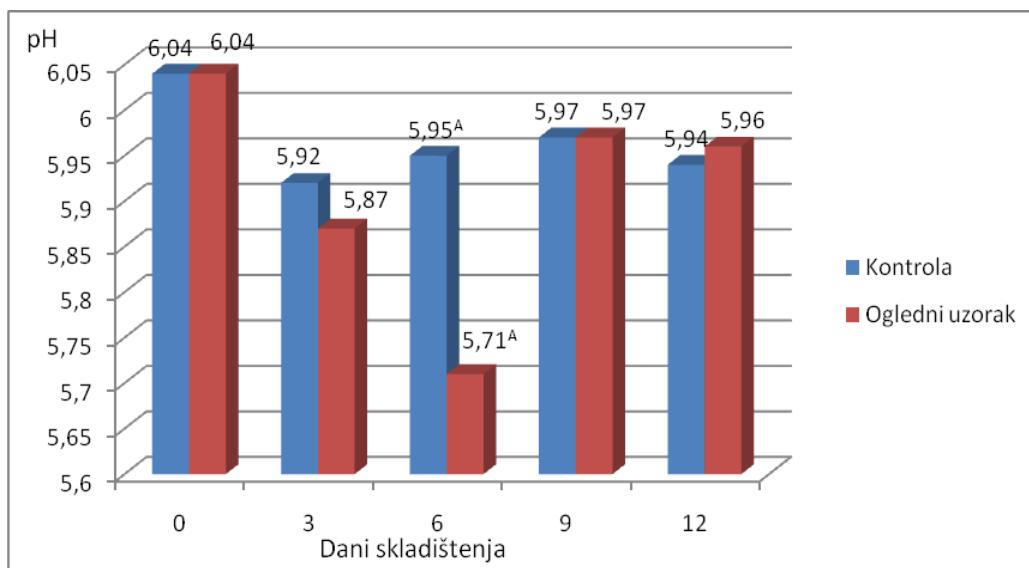
Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
KI	6,04±0,01	6,02 <sup>AB</sup> ±0,01	5,97 <sup>A</sup> ±0,02	5,90 <sup>AB</sup> ±0,01	5,79 <sup>AB</sup> ±0,01
KII	6,04±0,01	5,92 <sup>A</sup> ±0,01	5,95 <sup>B</sup> ±0,03	5,97 <sup>A</sup> ±0,01	5,94 <sup>A</sup> ±0,01
KIII	6,04±0,01	5,90 <sup>B</sup> ±0,01	5,83 <sup>AB</sup> ±0,02	5,97 <sup>B</sup> ±0,01	5,92 <sup>B</sup> ±0,01

Napomena: Ista slova A, B- p<0,01

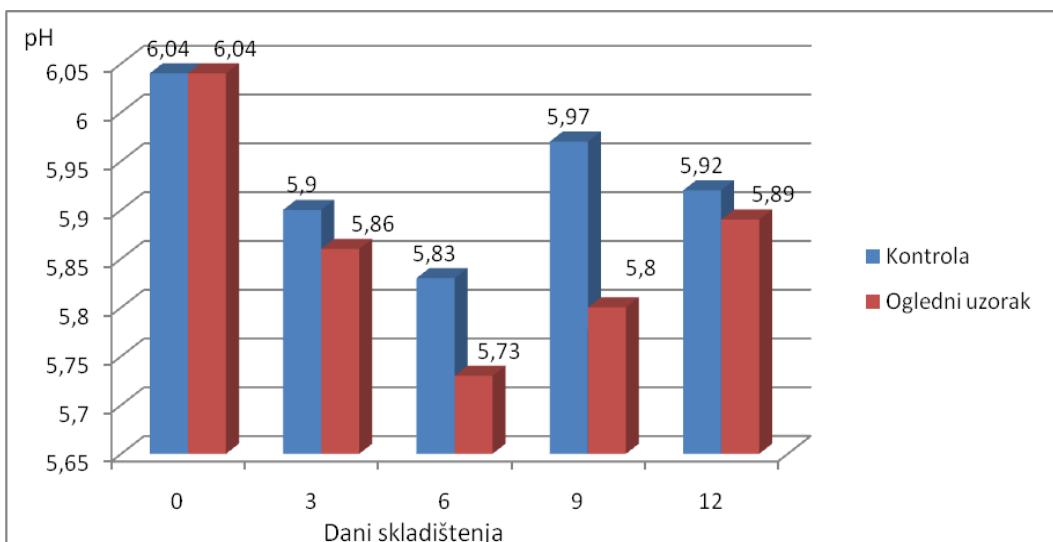
Između prosečnih pH vrednosti oglednih i kontrolnih grupa pakovanih u vakuum, odnosno u MAP 2, svih dana skladištenja nisu utvrđene statistički značajne razlike (grafikon 5.10 i 5.12). Kod uzoraka pakovanih u MAP 1 utvrđeno je da je prosečna pH vrednost ogledne grupe (OII) bila statistički značajno manja od pH vrednosti kontrolne grupe (KII) samo šestog dana skladištenja (grafikon 5.11).



**Grafikon 5.10.** Statistička značajnost razlika između prosečnih pH vrednosti kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u vakuum



**Grafikon 5.11.** Statistička značajnost razlika između prosečnih pH vrednosti kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u MAP 1



**Grafikon 5.12.** Statistička značajnost razlika između prosečnih pH vrednosti kontrolnih i oglednih uzoraka svinjskog mesa pakovanih u MAP 2

#### **5.4 ISPITIVANJE PRIHVATLJIVOSTI MIRISA MLEVENOG SVINJSKOG MESA**

U tabelama 5.19 i 5.20 prikazane su prosečne ocene prihvatljivosti mirisa mlevenog svinjskog mesa.

Na početku skladištenja prosečna ocena ukupne prihvatljivosti mirisa mlevenog mesa bila je  $6,63 \pm 0,21$  (maksimalna moguća ocena je 7) (tabela 5.19). U toku skladištenja prosečne ocene prihvatljivosti mirisa su se smanjivale tako da su devetog dana bile iznad prihvatljive vrednosti (ocena 3,5) odnosno kretale su se kod ogledne grupe od  $3,71 \pm 0,18$  (OIII grupa) do  $3,79 \pm 0,30$  (OI grupa) a kod kontrolne grupe od  $3,72 \pm 0,24$  (KIII grupa) do  $3,81 \pm 0,21$  (KI grupa).

**Tabela 5.20.** Promene prosečne ocene prihvatljivosti mirisa svinjskog mesa tokom skladištenja

Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
OI	6,63±0,21	5,84±0,32	4,66±0,23	3,79±0,30	3,31±0,25
OII	6,63±0,21	5,77±0,18	4,67±0,16	3,71±0,15	3,25±0,26
OIII	6,63±0,21	5,70±0,15	4,63±0,19	3,71±0,18	3,26±0,28

Dvanaestog dana skladištenja prosečne senzorne ocene prihvatljivosti mirisa i kod oglednih i kod kontrolnih grupa bile su manje od 3,5 (granica prihvatljivosti) (tabela 5.21).

**Tabela 5.21.** Promene prosečne ocene prihvatljivosti mirisa svinjskog mesa tokom skladištenja

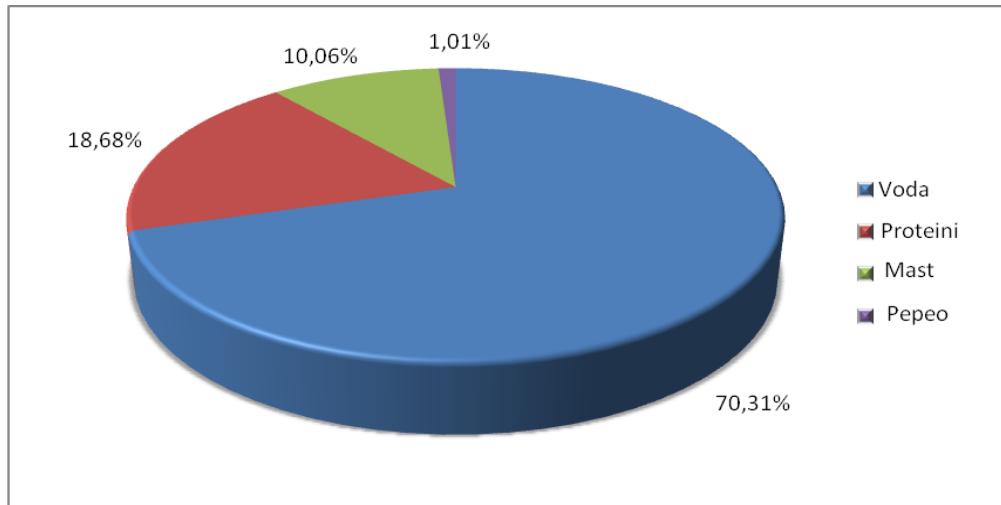
Grupa	Dani skladištenja ( $\bar{X} \pm Sd$ )				
	0.	3.	6.	9.	12.
KI	6,63±0,21	5,85±0,33	4,81±0,25	3,81±0,25	3,37±0,23
KII	6,63±0,21	5,75±0,23	4,75±0,26	3,75±0,26	3,31±0,25
KIII	6,63±0,21	5,68±0,25	4,68±0,25	3,72±0,24	3,25±0,26

## **6. DISKUSIJA**

Meso je namirnica bogata neophodnim materijama za izgradnju ljudskog organizma, njegovo očuvanje i održavanje u zdravom stanju. Ali pored toga, meso može da bude značajan izvor bolesti prenosivnih hranom. U cilju smanjenja mogućnosti kontaminacije mesa patogenim mikroorganizmima i u cilju očuvanja kvaliteta i održivosti mesa i proizvoda od mesa, većina proizvođača se odlučuje za različite vrste pakovanja hrane. Pakovanje mesa je danas najdinamičnije područje tehnologije mesa, koji ostvaruje stalni napredak u prehrambenoj industriji. Vakuum pakovanja i pakovanja sa modifikovanom atmosferom se sve češće mogu zapaziti u supermarketima i lancima maloprodajne mreže mesa. Pored toga što ova pakovanja čuvaju kvalitet i održivost mesa, imaju povoljne uticaje i na senzorne karakteristike mesa, koje kod potrošača imaju veliki značaj.

### **6.1 OSNOVNI HEMIJSKI SASTAV SVINJSKOG MESA**

Zbog svog bogatog nutritivnog sastava meso svinja predstavlja dobru podlogu za razmnožavanje mikroorganizama. Nutritivna vrednost mesa određena je njegovim hemijskim sastavom koji zavisi od mnogobrojnih faktora, kao što su starost i pol jedinke, ishrana i stepen uhranjenosti, način gajenja kao i anatomska regija koja se posmatra (Baltić, T., 2014). U okviru ove doktorske disertacije osnovni hemijski sastav je ispitana na početku skladištenja, pre kontaminacije sa *Yersinia enterocolitica* i pakovanja uzoraka u vakuum i modifikovanu atmosferu. Osnovni hemijski sastav svinjskog mesa na početku skladištenja prikazan je grafikonom 6.1.



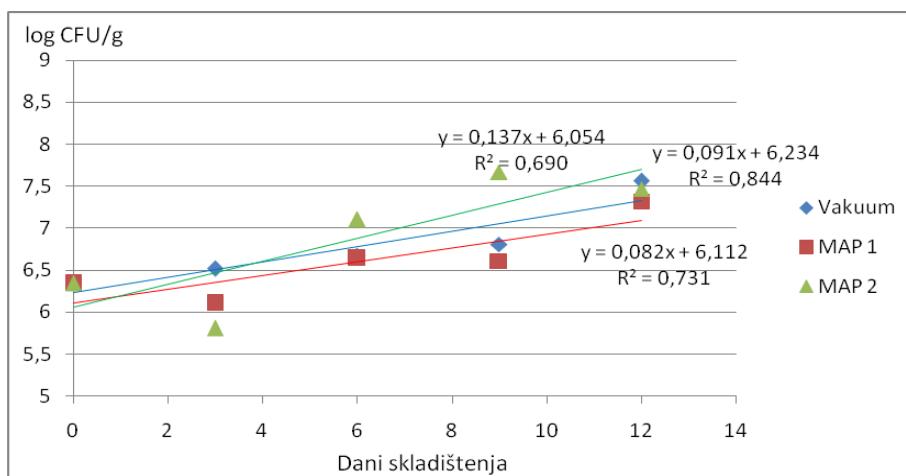
**Grafikon 6.1.** Osnovni hemijski sastav svinjskog mesa

Na početku skladištenja, prosečan sadržaj vode u svinjskom mesu bio je 70,31%, proteina 18,68%, masti 10,06% i pepela 1,01%.

## 6.2 MIKROBIOLOŠKI STATUS SVINJSKOG MESA

### 6.2.1 Promene prosečnog broja bakterija *Yersinia enterocolitica* u svinjskom mesu tokom skladištenja

Tokom skladištenja oglednih uzoraka uočen je rast *Yersinia enterocolitica* u svim pakovanjima (grafikon 6.2).



**Grafikon 6.2.** Promene broja *Yersinia enterocolitica* tokom skladištenja

Prema našim rezultatima prosečan broj *Yersinia enterocolitica* na početku skladištenja bio je  $6,34 \pm 0,21$  log CFU/g. Do dvanaestog dana skladištenja prosečan broj *Yersinia enterocolitica* je bio najveći u uzorcima pakovanih u vakuum ( $7,56 \pm 0,06$  log CFU/g), zatim u uzorcima pakovanih u MAP 2 ( $7,47 \pm 0,04$  log CFU/g) a najmanji u uzorcima koji su pakovani u MAP 1 ( $7,32 \pm 0,07$  log CFU/g). Najmanji porast *Yersinia enterocolitica* u uzorcima pakovanih u MAP 1 (gde je bila najveća koncentracija CO<sub>2</sub>) se može objasniti činjenicom da CO<sub>2</sub> ima antibakterijski efekat na pomenutog patogena. Do sličnih zaključaka su došli Conte- Junior i sar. (2010). U njihovim istraživanjima *Yersinia enterocolitica* nije rasla u uzorcima pakovanih u MAP sa 100% CO<sub>2</sub>. Isto je primećeno od strane Hudson i sar. (1994), Bell i sar. (1995), Doherti i sar. (1995), Bodnaruk Draughon (1998) i Tassou i sar. (2004). Ovi autori su proučavali svinjsko meso i različite proizvode od mesa kao i temperature skladištenje, koji mogu da potvrde bakteriostatski efekat 100% CO<sub>2</sub> na *Yersinia enterocolitica*. U oglednim uzorcima koji su pakovani u 100% N<sub>2</sub>, uočen je rast *Yersinia enterocolitica*. Shenoi i Murano (1996) su takođe detektovali rast ovog patogena u mlevenom svinjskom mesu pakovanom u različitoj koncentraciji kiseonika i ugljen dioksida čuvanog na 4 °C.

Strotmann i sar. (2008) u svom istraživanju su prikazali rast *Yersinia enterocolitica* pri različitim smešama i koncenracijama gasova. Međutim, rast *Yersinia enterocolitica* nije detektovan u pakovanju sa 100% CO<sub>2</sub> na temperaturi skladištenja od 4 °C. Takođe, rezultati ovih istraživača pokazuju da je rast *Yersinia enterocolitica* bio smanjen u pakovanjima sa visokom koncentracijom kiseonika. Slične rezultate su dobili Viana i sar. (2005). Smanjenje rasta *Yersinia enterocolitica* se može dovesti u vezu sa povećanjem ukupnog broja bakterija. Ovo se objašnjava pre svega stvaranjem uslova sa nepovoljnom pH vrednosti za rast *Yersinia enterocolitica* kao i deficitu hranljivih materija neopodnih za rast ovog patogena. Prema preporuci Strotmanna i sar.(2008) najprihvatljivija mešavina gasova koja će inhibirati rast *Yersinia enterocolitica*, a neće uticati na senzorna svojstva mesa i proizvoda od mesa je 30%CO<sub>2</sub>/70%O<sub>2</sub>.

*Yersinia enterocolitica* može da raste u pakovanjima sa 100% kiseonika i u MAP pakovanju sa 100% N<sub>2</sub>, na temperaturi skladištenja  $4 \pm 1$  °C (Manu – Taviah, 2003). Rast *Yersinia enterocolitica* može da bude uočen u MAP pakovanjima sa 20%CO<sub>2</sub>/80%N<sub>2</sub>, ali je suprimiran dejstvom niske temperature skladištenja (ispod 4 °C) (Manu – Taviah, 2003). Van Den Elzen i sar. (2004) primetili su veoma mali rast ovog patogena u

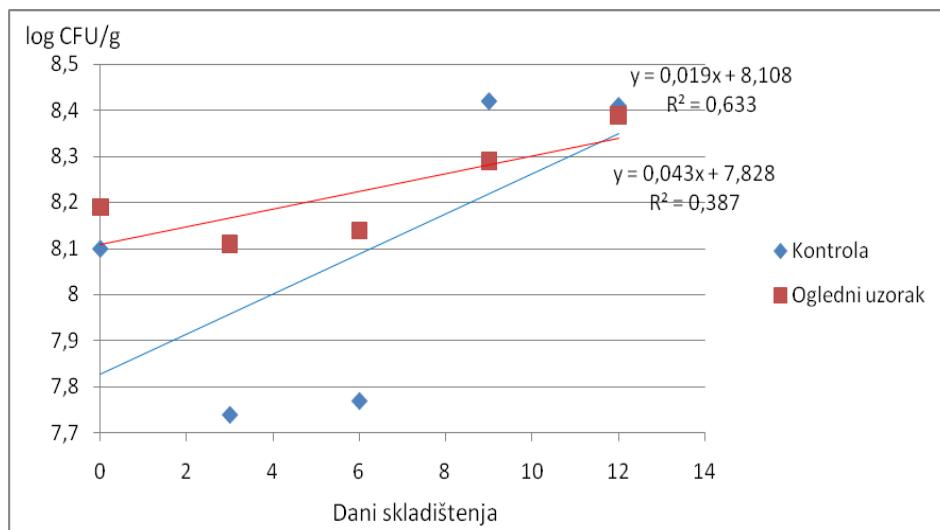
svinjskom mesu, u MAP pakovanju sa 25%CO<sub>2</sub>/65%O<sub>2</sub>/10%N<sub>2</sub>, na temperaturi skladištenja od 3 °C. Kombinacija CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub> teži da inhibira rast ovog patogena, što može da objasni razlike između rezultata do kojih su došli navedeni autori.

Doherti i sar. (1995) i Shenoi i Murano (2006) su uočili rast *Yersinia enterocolitica* u MAP pakovanju sa smešom gasova u odnosu 50% CO<sub>2</sub>/50%N<sub>2</sub>. Hudson i sar. (1994) su naveli da je za inhibiciju rasta *Yersinia enterocolitica* potrebna atmosfera sa više od 75% CO<sub>2</sub> i potpuno odsustvo O<sub>2</sub>. Ova zapažanja potvrđuju bakteriostatski efekat CO<sub>2</sub>. Infektivna doza *Yersinia enterocolitica* u hrani koja je pakovana u MAP je i dalje nepoznata (Long i sar., 2010). Međutim, raniji radovi pokazuju (Bhaduri i Tarner, 1993) da je ipak očuvana virulentnost *Yersinia enterocolitica* čak i u anaerobnim uslovima i u smešama sa CO<sub>2</sub>, pa može da bude uzročnik bolesti prenosive hranom. Ispitivanje opstanka *Yersinia enterocolitica* u vakuum i MAP pakovanju postaje značajna sa aspekta zdravlja ljudi, posebno zbog mogućnosti prisustva i rasta u tim uslovima.

#### **6.2.2 Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u svinjskom mesu tokom skladištenja**

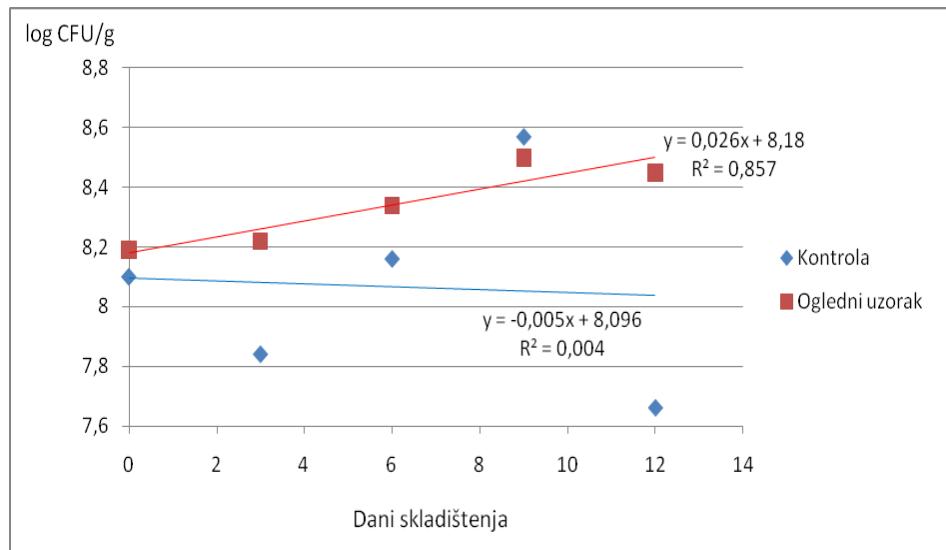
Savremeno tržište je uslovilo razvoj najrazličitijih vrsta pakovanja mesa, sa ciljem zaštite proizvoda tokom distribucije. Danas se pakaju sve vrste mesa i proizvoda od mesa, u različite ambalažne materijale, različitih veličina, sa osnovnim ciljem da održe kvalitet proizvoda do potrošača. Da bi se proizveo kvalitetan i mikrobiološki ispravan proizvod od mesa postoje pravilnici koji definišu koji mikroorganizmi nisu dozvoljeni a koji jesu, i u kolikom broju da budu prisutni u mesu i različitim proizvodima od mesa. Ukupan broj bakterija u svinjskom mesu određuje njegov higijenski status i najčešće je jedan od parametara kvaliteta koji određuje održivost mesa. Pravilnikom o mikrobiološkim uslovima je nekada bio definisan dozvoljen ukupan broj bakterija u mlevenom mesu. Po tom Pravilniku dozvoljen ukupan broj bakterija je iznosio tri miliona (u slučaju kada nisu prisutni patogeni kao što su bakterije *Salmonella* vrste, koagulaza pozitivne stafilocoke, sulforedukujuće klostridije, *Proteus* vrste i *Escherichia coli*). Međutim, Pravilnikom kojim su obuhvaćeni meso i proizvodi od mesa, a na snazi je, nije definisan dozvoljen ukupan broj bakterija. Po Leinstneru (2000) za graničnu

vrednost za ocenu kvara svinjskog mesa definisan je ukupan broj bakterija do  $10^7/g$ . U našem ispitivanju prosečan ukupan broj bakterija na početku skladištenja kod oglednih uzoraka bio je  $8,19 \pm 0,07$  log CFU/g u svim pakovanjima svinjskog mesa. Od nultog do dvanaestog dana prosečan ukupan broj bakterija u oglednim uzorcima je rastao, u uzorcima mlevenog mesa pakovanog u vakuumu (OI grupa), gde je zabeležen i najveći porast ove grupe ispitivanih bakterija (grafikon 6.3)



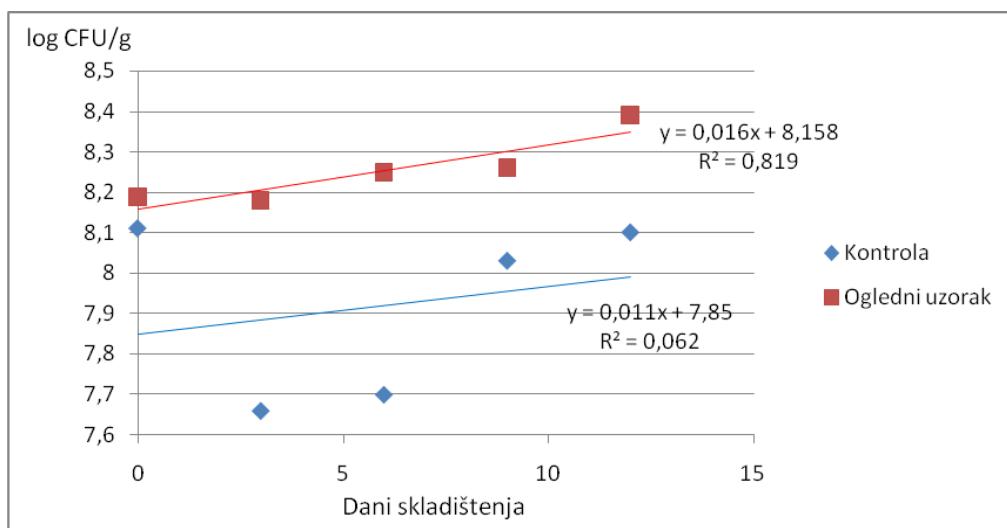
**Grafikon 6.3.** Promene prosečnog ukupnog broja bakterija tokom skladištenja uzoraka pakovanih u vakuumu

Poređenjem oglednih i kontrolnih uzoraka, pakovanih u modifikovanu atmosferu, prosečan ukupan broj bakterija je bio znatno veći u oglednim uzorcima u odnosu na kontrolne uzorke. Naši rezultati su slični sa rezultatima do kojih su dosli Conte- Junior i sar. (2010). Naime, pomenuti istraživači su prikazali da je ukupan broj bakterija počeo da raste posle petog dana skladištenja, dok je u našem slučaju to zabeleženo nakon šestog dana skladištenja kod oglednih uzoraka u odnosu na kontrolne uzorke kod kojih to nije uočeno (grafikon 6.4).



**Grafikon 6.4.** Promene prosečnog ukupnog broja bakterija tokom skladištenja uzoraka pakovanih u MAP 1

Prosečan ukupan broj bakterija je bio znatno veći u uzorcima koji su kontaminirani sa *Yersinia enterocolitica* (grafikon 6.5). Ovi rezultati su slični sa rezultatima do kojih su došli Bell i sar. (1995). To pokazuje da je moguć rast *Yersinia enterocolitica* u vakuum pakovanju i modifikovanoj atmosferi, pri čemu je najveći porast ukupnog broja bakterija i *Yersinia enterocolitica* zabeležen u vakuum pakovanju. Pakovanja u modifikovanoj atmosferi (MAP 2) su imala manji porast ukupnog broja bakterija i *Yersinia enterocolitica*.



**Grafikon 6.5.** Promene prosečnog ukupnog broja bakterija tokom skladištenja uzoraka pakovanih u MAP 2

Zeitoun i sar. (1994) su došli do rezultata da je značajan porast ukupnog broja bakterija u uzorcima mesa kontaminiranog sa *Yersinia enterocolitica*, u pakovanju gde je odnos gasova bio 90%/10% CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>, zabeležen šestog dana skladištenja. Takođe, ovi istraživači su došli do zaključka da je nešto sporiji rast ukupnog broja bakterija utvrđen u pakovanju gde je odnos gasova bio 80%/20% CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>. Suprotan efekat je bio kod upotrebe O<sub>2</sub> u kombinaciji sa CO<sub>2</sub> umesto N<sub>2</sub>. Razumljivo je da O<sub>2</sub> pospešuje rast aerobnih bakterija, dok N<sub>2</sub> nema takav uticaj. Slične rezultate su prikazali i Sarantopoulos i sar. (1998). U uzorcima svinjskog mesa koji su kontaminirani sa *Yersinia enterocolitica*, pakovanih u modifikovanu atmosferu, prosečan ukupan broj bakterija imao je veće vrednosti u kraćem vremenskom periodu u poređenju sa kontrolnim uzorcima.

Strotmann i sar. (2008) navode da je porast ukupnog broja bakterija u njihovom istraživanju zabeležen u različitim smešama gasova gde su korišćeni ugljen dioksid i kiseonik. Na početku ispitivanja prosečan ukupan broj bakterija u kontaminiranim uzorcima bio je 5,8 log CFU/g. Daljim skladištenjem, prosečan ukupan broj bakterija je rastao, preko granične vrednosti po Regulativi (EU) 2073/2005 za svinjsko meso. Ovo istraživanje je pokazalo da koncentracija ugljen dioksida iznad 50% u pakovanjima ne utiče na rast i razmnožavanje ukupnog broja bakterija već da njihov broj eksponencijalno raste. Međutim, do ovog zaključka nisu došli Martinez i sar. (2005), Farber i sar. (1991), Gill i Tan (1989), Labadie i sar. (1999) koji smatraju da visoka koncentracija CO<sub>2</sub> u pakovanju sa modifikovanom atmosferom ima antibakterijski efekat.

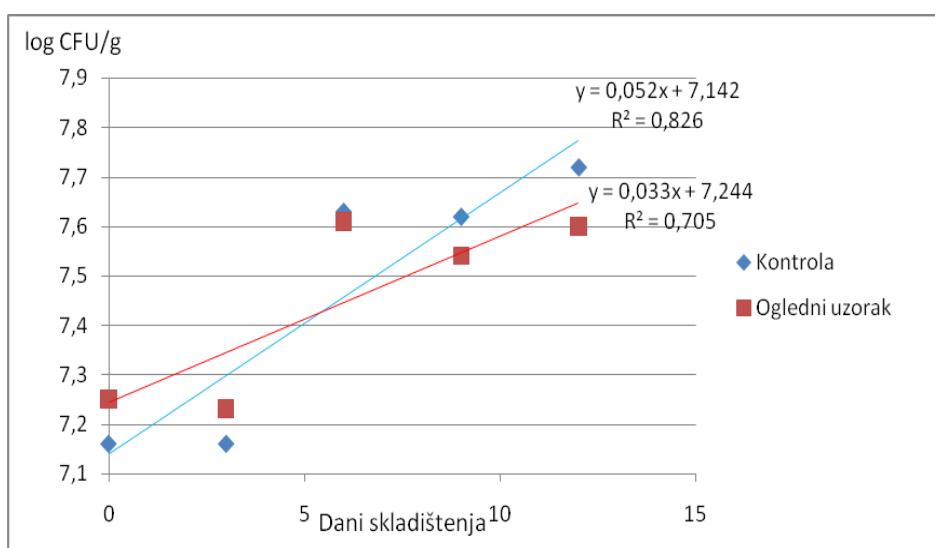
### **6.2.3 Promene prosečnog broja enterobakterija u svinjskom mesu tokom skladištenja**

Prisustvo enterobakterija u mesu i proizvodima od mesa se ispituje u cilju procene opšteg higijenskog statusa mesa. Sade i sar. (2013) preporučuju da prosečan broj enterobakterija može da se koristi kao kriterijum u proceni održivosti mesa. Neke od enterobakterija su od interesa za javno zdravlje dok druge imaju komercijalni značaj

zbog sposobnosti da izazovu kvar mesa i proizvoda od mesa za vreme skladištenja pri temperaturi frižidera.

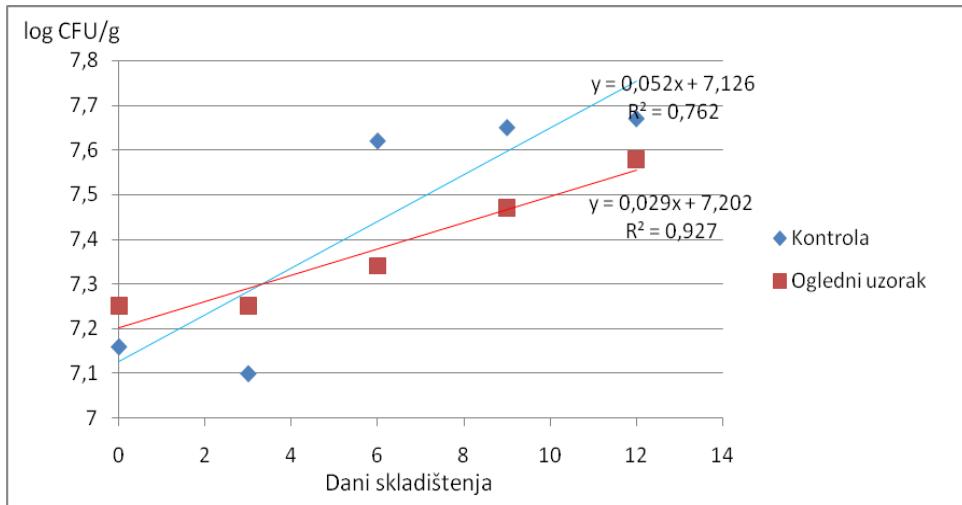
Kako je istaknuto u poglavlju „Pregled literature“, gram negativne bakterije su najosetljivije bakterije na dejstvo ugljen dioksida. Naši rezultati potvrđuju postojeću činjenicu. Ukupan broj enterobakterija je bio najmanje izražen u pakovanju gde je koncentracija CO<sub>2</sub> bila najveća (MAP 1).

Porast prosečnog broja enterobakterija je najmanje uočen u vakuum pakovanju kod oglednih uzoraka. Takođe, prosečan broj enterobakterija je bio veći u kontrolnim uzorcima u odnosu na ogledne uzorke pakovane u vakuumu (grafikon 6.6).



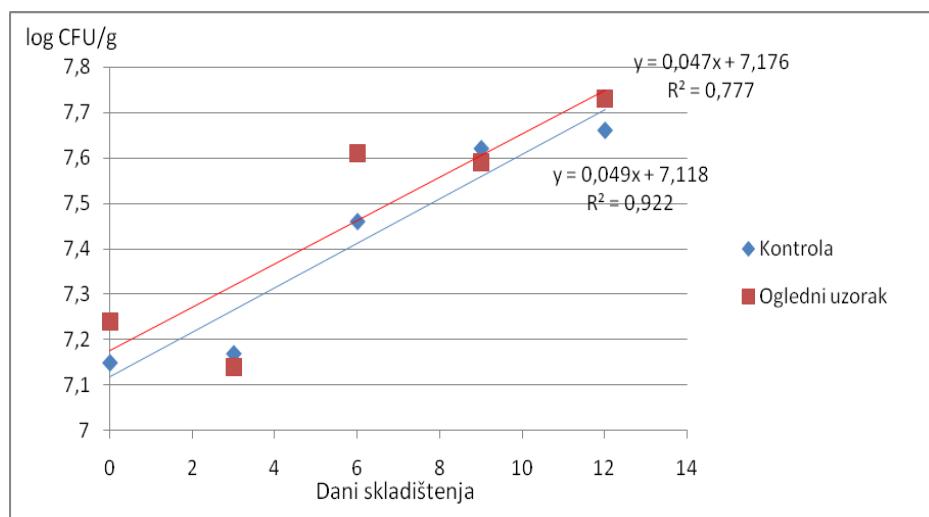
**Grafikon 6.6** Promene prosečnog broja enterobakterija tokom skladištenja uzoraka pakovanih u vakuumu

Porast prosečnog broja enterobakterija je uočen i kod uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu (MAP 1). Međutim, porast je bio veći u kontrolnim uzorcima u odnosu na uzorce koji su bili kontaminirani sa *Yersinia enterocolitica*. Ova činjenica se može objasniti pre svega niskom pH vrednošću koja je kod oglednih uzoraka već posle šestog dana skladištenja bila 5,71±0,02 (grafikon 6.7). Do sličnih rezultata su došli Fredriksson-Ahomaa i sar. (2012) koji su dokazali povezanost pH vrednosti i porasta prosečnog broja enterobakterija.



**Grafikon 6.7** Promene prosečnog broja enterobakterija tokom skladištenja uzoraka pakovanih u MAP 1

Međutim, porast broja enterobakterija uočen je u uzorcima pakovanih u MAP 2, gde je prosečan ukupan broj enterobakterija bio veći kod oglednih uzoraka u odnosu na kontrolne uzorce (grafikon 6.8). Ova činjenica može biti povezana sa promenom pH vrednosti ali i niskom koncentracijom CO<sub>2</sub>. Naime, u MAP 2 pakovanju koncentracija CO<sub>2</sub> je bila 30%, što nije dovoljna koncentracija za antibakterijski efekat.

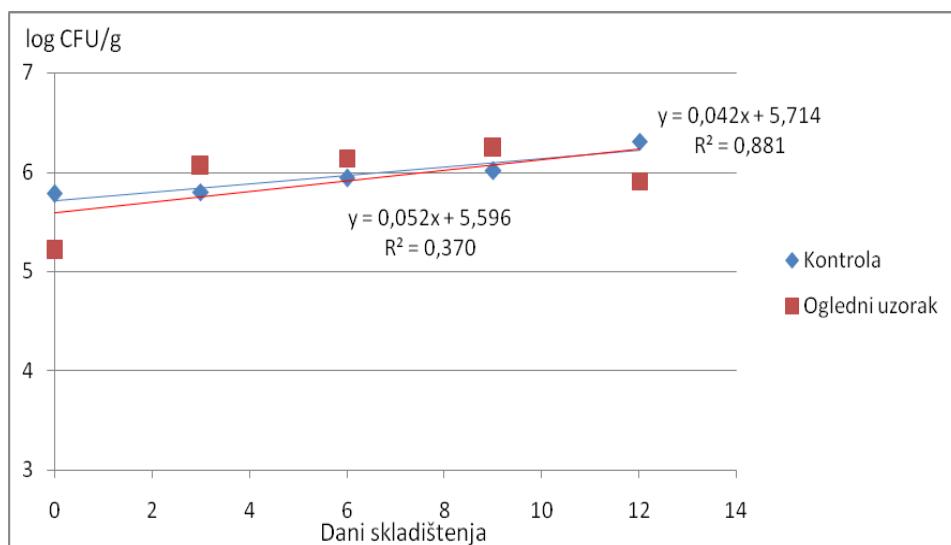


**Grafikon 6.8** Promene prosečnog broja enterobakterija tokom skladištenja uzoraka pakovanih u MAP 2

#### 6.2.4 Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u svinjskom mesu tokom skladištenja

Mikroflora vakuumiranog mesa i proizvoda od mesa u najvećem broju čine *Lactobacillus* vrste (Hayashadini i sar., 2008). Naši rezultati su pokazali da je prosečan ukupan broj bakterija mlečne kiseline (BMK) u oglednim uzorcima, na početku skladištenja, bio  $5,21 \pm 0,07$  log CFU/g. Do dvanaestog dana skladištenja prosečan ukupan broj BMK je rastao. Veći porast je zabeležen u uzorcima pakovanih u modifikovanoj atmosferi.

Poređenjem rezultata uočeno je da je brzi porast BMK uočen kod kontrolnih u odnosu na ogledne uzorke (grafikon 6.9).



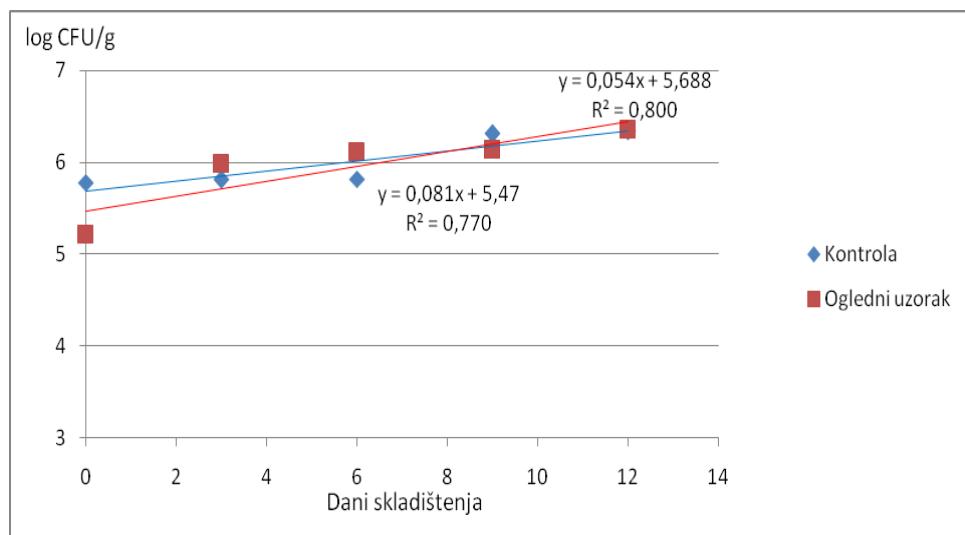
**Grafikon 6.9.** Promene prosečnog broja BMK tokom skladištenja u oraka pakovanih u vakuumu

Kada je u pitanju uloga BMK u nastanku kvara proizvoda od mesa pakovanih u vakuumu, mišljenja su različita. Lyhs (2002) i Stohr i sar. (2001) smatraju da su u vakuum pakovanom mlevenom mesu, u mikroflori koja dovodi do kvara uglavnom zastupljene dominantne BMK vrste, čiji se broj u momentu kvara kreće od  $10^6$  do  $10^8$  CFU/g. Ipak Leroi i sar. (2000) nisu utvrdili u svojim ispitivanjima postojanje korelacije između BMK i senzornih znakova kvara u ispitivanjima proizvoda od mesa pakovanog u vakuumu u toku skladištenja, pa i da samim tim uloga BMK u nastanku kvara ovih

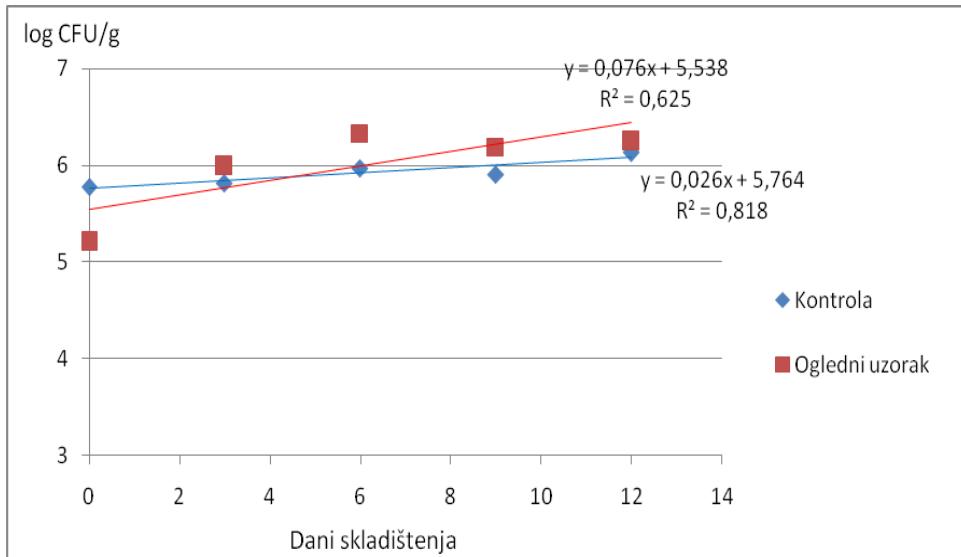
proizvoda pakovanih u vakuumu, prema njihovom mišljenju i nije u potpunosti razjašnjena.

U osnovi, gram negativne bakterije su mnogo osetljivijie na delovanje CO<sub>2</sub>, pa su ujedno i najviše inhibirani mikroorganizmi. Gram pozitivne bakterije, kao što su bakterije mlečne kiseline, pre svega *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.* nisu osetljive na dejstvo ugljen dioksida, pa u mesu i proizvodima od mesa pakovanim u smeši gasova oni postaju dominantna flora, a uz to imaju i manji potencijal da izazovu kvar (Limbo i sar., 2010; McMillin, 2008; Erkan i sar., 2006; Sanjeev i Ramesh, 2006; Siverstvik i sar. 2003).

Naši rezultati pokazuju da je u uglednim uzorcima porast BMK bio više uočen u MAP 1 (O<sub>2</sub>20%/CO<sub>2</sub>50%/N<sub>2</sub>30%) u odnosu na MAP 2 (O<sub>2</sub>20%/CO<sub>2</sub>30%/N<sub>2</sub>50%). Takođe, veći porast BMK je uočen kod oglednih uzoraka u odnosu na kontrolne uzorke (grafikon 6.10 i 6.11).



**Grafikon 6.10.** Promene prosečnog broja BMK tokom skladištenja uzoraka pakovanih u MAP 1



**Grafikon 6.11.** Promene prosečnog broja BMK tokom skladištenja uzorka pakovanih u MAP 2

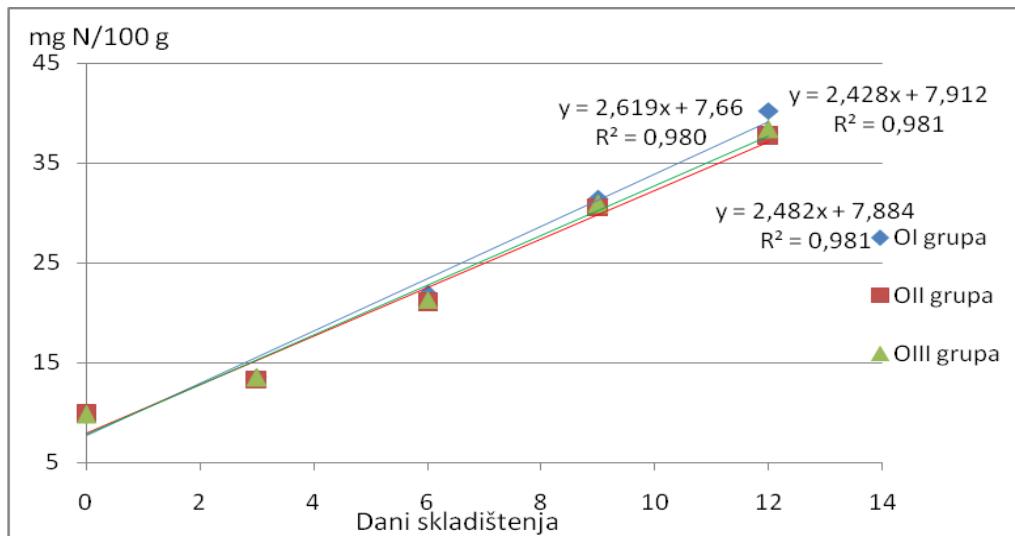
Mnoga istraživanja su pokazala da BMK imaju antagonistički efekat na rast i razmnožavanje *Yersinia enterocolitica* (Gomołka-Pawlicka, 2003). Međutim, većina autora to mišljenje nije prihvatile. U ispitivanju opstanka *Yersinia enterocolitica* u mlevenom mesu pakovanom u modifikovanoj atmosferi, bakterije mlečne kiseline nisu pokazale inhibitorni efekat na rast i razmnožavanje *Yersinia enterocolitica* (Fredriksson-Ahomaa i sar., 2012). Takođe Nisesen i sar., (2001) u svojim istraživanjima prikazuju da rast *Yersinia enterocolitica* nije bio suprimiran bakterijama mlečne kiseline.

Pored ovih zaključaka Roland Lindqvist (2009) prikazuje rezultate gde je rast *Yersinia enterocolitica* bio inhibiran bakterijama mlečne kiseline u fermentisanim kobasicama. Ovo se može objasniti i prisustvom veće količine kiseonika, koja u pakovanjima u modifikovanoj atmosferi je strogo kontrolisana.

## **6.3 PROMENE SADRŽAJA UKUPNOG ISPARLJIVOOG AZOTA I pH VREDNOSTI U MESU SVINJA TOKOM SKLADIŠTENJA**

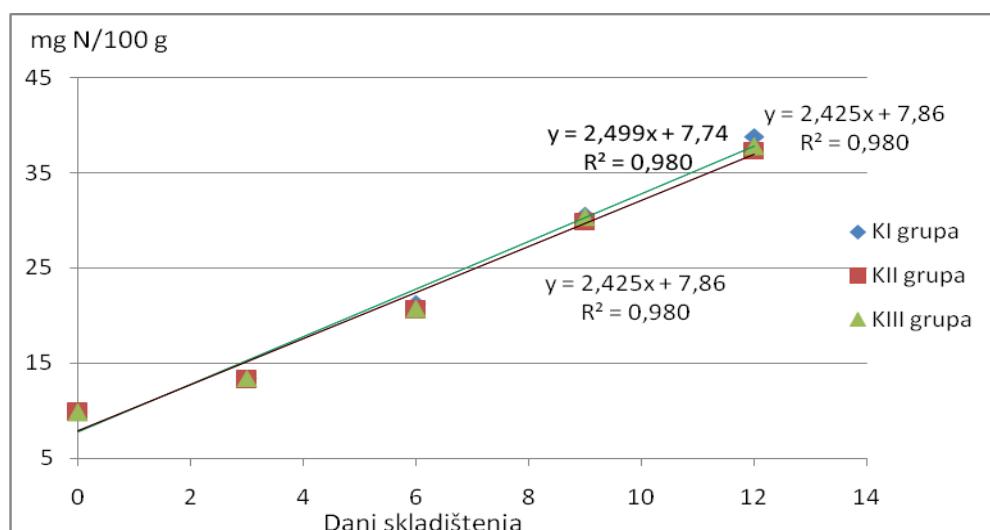
### **6.3.1 Promene sadržaja ukupnog isparljivog azota u svinjskom mesu tokom skladištenja**

Sadržaj ukupnog isparljivog azota (TVB-N) predstavlja hemijski indikator za ocenu svežine ribe i plodova mora, ali se često koristi i kao pokazatelj svežine drugih vrsta mesa pa i svinjskog mesa (Babić, J. i sar., 2014). Ukupan isparljivi azot čine jedinjenja koja su odgovorna za nastanak neprijatnog mirisa i ukusa mesa, a tu spadaju amonijak, dimetilamin (DMA), trimetilamin (TMA), amini koji nastaju dekarboksilacijom aminokiselina, kao i druga azotna jedinjenja koja u alkalnom obliku postaju isparljiva. Amonijak nastaje bakterijskom dezaminacijom proteina, peptida i amino-kiselina kao i autolitičkom razgradnjom adenozin monofosfata (AMP). Aktivnošću endogenih enzima dolazi do razgradnje TMAO i nastanka DMA i formaldehida. Pod anaerobnim uslovima, bakterije uzročnici kvara mesa, koristeći TMAO kao krajnji akceptor elektrona u anaerobnoj respiraciji, dovode do formiranja TMA, koji predstavlja jedinjenje odgovornoza pojavu karakterističnog mirisa kod kvara mesa (Babić, J. i sar., 2014). Granična vrednost za sadržaj ukupnog isparljivog azota za meso svinja je 30 mg N/100g mesa (Connelle, 1990). U okviru našeg istraživanja prosečna vrednost ukupnog isparljivog azota (mg N/100 g) u svinjskom mesu nultog dana skladištenja bila je  $9,83 \pm 0,27$  mg N/100 g. Prosečan sadržaj ukupnog isparljivog azota rastao je do dvanaestog dana kod prve ogledne grupe do  $40,23 \pm 3,36$  mg N/100g, druge ogledne grupe do  $37,64 \pm 1,29$  mg N/100g i treće ogledne grupe  $38,39 \pm 1,36$  mg N/100g, gde su sve vrednosti bile veće od granične vrednosti (30 mg N/100g) (grafikon 6.12). Kod kontrolne grupe uzorka dvanaestog dana sadržaj ukupnog isparljivog azota bio je  $38,79 \pm 1,65$  mg N/100g (KI grupa),  $37,63 \pm 1,06$  mg N/100g (KII grupa) i  $37,77 \pm 1,48$  mg N/100g (KIII grupa) (veći od granične vrednosti) (grafikon 6.13).



**Grafikon 6.12.** Promene prosečnog sadržaja ukupnog isparljivog azota tokom skladištenja

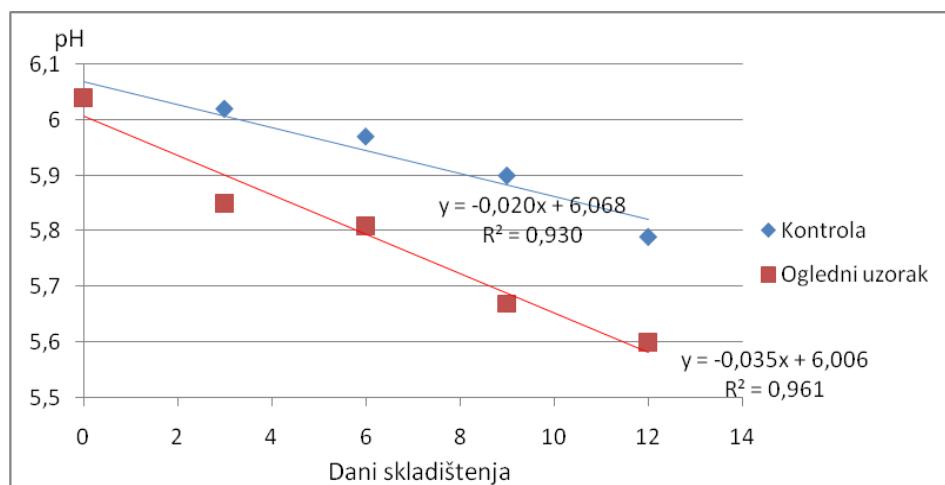
I kod ogledne i kod kontrolne grupe uzorka mlevenog mesa devetog dana skladištenja sadržaj ukupnog isparljivog azota bio je iznad preporučenih vrednosti za svinjsko meso (30 mg N/100g). Naši rezultati istraživanja su pokazali da CO<sub>2</sub> inhibira rast mikroorganizama i/ili smanjuju njihovu sposobnost da vrše oksidativnu dezaminaciju neproteinskih azotnih jedinjenja, s obzirom da je čak veći sadržaj ukupno isparljivog azota utvrđen u uzorcima pakovanim u vakuumu u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu.



**Grafikon 6.13.** Promene prosečnog sadržaja ukupnog isparljivog azota tokom skladištenja

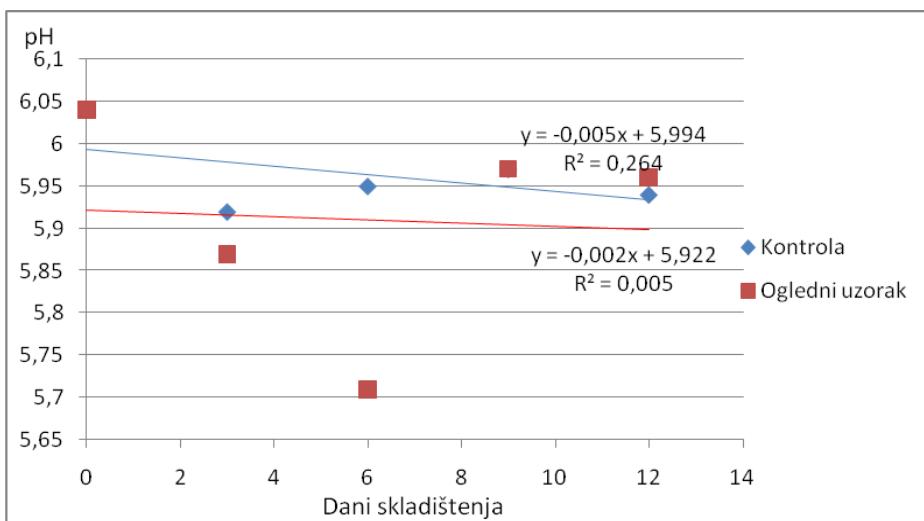
### 6.3.2. Promena pH vrednosti svinjskog mesa tokom skladištenja

Kvalitet mesa je termin koji sveobuhvatno opisuje biohemiske, hemiske i fizičko-hemiske karakteristike mesa (Honikel, 1999). Skup faktora koji utiču na tok i intenzitet postmortalnih promene je veoma širok a složeni biohemiski procesi utiču na kvalitet mesa među kojima je i pH vrednost. Meso dobrog kvaliteta ima pH vrednost oko 6,2, dok se pri vrednosti 6,7 meso smatra nejestivim (Surmei i Usturoi, 2012). Usled mikrobiološke aktivnosti, pre svega bakterija mlečne kiseline stvaraju se sirćetna kiselina i druge organske kiseline (Truelstrup Hansen i sar., 1996). S obzirom da su ovi produkti razgradnje kisela jedinjenja, pH vrednost svinjskog mesa tokom skladištenja opada u vakuumu gde laktobacili čine dominantnu mikrofloru (grafikon 6.14).



**Grafikon 6.14.** Promene prosečne pH vrednosti uzoraka svinjskog mesa u vakuumu

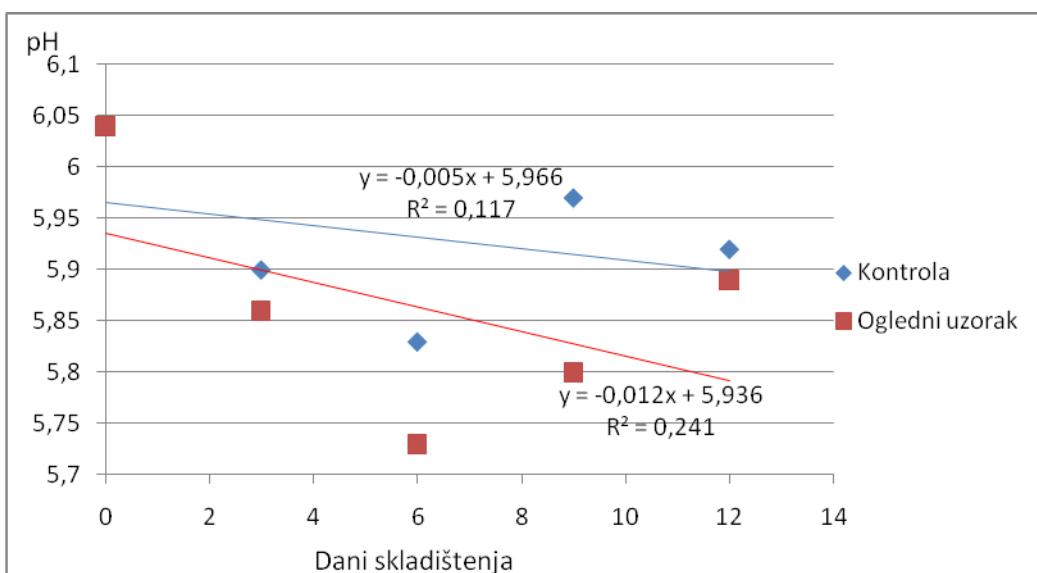
Međutim, prilikom pakovanja mesa i proizvoda od mesa u smeše gasova koja sadrži ugljen dioksid, dolazi do smanjenja pH vrednosti, sa jedne strane kao posledica rastvorljivosti ugljen dioksida u tkivima, gde nastaje ugljena kiselina koja posledično dovodi do snižavanja pH, ali i zbog antimikrobne aktivnosti CO<sub>2</sub>, koja dovodi do inhibicije rasta mikroorganizama usled čije bi mikrobiološke aktivnosti došlo do nakupljanja baznih komponenti koji bi inače nastajali mikrobiološkom razgradnjom (Goulas i Kontominas, 2007a) (grafikon 6.15).



**Grafikon 6.15.** Promene prosečne pH vrednosti uzorka svinjskog mesa u MAP 1

U našim istraživanjima na početku skladištenja, nulti dan, prosečna pH vrednost u svim ispitivanim grupama bila je  $6,04 \pm 0,01$ . Trećeg dana skladištenja prosečna pH vrednost u oglednim uzorcima kretala se od  $5,85 \pm 0,01$  (OI grupa) do  $5,87 \pm 0,01$  (OII grupa). Prosečna pH vrednost, šestog dana skladištenja bila je statistički značajno veća ( $p < 0,01$ ) u uzorcima OI grupe ( $5,81 \pm 0,01$ ) u odnosu na uzorce OII ( $5,71 \pm 0,02$ ) i OIII grupe ( $5,73 \pm 0,02$ ). Devetog i dvanaestog dana prosečna pH vrednost je opadala u sve tri ogledne grupe uzorka (OI, OII i OIII). Rezultati ukazuju na tendenciju blagog opadanja pH vrednosti u funkciji vremena što je u skladu sa činjenicom da se ugljen dioksid rastvara u tkivima, gde dolazi do stvaranja ugljene kiseline koja posledično dovodi do snižavanja pH vrednosti, što je u saglasnosti sa ispitivanjima Arashisar-a i sar. (2004) i Masniyom-a i sar. (2002). Nultog dana skladištenja, prosečna pH vrednost u kontrolnim uzorcima bila je  $6,04 \pm 0,01$ . Nakon trećeg dana skladištenja, uzorci KI grupe ( $6,02 \pm 0,01$ ) imali su statistički ( $p < 0,01$ ) veću pH vrednost u odnosu na uzoreke KII ( $5,92 \pm 0,01$ ) odnosno KIII grupe ( $5,90 \pm 0,01$ ). Prosečna pH vrednost u kontrolnim uzorcima, nakon šestog dana skladištenja bila je statistički znatno niža ( $p < 0,01$ ) u uzorcima KIII grupe ( $5,83 \pm 0,01$ ) u odnosu na uzorek KI ( $5,97 \pm 0,01$ ) odnosno KII grupe ( $5,95 \pm 0,01$ ). Devetog dana skladištenja, kao i dvanaestog dana, prosečna pH vrednost KI grupe je bila statistički znatno niža u odnosu na KII ( $5,94 \pm 0,01$ ) odnosno KIII grupu ( $5,92 \pm 0,01$ ). U istraživanju koje su sproveli Fredriksson-Ahomaa i saradnici (2012) prosečna pH vrednost je nultog dana skladištenja bila 6,3. Nakon trinaest dana skladištenja, prosečna pH vrednost je opadala i imala prosečnu vrednost od 5,7. Ovi

rezultati se slažu sa rezulatima naših ispitivanja jer je prosečna pH vrednost u uzorcima pakovanih u MAP 2 opadala tokom svih dvanaest dana skladištenja (grafikon 6.16).



**Grafikon 6.16.** Promene prosečne pH vrednosti uzorka svinjskog mesa u MAP 2

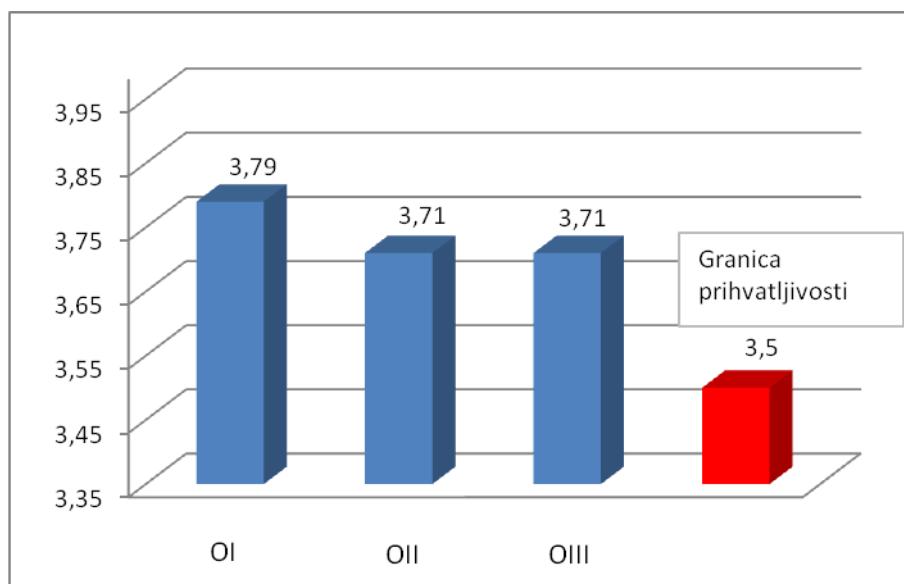
Iz naši rezultata se može videti da je najniža prosečna pH vrednost bila u uzorcima pakovanih u vakuum, zatim u MAP 2 a najviša vrednost je zabeležena kod uzorka pakovanih u MAP 1.

#### 6.4 OCENA PRIHVATLJIVOSTI MIRISA

Ispitivanje senzornih osobina mesa jedan je od najčešćih načina da se utvrди svežina, jer se na brz i jednostavan način trenutno dobija informacija o kvalitetu proizvoda (Samoui i sar., 2011). Na miris mesa utiču genetske razlike između rasa svinja, vrsta mišića kao i postmortalni procesi (<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija-2/senzorne-karakteristike-mesa>). Sirovo meso ima slabu aromu. Ona se razvija tek prilikom njegove termičke obrade. Sveže, sirovo svinjsko meso (izuzev mesa nekastriranih mužjaka) gotovo je bez mirisa. Svinjsko meso ima često karakterističan miris. Meso koje se skladišti (nesmrzavano) dobija karakterističan miris. Zbog dužeg skladištenja i pod nepovoljnim uslovima, stvara se obično, prvo kiseo, a zatim proteolitički ili miris truleži, a pod određenim uslovima i užegli miris. U isparljive aromatične materije spadaju karbonili, masne kiseline i sumporna jedinjenja. Ispravljeni (mirisni) sastojci se stvaraju u mesu i proizvodima od mesa. Isparljive sastojke mesnog ekstrakta čine

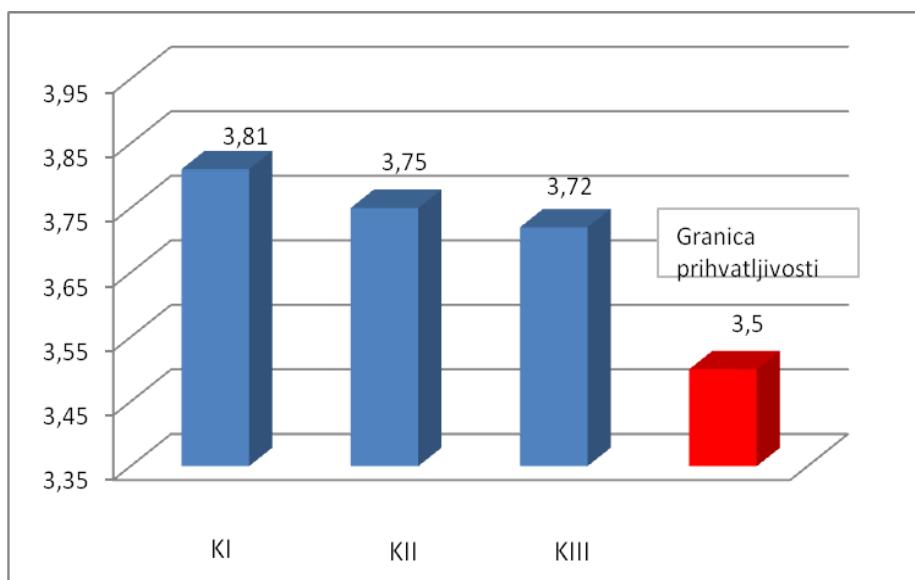
karbonilna i sumporna jedinjenja, organske kiseline, alkoholi i amonijak. Karbonilna frakcija obuhvata aceton, metiletiketon i diacetil kao i niz normalnih aldehida i aldehida sa razgranatim lancima. Sumporna frakcija sadrži vodonik-sulfid, metan-etiol, etan-etiol i di-metil-sulfid. Kisela frakcija se sastoji od n-alkanskih kiselina (C1 – C4) i izobuterne kiseline, a od alkohola se nalazi metanol i etanol. Karbonilne supstance, supstance koje sadrže sumpor predstavljaju glavne sastojke mirisa i ukusa. Samo mala frakcija aminokiselina je isparljiva. Postoji i grupa jedinjenja koja još više ističe ukus mesa. To su natrijum-glutamat, di-natrijum-inozinat i di-natrijum-gvanilat.

Na početku skladištenja prosečna ocena ukupne prihvativosti mirisa mlevenog mesa bila je  $6,63 \pm 0,21$  (maksimalna moguća ocena je 7). U toku skladištenja prosečne ocene prihvativosti mirisa su se smanjivale tako da su devetog dana bile iznad prihvativije vrednosti (ocena 3,5) odnosno kretale su se kod ogledne grupe od  $3,71 \pm 0,18$  (OIII grupa) do  $3,79 \pm 0,30$  (OI grupa) (grafikon 6.) a kod kontrolne grupe od  $3,72 \pm 0,24$  (KIII grupa) (grafikon 6.17) do  $3,81 \pm 0,21$  (KI grupa).



**Grafikon 6.17.** Prosečne senzorne ocene ukupne prihvativosti mirisa svinjskog mesa oglednih uzoraka

Devetog dana skladištenja na osnovu ukupne prihvatljivosti mirisa mesa svinja ustanovljen je kvar u svim ispitivanim oglednim i kontrolnim uzorcima, pri čemu su kontrolni uzorci imali veću ocenu prihvatljivosti (grafikon 6.18).



**Grafikon 6.18.** Prosečne senzorne ocene ukupne prihvatljivosti mirisa svinjskog mesa kontrolnih uzoraka

## 7. ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata ispitivanja zaključeno je sledeće:

1. Porast broja bakterija *Yersinia enterocolitica* zabeležen je u svim grupama eksperimentalno kontaminiranih uzoraka a zatim pakovanog svinjskog mesa u toku dvanaestodnevnog skladištenja, ali je bio veći u uzorcima pakovanih u vakuumu u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu.
2. Intenzivniji porast broja bakterija *Yersinia enterocolitica* kod eksperimentalno kontaminiranih uzoraka svinjskog mesa, bez obzira na način pakovanja, zapažen je posle šestog dana skladištenja. Kod oglednih i kontrolni grupe uzoraka pakovanog svinjskog mesa takođe je intenzivniji porast broja enterobakterija zabeležen posle šestog dana skladištenja a bakterija mlečne kiseline već posle trećeg dana skladištenja. Promena ukupnog broja bakterija u toku skladištenja pakovanog svežeg svinjskog mesa bila je najmanje izražena.
3. U oglednim uzorcima pakovanog svinjskog mesa ukupan broj bakterija bio je svih dana skladištenja veći od ukupnog broja bakterija u kontrolnim pakovanim uzorcima svinjskog mesa, što nije bilo izraženo pri poređenju broja enterobakterija, odnosno broja bakterija mlečne kiseline u oglednim i kontrolnim pakovanim uzorcima svinjskog mesa.
4. Sadržaj ukupnog isparljivog azota u uzorcima pakovanog svinjskog mesa značajnije je rastao posle šestog dana skladištenja kada je u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima zapažen intenzivniji porast *Yersinia enterocolitica*, odnosno kada je u svim grupama uzoraka uočen i intenzivniji porast enterobakterija. Sadržaj ukupnog isparljivog azota bio je veći u uzorcima svinjskog mesa pakovanog u vakuumu u odnosu na uzorke koji su pakovani u modifikovanu atmosferu. Devetog dana skladištenja sadržaj ukupnog isparljivog azota u svim grupama uzoraka, oglednih i kontrolnih, bio je iznad granične vrednosti za sveže svinjsko meso.
5. U toku skladištenja u svim grupama uzoraka pakovanog svinjskog mesa zapaženo je smanjenje pH vrednost, a bilo je najizraženije u uzorcima pakovanim u vakuum u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanoj atmosferi.
6. Senzorna ocena prihvatljivosti mirisa pakovanog svinjskog mesa bila je šestog dana skladištenja znatno iznad granice prihvatljivosti, devetog dana skladištenja na

graničnoj vrednosti a dvanaestog dana skladištenja ispod granične vrednosti prihvatljivosti.

7. Do šestog dana skladištenja svinjskog mesa pakovanog u vakuum odnosno modifikovanu atmosferu ne dolazi do značajnijih promena bakteriološkog statusa niti znakova kvara kako oglednih (eksperimentalno kontaminiranih uzoraka sa *Yersinia enterocolitica*) tako i kontrolnih uzoraka. Daljim skladištenjem u oglednim uzorcima dolazi do povećanja broja *Yersinia enterocolitica*. U kontrolnim i oglednim grupama uzoraka pakovanog svinjskog mesa dolazi do povećanja broja svih ispitivanih grupa bakterija, povećanja sadržaja ukupnog isparljivog azota i znatnih promena mirisa.

## **8. SPISAK LITERATURE:**

1. Abdel-Haq N. M, Papadopol R, Asmar BI, BrownWJ. (2006). Antibiotic susceptibilities of *Yersinia enterocolitica* recovered from children over a 12-year period. *Int J Antimicrob Agents* 27:449–52.
2. Ackers M. L., S. Schoenfeld, J. Markman (2000a). “An outbreak of *Salmonella* O:8 infections associated with pasteurized milk,” *Journal of Infectious Diseases*, 181, 5, 1834–1837.
3. Ackers, M.L., Schoenfeld, S., Markman, J., Smith, M.G., Nicholson, M.A., DeWitt,W., Cameron, D.N., Griffin, P.M., Slutsker, L., (2000b). An outbreak of *Yersinia enterocolitica* O:8 infections associatedwith pasteurized milk. *J. Infect. Dis.* 181,1834–1837.
4. Adam K. H., Flint S. H., Brightwell G., (2010). Psychrophilicand pshychrothrophic clostridia: sporulation and germinationprocess and their role in spoilage of chilled, vacuum-packaged beef, lamb and venison. *International Journal of Food Science and Technology*, 45,1539–1544.
5. Allen, C.D., Fletcher D.L., Northcutt J. K., Russell S.M., (1998). The relationship of broiler breast meat colour to meat quality and shelf-life. *Poultry Science* 77, 361-366.
6. Aleksić, S., Bockemuhl, J., (1984), Proposed revision of the Wauters et al. antigenicscheme for serotyping of *Yersinia enterocolitica*. *J. Clin. Microbiol.* 20, 99–102.
7. Aleksić, S., Bockemuhl, J., Lange, F., (1986). Studies on the serology of flagellarantigens of *Yersinia enterocolitica* and related *Yersinia* species. *Zentralbl Bakt.Hyg A* 261, 299–310.
8. Aleksić, S., Bockemuhl, J., (1987a), Diagnostic importance of H-antigens in *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* species. *Contr. Microbiol immunol* 9, 279–284.

9. Aleksić, S., Steigerwalt, A.G., Bockemuhl, J., Huntley-Carter, G., Brenner, D.J., (1987b). *Yersinia rohdei* sp. nov. isolated from human and dog feces and surface water. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 4.
10. Aleksić, S., Suchan, G., Bockemuhl, J., Aleksic, V., (1991). An extended antigenic scheme for *Yersinia pseudotuberculosis*. *Contr. Microbiol immunol* 12, 239–243.
11. Aleksić, S., (1995), Occurrence of *Y. enterocolitica* antigens O:3, O:9 and O:8 in different *Yersinia* species, their corresponding H antigens and origin. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 13, 89–92.
12. Aleksić, S., Bockemuhl, J., (1999), *Yersinia and other Enterobacteriaceae*, In: Murray, P.R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C., Yolken, R. H., (Ed.) *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 483–491.
13. Ananchaipattana, C., Hosotani, Y., Kawasaki, S., Pongsawat, S., Latiful, B. M., Isobe, S., et al. (2012a). Bacterial contamination of soybean curd (tofu) sold in Thailand. *Food Science and Technology Research*, 18(6), 843-848.
14. Ananchaipattana, C., Hosotani, Y., Kawasaki, S., Pongsawat, S., Latiful, B. M., Isobe, S., et al. (2012b). Prevalence of foodborne pathogens in retailed foods in Thailand. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(9), 835-840.
15. Andualem B, Geyid A. (2005). Antimicrobial responses of *Yersinia enterocolitica* isolates in comparison to other commonly encountered bacteria that causes diarrhoea. *East Afr Med J* 82:241–6.
16. Annamalai, T., Venkitanarayanan, K. (2005). Expression of major cold shockproteins and genes by *Yersinia enterocolitica* in synthetic medium and foods. *Journal of Food Protection*, 68(11), 2454-2458.
17. Anon., Pravilnik o kvalitetu "Sl. list SCG", br. 56/2003, 4/2004 – dr. pravilnik, 5/2004 – ispr. i 16/2005.
18. Anon, EFSA (2006a): The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005. *The EFSA Journal* 94,5, 223.
19. Anon, EFSA (2006b). (European Food Safety Agency) The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents,

- Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2005, The EFSA Journal 94:3–288.
20. Anon, EFSA, (2007a), (European Food Safety Agency) The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. The EFSA Journal 130, 206–212.
21. Anon, EFSA, (2007b), (European Food Safety Authority) Scientific Opinion of the Panel on BIOHAZ on a request from EFSA on monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia spp*. The EFSA Journal 595, 1–30.
22. Anon, EFSA (2009a) The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007., EFSA Journal, 223, 8–13.
23. Anon., EFSA, (2009b). Community report on trends & sources of zoonoses and zoonotic agents in the EU in 2007. The EFSA Journal, 223.
24. Anon (2009c). [http://www.oldmaster85.com/history\\_of\\_fishing.htm](http://www.oldmaster85.com/history_of_fishing.htm)
25. Anon., EFSA (2012) The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Agents and food-borne Outbreaks in 2010. EFSA Journal 10 (3):2597.
26. Arashisar, S., Hisar, O. Kaya, M. Yanik, T. (2004). Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 97, 209-214.
27. Azeredo Henriette M.C. (2013). Antimicrobial nanostructures in food packaging, Trends in Food Science & Technology 30, 56-69.
28. Babić J, Dimitrijević M, Milijašević M, Đorđević V, Petronijević, Grbić S, Spirić A. (2013). Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on selected chemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and carp (*Cyprinus carpio*) cuts freshness, Hemijska industrija, (00):30-30.
29. Baltić Tatjana (2014). Ispitivanje uticaja mariniranjana rast *Salmonella* vrsta u mesu brojlera, doktorska disertacija, Beograd.

30. Baltić Ž. M., Đurić J., Karabasil N., Marković R., Mirilović M., Pavličević N., 2010. Istorijski osvrt na proizvodnju mesa u Srbiji, Zbornik radova i kratkih sadržaja, 21. savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor, 249-259.
31. Baltić, T., Borović B., Spirić D., Parunović N, Karan D., Mitrović R.admila, Radičević T., (2012). Uticaj vakuum pakovanja na mikrobiološki status i senzorska svojstva svežeg junećeg mesa. Tehnologija mesa,2, 103-111.
32. Baltić M.Ž., Ivanović, J, Dokmanović M., Marković R., Todorović M., Lončina, J., Bošković, M., (2013a). *Yersinia enterocolitica*- Izvori i putevi kontaminacije trupova svinja, Savremena poljoprivreda, 62, 1-2, 109-117.
33. Baltić Ž. M., Bošković M., Ivanović J., Dokmanović M., Janjić J., Lončina J, Baltić T., (2013b). Nanotechnology and its potential applications in meat industry, "Tehnologija mesa", 54, 2,168-175.
34. Bansal N., I. Sinha, and J. S. Virdi, (2000). "Virulence plasmid (pYV)-associated susceptibility of *Yersinia enterocolitica* to chlorine and heavy metals," *Journal of AppliedMicrobiology*, 89, 4, 663–667
35. Bari Md. Latiful, Hossain, M. Anwar, Isshiki Kenji, Ukuku Dike, (2011). Behavior of *Yersinia enterocolitica* in Food, *Journal of Pathogens*, 2011, 13.
36. Bell GR, Penney N, Moorhead SM. (1995). Growth of the psychrotrophic pathogens *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* on smoked blue cod (*Parapercis colias*) packed under vacuum or carbon dioxide. *International Journal of Food Science and Technology*. 1995;30:515-521.
37. Bercovier, H., Ursing, J., Brenner, D.J.,Steigerwalt, A.G., Fanning, G.R.,Carter, G., P., Mollaret, H.H., (1980).*Yersinia kristensenii*: a new species of Enterobacteriaceae composed of sucrose-negative strains (formerly called atypical *Yersinia enterocolitica* or *Yersinia enterocolitica*-like. *Curr. Microbiol.* 4,219–224.
38. Bercovier, H., Mollaret, H.H., Alonso, J.M., Brault, J., Fanning, G.R., Steigerwalt, A.G., Brenner, D.J., (1981). In Validation of the publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSB. List no. 7.*Int. J. Syst. Bacteriol.* 31, 382–383.

39. Bercovier H. and Mollaret H.H, (1984). Genus XIV. *Yersinia*, in Krieg N R, Bergeys manual of systematic bacteriology, vol. 1, Baltimore, Md, Williams & Wilkins, 498-506.
40. Bercovier, H., Steigerwalt, A.G., Guiyoule,A., Huntley-Carter, G., Brenner, D.J.,(1984). *Yersinia aldovae* (formerly *Yersinia enterocolitica*-like group X2): a new species of Enterobacteriaceae isolated from aquatic ecosystems. Int. J. Syst. Bacteriol. 2, 166–172.
41. Bhaduri S, Turner-Jones C. (1993). The effect of anaerobic atmospheres on the stability of the virulence-related characteristics in *Yersinia enterocolitica*. *Food Microbiology*, 10:239-242.
42. Bhaduri, S., (2005). “Survival, injury, and virulence of freeze-stressedplasmid-bearing virulent *Yersinia enterocolitica* in ground pork,” Foodborne Pathogens and Disease, 2, 4, 353–356.
43. Bhaduri,S. (2011). “Effect of salt and acidic pH on the stability of virulence plasmid (pYV) in *Yersinia enterocolitica* and expression of virulence-associated characteristics,” Food Microbiology, 28, 1,171–173.
44. Bjorkroth Johanna, (2005). Microbiological ecology of marinated meat products. Meat Science 70, 477–480.
45. Bodnaruk, P.W and Draughon F.A. (1998). Effect of packaging atmosphere and pH on the virulence and growth of *Yersinia enterocolitica* on pork stored at 4 °C. Food Microbiology, 15, 129-136.
46. Bonardi S., Brindani F., Pizzin G., Lucidi L., D’Incau M., Liebana E., Morabito S., (2003). Detection of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* 0157 in pigs in slaughter in Italy. Int. J. Food Microbiol., 85, 101-110.
47. Borm PJ, Robbins D, Haubold S, Kuhlbusch T, Fissan H, Donaldson K, Schins R, Stone V, Kreyling W, Lademann J, Krutmann J, Warheit D, Oberdorster E. (2006). The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. Part Fibre Toxicol 14:3–11.
48. Bottone E. J., (1997). “*Yersinia enterocolitica*: the charisma continues,” Clinical Microbiology Reviews, 10, 2, 257–276.

49. Bouwmeester H, Dekkers S, Noordam MY, Hagens WI, Bulder AS, de Heer C. (2009). Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. *Regul Toxicol Pharmacol* 53:52–62.
50. Brenner, D.J., Steigerwalt, A.G., Falxo, D.P., Weaver, R.E., Fanning, G.R., (1976). Characterization of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* by deoxyribonucleic acid hybridization and by biochemical reactions. *Int. J. Syst.Bacteriol.* 26, 180–194.
51. Brenner, D.J., Ursing, J., Bercovier, H., Steigerwalt, A.G., Fanning, G.R., Alonso, J.M., Mollaret, H.H., (1980). Deoxyribonucleic acid relatedness in *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like organisms. *Curr.Microbiol.* 4, 195–200.
52. Brocklehorst, T.F., and Lund, B.M (1990). The influence of pH, temperature and organic acid on the initiation of growth of *Yersinia enterocolitica*. *J Appl Bacteriol* 69:390-397.
53. Butler T., M. Islam, M. R. Islam (1984). “Isolation of *Yersinia enterocolitica* and *Y. intermedia* from fatal cases of diarrhoeal illness in Bangladesh,” *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 78, 4, 449–450.
54. Byun, J. W., Yoon, S. S., Lim, S. K., Lee, O. S., & Jung, B. Y. (2011). Hepatic yersiniosis caused by *Yersinia enterocolitica* 4:O3 in an adult dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(2), 376-378.
55. Carniel E., Guinet F., Leclercq A., Savin C., (2007). Rapport Annuel d’Activités Centre National de Référence pour la peste et autres yersinioses, 19.
56. Carrero-Sanchez J, Elias A, Mancilla R, Arrellin G, Terrones H, Laclette J, Terrones M. (2006). Biocompatibility and toxicological studies of carbon nanotubes doped with nitrogen. *Nano Lett* 6:1609–16.
57. Cerveny J., Meyer J.D., Hall P.A., (2009). Microbiological Spoilage of Meat And Poultry Products U: Compendium Of The Microbiological Spoilage, Of Foods And Beverages. *Food Microbiology and Food Safety*, W.H. Sperber and M.P. Doyle (Eds.). Springer Science and Business Media, NY, 69-868.

58. Connell, J. J., (1990). Methods of assessing and selecting for quality. In: J. J. Connell (Ed.), Control of fish quality, 3<sup>rd</sup> ed., Oxford: Fishing News Books. pp. 122–150.
59. Conte-Junior C. A., B. T. Macedo, M. M. Lopes (2010.) “Effect of modified atmosphere packaging on the growth/survival of *Yersinia enterocolitica* and natural flora on fresh poultry sausage,” in *Book Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, A. Mendaz-Vilas, Ed., 1217–1223.
60. Cutter, C.N. (2002). Microbial control by packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(2):151-161.
61. Dainelli, D., Gontard, N., Spyropoulos, D., Zondervan-van den Beuken, E., Tobback, P. (2008). Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Review in Trends in Food Science & Technology*, 19, S99-S108.
62. Dallal, M. M. S., Doyle, M. P., Rezadehbashi, M., Dabiri, H., Sanaei, M., Modarresi, S., et al. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serotypes, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran. *Food Control*, 21(4), 388-392.
63. Dave D. i Ghaly A.E., (2011). Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review, *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 6 (4), 486-510.
64. Dokmanović Marija (2012). Ispitivanje zavisnosti između stresa i kvaliteta mesa svinja, doktorska disertacija, Beograd.
65. Doherty A, Sheridan JJ, Allen P, McDowell DA, Blair YS, Harrington D. (1995). Growth of *Yersinia enterocolitica* O:3 on modified atmosphere packaged lamb. *Food Microbiology*. 12:251-257.
66. Doulgeraki A. I., Ercolini D., Villani F., Nychas G. J E., (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 130–141.
67. Doyle M. E., (2007). Microbial Food Spoilage – Losses and Control Strategies; *A Brief Review of the Literature*. FRIBRIEFINGS Food Research Institute,

University of Wisconsin–Madison.

[http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRI\\_Brief\\_Microbial\\_Food\\_Spoilage\\_707.pdf](http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRI_Brief_Microbial_Food_Spoilage_707.pdf).

68. Enfors S. O., Molin G., Ternstroem A., (1979). Effect of packaging under carbon dioxide,nitrogen or air on the microbial flora of pork stored at 4 °C. *Journal of Applied Bacteriology*, 47, 197–208.
69. Erkan, N., Özden, Alakavuk, D.Ü., Yildirim, Ş.Y., İnuğur, M. (2006). Spoilage and shelf life of sardines (*Sardina pilchardus*) packed in modified atmosphere. *European Food Research Technology*, 222: 667-673.
70. Ercolini D., Russo F., Torrieri E., Masi P., Villani F., (2006). Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 4663–4671.
71. Erkmen O (1996). Survival of virulent *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Turkish feta cheese. *International Journal of Food Microbiology* 33,285–292.
72. Fabian E, Landsiedel R, Ma-Hock L, Wiench K, Wohlleben W, van Ravenzwaay B. (2008). Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats. *Arch Toxicol* 82:151–7.
73. Farber, J. M. (1991). Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology. A review. *Journal of Food Protection* 54, 58-70.
74. Fayaz, A.M., Balaji, K., Girilal, M., Kalaichelvant, P.T. & Venkatesan, R. (2009). Mycobased synthesis of silver nanoparticles and their incorporation into sodium alginate films for vegetable and fruits preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (14), 6246-6252.
75. Fearnley , S. L.W.On, B. Kokotovic, G.Manning, T. Cheasty, and D. G. Newell, (2005). “Application of fluorescent amplified fragment length polymorphism for comparison of human and animal isolates of *Yersinia enterocolitica*,” *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 9, 4960–4965.
76. Fenwick, S., Madie, P., & Wilks, C. (1994). Duration of carriage and transmission of *Yersinia enterocolitica* biotype 4, serotype 0:3 in dogs. *Epidemiology and Infection*, 113(03), 471-477.

77. Fernandez, A., Soriano, E., Lopez-Carballo, G., Picouet, P., Lloret, E., Gavara, R., et al. (2009). Preservation of aseptic conditions in absorbent pads by using silver nanotechnology. *Food Research International*, 42, 1105-1112.
78. Fernandez, A., Picouet, P., & Lloret, E. (2010a). Cellulose silvernanoparticle hybrid materials to control spoilage-related microflora in absorbent pads located in trays of fresh-cut melon. *International Journal of Food Microbiology*, 142, 222-228.
79. Fernandez, A., Picouet, P., & Lloret, E. (2010b). Reduction of the spoilage-related microflora in absorbent pads by silver nanotechnology during modified atmosphere packaging of beef meat. *Journal of Food Protection*, 73(12), 2263-2269.
80. Firouzi R, S. S. Shekarforoush, A. H. K. Nazer, Z. Borumand, and A. R. Jooyandeh, (2007) “Effects of essential oils of oregano and nutmeg on growth and survival of *Yersinia enterocolitica* and *Listeriamonocytogenes* in barbecued chicken,” *Journal of Food Protection*, 70, 11, 2626–2630.
81. Fondrevez, M., Labbe, A., Houard, E., Fraval, P., Madec, F. And Denis, M., (2010). A simplified method for detecting pathogenic *Yersinia enterocolitica* in slaughtered pig tonsils. *Journal of Microbiological Methods*, 83, 244-249.
82. Frederiksen, W., (1964). A study of some *Yersinia pseudotuberculosis* -like bacteria (“*Bacterium enterocoliticum*” and “*Pasteurella X*”). *Scand. Congr. Pathol.Microbiol.* 14, 103- 104.
83. Fredriksson-Ahomaa, M., Autio, T., Korkeala,H., (1999). Efficient subtyping of *Yersinia enterocolitica* bioserotype 4/O:3 withpulsed-field gel electrophoresis. *Lett. Appl. Microbiol.* 29, 308–312.
84. Fredriksson-Ahomaa, M., Korte, T., & Korkeala, H. (2001a). Transmission of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 to pets via contaminated pork. *Letters in Applied Microbiology*, 32(6), 375-378.
85. Fredriksson-Ahomaa M, M. Bucher, C. Hank, A. Stolle, andH. Korkeala (2001b). “High prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4:O3 on pig offal in Southern Germany: a slaughtering techniqueproblem,” *Systematic and AppliedMicrobiology*, 24, 3,457–463.

86. Fredriksson-Ahomaa, M., Hallanvuo, S., Korte, T., Siitonen, A., Korkeala, H., (2001c), Correspondence of genotypes of sporadic *Yersinia enterocolitica* bioserotype 4/O:3 strains from human and porcine sources. *Epidemiol. Infect.* 127, 37–47.
87. Fredriksson-Ahomaa, M., Niskanen, T., Neubauer, H., Laukkanen, R., Korkeala, H., (2002). Characterisation of sucrosenegative *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 isolates recovered from pig tonsils. *Int. J. Food Microbiol.* 75, 19–25.
88. Fredriksson-Ahomaa and H. Korkeala, (2003a) “Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem,” *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 2, 220–229.
89. Fredriksson-Ahomaa M. and H. Korkeala, (2003b). “Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3,” *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 529, 295–302.
90. Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., Korkeala, H., (2006a). Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 47, 315–329.
91. Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., Siitonen, A., Korkeala, H., (2006b) Sporadic human *Yersinia enterocolitica* infections caused by bioserotype 4/O:3 originate mainly from pigs. *J. Med. Microbiol.* 55, 747–749.
92. Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., Stephan, R., (2007). Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pigs slaughtered at a Swiss abattoir. *Int. J. Food Microbiol.* 119, 207–212.
93. Fredriksson-Ahomaa, M., Murros- Kontiainen, A., Sade, E., Puolanne, E., Bjorkroth, J., (2012) High number of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in cold-stored modified atmosphere-packed pig cheek meat. *Int. J. Food Microbiol.* 115, 69–72.
94. Fung D.Y., (2010). Microbial hazards in food: food-borne infections and intoxications. In: Toldra, F. (Ed.), *Handbook of Meat Processing*. Blackwell Publishing, USA, 481–500.
95. Fukushima, H., Matsuda, Y., Seki, R., Tsubokura, M., Takeda, N., Shubin, F.N., Paik, I.K., Zheng, X.B., (2001). Geographical heterogeneity between Far Eastern and Western countries in prevalence of the virulence plasmid, the superantigen

- Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen, and the high-pathogenicity island among *Yersinia pseudotuberculosis* strains. J. Clin. Microbiol. 39, 3541– 3547.
96. Garcia-Lopez, M.L., M. Prieto and A. Otero, (1998). The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products. In: The microbiology of meat and poultry, A. Davies and R. Board (Eds.), London: Blackie Academic and Professional, 1-34.
97. Geiser M, Rothen-Rutishauser B, Kapp N, Schurch S, Kreyling W, Schulz H, Semmler M, Im Hof V, Heyder J, Gehr P. (2005). Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. Environ Health Perspect 113:1555–60.
98. Gill, C. O., and M. P. Reichel. (1989). Growth of the cold-tolerant pathogens *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high-pH beef packaged under vacuum or carbon dioxide. Food Microbiol., 6:223-230.
99. Gomolka-Pawlicka,M., and Uradzinski, J., (2003). Antagonistic effect of chosen lactic acid bacteria strains on *Yersinia enterocolitica* species in model set-up, meat and fermented sausages. Pol J Vet Sci, 6, 99-108.
100. Gordon, T., Perlstein, B., Houbara, O., Felner, I., Banin, E., & Margel, S. (2011). Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and EngineeringAspects, 374, 1-8.
101. Grahek-Ogden D, Nygård K, Lassen J. (2006). Outbreak of *Yersinia enterocolitica* O:9 infections in the counties of Vestfold and Østfold [in Norwegian],[Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norway]Communicable Diseases Report. 34:7.
102. Grahek-Ogden D, B. Schimmer, K. S. Cudjoe, K. Nygård, and G. Kapperud, (2007). “Outbreak of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:9 infection and processed pork, Norway,” *Emerging Infectious Diseases*, 13, 5, 754–756.
103. Greene, C. E. (2006). Infectious diseases of the dog and cat. WB Saunders, Elsevier Science.

104. Gurr JR, Wang AS, Chen CH, Jan KY. (2005). Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology* 213:66–73.
105. Gutler, M., Alter, T., Kasimir, S., Linnebur, M., & Fehlhaber, K. (2005). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in fattening pigs. *Journal of Food Protection*, 68(4), 850-854.
106. Goulas, A. E., Chouliara, I., Nessi, E., Kontominas, M. G., & Savvaidis, I. N. (2005). Microbiological, biochemical and sensory assessment of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packaging. *Journal Applied Microbiology*, 98, 752–760.
107. Goulas, A.E. and Kontominas, M.G. (2007). Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on the shelf-life of refrigerated chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *European Food Research Technology*, 224: 545-553 .
108. Hayashidani, Y. Ishiyama, T. A. Okatani et al., “Molecular genetic typing of *Yersinia enterocolitica* serovar O:8 isolated in Japan, (2003)” *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 529, 363–365.
109. Hayashida, H., Iwata, T., Yamaguchi, S., Hara-kudo, Y., Okatamni, T.A., Watanabe, M., Lee,K., Kumagai, S. (2008). Survival of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in vacuum-packed or non-vacuum-packed pork at low temperature. *Biocontrol Sci.* 13(4).139-44.
110. Helland A, Wick P, Koehler A, Schmid K, Som C. (2007) Reviewing the environmental and human health knowledge base of carbon nanotubes. *Environ Health Perspect* 115:1125–31.
111. Hoet PH, Bruske-Hohlfeld I, Salata OV. (2004). Nanoparticles – known and unknown health risks. *J Nanobiotechnol* 2:1–15.
112. Honikel H.O., (2006). Conversion of muscle to meat. In: Jenser WK, ed., *Encyclopedia of Meat Science*. New York: Elsevier, 314-318.
113. Hudson AJ, Mott SJ, Penney N. (1994). Growth of *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, and *Yersinia enterocolitica* on vacuum and saturated carbon dioxide controlled atmosphere-packaged sliced roast beef. *Journal of Food Protection*. 57:204-208.

114. Hunt G, Mehta MD, editors. (2006). Nanotechnology: risk, ethics and law. Earthscan.
115. Huovinen E, Sihvonen LM, Virtanen MJ, Haukka K, Siitonen A, Kuusi M. (2010). Symptoms and sources of *Yersinia enterocolitica*-infection: a case-control study. BMC Infect Dis 10:122.
116. Hussein HM, Fenwick SG, Lumsden JS. (2001). A rapid and sensitive method for the detection of *Yersinia enterocolitica* strains from clinical samples. Lett Appl Microbiol 33:445–9.
117. Ivanović Jelena, Baltić Milan Ž., Karabasil Neđeljko, Dimitrijević Mirjana, Antić Nenad, Janjić Jelena, Đorđević Jasna (2013). Ispitivanje mikrobiološke kontaminacije površina koje dolaze u kontakt sa mesom u objektu za preradu mesa Tehnologija mesa, 54, 2, 110-116.
118. Ivanović Snežana, Teodorović Vlado, Milan Ž. Baltić (2012). Kvalitet mesa, Naučna KMD, Beograd.
119. Iyad A. El Quouqa, Mahmoud A. El Jarou, Ahmed S. Abu Samaha, Ahmed S. Al Afifi, Abdel Moati Kh. Al Jarousha, (2011). *Yersinia enterocolitica* infection among children aged less than 12 years: a case-control study, International Journal of Infectious Diseases 15, e48–e53.
120. Jackson, V., Blair, I., McDowell, D., Kennedy, J., & Bolton, D. (2007). The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators. Food Control, 18(4), 346-351.
121. Jani P, McCarthy D, Florence AT. (1994). Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. Int J Pharm 105:157–68.
122. Jiang, G.C., Kang, D.H., Fung, D.Y.: (2000). Enrichment procedures and plating media for isolation of *Yersinia enterocolitica*. J. Food Protect., 63: 1483-1486.
123. Jin, T., Sun, D., Su, J. Y., Zhang, H., & Sue, H. (2009). Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against *L. monocytogenes*, *S. enteritidis*, and *E. coli* O157:H7. Journal of Food Science, 1,46-52.

124. Jing, Z., Guo, D., Wang, W., Zhang, S., Qi, W., & Ling, B. (2011). Comparative study of titania nanoparticles and nanotubes as antibacterial agents. *Solid State Sciences*, 13, 1797-1803.
125. Johannessen G.S., Kapperud G., Kruse H. (2000): Occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Norwegian pork products determined by a PCR method and a traditional culturing method. *International Journal of Food Microbiology*, 54: 75–80.
126. Jovanovic, Z., Radosavljevic, A., Siljegovic, M., Bibic, N., Miskovic-Stankovic, V., & Kacarevic-Popovic, Z. (2012). Structural and optical characteristics of silver/poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) nanosystems synthesized by g-irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 81, 1720-1728.
127. Kanan T. A. and Z. A. Abdulla, (2009). "Isolation of *Yersinia spp.* from cases of diarrhoea in Iraqi infants and children," *Eastern Mediterranean Health Journal*, 15, 2, 276–284.
128. Keawchafoon, L., & Yoksan, R. (2011). Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84, 163-171.
129. Kendall, M., and Gilbert, R.J (1980) Survival and growth of *Yersinia enterocolitica* in broth media and in food. In *Microbial Growth and Survival in Extremes of Environment*. Gould, G.W., and Corry, J.E.L (eds.). London: Academic Press, 215-226.
130. Kerry J., Butler, P., editors. (2008) Smart Packaging Technology for fast moving consumers good. Chichester, UK: John Wiley and Sons Ltd.
131. Kilibarda Nataša. (2010). Uporedno ispitivanje odabranih parametara kvaliteta u toku skladištenja hladno dimljene pastrmke pakovane u vakuumu i modifikovanoj atmosferi, doktorska disertacija, Beograd.
132. Kim YS, Kim JS, Cho HS, Rha DS, Kim JM, Park JD, Choi BS, Lim R, Chang HK, Chung YH, Kwon IH, Jeong J, Han BS, Yu IJ. (2008). Twentyeight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague–Dawley rats. *Inhal Toxicol* 20:575–83.
133. Kim, Y. S., Song, M. Y., Park, J. D., Song, K. S., Ryu, H. R., Chung, Y. H., et al. (2010). Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Particle and*

- Fibre Toxicology, 7, 20.  
[http://www.particleandfibretoxicology.com/content/pdf/1743-8977-7-20.pdf](http://www.particleandfibretotoxicology.com/content/pdf/1743-8977-7-20.pdf)
134. Kitajima S, Kanno J. (2008). Induction of mesothelioma in p53+/-mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J Toxicol Sci* 33:105–16.
135. Krnjaić D., Asanin Ružica, Plavšić B., (2000). Antigena srodnost gram negativnih bakterija sa pojavom cross reaktivnosti u serološkim reakcijama. *Zbornik naučnih radova, Institut PKB agroekonomik*, 6: 511 - 517
136. Kumar, R., & Münstedt, H. (2005). Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. *Biomaterials*, 26, 2081-2088.
137. Labadie J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Sci*. 52(3):299-305.
138. Lai Kuan Tan, Peck Toung Ooi, Kwai Lin Thong, (2014). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* from food and pigs in selected states of Malaysia, *Food control* 35, 94-100.
139. Lam C, James J, McCluskey R, Hunter R. (2004). Pulmonary toxicity of single walled carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal installation. *Toxicol Sci* 77:126–34.
140. Lambropoulou K. A., Drosinos, E. H., Nychas G. J. E., (1996). The effect of glucose supplementationon the spoilage microflora and chemical composition of minced beefstoredaerobically or under a modifi ed atmosphere at 4°C. *International Journal of Food Microbiology*, 30, 281–291.
141. Leclercq, A., Carniel, E., (2004). Caractéristiques des souches de *Yersinia enterocolitica* reçues au CNR en 2003. Fascicule n°4 du CNR de la peste et autres yersinioses.
142. Lee, W. H. M. E. Harris, and D. McClain, (1980). “Two modified selenite media for the recovery of *Yersinia enterocolitica* from meats,” *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 1, 205–209.
143. Lee, Vanderzant W.H., Stern C., N.: (1981). The occurrence of *Yersinia enterocolitica* in food. *Yersinia enterocolitica*. Boca Raton, Fla, 161-171.
144. Lee, S. M., Lee, B. S., Byun, T. G., & Song, K. C. (2010). Preparation and antibacterial activity of silver-doped organiceinorganic hybrid coatings on

- glass substrates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 355, 167-171.
145. Leistner L., 2000. Food protection by hurdle technology. *International Journal of food Microbiology*, 2, 2–26.
146. Leroi, F., Joffraud, J. (2000). Salt and smoke simultaneously affect chemical and sensory quality of cold-smoked salmon during 5° C storage predicted using factorial design. *Journal of Food Protection*, 63(9), 1222-1227.
147. Lewinski N, Colvin V, Drezek R. (2008). Cytotoxicity of nanoparticles. *Small* 4:26, 26-49.
148. Li M. Y., Zhou G. H., Xu X. L., Li C. B., Zhu W. Y., (2006). Changes of bacterial diversity and main flora in chilledpork during storage using PCR-DGGE. *Food Microbiology*, 23, 607–611.
149. Li, M., Noriega-Trevino, M. E., Nino-Martinez, N., Marambio-Jones, C., Wang, J., Damoiseaux, R., et al. (2011). Synergistic bactericidal activity of Ag<sub>3</sub>TiO<sub>2</sub> nanoparticles in both light and dark conditions. *Environmental Science and Technology*, 45(20), 8989-8995
150. Li, L. H., Deng, J. C., Deng, H. R., Liu, Z. L., & Li, X. L. (2010). Preparation, characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films. *Chemical Engineering Journal*, 160, 378-382.
151. Li, W., Li, X., Zhang, P., & Xing, Y. (2011). Development of nano-ZnO coated food packaging film and its inhibitory effect on *Escherichia coli* in vitro and in actual tests. *Advanced Materials Research*, 152e153, 489-492.
152. Liang, J., Wang, X., Xiao, Y., Cui, Z., Xia, S., Hao, Q., et al. (2012). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in pigs slaughtered in Chinese abattoirs. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2949-2956.
153. Limbo, S., Torri, L., Sinelli, N., Franzetti, L., Casiraghi, E. (2010). Evaluation and predictive modelling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. *Meat Science*, 84, 129-136.
154. Lindqvist Roland (2009). Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in fermented sausages during maturation/storage. *International Journal of Food Microbiology* 129 (1), 59–67.

155. Lončina J, Nedic, D., Ivanovic J., Baltic T., Dokmanovic, M., Djuric, J., Boskovic, M., Baltic M. Ž, (2013), Aktivni sistemi pakovanja mesa i proizvoda od mesa, Veterinarski žurnal Republike Srpske, XIII, 6-16.
156. Long C, Jones TF, Vugia DJ, Scheftel J, Strockbine N, Ryan P, Shiferaw B, Tauxe RV, Gould LH. (2010). *Yersinia pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* infections, FoodNet, 1996–2007. *Emerging Infectious Diseases*. 16:566-567.
157. Lyhs, U. (2002). Lactic acid bacteria associated with the spoilage of fish products, Academic dissertation, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki.
158. Magras C., Vallée T., Leclercq A., Fosse J., (2008). Détection de *Yersinia enterocolitica* sur carcasses de porc: premiers résultats. Journées Rech. Porcine, 40, 79-80.
159. Manu-Tawiah W, Myers DJ, Olson DG, Molins RA.(1993). Survival and growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in pork chops packaged under modified gas atmospheres. *Journal of Food Science*. 58:475-479.
160. Malašević, M., (2012). Ocena rizika i opcije za redukciju rizika od *Yersinia enterocolitica u mesu svinja*, Master rad, Novi Sad
161. Malassez, L., Vignal, W., (1884). Sur le microorganism de la tuberculose zoologique. Arch Physiol Norm Pathol 3 ser. 4, 81–105.
162. Martinez, L., Djamel Djenane, Irene Cilla, José Antonio Beltrán, Pedro Roncalés (2005). Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Meat Science*.71: 3,563–570.
163. Martínez, P.O., Mylona, S., Drake, I., Fredriksson-Ahomaa, M., Korkeala, H., Corry, J.E.L., (2010). Wide variety of bioserotypes of enteropathogenic *Yersinia* in tonsils of English pigs at slaughter. *Int. J. Food Microbiol.* 139, 64–69.
164. Martinez P. O., M. Fredriksson-Ahomaa, A. Pallotti, R. Rosmini,K. Houf, and H. Korkeala, (2011). “Variation in the prevalenceof enteropathogenic

- Yersinia* in slaughter pigs from Belgium, Italy, and Spain," Foodborne Pathogens and Disease, 8, 3, 445–450.
165. Masniyom,P., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2002). Shelf-life extension of refrigerated seabass slices under modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 873-880.
166. Mauricio-Iglesias, M., Peyron, S., Guillard, V., & Gontard, N. (2010). Wheat gluten nanocomposite films as food-contact materials: migration tests and impact of a novel food stabilization technology (high pressure). *Journal of Applied Polymer Science*, 116(5), 2526-2535.
167. McMillin, K.,W. (2008). Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging hor meat. *Meat Science*, 80, 43-65.
168. Mead G.C., 2004. Poultry refrigeration, In: Poultry meat processing and quality, G.C. Mead (Ed.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 164-185.
169. Merhej, V., Adekambi, T., Pagnier, I., Raoult, D.,Drancourt, M., (2008). *Yersinia massiliensis* sp. nov., isolated from fresh water. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 58, 779–784.
170. Mills, J. (2004) *Yersinia enterocolitica*. Enciclopaedia of meat sciences. Elsevier, Oxford, II, 841-820.
171. Mills NL, Amin N, Robinson SD, Anand A, Davies J, Patel D, de la Fuente JM, Cassee FR, Boon NA, Macnee W, Millar AM, Donaldson K, Newby DE. (2006) Do inhaled carbon nanoparticles translocate directly into the circulation in humans? Am J Respir Crit Care Med 173:426–31.
172. Molins, R.A. (2001). Irradiation of meats and poultry. In "Food Irradiation: Principles and Applications," ed. R.A. Molins, p. 469. John Wiley & Sons, Hoboken, N.J.
173. Mollaret H.H, Bercovier H and Alonso J M, (1979). Summary of the data received at the WHO Reference Center for *Yersinia enterocolitica*, Contrib Microbiol Immunol, 5, 174-184.
174. Moriki S, A. Nobata, H. Shibata et al., (2010). "Familial outbreak of *Yersinia enterocolitica* serotype O9 biotype 2," *Journal of Infection and Chemotherapy*, 16, 1, 56–58.

175. Mroz RM, Schins RP, Li H, Jimenez LA, Drost EM, Holownia A, MacNee W, Donaldson K. (2008). Nanoparticle-driven DNA damage mimics irradiation-related carcinogenesis pathways. *Eur Respir J* 31:241–51.
176. Mullan, W.M.A. (2002). Science and technology of modified atmosphere packaging. [On-line] UK: Available <http://www.dairyscience.info/index.php/packaging-/117-modified-atmosphere-packaging.html>
177. Murugadoss, A., & Chattopadhyay, A. (2008). A 'green' chitosan-silver nanoparticle composite as a heterogeneous as well as micro-heterogeneous catalyst. *Nanotechnology*, 19(1), 015603.
178. Nassar, M. A., & Youssef, A. M. (2012). Mechanical and antibacterial properties of recycled carton paper coated by PS/Ag nanocomposites for packaging. *Carbohydrate Polymers*, 89, 269-274.
179. Nel A, Xia T, Madler L, Li N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311:622–7.
180. Nesbakken T., Eckner K. Hoidal H. K., Rotterud O. J., (2003). Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures. *Int. J. Food Microbiol.*, 80, 231-40.
181. Nesbakken, T., (2005); *Yersinia enterocolitica*, in Fratamico P M, Bhunia AK and Smith J L, *Foodborne pathogens: Microbiology and Molecular Biology*, Norwich, UK, Caister Academic Press, 228-249.
182. Neubauer H., Meyer H., Prior J., Aleksic S, Hensel A, Splettstosser W. (2000) A combination of different polymerase chain reaction (PCR) assays for the presumptive identification of *Yersinia pestis*. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*. 2000; 47: 573 - 580.
183. Neuhaus, K., Francis, K. P., Rapposch, S., Görg, A., & Scherer, S. (1999). Pathogenic *Yersinia* species carry a novel, cold-inducible major cold shock protein tandem gene duplication producing both bicistronic and monocistronic mRNA. *Journal of Bacteriology*, 181(20), 6449-6455.

184. Nissen, H., Alvseike, O., Bredholt, S. and Nesbakken, T., (2000). Comparison between growth of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella spp.* In ground beef packed by three commercially used packaging techniques, Int J Food Microbiol, 59,211-20.
185. Nissen, H., Maugesten, T., and Lea, P. (2001). Survival ang growth of *Escherichia coli* 0157:H7, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella enteritidis* on decontaminated and untreated meat. Meat Sci., 57,291-298.
186. Nychas G. J . E., Drosinos E., Board R. G., (1998). Chemicalchanges in stored meat. In:Board, R.G., Davies, A.R.(Eds.), The Microbiology of Meat and Poultry. Blackie.
187. Nychas G. J. E., Skandamis P., (2005). Fresh meat spoilage andmodifi ed atmosphererepackaging (MAP). In: Sofos, J.N.(Ed.), Improving the Safety of Fresh Meat. CRC/Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 461–502.
188. Nychas G. J. E., Skandamis P. N., Tassou C. C., Koutsoumanis K. P., (2008). Meat spoilage during distribution. Meat Science, 78, 77–89.
189. Oskam, G. (2006). Metal oxide nanoparticles: synthesis, characterization and application. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 37, 161-164.
190. Petaja-Kanninen E., Puolanne E., (2007). Principles of MeatFermentation. In: F. Toldra (Ed.) Handbook of Fermented Meat and Poultry. Black well Publishing, 31–36.
191. Petracci M., Baeza E., (2009). Harmonization of methodology of assessment of poultry meat quality features. World's Poultry Science Journal, Volume 67, Issue 01, 137-151.
192. Pin, C., Baranyi, J. and Garcia De Fernando, G. (2000). Predictive model for the growth of *Yersinia enterocolitica* under modified atmosphere. J. Appl. Microbiol. 88, 521-530.
193. Poland C, Duffin R, Kinloch I, Maynard A, Wallace W, Seaton A, Stone V, Brown S, MacNee W, Donaldson K. (2008). Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. Nat Nanotechnol 23:423–8.
194. Powers K, Brown S, Krishna V, Wasdo S, Moudgil B, Roberts S. (2006). Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part

- VI.Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation. *Toxicol Sci* 90:296–303.
195. Prandl A., Fischer T., Schmidhofer H., Sinell J., (1988). Fleisch-Technologie und Hygienen der Gewinnung und Verarbeitung, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
196. Radetić, P, Milijašević, M, Jovanović, J., Velebit, B., (2007). Pakovanje svežeg mesa u modifikovanoj atmosferi – trend koji traje!. *Tehnologija mesa*, 48, 1-2, 99-108.
197. Rahman Q, Lohani M, Dopp E, Pemsel H, Jonas L, Weiss DG, Schiffmann D. (2002). Evidence that ultrafine titanium dioxide induces micronuclei and apoptosis in Syrian hamster embryo fibroblasts. *Environ Health Perspect* 110:797–800.
198. Robertson G. L., (2006). Food Packaging: Principles and Practice. CRC Press Tazlor and Francise, New Zealand.
199. Robins- Browne, RM. *Yersinia enterocolitica*. In: Food Microbiology (2007). Fundamentals and Frontiers, 3<sup>rd</sup> ed. Dayle MP and Beuchat LR (eds.). Washington, DC: ASM Press, 293-321.
200. Rosner, B. M., Stark, K., & Werber, D. (2010). Epidemiology of reported *Yersinia enterocolitica* infections in Germany, 2001-2008. *BMC Public Health*, 10(1), 337.
201. Šakota T., Lazić V., Gvozdenović J., (2002). Uticaj karakteristika ambalažnih materijala na održivost viršli. *Tehnologija mesa*, 43, 1–2, 47–51.
202. Sade E., Murros A., Björkroth J., (2013). Predominant enterobacteria on modified-atmosphere packaged meat and poultry. *Food Microbiology* 34, 252-258.
203. Sanjeev, K. & Ramesh, M.N. (2006). Low Oxygen and Inert Gas Processing of Foods. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 46, 5, 423-451.
204. Savin, C., Carniel, E. (2008) Les diarrhées d'origine bactérienne : le cas de *Yersinia enterocolitica*. *revue Francophone des laboratoires*, 400 : 49-58.
205. Sakai, T., A. Nakayama, M. Hashida, Y. Yamamoto, H. Takebe, and S. Imai, (2005). “Outbreak of food poisoning by *Yersinia enterocolitica* serotype

- O8 in Nara Prefecture: the first case report in Japan," Japanese Journal of Infectious Diseases, 58, 4, 257–258.
206. Sarantopoulos CIGL, Alves RMV, Contreras CJC, Galvão MTEL, Gomes TC. (1998). Use of a modified atmosphere masterpack for extending the shelf life of chicken cuts. *Packaging Technology and Science*. 1998;11:217-229.
207. Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., et al. (2011). Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging Infectious Disease*, 17(1), 1-15.
208. Schleifstein, J., Coleman, M.B. (1943). *Bacterium enterocoliticum*. In New York State Department of Health Publication no.56.
209. Shenoy K, Murano EA.(2006). Effect of storage conditions on growth of heat-stressed *Yersinia enterocolitica* in ground pork. *Journal of Food Protection*. 59:365-369.
210. Silvestre, C., Duraccion, D., Cimmino, S.,(2011), Food packing based on polymer nanomaterials, *Progress in Polymer Science* 36, 1766-1782.
211. Siverstvik, M., Jeksrud, W.K. and Rosnes, T. (2002). A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products - significance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 107-127.
212. Siverstvik, M., Rosnes, T.J. and Kleiberg, G.H. (2003). Effect of modified atmosphere packaging and superchilled storage on the microbial and fillets. *Food Microbiology and Safety*, Vol. 68, Nr. 4, 1467-1472.
213. Smaoui S., Hlima H. B., Salah R. B., Ghorbel R., (2011). Effects of sodium lactate and lactic acid on chemical, microbiological and sensory characteristics of marinated chicken. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(54), 11317- 11326.
214. Sperber W. H., (2010). Introduction to the microbial spoilage of foods and beverages. In: Sperber WH, Doyle MP, editors. *Compendium of the microbial spoilage of foods and beverages*. Springer, N.Y., 1–40.
215. Sprague, L.D., Neubauer, H., (2005). *Yersinia aleksiciae* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 55, 831–835.

216. Sprague, L.D., Scholz, H.C., Amann, S., Busse, H.J., Neubauer, H., (2008). *Yersinia similis* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 58, 952–958.
217. Stamm, I., Hailer, M., Depner, B., Kopp, P. A., & Rau, J. (2013). *Yersinia enterocolitica* indiagnostic fecal samples of European dogs and cats: identification by FT-IR and MALDI-TOF MS. Journal of Clinical Microbiology, <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02506-12>.
218. Stohr, V., Joffraud, J.J., Cardinal, M., Leroi, F. (2001). Spoilage potential and sensory profile associated with bacteria isolated from cold-smoked salmon. *Food Research International*, 34, 797–806.
219. Stengel, G. (1985). *Yersinia enterocolitica*. Vorkommen und Bedeutung in Lebensmitteln. Fleischwirtschaft 65, 1490-1495.
220. Strotmann, T., Mueffling, V., Klein, G. and Nowak, B. (2008). Effect of different concentration of carbon dioxide and oxygen on the growth of pathogenic *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in ground pork packaged under modified atmospheres. Journal of Food Protection, 71, 845-849.
221. Surmei E, UsturoiM.G, (2012). Studies on freshness of refrigerated poultry meat. Analele Universității din Oradea, Fascicula Ecotoxicologie, Zootehniesi Tehnologii de IndustrieAlimentară, 115- 120.
222. Talon R., Leroy S., Fadda S., (2004). Dry fermented sausages.In: YH Hui, L Meunier-Goddik, AS Hansen, J Josephsen,W-K Nip, PS Stanfi eld, F Toldra, eds. Handbook of Foodand Beverage Fermentation Technology. New York: Marcel Dekker, Inc., 397–416.
223. Tassou CC, Lambropoulou K, Nychas GJE. (2004). Effect of prestorage treatments and storage conditions on the survival of *Salmonella enteriditis* PT4 and *Listeria monocytogenes* on fresh marine and freshwater aquaculture fish. *Journal of Food Protection*. 67:193-198.
224. Tennant, S.M., Grant, T.H., Robins-Browne, R.M., (2003). Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 38, 127–137.

225. Thibodeau, V., Frost, E.H., Chenier, S. and Quessy, S. (1999). Presence of *Yersinia enterocolitica* in tissues of orally-inoculated pigs and the tonsils and feces of pigs at slaughter. *Canadian Journal of Veterinary Research* 63, 96-100.
226. Thisted Lambertz S. and M. L. Danielsson-Tham, (2005) "Identification and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolates by PCR and pulsed-field gel electrophoresis," *Applied and Environmental Microbiology*, 717, 3674–3681.
227. Truelstrup Hansen, L., Gill, T., Røntved, S.,D., Huss, H.H. (1996). Importance of autolysis and microbiological activity of quality of cold-smoked salmon. *Food Research International*, 29, 181-188.
228. Ursing, J., Brenner, D.J., Bercovier, H., Fanning,G.R., Steigerwalt, A.G., Brault, J., Mollaret,H.H., (1980). *Yersinia frederiksenii*: a newspecies of Enterobacteriaceae composedof rhamnose positive strains (for merly called atypical *Yersinia enterocolitica* or *Yersinia enterocolitica*-like). *Curr.Microbiol.* 4, 213–217.
229. Van den Elzen AMG, Houben JH, Snijders JMA. (2004) Effect of modified atmosphere packaging on the survival of pathogens on artificially contaminated pork. Proceedings of the 40th International Congress of Meat Science Technology. The Hague, Holland.
230. Van Damme I. and De Zutter I. (2011). Occurrence of human enteropathogenic *Yersinia spp.* In Belgian pigs and contamination of pork carcasses during slaughter. Proceeding book 9<sup>th</sup> International Conference on the Epidemiology and Control of biological, chemical and physical hazards in pigs and pork (SafePork 2011), 19-22 june 2011, Maastricht, 126-129.
231. Van Loghem, J.J., (1944). The classification of the plague bacillus. *Antonie Leeuwenhoek* 10, 15–16.
232. Vereš, M., (2004). Principi konzervisanja namirnica, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
233. Verhaegen J, Charlier J, Lemmens P, Delmee M, Van Noyen R, Verbist L, (1998). Surveillance of human *Yersinia enterocolitica* infections in Belgium: 1967-1996. *Clin Infect Dis* 27(1):59-64.

234. Viana, E.S., L., A.,Gomide and M.C.D. Vanetti (2005). Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. *Meat Sci.*71:696-705.
235. Virdi J. S. and P. Sachdeva, (2005). “Molecular heterogeneity in *Yersinia enterocolitica* and “*Y. enterocolitica*-like” species— implications for epidemiology, typing and taxonomy,” *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 45, 1, 1–10.
236. Vishnubhatla A., R. D. Oberst, D. Y. C. Fung, W. Wonglumsom, M. P. Hays, and T. G. Nagaraja, (2001) “Evaluation of a 5\_-nuclease (TaqMan) assay for the detection of virulent strains of *Yersinia enterocolitica* in rawmeat and tofu samples,” *Journal of Food Protection*, 64, 3, 355–360,
237. Vlachaki, E., Tselios, K., Tsapas, A., & Klonizakis, J. (2007). *Yersinia enterocolitica* O:3 mesenteric lymphadenopathy in an apparently healthy adult. *The Netherlands Journal of Medicine*, 65(8), 311-312.
238. Wang J, Zhou G, Chen C, Yu H, Wang T, Ma Y, Jia G, Gao Y, Li B, Sun J, Li Y, Jiao F, Zhao Y, Chai Z. (2007). Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol Lett* 168:176–85.
239. Wang X., Z. Cui, D. Jin (2009). “Distribution of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in China,” *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 28, 10, 1237–1244.
240. Wang, X., Cui, Z.,Wang, H., Tang, L., Yang, J., Gu, L., et al. (2010). Pathogenic strains of *Yersinia enterocolitica* isolated from domestic dogs (*Canis familiaris*) belonging to farmers are of the same subtype as pathogenic *Y. enterocolitica* strains isolated from humans and may be a source of human infection in Jiangsu Province, China. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(5), 1604-1610.
241. Wauters, G., (1991). Taxonomy, identification and epidemiology of *Yersinia enterocolitica* and related species, in Grimme H, Landi E and S Dumontet. I Problemi della Moderna Biologia: Ecologia Microbica, Analitica di Laboratorio, Biotecnologia, Vol. I Atti del IV Cnvegno Internazionale, Sorrento, 93-101.

242. Weagant S. D., (2008). A new chromogenic agar medium for detection of potentially virulent *Yersinia enterocolitica*. J. Microbiol. Methods, 72, 185-90.
243. Wesley IV, Bhaduri S, Bush E. (2008). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in market weight hogs in the United States. J Food Prot 71:1162–8.
244. Wiesner MR, Bottero JY. (2007). Environmental nanotechnology. Applications and impacts of nanomaterials. New York: McGraw-Hill Professional.
245. Wojciech L., Z. Staroniewicz, A. Jakubczak, and M. Ugorski, (2004). “Typing of *Yersinia enterocolitica* isolates by ITS profiling, REP- And ERIC-PCR,” *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 51, 5, 238–244.
246. World Health Organization, (1987). Diarrhoeal Disease Control Programme. Manual for laboratory investigations of acute enteric infections. Geneva; WHO; 1–113.
247. World Health Organization, (1994). International Organization for Standardization. Microbiology—general guidance for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica*. ISO 10273. Geneva: WHO.
248. Xanthopoulos, V., Tzanetakis, N., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2010). Occurrence and characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* in minimally processed fresh vegetable salads. Food Control, 21(4), 393-398.
249. Yam Fl., editor. (2009). The wiley encyclopedia of packaging technology. 3<sup>rd</sup> ed. New York: John Wiley and Sons Inc.
250. Yam Kl., Takhistov PT., Miltz J. (2005). Intelligent packaging: concepts and applications. J. Food Sci 70: 1-10.
251. Yersin, A., (1894). La peste bubonique a Hong Kong. Ann. Inst. Pasteur (Paris). 8, 662–667.
252. Yucel, N., & Ulusoy, H. (2006). A Turkey survey of hygiene indicator bacteria and *Yersinia enterocolitica* in raw milk and cheese samples. Food Control, 17(5), 383-388.

253. Zeitoun AAM, Debevere JM, Mossel DAA. (1994). Significance of Enterobacteriaceae as index organisms for hygiene on fresh poultry, poultry treated with lactic acid and poultry stored in modified atmosphere. *Food Microbiology*.11:169-176.
254. Zheng, X.B., Xie, C., (1996). Isolation, characterization and epidemiology of *Yersinia enterocolitica* from humans and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 81, 681–684.
255. <http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija-2/senzorne-karakteristike-mesa>

## PRILOG A

Promene prosečnog broja *Yersinia enterocolitica* tokom skladištenja

Tabela 1. Promena prosečnog broja *Y.enterocolitica* u toku skladištenja oglednih uzoraka mlevenog mesa pakovanog u vakuum

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	6,34 <sup>aABC</sup>	0,21	0,09	6,52	5,98	3,30		
3	6,52 <sup>aDE</sup>	0,05	0,02	6,59	6,45	0,77		
6	6,67 <sup>AF</sup>	0,04	0,02	6,71	6,60	0,65		
9	6,81 <sup>BDG</sup>	0,04	0,02	6,88	6,77	0,62		
12	7,56 <sup>CEFG</sup>	0,06	0,02	7,63	7,49	0,74		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G- p<0,01, isto slovo a-p<0,05

Tabela 2. Promena prosečnog broja *Y.enterocolitica* u toku skladištenja oglednih uzoraka mlevenog mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu sa 20% O<sub>2</sub>, 50% CO<sub>2</sub> i 30% N<sub>2</sub> (MAP 1)

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	6,34 <sup>aABC</sup>	0,21	0,09	6,52	5,98	3,30		
3	6,11 <sup>aDEF</sup>	0,05	0,02	6,19	6,05	0,82		
6	6,64 <sup>ADG</sup>	0,05	0,02	6,71	6,58	0,77		
9	6,61 <sup>BEH</sup>	0,07	0,03	6,69	6,50	1,04		
12	7,32 <sup>CFGH</sup>	0,07	0,03	7,41	7,22	0,90		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H- p<0,01, isto slovo a-p<0,05

Tabela 3. Promena prosečnog broja *Y.enterocolitica* u toku skladištenja oglednih uzoraka mlevenog mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu sa 20% O<sub>2</sub>, 30% CO<sub>2</sub> i 50% N<sub>2</sub> (MAP 2)

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	6,34 <sup>ABCD</sup>	0,21	0,09	6,52	5,98	3,30		
3	5,81 <sup>AEFG</sup>	0,04	0,02	5,88	5,76	0,75		
6	7,10 <sup>BEHI</sup>	0,03	0,01	7,15	7,06	0,44		
9	7,67 <sup>CFHa</sup>	0,05	0,02	7,72	7,60	0,64		
12	7,47 <sup>DGla</sup>	0,04	0,02	7,53	7,42	0,60		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G- p<0,01, isto slovo a-p<0,05

Tabela 4. Promena prosečnog broja *Y. enterocolitica* u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	6,52 <sup>AB</sup>	0,05	0,02	6,59	6,45	0,77		
MAP 1	6,11 <sup>AC</sup>	0,05	0,02	6,19	6,05	0,82		
MAP 2	5,81 <sup>BC</sup>	0,04	0,02	5,88	5,76	0,75		

Legenda: Ista slova A, B, C- p<0,01

Tabela 5. Promena prosečnog broja *Y. enterocolitica* u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	6,67 <sup>A</sup>	0,04	0,02	6,71	6,60	0,65		
MAP 1	6,64 <sup>B</sup>	0,05	0,02	6,71	6,58	0,77		
MAP 2	7,10 <sup>AB</sup>	0,03	0,01	7,15	7,06	0,44		

Legenda: Ista slova A, B, C- p<0,01

Tabela 6. Promena prosečnog broja *Y. enterocolitica* u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	6,81 <sup>AB</sup>	0,04	0,02	6,88	6,77	0,62		
MAP 1	6,61 <sup>AC</sup>	0,07	0,03	6,69	6,50	1,04		
MAP 2	7,67 <sup>BC</sup>	0,05	0,02	7,72	7,60	0,64		

Legenda: Ista slova A, B, C- p<0,01

Tabela 7. Promena prosečnog broja *Y. enterocolitica* u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	7,56 <sup>Aa</sup>	0,06	0,02	7,63	7,49	0,74		
MAP 1	7,32 <sup>AB</sup>	0,07	0,03	7,41	7,22	0,90		
MAP 2	7,47 <sup>aB</sup>	0,04	0,02	7,53	7,42	0,60		

Legenda: Ista slova A, B- p<0,01, isto slovo a-p<0,05

**PRILOG B**

Promene prosečnog ukupnog broja bakterija tokom skladištenja

Tabela 1. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u toku skladištanja kontrolnih uzorka mlevenog mesa pakovanog u vakuum

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					C <sub>V</sub> %	
		S <sub>d</sub>	S <sub>e</sub>	I <sub>V</sub>		X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>	
				X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>			
0	8,10 <sup>Aabc</sup>	0,16	0,07	8,30	7,90	1,99		
3	7,74 <sup>ABC</sup>	0,29	0,12	8,23	7,42	3,78		
6	7,77 <sup>aDE</sup>	0,08	0,03	7,88	7,69	0,98		
9	8,42 <sup>bBD</sup>	0,05	0,02	8,50	8,36	0,57		
12	8,41 <sup>cCE</sup>	0,09	0,04	8,57	8,31	1,03		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E - p&lt;0,01, isto slovo a, b, c-p&lt;0,05

Tabela 2. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u toku skladištanja oglednih uzorka mlevenog mesa pakovanog u vakuum

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					C <sub>V</sub> %	
		S <sub>d</sub>	S <sub>e</sub>	I <sub>V</sub>		X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>	
				X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>			
0	8,19 <sup>A</sup>	0,07	0,03	8,26	8,10	0,82		
3	8,11 <sup>BC</sup>	0,09	0,04	8,20	7,99	1,17		
6	8,14 <sup>DE</sup>	0,04	0,02	8,20	8,08	0,51		
9	8,29 <sup>BD</sup>	0,07	0,03	8,39	8,19	0,85		
12	8,39 <sup>ACE</sup>	0,05	0,02	8,46	8,32	0,59		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E - p&lt;0,01

Tabela 3. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u toku skladištanja kontrolnih uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 1

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					C <sub>V</sub> %	
		S <sub>d</sub>	S <sub>e</sub>	I <sub>V</sub>		X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>	
				X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>			
0	8,10 <sup>aAB</sup>	0,15	0,07	8,30	7,90	1,99		
3	7,84 <sup>aCD</sup>	0,23	0,10	8,21	7,61	2,97		
6	8,16 <sup>CEF</sup>	0,16	0,07	8,34	7,95	1,96		
9	8,57 <sup>ADEG</sup>	0,05	0,02	8,62	8,50	0,57		
12	7,66 <sup>BFG</sup>	0,07	0,03	7,72	7,55	0,88		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G- p&lt;0,01, isto slovo a-p&lt;0,05

Tabela 4. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u toku skladištanja oglednih uzoraka mlevenog mesa pakovanog u MAP 1

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	8,19 <sup>ABC</sup>	0,08	0,03	8,26	8,10	0,82		
3	8,22 <sup>DEF</sup>	0,02	0,01	8,26	8,19	0,30		
6	8,34 <sup>ADGa</sup>	0,05	0,02	8,41	8,29	0,60		
9	8,50 <sup>BEG</sup>	0,06	0,03	8,59	8,39	0,76		
12	8,45 <sup>CFa</sup>	0,05	0,02	8,53	8,39	0,65		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G-  $p<0,01$ , isto slovo a-p<0,05

Tabela 5. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u toku skladištanja kontrolnih uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 2

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	8,11 <sup>AB</sup>	0,16	0,07	8,30	7,90	1,99		
3	7,66 <sup>ACD</sup>	0,14	0,06	7,81	7,42	1,78		
6	7,70 <sup>BEF</sup>	0,08	0,03	7,80	7,60	1,01		
9	8,03 <sup>CE</sup>	0,10	0,04	8,19	7,94	1,19		
12	8,10 <sup>DF</sup>	0,11	0,04	8,21	7,96	1,30		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F-  $p<0,01$

Tabela 6. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u toku skladištanja oglednih uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 2

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	8,19 <sup>A</sup>	0,07	0,03	8,26	8,10	0,82		
3	8,18 <sup>B</sup>	0,05	0,02	8,24	8,10	0,58		
6	8,25 <sup>C</sup>	0,04	0,02	8,29	8,19	0,50		
9	8,26 <sup>D</sup>	0,05	0,02	8,32	8,19	0,66		
12	8,39 <sup>ABCD</sup>	0,06	0,02	8,46	8,29	0,70		

Legenda: Ista slova A, B, C, D-  $p<0,01$

Tabela 7. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	7,74	0,29	0,12	8,23	7,42	3,78		
MAP 1	7,84	0,23	0,10	8,21	7,61	2,97		
MAP 2	7,66	0,14	0,06	7,81	7,42	1,78		

Tabela 8. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	7,77 <sup>A</sup>	0,08	0,03	7,88	7,69	0,98		
MAP 1	8,16 <sup>AB</sup>	0,16	0,07	8,34	7,95	1,96		
MAP 2	7,70 <sup>B</sup>	0,08	0,03	7,80	7,60	1,01		

Legenda: Ista slova A, B- p<0,01

Tabela 9. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	8,42 <sup>AB</sup>	0,05	0,02	8,50	8,36	0,57		
MAP 1	8,57 <sup>AC</sup>	0,05	0,02	8,62	8,50	0,57		
MAP 2	8,03 <sup>BC</sup>	0,10	0,04	8,19	7,94	1,19		

Legenda: Ista slova A, B, C- p<0,01

Tabela 10. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	8,41 <sup>AB</sup>	0,09	0,04	8,57	8,31	1,03		
MAP 1	7,66 <sup>AC</sup>	0,07	0,03	7,72	7,55	0,88		
MAP 2	8,10 <sup>BC</sup>	0,11	0,04	8,21	7,96	1,30		

Legenda: Ista slova A, B, C- p<0,01

Tabela 11. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	8,11 <sup>a</sup>	0,09	0,04	8,20	7,99	1,17
MAP 1	8,22 <sup>a</sup>	0,02	0,01	8,26	8,19	0,30
MAP 2	8,18	0,05	0,02	8,24	8,10	0,58

Legenda: Isto slovo a-p<0,05

Tabela 12. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	8,14 <sup>AB</sup>	0,04	0,02	8,20	8,08	0,51
MAP 1	8,34 <sup>AC</sup>	0,05	0,02	8,41	8,29	0,60
MAP 2	8,25 <sup>BC</sup>	0,04	0,02	8,29	8,19	0,50

Legenda: Ista slova A, B, Cp<0,01

Tabela 13. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	8,29 <sup>A</sup>	0,07	0,03	8,39	8,19	0,85
MAP 1	8,50 <sup>AB</sup>	0,06	0,03	8,59	8,39	0,76
MAP 2	8,26 <sup>B</sup>	0,05	0,02	8,32	8,19	0,66

Legenda: Ista slova A, B- p<0,01

Tabela 14. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	8,39	0,05	0,02	8,46	8,32	0,59
MAP 1	8,45	0,05	0,02	8,53	8,39	0,65
MAP 2	8,39	0,06	0,02	8,46	8,29	0,70

Tabela 15. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	7,74 <sup>ABC</sup>	0,29	0,12	8,23	7,42			3,78
Vakuum ogledni	8,11 <sup>AD</sup>	0,09	0,04	8,20	7,99			1,17
Kontrola MAP 1	7,84 <sup>Ea</sup>	0,23	0,10	8,21	7,61			2,97
Ogledni MAP 1	8,22 <sup>BEF</sup>	0,02	0,01	8,26	8,19			0,30
Kontrola MAP 2	7,66 <sup>DFG</sup>	0,14	0,06	7,81	7,42			1,78
Ogledni MAP 2	8,18 <sup>CaG</sup>	0,05	0,02	8,24	8,10			0,58

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G- p<0,01, isto slovo a-p<0,05

Tabela 16. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	7,77 <sup>ABCD</sup>	0,08	0,03	7,88	7,69			0,98
Vakuum ogledni	8,14 <sup>AEF</sup>	0,04	0,02	8,20	8,08			0,51
Kontrola MAP 1	8,16 <sup>BaG</sup>	0,16	0,07	8,34	7,95			1,96
Ogledni MAP 1	8,34 <sup>CEaH</sup>	0,05	0,02	8,41	8,29			0,60
Kontrola MAP 2	7,70 <sup>FGHI</sup>	0,08	0,03	7,80	7,60			1,01
Ogledni MAP 2	8,25 <sup>DI</sup>	0,04	0,02	8,29	8,19			0,50

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H, I- p<0,01, isto slovo a-p<0,05

Tabela 17. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	8,42 <sup>aABC</sup>	0,05	0,02	8,50	8,36			0,57
Vakuum ogledni	8,29 <sup>aDEF</sup>	0,07	0,03	8,39	8,19			0,85
Kontrola MAP 1	8,57 <sup>ADGH</sup>	0,05	0,02	8,62	8,50			0,57
Ogledni MAP 1	8,50 <sup>EIJ</sup>	0,06	0,03	8,59	8,39			0,76
Kontrola MAP 2	8,03 <sup>BFGIK</sup>	0,10	0,04	8,19	7,94			1,19
Ogledni MAP 2	8,26 <sup>CHJK</sup>	0,05	0,02	8,32	8,19			0,66

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K-  $p<0,01$ , isto slovo a-p<0,05

Tabela 18. Promene prosečnog ukupnog broja bakterija u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	8,41 <sup>AB</sup>	0,09	0,04	8,57	8,31			1,03
Vakuum ogledni	8,39 <sup>CD</sup>	0,05	0,02	8,46	8,32			0,59
Kontrola MAP 1	7,66 <sup>ACEFG</sup>	0,07	0,03	7,72	7,55			0,88
Ogledni MAP 1	8,45 <sup>EH</sup>	0,05	0,02	8,53	8,39			0,65
Kontrola MAP 2	8,10 <sup>BDFHI</sup>	0,11	0,04	8,21	7,96			1,30
Ogledni MAP 2	8,39 <sup>GI</sup>	0,06	0,02	8,46	8,29			0,70

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H,I-  $p<0,01$

**PRILOG C**

Promene ukupnog broja bakterija mlečne kiseline tokom skladištenja

Tabela 1. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u toku skladištanja kontrolnog uzorka mlevenog mesa pakovanog u vakuum

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
0	5,78 <sup>ABC</sup>	0,06	0,03	5,85	5,70	1,07
3	5,80 <sup>DEF</sup>	0,08	0,03	5,89	5,66	1,44
6	5,94 <sup>ADG</sup>	0,04	0,02	6,00	5,88	0,75
9	6,01 <sup>BEGH</sup>	0,06	0,03	6,09	5,91	1,04
12	6,31 <sup>CFGH</sup>	0,06	0,02	6,39	6,23	0,95

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H- p<0,01

Tabela 2. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u toku skladištanja oglednog uzorka mlevenog mesa pakovanog u vakuum

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
0	5,21 <sup>a</sup>	0,07	0,03	5,28	5,10	1,32
3	6,06	0,05	0,02	6,11	6,00	0,74
6	6,14	0,04	0,02	6,19	6,09	0,68
9	6,24 <sup>a</sup>	0,05	0,02	6,31	6,18	0,85
12	5,91	1,25	0,51	6,49	3,35	21,23

Legenda: Isto slovo a-p<0,05

Tabela 3. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u toku skladištanja uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 1

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
0	5,78 <sup>AB</sup>	0,06	0,03	5,85	5,70	1,07
3	5,81 <sup>CD</sup>	0,03	0,01	5,85	5,76	0,54
6	5,82 <sup>EF</sup>	0,05	0,02	5,90	5,76	0,94
9	6,31 <sup>ACE</sup>	0,03	0,01	6,36	6,27	0,49
12	6,34 <sup>BDF</sup>	0,04	0,02	6,39	6,29	0,62

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F- p<0,01

Tabela 4. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u toku skladištanja oglednog uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 1

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	5,21 <sup>ABCD</sup>	0,07	0,03	5,28	5,10	1,32		
3	5,98 <sup>AEGF</sup>	0,06	0,03	6,06	5,90	1,06		
6	6,11 <sup>BEH</sup>	0,03	0,01	6,15	6,06	0,51		
9	6,13 <sup>CFI</sup>	0,04	0,02	6,18	6,08	0,62		
12	6,35 <sup>DGHI</sup>	0,05	0,02	6,40	6,29	0,72		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H, I- p<0,01

Tabela 5. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u toku skladištanja kontrolnog uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 2

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	5,78 <sup>ABC</sup>	0,06	0,03	5,85	5,70	1,07		
3	5,82 <sup>DE</sup>	0,05	0,02	5,88	5,74	0,93		
6	5,97 <sup>ADF</sup>	0,07	0,03	6,09	5,90	1,20		
9	5,91 <sup>BG</sup>	0,05	0,02	5,98	5,86	0,80		
12	6,13 <sup>CEFG</sup>	0,04	0,02	6,18	6,08	0,62		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G- p<0,01

Tabela 6. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u toku skladištanja oglednog uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 2

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	5,21 <sup>ABCD</sup>	0,07	0,03	5,28	5,10	1,32		
3	5,99 <sup>AEGF</sup>	0,05	0,02	6,05	5,91	0,84		
6	6,33 <sup>BEH</sup>	0,04	0,02	6,39	6,28	0,62		
9	6,19 <sup>CFH</sup>	0,05	0,02	6,25	6,11	0,83		
12	6,25 <sup>DG</sup>	0,04	0,02	6,31	6,20	0,68		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H- p<0,01

Tabela 7. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	5,80	0,08	0,03	5,89	5,66	1,44		
MAP 1	5,81	0,03	0,01	5,85	5,76	0,54		
MAP 2	5,82	0,05	0,02	5,88	5,74	0,93		

Tabela 8. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	5,94 <sup>a</sup>	0,04	0,02	6,00	5,88	0,75		
MAP 1	5,82 <sup>aA</sup>	0,05	0,02	5,90	5,76	0,94		
MAP 2	5,97 <sup>A</sup>	0,07	0,03	6,09	5,90	1,20		

Legenda: Isto slovo A-  $p<0,01$ , isto slovo a- $p<0,05$

Tabela 9. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	6,01 <sup>AB</sup>	0,06	0,03	6,09	5,91	1,04		
MAP 1	6,31 <sup>AC</sup>	0,03	0,01	6,36	6,27	0,49		
MAP 2	5,91 <sup>BC</sup>	0,05	0,02	5,98	5,86	0,80		

Legenda: Ista slova A, B, C-  $p<0,01$

Tabela 10. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	6,31 <sup>A</sup>	0,06	0,02	6,39	6,23	0,95		
MAP 1	6,34 <sup>B</sup>	0,04	0,02	6,39	6,29	0,62		
MAP 2	6,13 <sup>AB</sup>	0,04	0,02	6,18	6,08	0,62		

Legenda: Ista slova A, B -  $p<0,01$

Tabela 11. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	6,06 <sup>a</sup>	0,05	0,02	6,11	6,00	0,74
MAP 1	5,98 <sup>a</sup>	0,06	0,03	6,06	5,90	1,06
MAP 2	5,99	0,05	0,02	6,05	5,91	1,06

Legenda: isto slovo a-p<0,05

Tabela 12. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	6,14 <sup>A</sup>	0,04	0,02	6,19	6,09	0,68
MAP 1	6,11 <sup>B</sup>	0,03	0,01	6,15	6,06	0,51
MAP 2	6,33 <sup>AB</sup>	0,04	0,02	6,39	6,28	0,62

Legenda: Ista slova A, B - p<0,01

Tabela 13. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	6,24 <sup>A</sup>	0,05	0,02	6,31	6,18	0,85
MAP 1	6,13 <sup>A</sup>	0,04	0,02	6,18	6,08	0,62
MAP 2	6,19	0,05	0,02	6,25	6,11	0,83

Legenda: Isto slovo A - p<0,01

Tabela 14. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	5,91	1,25	0,03	6,49	3,35	21,23
MAP 1	6,35	0,05	0,02	6,40	6,29	0,72
MAP 2	6,25	0,04	0,02	6,31	6,20	0,68

Tabela 15. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	5,80 <sup>ABC</sup>	0,08	0,03	5,89	5,66	1,44		
Vakuum ogledni	6,06 <sup>ADE</sup>	0,05	0,02	6,11	6,00	0,74		
Kontrola MAP 1	5,81 <sup>DFG</sup>	0,03	0,01	5,85	5,76	0,74		
Ogledni MAP 1	5,98 <sup>BFH</sup>	0,06	0,03	6,06	5,90	1,06		
Kontrola MAP 2	5,82 <sup>EHI</sup>	0,05	0,02	5,88	5,74	0,93		
Ogledni MAP 2	5,99 <sup>CGI</sup>	0,05	0,02	6,05	5,91	0,84		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H, I- p<0,01

Tabela 16. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	5,94 <sup>ABCD</sup>	0,04	0,02	6,00	5,88	0,75		
Vakuum ogledni	6,14 <sup>AEFG</sup>	0,04	0,02	6,19	6,09	0,68		
Kontrola MAP 1	5,82 <sup>BEHIJ</sup>	0,05	0,02	5,90	5,76	0,94		
Ogledni MAP 1	6,11 <sup>CHKL</sup>	0,03	0,01	6,15	6,06	0,51		
Kontrola MAP 2	5,97 <sup>FIKM</sup>	0,07	0,03	6,09	5,90	1,20		
Ogledni MAP 2	6,33 <sup>DGJLM</sup>	0,04	0,02	6,39	6,28	0,62		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M- p<0,01

Tabela 17. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	6,01 <sup>ABCaD</sup>	0,06	0,03	6,09	5,91			1,04
Vakuum ogledni	6,24 <sup>AEF</sup>	0,05	0,02	6,31	6,18			0,85
Kontrola MAP 1	6,31 <sup>BGHI</sup>	0,03	0,01	6,36	6,27			0,49
Ogledni MAP 1	6,31 <sup>CEGJ</sup>	0,03	0,01	6,36	6,27			0,49
Kontrola MAP 2	5,91 <sup>aFHJK</sup>	0,05	0,02	5,98	5,86			0,80
Ogledni MAP 2	6,19 <sup>DIK</sup>	0,05	0,02	6,25	6,11			0,83

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K-  $p<0,01$ , isto slovo a-p<0,05

Tabela 18. Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija a $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	6,31	0,06	0,02	6,39	6,23			0,95
Vakuum ogledni	5,91	1,25	0,51	6,49	3,35			21,23
Kontrola MAP 1	6,34	0,04	0,02	6,39	6,29			0,62
Ogledni MAP 1	6,35	0,05	0,02	6,40	6,29			0,72
Kontrola MAP 2	6,13	0,04	0,02	6,18	6,08			0,62
Ogledni MAP 2	6,25	0,04	0,02	6,31	6,20			0,68

**PRILOG D**

Promene ukupnog broja enterobakterija tokom skladištenja

Tabela 1. Promene prosečnog broja enterobakterija u toku skladištanja kontrolnog uzorka mlevenog mesa pakovanog u vakuum

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
0	7,16 <sup>ABC</sup>	0,06	0,02	7,23	7,09	0,79
3	7,17 <sup>DEF</sup>	0,26	0,11	7,69	7,00	3,68
6	7,63 <sup>ADa</sup>	0,04	0,02	7,69	7,59	0,52
9	7,62 <sup>BE</sup>	0,04	0,02	7,68	7,58	0,51
12	7,72 <sup>CFa</sup>	0,05	0,02	7,79	7,65	0,67

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F -  $p<0,01$ , isto slovo a- $p<0,05$

Tabela 2. Promene prosečnog broja enterobakterija u toku skladištanja oglednog uzorka mlevenog mesa pakovanog u vakuum

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
0	7,25 <sup>ABC</sup>	0,14	0,06	7,37	6,97	2,00
3	7,23 <sup>DEF</sup>	0,05	0,02	7,30	7,17	0,73
6	7,61 <sup>ADa</sup>	0,06	0,03	7,37	6,97	2,00
9	7,54 <sup>BE</sup>	0,05	0,02	7,61	7,49	0,66
12	7,60 <sup>CFa</sup>	0,06	0,03	7,69	7,53	0,82

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F-  $p<0,01$ , isto slovo a- $p<0,05$

Tabela 3. Promene prosečnog broja enterobakterija u toku skladištanja uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 1

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
0	7,16 <sup>ABC</sup>	0,06	0,02	7,23	7,09	0,79
3	7,10 <sup>DEF</sup>	0,07	0,03	7,19	7,00	0,93
6	7,62 <sup>ADG</sup>	0,05	0,02	7,69	7,56	0,61
9	7,65 <sup>BE</sup>	0,04	0,02	7,70	7,60	0,52
12	7,67 <sup>CFG</sup>	0,08	0,03	7,76	7,57	0,99

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G-  $p<0,01$

Tabela 4. Promene prosečnog broja enterobakterija u toku skladištanja oglednog uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 1

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	7,25 <sup>AB</sup>	0,14	0,06	7,37	6,97	2,00		
3	7,25 <sup>CD</sup>	0,05	0,02	7,31	7,19	0,67		
6	7,34 <sup>E</sup>	0,05	0,02	7,41	7,29	0,68		
9	7,47 <sup>AC</sup>	0,05	0,02	7,53	7,40	0,64		
12	7,58 <sup>BDE</sup>	0,07	0,03	7,66	7,50	0,86		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E -  $p<0,01$

Tabela 5. Promene prosečnog broja enterobakterija u toku skladištanja uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 2

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	7,15 <sup>ABC</sup>	0,05	0,02	7,23	7,09	0,79		
3	7,17 <sup>DEF</sup>	0,06	0,02	7,23	7,09	0,82		
6	7,46 <sup>AD</sup>	0,04	0,02	7,51	7,40	0,55		
9	7,62 <sup>BE</sup>	0,05	0,02	7,69	7,55	0,70		
12	7,66 <sup>CF</sup>	0,05	0,02	7,73	7,60	0,64		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F -  $p<0,01$

Tabela 6. Promene prosečnog broja enterobakterija u toku skladištanja oglednog uzorka mlevenog mesa pakovanog u MAP 2

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
0	7,24 <sup>ABC</sup>	0,15	0,06	7,37	6,97	2,00		
3	7,14 <sup>DEF</sup>	0,04	0,02	7,20	7,09	0,60		
6	7,61 <sup>AD</sup>	0,06	0,03	7,69	7,51	0,81		
9	7,59 <sup>BE</sup>	0,06	0,02	7,68	7,51	0,77		
12	7,73 <sup>CF</sup>	0,06	0,02	7,80	7,65	0,78		

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F -  $p<0,01$

Tabela 7. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	7,17	0,26	0,11	7,69	7,00	3,68		
MAP 1	7,10	0,07	0,03	7,19	7,00	0,93		
MAP 2	7,16	0,06	0,02	7,23	7,09	0,82		

Tabela 8. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	7,63 <sup>AB</sup>	0,05	0,02	7,69	7,59	0,52		
MAP 1	7,62 <sup>A</sup>	0,05	0,02	7,69	7,56	0,61		
MAP 2	7,46 <sup>B</sup>	0,04	0,02	7,51	7,40	0,55		

Legenda: Ista slova A, B-  $p<0,01$

Tabela 9. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	7,62	0,04	0,02	7,68	7,58	0,51		
MAP 1	7,65	0,04	0,02	7,70	7,60	0,52		
MAP 2	7,62	0,05	0,02	7,69	7,55	0,70		

Tabela 10. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Vakuum	7,72	0,05	0,02	7,79	7,65	0,67		
MAP 1	7,67	0,08	0,03	7,76	7,57	0,99		
MAP 2	7,66	0,05	0,02	7,73	7,60	0,64		

Tabela 11. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	7,23 <sup>a</sup>	0,05	0,02	7,30	7,17	0,73
MAP 1	7,25 <sup>A</sup>	0,05	0,02	7,31	7,19	0,67
MAP 2	7,14 <sup>aA</sup>	0,04	0,02	7,20	7,09	0,60

Legenda: Isto slovo A - p<0,01, isto slovo a-p<0,05

Tabela 12. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	7,61 <sup>AB</sup>	0,06	0,03	7,69	7,51	0,81
MAP 1	7,34 <sup>aB</sup>	0,05	0,02	7,41	7,29	0,68
MAP 2	7,45 <sup>aA</sup>	0,06	0,02	7,52	7,39	0,75

Legenda: Ista slova A, B - p<0,01, isto slovo a-p<0,05

Tabela 13. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	7,54	0,05	0,02	7,61	7,49	0,66
MAP 1	7,47 <sup>A</sup>	0,05	0,02	7,53	7,40	0,64
MAP 2	7,59 <sup>A</sup>	0,06	0,02	7,68	7,51	0,77

Legenda: Isto slovo A - p<0,01

Tabela 14. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (ogledni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Vakuum	7,60 <sup>a</sup>	0,06	0,03	7,69	7,53	0,82
MAP 1	7,58 <sup>A</sup>	0,07	0,03	7,66	7,50	0,86
MAP 2	7,73 <sup>aA</sup>	0,06	0,02	7,80	7,65	0,78

Legenda: Isto slovo A- p<0,01, isto slovo a-p<0,05

Tabela 15. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima trećeg dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Kontrola vakuum	7,17	0,26	0,11	7,69	7,00	3,68
Vakuum ogledni	7,23	0,05	0,02	7,30	7,17	0,73
Kontrola MAP 1	7,10	0,07	0,03	7,19	7,00	0,93
Ogledni MAP 1	7,25	0,05	0,02	7,31	7,19	0,67
Kontrola MAP 2	7,16	0,06	0,02	7,23	7,09	0,82
Ogledni MAP 2	7,14	0,04	0,02	7,20	7,09	0,60

Tabela 16. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima šestog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{max}$	$X_{min}$	
Kontrola vakuum	7,63 <sup>ABCD</sup>	0,05	0,02	7,69	7,59	0,52
Vakuum ogledni	7,61 <sup>EFGH</sup>	0,06	0,03	7,69	7,51	0,81
Kontrola MAP 1	7,62 <sup>AEI</sup>	0,05	0,02	7,69	7,56	0,61
Ogledni MAP 1	7,34 <sup>BFIJK</sup>	0,05	0,02	7,41	7,29	0,68
Kontrola MAP 2	7,46 <sup>CGJ</sup>	0,04	0,02	7,51	7,40	0,55
Ogledni MAP 2	7,45 <sup>DHK</sup>	0,06	0,02	7,52	7,39	0,75

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E, F, G, H, I ,J, K- p<0,01

Tabela 17. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima devetog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	7,62 <sup>A</sup>	0,04	0,02	7,68	7,58			0,51
Vakuum ogledni	7,54 <sup>B</sup>	0,05	0,02	7,61	7,49			0,66
Kontrola MAP 1	7,65 <sup>BC</sup>	0,04	0,02	7,70	7,60			0,52
Ogledni MAP 1	7,47 <sup>ACDE</sup>	0,05	0,02	7,53	7,40			0,64
Kontrola MAP 2	7,62 <sup>D</sup>	0,05	0,02	7,69	7,55			0,70
Ogledni MAP 2	7,59 <sup>E</sup>	0,06	0,02	7,68	7,51			0,77

Legenda: Ista slova A, B, C, D, E -  $p<0,01$

Tabela 18. Promene prosečnog broja enterobakterija u različitim pakovanjima dvanaestog dana ispitivanja (ogledni i kontrolni uzorak)

Način pakovanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$X_{max}$	$X_{min}$	
				$X_{max}$	$X_{min}$			
Kontrola vakuum	7,72 <sup>aA</sup>	0,05	0,02	7,79	7,65			0,67
Vakuum ogledni	7,60 <sup>ab</sup>	0,06	0,03	7,69	7,53			0,82
Kontrola MAP 1	7,67	0,08	0,03	7,76	7,57			0,99
Ogledni MAP 1	7,58 <sup>AB</sup>	0,07	0,03	7,66	7,50			0,86
Kontrola MAP 2	7,66	0,05	0,02	7,73	7,60			0,64
Ogledni MAP 2	7,73 <sup>bB</sup>	0,06	0,02	7,80	7,65			0,78

Legenda: Ista slova A, B -  $p<0,01$ , ista slova a, b -  $p<0,05$

## BIOGRAFIJA

Jelena S. Ivanović, doktor veterinarske medicine, rođena je 13. oktobra 1985. godine u Gornjem Milanovcu, Republika Srbija. Osnovnu školu završila je u Gornjem Milanovcu a srednju poljoprivrednu u Beogradu. Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2004/2005, a diplomirala je u septembru 2010. godine, sa prosečnom ocenom 8,60. Doktorske akademske studije na Fakultetu veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu upisala je 2010/2011 i položila sve ispite predviđene planom i programom studija. Od januara 2012. godine zaposlena je na Fakultetu veterinarske medicine, kao istraživač saradnik na projektu „*Odabране биолошке опасности за безбедност/кавалитет хране животног порекла и контролне mere od farme do потрошаčа*“ Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije. Kao autor i koautor do sada je objavila 20 naučnih i stručnih radova u časopisima i na naučnim skupovima međunarodnog i nacionalnog značaja.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Јелена С. Ивановић

број уписа 15/1

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Испитивање утицаја различитих начина паковања на раст *Yersinia enterocolitica* у месу свиња“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 26.05.2014

Ј. Ивановић

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Јелена С. Ивановић

Број уписа  
15/1

Студијски програм  
\_\_\_\_\_

Наслов рада : Испитивање утицаја различитих начина паковања на раст Yersinia enterocolitica у месу свиња

Ментор проф. др Милан Ж. Балтић

Потписани \_\_\_\_\_

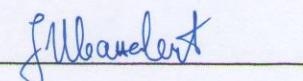
изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одbrane рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 26.05.2014



Прилог 3.

### Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Испитивање утицаја различитих начина паковања на раст *Yersinia enterocolitica* у месу свиња“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, \_\_\_\_\_ 26.05.2014 \_\_\_\_\_



1. Ауторство - Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцима, односно лиценцима отвореног кода.