

# Utjecaj enterocina EF-101 na mikrofloru mljevenoga mesa



## The effect of enterocin EF-101 on minced meat microflora

Kralj, D., M. Kiš, N. Zdolec\*

### Sažetak

U radu je istražen utjecaj enterocina bakterije *Enterococcus faecalis* EF-101 na mikrofloru mljevenog mesa pohranjenog u aerobnim uvjetima u hladnjaku na 4 °C. Enterocin je polu-pročišćen iz neutraliziranog nadtaloga (pH = 7; 10 N NaOH) kulture *E. faecalis* EF-101 precipitacijom amonijevim sulfatom (484,54 g/L). Aktivnost enterocina (AU/ mL) testirana je prema indikatorskoj bakteriji *Listeria monocytogenes* NCTC 10527 nakon čega je u mljeveno meso (2560 AU/kg) dodano određeno razrijeđenje enterocina u fosfatnom puferu (pH = 7). Mljeveno meso, s enterocinom i bez njega, tijekom četiri dana pohrane mikrobiološki je pretraživano u triplikatu na broj aerobnih mezofilnih bakterija, enterobakterija, psihrotrofnih bakterija, stafilokoka, koliformnih bakterija, *Escherichia coli*, bakterija mliječne kiseline, *L. monocytogenes* te pH-vrijednost. Ukupni broj bakterija, enterobakterija, psihrofila, stafilokoka, koliformnih i bakterija mliječne kiseline očekivano se povećavao tijekom pohrane, dok se pH nije znatno mijenjao. Antimikrobni učinak enterocina moguć je razlog smanjenja broja bakterija mliječne kiseline i enterobakterija na kraju pohrane. Enterocin je djelovao na psihrofile, koliforme i aerobne mezofilne bakterije nultoga dana, tj. neposredno nakon njegova dodavanja. Ostvareni rezultati upućuju na aktivnost enterocina u mesnom supstratu, no uz ograničeno antimikrobno djelovanje, vjerojatno zbog njegove brze razgradnje tkivnim ili bakterijskim proteazama. Potrebno je dalje istražiti stabilnost i aktivnost enterocina EF-101 u kombinaciji s različitim antimikrobnim tehnologijama.

**Ključne riječi:** enterocin, *Enterococcus faecalis* EF-101, mljeveno meso, bakterije

### Abstract

In this study, the antibacterial effect was investigated of enterocin EF-101 in minced meat, packed in aerobic conditions and cold-stored during its shelf-life. Enterocin was semi-purified from the neutralized supernatant (pH = 7; 10 N NaOH) of *Enterococcus faecalis* EF-101, by precipitation with ammonium sulphate (484.54 g/L). The activity of enterocin (AU/mL) was tested in relation to *Listeria monocytogenes* NCTC 10527 and an appropriate solution of enterocin in phosphate buffer (pH = 7) was added to the minced meat (2560 AU/kg). Minced meat with and without enterocin was microbiologically analysed on days 0, 1, 2, 3 and 4, in triplicate for the aerobic mesophilic bacteria count, enterobacteria, psychrophiles, staphylococci, coliforms, *Escherichia coli*, lactic acid bacteria, *L. monocytogenes* and pH values. The number of aerobic mesophilic bacteria, enterobacteria, psychrophiles, staphylococci, coliforms and lactic acid bacteria increased during

Dea KRALJ, dr. med. vet., Zapoljska 37, 10 000 Zagreb; Marta KIŠ, dr. med. vet., asistentica, dr. sc. Nevijo ZDOLEC, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. \*Dopisni autor: nzdolec@vef.hr

the storage in both groups, while the pH did not change significantly. However, the antimicrobial effect of enterocin may be the reason for the decreased population of lactic acid bacteria and enterobacteria at the end of storage. However, the strongest antimicrobial effect was noted on day 0, or immediately after the addition of enterocin, in relation to the populations of psychrophiles, coliforms and aerobic mesophilic bacteria. These results indicate the activity of enterocin in the meat substrate, but with a limited antimicrobial effect probably due to its rapid degradation by tissue or bacterial enzymes. It is necessary to evaluate further the stability and activity of enterocin EF-101 in combination with other antimicrobial technologies.

**Key words:** enterocin, *Enterococcus faecalis* EF-101, minced meat, bacteria

## Uvod

Sve veća potražnja za prirodnom i minimalno prerađenom hranom u posljednje vrijeme dovela je do promjena u tehnologiji njezine proizvodnje i prerade. Svjesnost potrošača o štetnosti nekih supstancija u hrani postavlja nove zahtjeve, pa se tako istraživanja sve više usmjeruju prema alternativnim načinima očuvanja hrane. S tim u vezi naglasak se stavlja na postupak biokonzerviranja, tj. primjene prirodnih tvari u svrhu čuvanja odnosno produljenja održivosti hrane (Verma i sur., 2014.). Tako su otkriveni bakteriocini, peptidne molekule koje sintetiziraju neke bakterije, a koje mogu djelovati kao prirodne antimikrobne tvari i konzervansi u mliječnim proizvodima, mesu, plodovima mora i raznim napicima. Prvi su put opisani 1925., ali interes za njihovu proizvodnju, funkcioniranje i moguće primjene u medicinskim područjima tek odnedavno raste (Chikindas i sur., 2017.).

Bakteriocini enterokoka (enterocini) mogu biti širokog ili uskog spektra djelovanja, a najvažnije vrste koje proizvode enterocin jesu *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* (Vukušić i Zdolec, 2020.). Danas je otkriven velik broj enterocina, a mnogi imaju snažan baktericidni učinak prema bakterijama kvarenja ili patogenim mikroorganizmima prisutnima u hrani kao što su *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* spp., *E. coli*, *Vibrio cholerae* i *Bacillus cereus* te zbog toga imaju važnu ulogu kao prirodni konzervansi (Giraffa i sur., 1997.). Unatoč tomu primjena enterokoka kao starternih kultura koje sintetiziraju bakteriocine zahtijeva detaljniju karakterizaciju sojeva imajući na umu njihova potencijalno rizična svojstva poput virulentnih faktora, prenosivih gena rezistencije ili dekarboksilacijske aktivnosti (Zdolec i sur., 2017.; Zdolec, 2018.). Ipak, pojedini sojevi *E. faecalis* i *E. faecium* ne pokazuju virulentna svojstva, ne tvore biogene amine niti su rezistentni na antibiotike, pa ih to čini potencijalno primjenjivima u raznim prehrambenim proizvodima. Tek je nekoliko autora istražilo utjecaj bakteriocina/enterocina (samih ili u kombinaciji s drugim antimikrobnim tvarima) na mikrofloru mljevenog mesa te u konačnici na održivost proizvoda (Smith i sur.,

2005.; Chakchouk-Mtibaa i sur., 2017., 2019.). Poznato je da je mljeveno meso idealna podloga za rast mikroorganizama koji mogu sudjelovati u procesima kvarenja ili čak uzrokovati bolest u ljudi. Razlog bržega mikrobnog rasta jest u razaranju stanica tkiva usitnjivanjem mesa, kidanju vezivotkivnih ovojnica te oslobađanju tekućine i nutrijenata (Milin, 2015.). U primarnoj mikroflori mesa prevladavaju gram-negativne bakterije, što uključuje i vrlo česte crijevne bakterije kao što su *E. coli*, *Salmonella* spp. te neke vrste roda *Pseudomonas*, a od gram-pozitivnih najčešće nalazimo laktobacile i enterokoke (Jay i sur., 2005.; cit. Milin, 2015.).

S obzirom na to i radi unapređenja sigurnosti i produljenja roka trajanja mljevenog mesa, u ovom je radu istraženo antimikrobno djelovanje enterocina EF-101 u mljevenom mesu koje je bilo skladišteno u hladnjaku tijekom roka trajanja. Pretpostavka je da će enterocin antimikrobno djelovati na patogene bakterije ako su prisutne te na bakterije kvarenja.

## Materijal i metode

### Priprema enterocina

Bakteriocin-sintetizirajući soj *Enterococcus faecalis* EF-101 izdvojen je iz sirovog mlijeka u prijašnjem istraživanju (Zdolec i sur., 2016.). Postupak određivanja antimikrobne aktivnosti enterocina EF-101 opisan je u radu Vukušić i Zdolec (2020.) uz prethodno polupročišćivanje enterocina amonijevim sulfatom (ZDOLEC i sur., 2008.).

### Inokulacija mljevenog mesa

Korišteno je mljeveno meso pakirano u modificiranoj atmosferi, kupljeno u maloprodaji. U sterilne vrećice za homegenizaciju odvagano je po 10 g mljevenog mesa. Ukupno je odvagano 30 uzoraka, od čega je u 15 uzoraka dodavan enterocin. Aktivnost bakteriocina izmjerena je prije dodavanja u mljeveno meso. Količina dodane otopine bakteriocina prilagođena je masi uzorka, odnosno preračunata na 10 g mesa. Po danu uzorkovanja pretražena su tri uzorka svake skupine.

### Mikrobiološke pretrage mljevenog mesa

Kontrolni uzorci i uzorci s dodanim enterocinom ( $n = 30$ ) pohranjeni su u hladnjak na  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  te pretraživani 0., 1., 2., 3. i 4. dan pohrane. U uzorak mesa dodano je 90 mL puferirane peptonske vode te homogenizirano 2 min (Stomacher, 400 Circulator, Seward, UK). Nakon homogenizacije načinjena su serijska decimalna razrjeđenja i provedeno naciepljivanje na određene selektivne i neselektivne hranjive podloge u triplikatu radi određivanja broja: aerobnih mezofilnih bakterija na Plate Count Agar (PCA, BioMerieux, Francuska) uz inkubaciju pri  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom 72 sata, psihrofilnih bakterija na PCA agaru pri  $6,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom 10 dana, bakterija mliječne kiseline na MRS agaru (Biomérieux, Francuska) prekrivenom s 5 mL istog medija pri  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  48 – 72 sata, koagulaza-negativnih staflokoka na agaru Baird Parker (Merck, Njemačka) pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom 48 sati, enterobakterija na agaru VRBG (Merck, Njemačka) pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom 24 sata, *Escherichia coli* i ostalih koliformnih na agaru Rapid E. coli (Biorad, SAD) pri  $44\text{ }^{\circ}\text{C}$  24 sata i *L. monocytogenes* na agaru Palcam (Merck, Njemačka) pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom 24 sata. pH otopine izmjeren je nakon uzimanja inokuluma za mikrobiološke pretrage (pH-metar, pH 510 Eutech instruments, Nizozemska).

### Statistička obrada

Podaci su statistički obrađeni u programu Statistica 13.5. Osnovna statistička analiza provedena je uobičajenim metodama deskriptivne statistike, a

rezultati su izraženi kao srednja vrijednost i standardna devijacija ( $x \pm \text{SD}$ ). Provjera normalnosti raspodjele utvrđena je Kolmogorov-Smirnovim testom na temelju kojeg je odabran Studentov t-test za testiranje statističke hipoteze. Značajnost razlika srednjih vrijednosti dviju skupina uzoraka promatrana je na razini značajnosti  $p < 0,05$ .

### Rezultati i rasprava

Mjerenjem aktivnosti polupročišćenog bakteriocina enterocina EF-101 utvrđena je inhibicija *L. monocytogenes* u razrjeđenju 1 : 256 (slika 1) što je dobar pokazatelj antimikrobnog potencijala inhibitora in vitro.

U tablici 1. prikazani su rezultati mikrobioloških pretraga mljevenog mesa bez enterocina (kontrola) i uz dodatak enterocina. Iz tablice je vidljivo da se broj svih mikrobnih populacija u mljevenom mesu bez enterocina ili njegovim dodavanjem povećavao tijekom četiri dana pohrane. Ukupno gledajući, uočava se smanjenje broja enterobakterija pri kraju pohrane, odnosno 3. i 4. dana u uzorcima s enterocinom, kao i bakterija mliječne kiseline. Nultoga dana u uzorcima s enterocinom broj koliformnih bakterija bio je ispod praga detekcije ( $< 1 \log_{10}$  CFU/g), dok je u kontrolnim uzorcima njihov prosječan broj bio 1,5  $\log_{10}$  CFU/g. Broj bakterija mliječne kiseline u uzorcima s enterocinom manji je tijekom cijelog vremena skladištenja. Broj *E. coli* i *L. monocytogenes* bio je ispod granica detekcije metoda ( $< 2 \log_{10}$  CFU/g) u svim uzorcima mljevenog mesa.



Slika 1. Prikaz agar-difuzijskog testa u jažicama enterocina EF-101 s indikatorskom bakterijom *L. monocytogenes* NCTC 10527. Inhibicija u najvećem razrjeđenju 1 : 256.

Tablica 1. Rezultati mikrobiološke pretrage ( $\log_{10}$  CFU/g;  $x \pm SD$ ) i pH mljevenog mesa s enterocinom i bez njega

Parametar		Dani pohrane (4 °C)				
		0	1	2	3	4
Aerobne mezofilne bakterije	Kontrola	4,00±0,06	5,17±0,08	6,65±0,26	7,23±0,38	7,19±0,52
	Enterocin	3,71±0,21	4,95±0,49	6,49±0,37	7,01±0,09	7,16±0,37
Bakterije mliječne kiseline	Kontrola	3,18±0,05	3,81±0,28	5,18±0,25	5,88a±0,04	5,59±0,58
	Enterocin	3,18±0,19	3,61±0,24	4,95±0,14	5,53b±0,12	5,27±0,72
Enterobakterije	Kontrola	1,03±0,93	2,31±0,07	2,95±0,35	3,58±0,35	3,34±1,28
	Enterocin	1,41±0,38	2,18±0,19	3,01±0,27	2,89±0,25	2,74±0,73
Psihrofilne bakterije	Kontrola	4,31a±0,15	5,11±0,06	5,78±0,10	6,25±0,07	6,74±0,04
	Enterocin	3,80b±0,20	5,06±0,07	5,72±0,04	6,18±0,11	6,79±0,04
Koagulaza negativni stafilocoki	Kontrola	2,66±0,18	3,23±0,25	3,90a±0,46	5,17±0,20	5,12±0,10
	Enterocin	2,76±0,12	3,33±0,09	4,84b±0,06	5,12±0,11	5,06±0,05
Koliformne bakterije	Kontrola	1,53±1,32	2,89±0,21	3,45±0,15	4,55±0,23	4,02±0,35
	Enterocin	<1	2,64±0,15	3,56±0,08	4,03±0,54	4,26±0,60
pH	Kontrola	5,95±0,05	5,94±0,04	5,91±0,05	5,92±0,03	5,83±0,02
	Enterocin	5,92±0,04	5,88±0,01	5,94±0,01	5,92±0,04	5,87±0,08

a,b – vrijednosti označene različitim slovima u stupcima unutar pretraženog parametra (skupine bakterija) statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

Pojedinačno gledano, vidljiv je manji broj aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima s dodanim enterocinom, da bi pri kraju skladištenja broj u kontrolnim i uzorcima s enterocinom bio približno isti. Tijekom pohrane broj se aerobnih mezofilnih bakterija nije značajno razlikovao među skupinama uzoraka ( $p > 0,05$ ). Broj enterobakterija bio je znatno manji pri kraju pohrane, odnosno trećeg i četvrtog dana u uzorcima s enterocinom. Posljednji dan skladištenja u uzorcima s enterocinom opažen je 0,6 log manji broj enterobakterija. Broj psihrofilnih bakterija podjednak je u obje skupine uzoraka, osim nulti dan. Na početku je broj psihrofilnih bakterija u uzorcima s enterocinom bio statistički značajno manji ( $p < 0,05$ ). Broj koagulaza-negativnih stafilocoka nije se značajno razlikovao među skupinama, osim drugi dan gdje je broj bio veći za 1 log u uzorcima s enterocinom ( $p < 0,05$ ). Broj koliformnih bio je nulti dan ispod praga

detekcije u uzorcima s enterocinom, dok u sljedećim danima pohrane nije utvrđena značajna razlika u njihovom broju među pretraženim skupinama uzoraka ( $p > 0,05$ ). Tijekom cijelog vremena pohrane vidljiv je manji broj bakterija mliječne kiseline u uzorcima s enterocinom, osim nulti dan. Statistički značajna razlika između skupina uočena je 3. dan ( $p < 0,05$ ).

Kako je prije navedeno, u primarnoj mikroflori mesa prevladavaju gram-negativne bakterije, što uključuje i vrlo česte enterobakterije te neke vrste roda *Pseudomonas*, a od gram-pozitivnih najčešće nalazimo laktobacile i enterokoke (Jay i sur., 2005.; cit. Milin, 2015.). Pri usitnjivanju mesa mikroflora koja se nalazi na površini podjednakom se raspoređuje u mljevenom mesu, što povećava dodirnu površinu mikroorganizama i mesa, te uz visok aktivitet vode dovodi do brže bakterijske razgradnje i kvarenja negoli u porcioniranom mesu (Milin i sur., 2016.). Op-



ćenito, inicijalni broj bakterija u mljevenom mesu vrlo je važan za daljnji tijek mikrobioloških procesa u pakiranom mesu. U istraživanju Milina i suradnika (2016.) inicijalni broj aerobnih mezofilnih bakterija u mljevenom mesu pakiranom u modificiranoj atmosferi bio je visok (oko  $6 \log_{10}$  CFU/g) što jasno uvjetuje i kraću održivost proizvoda, osobito pri oscilacijama temperature pohrane. Promatrajući brojeve mikroorganizama na početku našeg pokusa, uočava se inicijalan broj aerobnih mezofilnih bakterija u mljevenom mesu od oko  $10^4$  CFU/g. No već drugi dan pohrane utvrđeno je preko  $10^6$  CFU/g što nadvisuje najveće dopuštene granice preporučene nacionalnim Vodičem za mikrobiološke kriterije za hranu. Pohrana je nastavljena do 4. dana, kad je broj bakterija porastao i dalje za 1 log u obje skupine uzoraka i nije se međusobno značajno razlikovao. Nadalje, psihrofilni mikroorganizmi koji rastu na temperaturama hlađenja hrane mogu prouzročiti brže kvarenje mljevenog mesa ili ugroziti zdravlje potrošača (*L. monocytogenes* i *Y. enterocolitica*) (Ray i Bhunia, 2013.). U našem istraživanju psihrofilne patogene bakterije nisu bile utvrđene, a broj ukupnih psihrofila rastao je kontinuirano za 2 – 3 log tijekom pohrane mljevenog mesa na 4 °C. Isti trend i slična dinamika rasta vidljivi su i za enterobakterije, koliformne bakterije, stafilokoke i bakterije mliječne kiseline (povećanje 2 – 3 log).

S obzirom na cilj istraživanja, mikroflora mljevenog mesa se dodatkom enterocina EF-101 nije značajno smanjila u promatranim uvjetima njegove pohrane. Kako je navedeno, možemo pretpostaviti da je enterocin mogao sistirati rast koliformnih bakterija i nekih psihrofila na početku pokusa, gdje su zabilježene značajne razlike u broju tih mikroorganizama. Osim toga tijekom cijelog vremena pohrane broj je bakterija mliječne kiseline bio manji uz dodatak enterocina. Primjena bakteriocina u mljevenom mesu nije opsežno istraživana pa navodimo samo rezultate Chakchouk-Mtibaa i suradnika (2017.), koji su obećavajući. Naime primjenom polupročišćenog bakteriocina BacFL32 u mljevenom purećem mesu smanjuje se broj aerobnih mezofilnih bakterija i produkuje rok trajanja mljevenog mesa. Također navode da se smanjivao i broj psihrotrofnih bakterija i enterobakterija u odnosu na kontrolne uzorke. U usporedbi s našim dobivenim vrijednostima može se primijetiti da su rast, odnosno smanjenje bakterija u kontrolnoj i testnoj skupini bili linearni, s manje oscilacija.

Dosadašnja istraživanja enterocina EF-101 obuhvatila su in vitro testiranja antimikrobne aktivnosti pri čemu su optimalni rezultati postignuti u inhibi-

ciji brojnih patogenih i nepatogenih sojeva bakterija roda *Listeria* (Crk i Zdolec, 2018.; Vukušić i Zdolec, 2020.). Primjenom u mesnom supstratu druge vrste, trajnim kobasicama, ali u obliku mikrobne kulture koja sintetizira enterocin EF-101, pokazalo se da je moguć i antibiogeni učinak, odnosno smanjenje stvaranja biogenih amina u fermentiranom mesnom proizvodu (Zdolec i sur., 2020.). To se može pripisati inhibiciji aminogene mikroflora, npr. bakterija mliječne kiseline. Imajući to na umu, može se pretpostaviti da je i smanjenje broja bakterija mliječne kiseline u našem istraživanju u mljevenom mesu nastalo istim mehanizmom. U tom je smislu potrebno dalje istražiti stabilnost i aktivnost enterocina EF-101 u kombinaciji s različitim antimikrobnim tehnologijama.

Zaključno, antimikrobni učinak enterocina može biti razlog smanjenom broju bakterija mliječne kiseline i enterobakterija na kraju pohrane mljevenog mesa pri 4 °C. Istodoban antimikrobni učinak na više mikrobnih skupina zabilježen je nulti dan, tj. neposredno nakon dodavanja enterocina na psihrofile, koliforme i aerobne mezofilne bakterije. Dobiveni rezultati upućuju na aktivnost enterocina u mesnom supstratu, ali s ograničenim antimikrobnim učinkom, vjerovatno zbog brze razgradnje tkivnim enzimima.

## Napomena

Rad je proizašao iz diplomskog rada Dee Kralj „Utjecaj enterocina EF-101 na održivost mljevenog mesa“ (mentor izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec). Autori zahvaljuju tehničkoj suradnici Ani Konjević za pomoć u izvođenju mikrobioloških analiza.

## Literatura

- CHAKCHOUK-MTIBAA, A., S. SMAOUI, N. KTARI, I. SELLEM, S. NAJAH, I. KARRAY-REBAI, L. MELLOULI (2017): Biopreservative Efficacy of Bacteriocin BacFL31 in Raw Ground Turkey Meat in terms of Microbiological, Physicochemical, and Sensory Qualities. *Biocontrol Sci.* 22. 67–77.
- CHAKCHOUK-MTIBAA, A., S. SMAOUI, H. B. HLI-MA, I. SELLEM, K. ENNOURI, L. MELLOULI (2019): Enterocin BacFL31 from a Safety *Enterococcus faecium* FL31: Natural Preservative Agent Used Alone and in Combination with Aqueous Peel Onion (*Allium cepa*) Extract in Ground Beef Meat Storage. *BioMed Res. Int.* Article ID 4094890, 1–13 str.
- CHIKINDAS, M. L., R. WEEKS, D. DRIDER, V. A. CHISTYAKOV, L. M. DICKS (2017): Functions and emerging applications of bacteriocins. *Curr. Opin. Biotechnol.* 49, 23–28.

- CRK, D., N. ZDOLEC (2018): Antimicrobial potential of enterococci isolated from raw milk. Hrvatski veterinarski vjesnik, 26, 30–34.
- GIRAFFA, G., D. CARMINATI, E. NEVIANI (1997): Enterococci isolated from dairy products: a review of risks and potential technological use. J. Food Prot. 60, 732–738.
- JAY, J. M., M. J. LOESSNER, D. A. GOLDEN (2005): Modern food microbiology. 7<sup>th</sup> edition, Springer, str. 38–66.
- MILIN, M. (2015): Održivost mljevenog mesa pakiranog u modificiranoj atmosferi uz dodatak stabilizatora i antioksidansa. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- MILIN, M., N. ZDOLEC, K. SOKOLIĆ, V. DOBRANIĆ, V. PAŽIN, J. GRBAVAC i K. ZDOLEC (2016): Utjecaj antioksidansa i stabilizatora na mikrofloru mljevenog mesa pakiranog u modificiranoj atmosferi. Hrvatski veterinarski vjesnik 26, 3–4, 32–38.
- RAY, B., A. BHUNIA (2013): Fundamental food microbiology. CRC Press, Taylor and Francis, SAD.
- SMITH, L., J. E. MANN, K. HARRIS, M. F. MILLER, M. M., BRASHEARS (2005): Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in ground beef using lactic acid bacteria and the impact on sensory properties. J Food Prot. 68, 1587–1592.
- VERMA, A., R. BANERJEE, H. P. DWIVEDI, V. K. JUNEJA (2014): Bacteriocins. U: Encyclopedia of Food Microbiology 2<sup>nd</sup> Edition (Batt & Tortorello), Elsevier Ltd, Academic Press, str. 180–186.
- VUKUŠIĆ, N., N. ZDOLEC (2020.): Utjecaj bakteriocina enterokoka na odabrane uzročnike bolesti prenosivih hranom. Vet. stn. 51, 2, 139–143.
- ZDOLEC, N., M. HADŽIOSMANOVIĆ, L. KOZAČINSKI, Ž. CVRTILA, I. FILIPOVIĆ, M. ŠKRIVANKO, K. LESKOVAR (2008): Microbial and physicochemical succession in fermented sausages produced with bacteriocinogenic culture of *Lactobacillus sakei* and semi-purified bacteriocin mesenterocin Y. Meat Sci. 80, 480–487.
- ZDOLEC, N., V. DOBRANIĆ, I. BUTKOVIĆ, A. KOTURIĆ, I. FILIPOVIĆ, V. MEDVID (2016): Antimicrobial susceptibility of milk bacteria from healthy and drug treated cow udder. Vet. arhiv 86, 163–172.
- ZDOLEC, N., M. ČOP, V. DOBRANIĆ (2017): Primjena *Enterococcus faecalis* 101 iz mlijeka u proizvodnji trajnih kobasica. Hrvatski veterinarski vjesnik 25, 1-2, 56–62.
- ZDOLEC, N. (2018): Technological interventions in fermented meat production: the commercial perspective. U: Innovations in Technologies for Fermented Food and Beverage Industries, Food Microbiology and Food Safety. (Panda, S. K., P. H. Shetty, ur.), Springer International Publishing AG, Cham, pp. 175–188.
- ZDOLEC, N., T. BOGDANOVIĆ, V. PAŽIN, V. ŠIMUNIĆ-MEŽNARIĆ, N. MARTINEC, J. M. LORENZO (2020): Control of biogenic amines in dry sausages inoculated with dairy-originated bacteriocinogenic *Enterococcus faecalis* EF-101. Vet. arhiv 90, 1, 77–85.

## BESPLATNI OGLASI



Veterinarska ambulanta Nela d.o.o. Ivankovo traži doktora veterinarske medicine (m/ž) za terenski rad. Životopis poslati na e-mail: ambulanta.nela@gmail.com , mobitel: 091 582 3273.

Prodajem povoljno pokretni stol za obaranje goveda (korekcija papaka i drugi zahvati) marke Rosensteiner. Sve informacije na mobitel: 091 5432 103.

Kupujemo rashodovani trihineloskop microT10 kompakt (leća s povećanjem 24x i 48x sa pripadajućom plastikom). Ponude pošaljite na e-mail: karaula.veterinarska.daruvar@gmail.com ili telefon: 043 331 081