

Originalni naučni rad

UDK 579.67  
664:543.6

Rad prihvaćen: 1. 12. 2016.

## Procena uticaja temperature tokom hladnog lanca

Slobodan Vasović<sup>1</sup>, Jelena Z. Rajković<sup>2</sup>, Aleksandar Milin<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Univerzitet "Union-Nikola Tesla" Fakultet za inženjerski menadžment, Bulevar Vojvode Mišića 43, Beograd,<sup>4</sup>

<sup>2</sup> Univerzitet "Union-Nikola Tesla" Fakultet za inženjerski menadžment, Bulevar Vojvode Mišića 43, Beograd,

<sup>3</sup> Exsspres Cargo, Beograd

**Sažetak:** Prediktivna mikrobiologija ima za cilj da proceni broj bakterija u zavisnosti od parametara u okruženju uz korišćenje matematičkih modela. Za ispitivanje su izabrana tri psihrotrofna mikroorganizma: *Bacillus Cereus*, *Clostridium Botulinum* i *Listeria Monocytogenes*. Primenjen je prediktivni model u softverskom paketu ComBase, koristeći temperaturu i vreme kao osnovne parametre hladnog lanca. Raspon korišćenih temperatura za sva tri ispitivana mikroorganizma bio je od 5° C do 22° C. Korišćene temperature su 5,7,12 i 22° C.

**Ključne reči:** mikroorganizam, prediktivni model, temperatura, vreme, rast, hladni lanac.

## Cold Chain Temperature Influence Assessment

**Abstract:** Predictive microbiology aims to estimate the number of bacteria, depending on the parameters of the environment using mathematical models. For the purposes of testing, three psychrotroph microorganism were chosen: *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* and *Listeria monocytogenes*. The predictive model was provided in the software package Combase, using temperature and time as the basic parameters of the cold chain. The temperature range used for all three tested microorganisms was 5° C to 22° C. The used temperatures were 5,7,12 and 22° C.

**Keywords:** microbe, predictive model, temperature, time, growth, the cold chain.

### 1. Uvod

U okviru programa bezbednosti hrane u poslednje vreme se koristi prediktivno modeliranje kao alat koji može biti korišćen kao pomoć pri odlučivanju prilikom kreiranja efikasnijih sistema upravljanja hladnim lancem. Glavni cilj prediktivnih modela je da matematički opiše verovatnoću rasta ili preživljavanja specifičnih patogena u hrani (ukupna flora kvara ili patogene populacije) pod određenim uslovima. Modeli mogu da se koriste radi predviđanja verovatnoće rasta, vremena potrebnog do pojave rasta ili stepena samog rasta mikroorganizama. Dobijeni rezultati omogućavaju da učesnici hladnog lanca rukuju hranom na određeni način stvarajući prihvatljivo okruženje (vreme/temperatura), a što ima naučne osnove. U slučaju odstupanja, ovi podaci se mogu koristiti za određivanje efikasnih korektivnih mera, i što je još važnije na ovim podacima se mogu zasnivati i preventivne mere koje postaju sastavni deo sistema menadžmenta bezbednosti hrane (Vajda i saradnici 2016; Nuin i saradnici 2008).

Primena prediktivne mikrobiologije može da ima veliki značaj i specifičnu ulogu u osiguranju bezbedne hrane u svim sektorima prehrambene industrije, a samim tim i u industriji smrznute hrane koja teži unapređenju svojih tehnoloških znanja i tome pojača svoje napore za pronalaženje rešenja i strategije najbolje proizvođačke prakse koja bi osigurala bolje upravljanje bezbednošću prehrambenih proizvoda.

### 2. Materijal i metod rada

Mikrobiološka analiza rizika je nova disciplina u sektoru bezbednosti hrane. Ova disciplina pokušava da odredi broj mikroorganizama u datom vremenu. U zavisnosti od čuvanja, prerade i rukovanja hranom, broj bakterija će se menjati. Prediktivna mikrobiologija ima za cilj da proceni broj bakterija u zavisnosti od parametara u

---

<sup>4</sup>[slobodan.vasovic@fim.rs](mailto:slobodan.vasovic@fim.rs)

okruženju uz korišćenje matematičkih modela. Da bi ti modeli mogli da se pouzdano naprave i validiraju podrebniji su pre svega kvalitetni eksperimentalni podaci. U tu svrhu izabrana su tri psihrotrofna patogena mikroorganizama, *Bacillus Cereus*, *Clostridium Botulinum* i *Listeria Monocytogenes*. Primenjen je produktivni model u softverskom paketu ComBase, koristeći temperaturu i vreme kao osnovne parametre hladnog lanca.

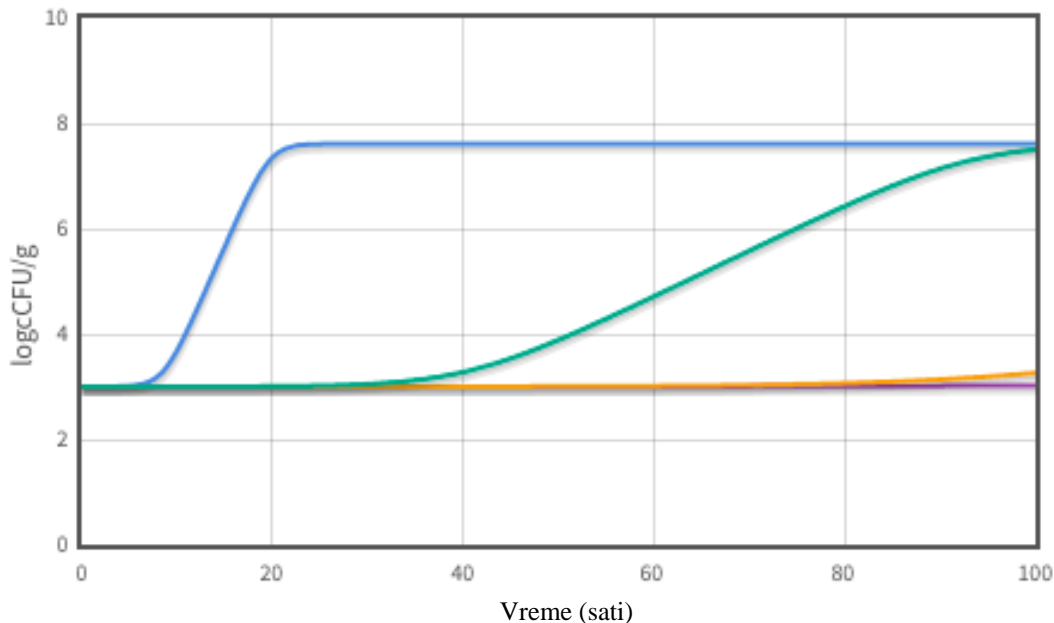
Temperatura je jedan od najvažnijih parametara koji utiče na rast mikroorganizama. Čelije rastu u okviru potpuno određenog raspona temperature rasta. Taj raspon rasta određen je minimalnom temperaturom, ispod koje su čelije metabolički neaktivne, i maksimalnom temperaturom, iznad koje čelije ne rastu. Između tih ekstrema je optimalna temperatura rasta pri kojoj čelije najbrže rastu i razmnožavaju se. Stoga, temperatura okruženja ne određuje samo brzinu razmnožavanja, već i mikroorganizama koji će se razvijati i stepen aktivnosti mikroorganizama. Raspon korišćenih temperatura za sva tri ispitivana mikroorganizma bio je od 5°C do 22°C oponašajući temperature između gornje preporučene temperature frižidera u domaćinstvima (5°C) i sobne temperature (22°C). Korišćene temperature su 5,7,12 i 22°C.

### 3. Rezultati istraživanja

*Bacillus cereus* je jedan od najznačajnijih patogena mikroorganizama u hrani koja se stavlja u grupu takozvanih Ready-to-Eat proizvoda. Upravo zbog toga je u sistemu upravljanja bezbednošću hrane koja se proizvodi blagim termičkim tretmanima radi očuvanja prirodnih senzornih i nutritivnih svojstava i koja se mora čuvati na hladnom, posebno važna prevencija rasta *Bacillus cereus* i proizvodnja toksina.

Na grafikonu 1 prikazana je kriva rasta *B.cereus* na temperaturama 5,7,12 i 22°C. Iz grafikona se jasno uočava ključan uticaj temperature na rast.

Slika 1: Rast *Bacillus cereus* u uslovima pH7,  $a_w$  0,997, sa početnim brojem od 3 log CFU/g na temperaturama od 5 (ljubičasta linija), 7 (narandžasta linija), 12 (zelena linija) i 22°C (plava linija).



Iz slike se vidi da temperature od 5 i 7°C ne dozvoljavaju rast *Bacillus Cereus* tokom 80 sati i da se sve vreme posmatranja (100 sati) ne prelazi kritičan broj *Bacillus Cereus* (broj za koji se smatra da ugrožava zdravlje potrošača) od 5 log CFU/g. Međutim, na temperaturama od 12 i 22°C rast počinje već nakon 37 sati, odnosno nakon 7 sati. Kritičan broj se dostiže već nakon 60 sati, odnosno nakon 15 sati. Dobijeni podaci jasno pokazuju kako se rok trajanja i menadžment bezbednosti i kvaliteta proizvoda mogu unaprediti korišćenjem hladnog lanca. U tabeli 1 su izneti podaci koji potvrđuju ove nalaze, a u kojoj je prikazana maksimalna brzina rasta i generaciono vreme *Bacillus Cereus* na korišćenim temperaturama.

Tabela 1: Maksimalna brzina rasta i generaciono vreme *Bocillus cereus* na temperaturama 5,7,12 i 22°C

Temperatura (5°C)	Maksimalna brzina rasta (log.conc/h)	Generaciono vreme (u satima)
5	0,023	12,891
7	0,035	8,658
12	0,088	3,431
22	0,414	0,726

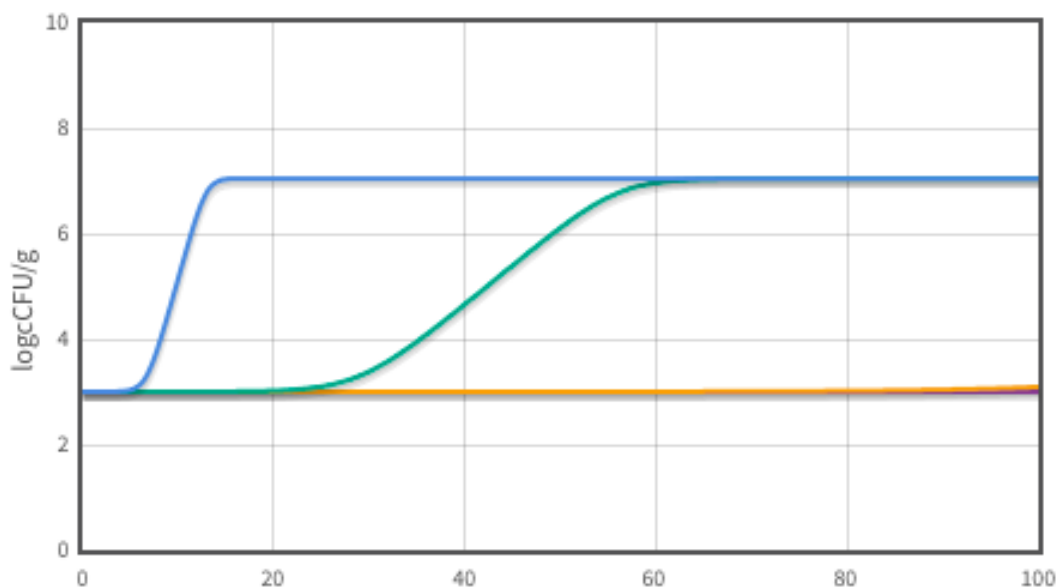
Izvor: Autori

Veoma je važno istaći da je svaki prediktivni model okarakterisan određenom nesigurnošću, kao i svako drugo predviđanje. Tako se vrednosti u slici 1 trebaju posmatrati kao prikaz statistički najverovatnijih vrednosti, dok su u tabeli 1 prikazane srednje vrednosti.

Prikazani rezultati potvrđuju ključnu ulogu niske temperature što je u saglasnosti sa istraživanjima Doyle i Beuchat (2007), Jaquette i Beuchat (1998) i Mahakarnchanakul i Beuchat (1999). Trend povećanja potrošnje minimalno obrađene hladne hrane predstavlja nove rizike u pogledu trovanja hranom. Pasterizacija smanjuje broj neželjenih vegetativnih ćelija patogenih mikroorganizama i mikroorganizama kvara u hrani, produžuje rok trajanja, pospešuje bezbednosti hrane, ali mikrobiološke spore koje uvek preživljavaju pasterizaciju moraju biti kontrolisane, korišćenjem hladnog lanca tokom lagerovanja i transporta (1-8°C) i ograničenjem roka trajanja.

Na slici 2 prikazane su krive rasta *Clostridium botulinum* na temperaturama 5,7,12 i 22°C odakle se, kao i kod *Bocillus cereus* jasno uočava ključan uticaj temperatura na rast. Minimalna temperatura rasta neproteolitičnih slojeva *Clostridium botulinum* je 3,3°C dok je kod *Bacillus cereus* to oko 4°C.

Slika 2: Rast *Clostridium botulinum* u uslovima pH7, aw 0,997, sa početnim brojem 3 log CFU/g na temperaturama od 5 (ljubičasta linij), 7 (narandžasta linija), 12 (zelena linija) i 22°C (plava linija).



Iz prikazanih kriva rasta i ovde se uočava da temperatura od 5 i 7°C ne dozvoljavaju rast *Clostridium botulinum* tokom 100 sati. Međutim, na temperaturama od 12 i 22°C rast počinje već nakon 22 sata, odnosno nakon 5 sati. Ovo potvrđuje da se i u slučaju *Clostridium botulinum* rok trajanja i menadžment bezbednosti i kvaliteta proizvoda mogu unaprediti korišćenjem hladnog lanca. Podaci iz slike 2, gde su prikazani maksimalna brzina rasta i generaciono vreme *Clostridium botulinum* na temperaturama 5,7,12 i 22°C, potvrđuju ove nalaze.

Tabela 2: Maksimalna brzina rasta i generaciono vreme Clostridium botulinum na temperaturama 5,7,12 i 22°C

Temperatura (5°C)	Maksimalna brzina rasta (log.conc/h)	Generaciono vreme (u satima)
5	0,019	16,024
7	0,037	8,106
12	0,15	2,01
22	0,647	0,465

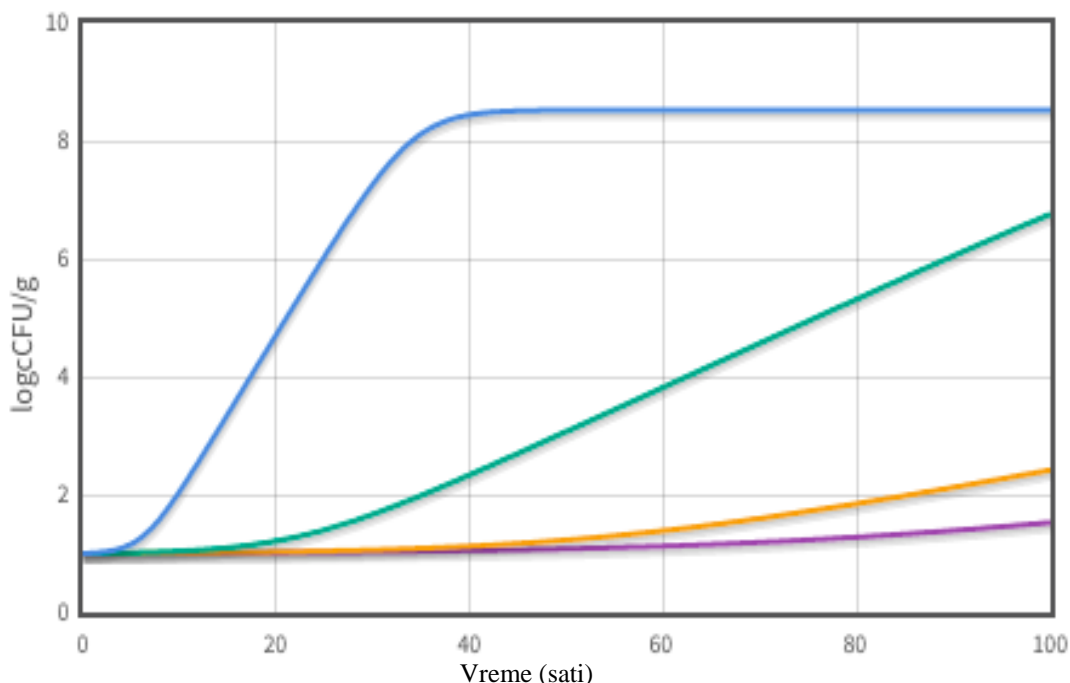
Izvor: Autori

Podaci koji su dobijeni se mogu posmatrati u odnosu na podatke koje su objavili Reskm i saradnici (2008) gde se vidi da je pri temperaturama čuvanja proizvoda ispod 7°C broj uzoraka koji su sadržali toksine znatno manji nego na višim temperaturama čuvanja proizvoda.

Zbog sposobnosti razmnožavanja na niskim temperaturama *Listeria monocytogenes* se može naći i u namirnicama čuvanim čak i u zamrzivaču. Otuda je poštovanje hladnog lanca od izuzetne važnosti u kontroli rasta *Listeria monocytogenes*, čija je minimalna temperatura rsta -1,5°C i tiče se svih strana uključenih u lancu proizvodnje i prerade hrane. Od proizvodnje do potrošnje rashlađene i smrznute namirnice treba stalno da bude na odgovarajućoj temperaturi (Perez-Trallero i saradnici 2014; Daelman i saradnici 2013).

Na slici 3 su prikazane krive rasta *Listeria monocytogenes* na temperaturama 5,7,12 i 22 °C odakle se jasno vidi ključni uticaj temperature na rast. Pri modeliranju rasta *L. monocytogenes* u ovom radu korišćene su niže vrednosti inicijalne kontaminacije (1 log CFU/g).

Slika 3. Rast *Listeria monocytogenes* u uslovima pH7, aw 0,997, sa početnim brojem od 1 log CFU/g na temperaturama od 5 (ljubičasta linija), 7 (narandžasta linija), 12 (zeleno linija) i 22°C (plava linija).



Zakonski maksimalan dozvoljen broj *Listeria monocytogenes* u jelima spremnim za upotrebu je 2 log CFU/g koji se na temperaturi od 22°C dostiže za oko 10 sati, na 12°C za oko 35 sati, na 7°C za oko 80 sati, a na 5°C za više od 100 sati što je potvrđeno rezultatima iznetim u tabeli 3 i radovima Wu i saradnici (2015), Kovačević i saradnici (2013), Osaili i saradnici (2014) i Wang i saradnici (2015).

Tabela 3: Maksimalna brzina rasta i generaciono vreme *Listeria monocytogenes* na temperaturama 5,7,12 i 22°C.

Temperatura (5°C)	Maksimalna brzina rasta (log.conc/h)	Generaciono vreme (u satima)
5	0,021	14,566
7	0,031	9,743
12	0,075	4,005
22	0,27	1,113

Izvor: Autori

Tokom distribucije hrane realno je očekivati da temperatura fluktuirá. Otuda je stalna kontrola temperature tokom transporta i distribucije, kao i od maloprodaje do potrošača od ključne važnosti za sprečavanje rasta ovih patogenih mikroorganizama.

### Zaključak:

Bezbednost hrane osigurava se prvenstveno preventivnim pristupom, kao što je primena dobre higijenske prakse i primena postupaka utemeljenih na analizi opasnosti i principima sistema kritičnih kontrolnih tačaka (HACCP). Mikrobiološki kriterijumi se mogu koristiti za validaciju i verifikaciju postupaka HACCP-a i drugih mera kontrole higijene, imajući u vidu minimalne temperature rasta relevantnih mikroorganizama. Stoga je važno utvrditi mikrobiološke kriterijume kojima se definiše prihvatljivost procesa, kao i mikrobiološke kriterijume bezbednosti hrane kojima se postavlja granica iznad koje se hrana treba smatrati neprihvatljivom za ljudsku upotrebu. U poštovanju ovih kriterijuma temperatura na kojoj se hrana čuva ima ključan, odnosno presudan uticaj.

### Literatura:

1. Daelman J, Jacxsens I, Lahou E, Devlieghere F, Uyttendaele M (2013): Assessment of the microbial safety and quality of cooked chilled foods and their production process. *Int J Food Microbiol* 160(3):193-200
2. Doyle MP, Beuchat LR (2007). *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, 3<sup>rd</sup> ed. Washington, D.C.: ASM Press.
3. Kovačević M, Burazin J, Pavlović H, Kopjar M, Pillizota V. (2013): Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* sp in ready-to-eat minimally processed and refrigerated vegetables, *World J Microb Biot* 29(4):707-12.
4. Mahakarnchanakul W, Beuchat LR (1999): Effect of shift in growth temperature on tolerance of psychrotrophic and mesophilic strains of *Bacillus cereus* to heat and sodium chloride. *J Food Protect* 62(1) 57-64
5. Nuin M, Abaroa C, Ibanez B. (2008): Shelf-Life Prediction of Ready-to-Eat food Products Via Survival Analysis. *Acta Hort* 802, 259-63
6. Osaili TM; AL-Nabulsi A A, Shaker R R, Jaradat Z W, Taha M, Al-Kherasha M, Meherat M, Holley R (2014): Prevalence of *Salmonella* Serovars, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 in Mediterranean Ready-to-Eat Meat Products in Jordan. *J Food Protect* 77(1), 106-11.
7. Peeck MW; Goodburn KE, Betts RP, Stringer S C. (2008) Assessment of the potential for growth and neurotoxin formation by non-proteolytic *Clostridium botulinum* in short shelf-life commercial foods designed to be stored chilled. *Trends Food Sci Tech* 19(4), 207-16
8. Jaquette CB, Beuchat LR (1998): Survival and growth of psychrotrophic *Bacillus cereus* in dry and reconstituted infant rice cereal. *J Food Protect* 61(12), 1629-35
9. Perez-Trallero E, Zigorraga C, Artieda J, Alkorta M, Marimon JM (2014): Two Outbreaks of *Listeria monocytogenes* infection, northern Spain. *Emerg Infect Dis* 20(12);2115-7
10. Vajda KR, Halbritter A A, Szucs P, Szigeti J, Aswany B. (2016): Heat Resistance of Human Pathogens in Sous-Vide Products studied in Model Nutrition Media. *Acta Aliment* 45(2): 233-41
11. Wang GY, Qian WJ, Zhang XX, Wang HH, Ye KP, Bai Y, Zhou GH (2015): Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-Eat meat products in Nanjing China. *Food Control* 50: 202-8
12. Wu S, Wu QP, Zhang JM, Chen MT, Yan Z. (2015): prevalence, antibiotic resistance and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from retail ready-to-eat foods in China. *Food Control* 47, 340-7