

Dominantna mikroflora izolovana iz tradicionalno fermentisane „sremske“ kobasice*

Borović Branka¹, Vesković Slavica¹, Velebit Branko¹, Baltić Tatjana¹, Spirić Danko¹

S a d r ž a j: U „sremskoj“ kobasici proizvedenoj na tradicionalan način praćena je promena epifitne mikroflora i sakupljena je kolekcija izolata autohtonih sojeva bakterija mlečne kiseline (BMK). Izolati BMK prikupljeni su tokom procesa dimljenja, fermentacije, sušenja i zrenja (0, 2, 4, 7, 14. i 21. dan) „sremske“ kobasice. Identifikacija BMK obavljena je klasičnim mikrobiološkim metodama, uz ispitivanje osnovnih morfoloških i biohemijskih osobina izolata (sposobnost produkcije gasa iz glukoze, osobina stvaranja sluzi, rast na različitim temperaturama i katalaza reakcija). Konačna identifikacija obavljena je upotrebom biohemijskog testa, API 50 CHL. Promena broja BMK bila je u skladu sa procesom mlečne fermentacije, pri čemu se broj povećavao do 7. dana, da bi nakon toga usledio blagi pad karakterističan za ovu vrstu proizvoda. Najzastupljeniji sojevi BMK izolovani iz „sremske“ kobasice su: *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. fermentum*, *Lb. cellobiosus* i *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides*. Oni čine 81,5 posto od svih izolovanih sojeva BMK.

Cljučne reči: „sremska“ kobasica, epifitna mikroflora, BMK, klasične mikrobiološke metode, API test.

Uvod

„Sremska“ kobasica je tipičan predstavnik fermentisanih kobasica uskog dijametra na našim prostorima i tradicionalno se proizvodi u domaćinstvima ili manjim zanatskim objektima Vojvodine, a naročito u području Srema. Proizvodi se od svinjskog mesa, slanine (čvrstog masnog tkiva) i začina. Specifični začini koji se koriste za izradu „sremske“ kobasice su slatka i ljuta mlevena paprika i beli luk.

Na kvalitet tradicionalno fermentisanih kobasica utiče mnogo činilaca kao što su: izbor sirovine, metaboličke aktivnosti prisutne epifitne mikroflora i fizičko-hemijske promene nastale u toku procesa dimljenja, zrenja i sušenja nadeva (Vesković, 2007). Mikroflora tradicionalno fermentisanih kobasica potiče iz sirovina koje ulaze u njihov sastav ili iz sredine u kojoj se izrađuju (Mauriello i dr., 2004; Rantsiou i dr., 2005). Mikroorganizmi odgovorni za promene koje se dešavaju u procesu fermentacije su BMK, koagulaza negativne koke i neke vrste kvasaca (Hutkins, 2006).

Da bi se očuvala izvorna svojstva kobasica fermentisanih na tradicionalan način, neophodno

je da se upozna ekologija epifitne mikroflora tokom fermentacije i izoluju autohtoni sojevi koji mogu da se koriste kao starter kulture (Rantsiou i dr., 2006). Na korisnim efektima koje ispoljavaju slučajno prisutni, epifitni mikroorganizmi, zasniva se i upotreba selekcionisanih i posebno dodatih mikroorganizama. Upotrebom starter kultura postiže se suzbijanje nepoželjnih mikroorganizama, nastaju brža acidifikacija, denitrifikacija i omogućava se standardizacija završnog proizvoda (Leroy i dr., 2006). Njihovom primenom utiče se na higijensku bezbednost proizvodnje, ujednačava se i poboljšava kvalitet i postiže bolja održivost proizvoda (Vesković, 2007). Neke komercijalno značajne bakterije mlečne kiseline (BMK) proizvode antimikrobne supstance, polimere šećera, aromatična jedinjenja i vitamine ili imaju probiotska svojstva (Leroy i De Vuyst, 2004). Ove osobine BMK su od velikog značaja pri izradi fermentisanih proizvoda i funkcionalne hrane.

Cilj ovog rada je da se prate promene epifitne mikroflora, dobijanje izolata autohtonih sojeva BMK iz „sremske“ kobasice, kao i ispitivanje njihovih morfoloških i biohemijskih osobina.

***Napomena:** Navedena ispitivanja je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, u okviru Projekta: „Tehnološke i protektivne osobine autohtonih sojeva bakterija mlečne kiseline izolovanih iz tradicionalnih fermentisanih kobasica i mogućnosti njihove primene u industriji mesa“, ev. br. 20127.

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kaćanskog 13, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

Materijal i metode

Autohtona „sremska“ kobasica izrađivana je u industrijskim uslovima, prema osnovnim načelima tradicionalne proizvodnje, u skladu sa odredbama propisanim Pravilnikom o kvalitetu proizvoda od mesa (Sl. list SCG 33/2004).

„Sremska“ kobasica proizvedena je od svinjskog mesa i čvrstog masnog tkiva (u odnosu 70% : 30%), koji su usitnjeni do granulacije od oko 5 mm, uz dodatak prirodnih začina (slatka i ljuta mlevena paprika i mleveni beli luk). Ovako pripremljen nadev, punjen je u svinjska tanka creva. Posle temperiranja nadeva i sušenja omotača, kobasice su dimljene po hladnom postupku (pri 18°C), u trajanju od četiri dana, a zatim su podvrgnute sušenju i fermentaciji (pri 14–16°C), u trajanju od 21 dan.

Mikrobiološka ispitivanja

Mikrobiološki su ispitivani uzorci „sremske“ kobasice koji su uzimani u različitim fazama proizvodnje (0, 2, 4, 7, 14. i 21. dan zrenja). Ogljed je ponovljen tri puta u tri vremenski odvojene fermentacije.

Od svakog uzorka odmereno je po 25 grama i stavljano u sterilne Stomaher kese u koje je dodato 225 mililitara slanog pepton rastvora (8 g/L NaCl, 1 g/L bakteriološkog peptona, Oxoid). Uzorci su zatim usitnjavani u Stomaher aparatu (AES, Mix 2) 1 min i 30 s. Na ovaj način dobijeno je osnovno razređenje. Obavljena su sledeća ispitivanja:

a) Ukupan broj bakterija određivan je prema metodi ISO 4833:2003. Iz osnovnog razređenja, kao i serije decimalnih razređenja, uzeto je po 1 mL i preneto u po dve Petrijeve ploče, a zatim nalivano sa Plate Count Agarom (PCA, Merck) i inkubirano pri temperaturi od 30°C u trajanju od 48 do 72 h;

b) Broj BMK određivan je prema metodi ISO 15214:1998. Iz osnovnog i serije decimalnih razređenja uzeto je po 1 mL i preneto u Petrijeve ploče, a zatim dvostruko nalivano sa De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agarom (Oxoid), i inkubirano 72 h pri temperaturi od 30°C;

c) Broj bakterija familije *Micrococcaceae* određivan je tako što je iz osnovnog i serije decimalnih razređenja prenet po 1 ml u po dve Petrijeve ploče, a zatim su ploče nalivane sa Manitol Salt Agarom (MSA, Merck) i inkubirane pri temperaturi od 30°C tokom 48 časova;

d) Broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* određivan je prema metodi ISO 21528-2:2004. Iz osnovnog i serije decimalnih razređenja, uzeto je po 1 mL i preneto u po dve Petrijeve ploče, a zatim dvostruko nalivano sa Violet Red Bile Glucose

Agarom (VRBG, Merck) i inkubirano 24 h pri temperaturi od 37°C;

e) Broj bakterija familije *Enterococcaceae* određen je prema metodi ISO 7899-2:2000. Iz osnovnog i serije decimalnih razređenja, uzeto je po 1 mL i preneto u po dve Petrijeve ploče, a zatim nalivano sa Bile-Esculin-Azide Agarom (Merck) i inkubirano 24 h pri temperaturi od 37°C;

f) Broj kvasaca i plesni određivan je prema metodi ISO 21257-2:2008. Iz osnovnog i serije decimalnih razređenja, uzet je 0,1 mL i zasejan na površinu Dichloran 18 posto (mass concentration) Glycerol Agara (DG 18) i inkubirano 48 do 72 h pri temperaturi od 25°C.

Izolacija BMK obavljena je klasičnim mikrobiološkim metodama, a konačna identifikacija biohemijskim testom API 50CHL.

Ispitivane su sledeće metaboličke osobine izolata BMK: sposobnost produkcije gasa iz glukoze, osobina stvaranja sluzi, rast pri različitim temperaturama (4, 10, 15, 37 i 45°C), ćelijska morfologija i katalaza reakcija. Za proveru sposobnosti produkcije gasa iz glukoze pripremljena je osnovna podloga (pepton 10 g, mesni ekstrakt 1 g, natrijumhlorid 5 g, bromtimol-plavo 1 posto i destilovana voda 1000 mL) u koju je dodato 1 posto glukoze. Podloga je sterilisana i sipana u epruvete u koje su prethodno stavljene Durhamove cevčice. U ovako pripremljenu podlogu zasejavane su ispitivane kulture. Pojava gasa u Durhamovim cevčicama karakteristična je za heterofermentativne vrste BMK.

Za ispitivanje osobine stvaranja sluzi izolati su zasejavani u MRS bujon. Nakon inkubacije u trajanju od 72 h pri temperaturi od 30°C utvrđivana je pojava sluzi na površini MRS bujona. Kod određivanja sposobnosti rasta sojeva BMK pri temperaturi od 4°C, ispitivane kulture su zasejavane u MRS bujon i termostatirane 5 dana. Ispitivanje rasta sojeva BMK pri temperaturama od 10, 15, 37 i 45°C obavljeno je uz termostatiranje od 24 do 48 h.

Rezultati i diskusija

Promena epifitne mikroflore „sremske“ kobasice tokom fermentacije, sušenja i zrenja prikazana je u tabeli 1.

Uočljivo je da ukupan broj bakterija, kao i broj BMK, raste do 7. dana, a zatim opada do završetka procesa fermentacije (21. dan). Broj bakterija familije *Micrococcoceae* povećava se do drugog odnosno četvrtog dana, a broj *Enterococcaceae* počinje da opada od drugog odnosno četvrtog dana. *Enterobacteriaceae* ni kod jedne ispitivane fermentacije nisu utvrđene posle četvrtog dana proizvodnje.

Tabela 1. Epifitna mikroflora tokom proizvodnje „sremske“ kobasice
Table 1. Epiphytic microflora during the production of „sremska“ sausage

Vrsta ispitivanja/ Type of investigations	Dani fermentacije/Days of fermentation											
	0.		2.		4.		7.		14.		21.	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
Ukupan broj bakterija/ Total plate count	3,99	0,45	6,04	1,79	9,45	1,17	12,16	1,14	9,56	1,69	10,66	2,28
Bakterije mlečne kiseline/ Lactic acid bacteria	2,73	0,52	6,79	1,29	8,62	1,15	11,11	0,17	8,73	1,50	8,97	1,02
<i>Micrococcaceae</i>	3,24	0,57	3,57	1,06	3,01	0,42	3,57	0,62	1,94	0,60	1,62	0,24
<i>Enterococcaceae</i>	3,15	0,63	3,30	0,61	4,49	0,69	3,59	1,25	3,63	0,57	2,89	0,19
<i>Enterobacteriaceae</i>	3,33	0,85	1,93	0,81								
Kvasci i plesni/ Yeasts and moulds	3,04	0,12	1,81	0,75	< 1,45		< 2		< 1,7		< 1,3	

\bar{x} – \log_{10} cfu

SD – standardna devijacija/standard deviation

Kvasci i plesni nisu utvrđeni posle 14. dana (I fermentacija), tj. posle 4. dana (II i III fermentacija). Prisustvo ispitivanih patogenih bakterija nije utvrđeno ni u jednom uzorku „sremske“ kobasice.

Dominantnu mikrofloru, u toku procesa izrade „sremske“ kobasice čine sledeće vrste BMK: *Lactobacillus delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Leuconostoc mesenteroides ssp. mesenteroides*, *Lb. curvatus*, *Ln. mesenteroides ssp. cremoris*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lb. plantarum* i *Lb. brevis*. Od 150 izolata tokom tri fermentacije „sremske“ kobasice, ove vrste BMK učestvuju sa preko 86 posto.

Procentualna zastupljenost pojedinih vrsta BMK prikazana je u tabeli 2.

Odmah posle formiranja nadeva i njegovog punjenja u svinjsko tanko crevo, tj. 0. dana proizvodnje, najzastupljenije BMK su: *Pediococcus pentosaceus* (35,0 posto), *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii* (17,6 posto) i *Lc. lactis ssp. lactis* (17,6 posto). Broj izolata *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii* se 2. dana značajno povećava i održava na visokom nivou do kraja (21. dana) proizvodnje. Slična tendencija je utvrđena i kod *Lb. curvatus* i *Lb. plantarum*. Nasuprot tome, broj izolata *Pediococcus pentosaceus* pokazuje tendenciju postepenog pada (8,33 posto) do 7. dana procesa fermentacije. Njegovo prisustvo nije utvrđeno 14. i 21. dana, ni u jednoj fermentaciji. Slična ispitivanja tradicionalno fermentisanih kobasica obavljena su i u zemljama Evropske unije (Ammor i dr., 2005; Aymerich i dr., 2006; Urso i dr., 2006; Comi i dr., 2005; Rantsiou i dr., 2005; Drosinos i dr., 2005).

Na kraju procesa zrenja „sremske“ kobasice (21. dana) najzastupljeniji sojevi BMK su bili: *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. fermentum*,

Tabela 2. Zastupljenost BMK tokom proizvodnje „sremske“ kobasice

Table 2. LAB strains during the production of „sremska“ sausage

Broj izolata–dani/No of isolates–days 0. 2. 4. 7. 14. 21.	Broj izolata (%)/No of isolates (%)	API identifikacija/ API identification
3 9 6 5 10 6	39 (26,0)	<i>Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii</i>
1 5 1 3 4 6	20 (13,3)	<i>Lb. curvatus</i>
0 2 3 3 4 4	16 (10,6)	<i>Lb. plantarum</i>
6 4 3 2 0 0	15 (10)	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
1 2 2 3 2 3	13 (8,6)	<i>Lb. fermentum</i>
0 1 2 3 3 2	11 (7,3)	<i>Lb. cellobiosus</i>
1 3 2 2 1 0	9 (6,0)	<i>Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides</i>
0 0 1 1 2 3	7 (4,6)	<i>Lb. brevis</i>
2 3 0 0 0 1	6 (4,0)	<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i>
0 1 2 1 0 0	4 (2,6)	<i>Ln. mesenteroides ssp. cremoris</i>
3 0 0 0 0 0	3 (2,0)	<i>Lc. lactis ssp. lactis</i>
0 1 0 1 0 0	2 (1,3)	<i>Lb. helveticus</i>
0 0 1 0 1 0	2 (1,3)	<i>Lb. collinoides</i>
0 1 1 0 0 0	2 (1,3)	<i>Lb. acidophilus</i>
0 1 0 0 0 0	1 (0,6)	<i>Lb. fructivarians</i>

Lb. cellobiosus i *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides*. Oni su činili 81,5 posto od svih izolovanih sojeva BMK.

S obzirom da je identifikacija izolata BMK obavljena klasičnim mikrobiološkim metodama, uz konfirmativnu potvrdu biohemijskim kitom API 50CHL, rezultati dobijeni u ovoj fazi ispitivanja ne mogu da se porede sa rezultatima drugih autora.

Predviđeno je da u nastavku ispitivanja dobijenih 150 izolata BMK bude podvrgnuto genotipskoj identifikaciji PCR tehnikom.

Posle identifikacije API 50CHL testom, utvrđeno je da su morfološke osobine izolata tipične za svaku vrstu BMK. Morfološke i biohemijske karakteristike ispitivanih BMK prikazane su u tabeli 3.

proizvodnji na tradicionalan način fermentisanih kobasica.

Zaključak

Sa mikrobiološkog stanovišta „sremska“ kobasica predstavlja zdravstveno bezbedan proizvod.

Tabela 3. Najvažnije morfološke i biohemijske karakteristike BMK izolovanih iz „sremske“ kobasice u toku procesa zrenja

Table 3. The most significant morphological and biochemical properties of LAB isolated from „sremska“ sausage during the ripening process

Broj izolata/ No of isolates	Identifikacija/ Identification (API 50CHL)	Ćelijska morfoloģija/ Cell morphology	CO ₂ iz glukoze/ CO ₂ from glucose	Katalaza/ Katalase	Rast na: /Growth at:					Formacija sluzi/ Slime formation
					4°C	10°C	15°C	37°C	45°C	
39(26,0)	<i>Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii</i>	R	0	–	0	27(69,2)	32 (82)	38(97,4)	16(41)	0
20(13,3)	<i>Lb. curvatus</i>	R	0	–	6(30)	12(60)	12(60)	13(65)	0	0
16(10,6)	<i>Lb. plantarum</i>	R	0	–	6(37,5)	7(43,7)	10(62,5)	11(68,7)	0	0
15(10,0)	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	C	0	–	1(6,7)	5(33,3)	15(100)	1(6,7)	1(6,7)	0
13(8,6)	<i>Lb. fermentum</i>	R	0	–	9(69,2)	11(84,6)	12(92,3)	12(92,3)	2(15,3)	0
11(7,3)	<i>Lb. cellobiosus</i>	R	0	–	3(27,2)	8(72,7)	8(72,7)	6(54,5)	0	0
9(6,0)	<i>Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides</i>	CB	4(34,4)	–	7(77,7)	5(55,5)	8(88,8)	8(88,8)	0	9(100)
7(4,6)	<i>L. brevis</i>	R	0	–	3(42,8)	7(100)	7(100)	7(100)	3(42,8)	0
6(4,0)	<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	R	0	–	0	3(50)	3(50)	5(83,3)	2(33,3)	0
4(2,6)	<i>Ln. mesenteroides ssp. cremoris</i>	CB	4(100)	–	4(100)	4(100)	4(100)	4(100)	0	4(100)
3(2,0)	<i>Lc. lactis ssp. lactis</i>	C	0	–	2(66,6)	3(100)	3(100)	2(66,6)	0	0
2(1,3)	<i>Lb. helveticus</i>	R	0	–	0	0	1(50)	2(100)	1(50)	0
2(1,3)	<i>Lb. collinoides</i>	R	0	–	0	2(100)	2(100)	2(100)	0	0
2(1,3)	<i>Lb. acidophilus</i>	R	0	–	0	0	2(100)	2(100)	2(100)	0
1(0,6)	<i>Lb. fructivorans</i>	R	0	–	0	0	1(100)	1(100)	0	0

R – štapići; C – coce; CB – cocobacilli

Ispitane BMK ne poseduju osobinu stvaranja CO₂ iz glukoze niti formiraju sluz, osim sojeva *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides* i *Ln. mesenteroides ssp. cremoris* koji stvaraju sluz, a 47 posto odnosno 100 posto ovih izolata formiraju gas iz glukoze. Svi ispitani sojevi dobro rastu pri temperaturama od 10°C do 37°C. Pri temperaturi od 4°C dobro rastu sledeći sojevi: *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides*, *Ln. mesenteroides ssp. cremoris*, *Lb. fermentum* i *Lc. lactis ssp. lactis*. Pri temperaturi od 10°C ne raste *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* i *Lb. fructivorans*. Svi ispitani sojevi slabo ili uopšte ne rastu pri temperaturi od 45°C, izuzev *Lb. acidophilus*, i *Lb. helveticus*. Ove osobine ispitivanih sojeva BMK su važne pri njihovom izboru za dalju tehnološku primenu u

Dominantnu mikrofloru čine bakterije mlečne kiseline čiji broj se intenzivno povećava do 7. dana proizvodnje, što je u skladu sa prirodom procesa mlečne fermentacije koji se dešava u ovim proizvodima. Pri tome sojevi *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii* i *Lb. curvatus* čine 60 posto svih izolata identifikovanih biohemijskim testom API 50CHL. Izolovane BMK iz tradicionalno fermentisane „sremske“ kobasice imaju poželjne tehnološke osobine i predstavljaju potencijalne kandidate za stvaranje domaćih starter kultura. Formiranje sopstvene „banke“ izolata i odgovarajući odabir sojeva BMK, omogućilo bi dobijanje fermentisanih kobasica ujednačenog kvaliteta sa dobrim higijenskim i senzornim osobinama, uz očuvanje tradicionalnosti proizvoda.

Literatura

- Ammor S., Rachman C., Chaillou S., Prévost H., Dousset X., Zagorec M., Dufour E., Chevallier I., 2005.** Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiology*, 22, 373–382.
- Aymerich T., Martín B., Garriga M., Vidal-Carou M.C., Bover-Cid S., Hugas M., 2006.** Safety properties and molecular strain typing of lactic acid bacteria from slightly fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 40–49.
- Comi G., Urso R., Iacumin L., Rantsiou K., Cattaneo P., Cantoni C., Cocolin L., 2005.** Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*, 69, 381–392.
- Drosinos E. H., Mataragas M., Xiraphi N., Moschonas G., Gaitis F., Metaxopoulos J., 2005.** Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*, 69, 307–317.
- Hutkins R. W., 2006.** Microorganisms and metabolism. In R. Hutkins (Ed.) *Microbiology and technology of fermented foods*. In R. Hutkins (Ed.) Oxford, UK: Blackwell, Publishing Professional, 15–66.
- ISO 15214:1998.** Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique of 30°C.
- ISO 4833:2003.** Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30°C.
- ISO 21528-2:2004.** Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of *Enterobacteriaceae*. Part 2: Colony-count method.
- ISO 21257-2:2008.** Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds. Part 2: Colony-count technique in products with water activity less or equal to 0.95.
- ISO 7899-2:2000.** Water quality – detection and enumeration of intestinal enterococci. Part 2: Membrane Filtration Method.
- Leroy F., De Vuyst L., 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 67–78.
- Leroy F., Verluyten J., De Vuyst L., 2006.** Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 270–285.
- Mauriello G., Casaburi A., Blaiotta G., Villani F., 2004.** Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of southern Italy. *Meat Science*, 67, 1, 149–158.
- Pravilnik o kvalitetu proizvoda od mesa 2004.** Službeni list SCG, br. 33/2004.
- Rantsiou K., Drosinos E. H., Gialitaki M., Urso R., Krommer J., Reichardt J. G., Toth S., Metaxopoulos J., Comi G., Cocolin L., 2005.** Molecular characterization of *Lactobacillus* species isolated from naturally fermented sausages produced in Greece, Hungary and Italy. *Food Microbiology*, 22, 19–28.
- Rantsiou K., Cocolin L., 2006.** New developments in the study of the microbiota of naturally fermented sausages as the determined by molecular methods: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 108, 255–267.
- Urso R., Comi G., Cocolin L., 2006.** Ecology of lactic acid bacteria in Italian fermented sausages: isolation, identification and molecular characterization. *Systematic and Applied Microbiology*, 29, 8, 671–690.
- Vesković S., 2007.** Bacteriocin *Leuconostoc mesenteroides* E 131 and *Lactobacillus sakei* I 154 i MAP on shelflife of Sremska sausage. Ph. D. dissertation, Faculty of Agriculture, Zemun– Belgrade.

Dominant microflora isolated from traditionally fermented „sremska“ sausage

Borović Branka, Vesković Slavica, Velebit Branko, Baltić Tatjana, Spirić Danko

S u m m a r y: „Sremska“ sausage is a typical representative of narrow diameter fermented sausage in our country. It is produced in traditional way in households or small manufactures in Vojvodina, especially in „Srem“ region. Its main ingredients are pork, firm fatty tissue and spices. Quality of traditionally fermented sausages is influenced by many factors such as: selection of raw material, metabolic activity of epiphytic microflora and physico-chemical changes during the processes of smoking, ripening and drying. Microflora of traditionally fermented sausages originates from the raw material or from the environment. Microorganisms responsible for changes that occur during fermentation are lactic acid bacteria (LAB), coagulase-negative cocci and some species of yeasts.

In traditionally produced „sremska“ sausage variations in epiphytic microflora was observed and collection of isolates of autochthonous LAB strains was obtained. LAB strains were acquired during the processes of smoking, fermentation, drying and ripening of „sremska“ sausage on the 0th, 2nd, 4th, 7th, 14th and 21st day of production. Identification of LAB was carried out using classical microbiological methods along with the investigation of basic morphological and biochemical properties of the isolates (ability of gas production from glucose, production of slime, growth at different temperatures and katalase reaction). Final identification was obtained with biochemical test API 50 CHL. Variation of LAB count was in accordance with the process of lactic fermentation, the number of bacteria increased up to the 7th day, followed by the slight decrease which is characteristic for this type of products. The most frequent strains isolated from «sremska» sausage are: *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. fermentum*, *Lb. cellobiosus* i *Ln. mesenteroides* ssp. *mesenteroides*. These strains represent 81.5% of all LAB isolates.

Key words: „sremska“ sausage, epiphytic microflora, LAB, classical microbiological methods, API test.

Rad primljen: 30.09.2009.

Rad prihvaćen: 9.10.2009.