
LEK. SIROV.	God. XXXIII	Broj 33	Str. 39 – 52	Beograd 2013.
LEK. SIROV.	Vol. XXXIII	No. 33	PP. 39 – 52	Belgrade 2013.

Pregledni rad – Review paper

Rukopis primljen: 29.11.2013.

UDC: 637.5.068:579.849.1/.2; 665.528.24/.29

Prihvaćen za publikovanje: 16.12.2013.

ANTIMIKROBNA AKTIVNOST ETARSKIH ULJA NA *SALMONELLA* SPP. U MESU I PROIZVODIMA OD MESA

Marija Bošković¹, Milan Baltić¹, Jelena Janjić¹, Marija Dokmanović¹, Jelena Ivanović¹, Tatjana Marković², Radmila Marković¹

¹ Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Bulevar Oslobođenja 18, 11000 Beograd, Republika Srbija.

² Institut za proučavanje lekovitog bilja „dr Josif Pančić“, Tadeuša Koščuška 1, 11000 Beograd, Republika Srbija.

IZVOD

Uprkos napretku koji je industrija mesa ostvarila na polju higijene i kontrole, *Salmonella spp.* i dalje predstavljaju jedne od najčešćih patogena prenosivih hranom. Zbog sve učestalije pojave bakterijske rezistentcije, kao i tendencije smanjenja upotrebe soli i hemijskih aditiva javlja se potreba za novim antimikrobnim sredstvima koji istovremeno zadovoljavaju potrebe i težnje potrošača za upotrebom prirodnih supstanci. Jedna od mogućnosti je aplikacija etarskih ulja koja predstavljaju smešu aromatičnih i lako isparljivih jedinjenja male molekulske mase, koje se rastvaraju u lipidima i organskim rastvaračima a ekstrahuju se iz biljnih organa različitim metodama. Hemijski sastav etarskih ulja utiče na antimikrobne osobine i varira u zavisnosti od geografskog porekla biljke, sastava zemljišta i faze razvoja biljke. Mnogobrojana istraživanja, koja su zasnovana na različitim načinima aplikacije etarskih ulja u meso i proizvode od mesa, sprovedena su u cilju stvaranja bezbednijeg i kvalitetnijeg proizvoda.

Ključne reči: etarska ulja, antibakterijska svojstva, *Salmonella spp.*, meso.

UVOD

Bakterije iz roda *Salmonella* zajedno sa *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes* i enterohemoragičnom *E. coli*, uključujući i serotip O157:H7, su patogene bakterije koji izazivaju milione slučajeva oboljenja godišnje i predstavljaju veliki, kako zdravstveni, tako i ekonomski problem. Čovek se može zaraziti *Salmonella* spp. na različite načine, ali goveđe, svinjsko i meso živine predstavljaju jedno od najznačajnijih izvora kontaminacije [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Tokom predhodnih 20-30 godina dokumentovan je veliki broj slučajeva oboljenja prouzrokovanih bakterijama iz roda *Salmonella* i uprkos napretku koji je predhodnih decenija ostvaren u njihovoj kontroli, *Salmonella spp.* su i dalje prisutne i predstavljaju najčešće uzročnike bolesti prenosivih hranom [8, 9, 10]. Prema podacima Centra za kontrolu bolesti (Centers for Disease Control - CDC) iz 2009. godine, *Salmonella spp.* predstavljaju patogene sa najvećom incidencijom pojave oboljenja prenosivih hranom, kao i drugog po redu patogena odgovornog za hospitalizaciju odraslih osoba [11]. Česta upotreba antibiotika, kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini, rezultirala je pojavom rezistencije na različite antimikrobne lekove kod *Salmonella* i drugih bakterija [12,13]. Zabeležena je rezistencija *Salmonella typhimurium* DT104, R-tip ACSSuT na ampicilin, hloramfenikol, streptomycin, sulfametoksazol i tetraciklin, a u sve većem broju se izoluje *Salmonella newport* R-tip MDR-Amp C soj koji je rezistentan na čak devet antimikrobnih lekova (ampicilin, hloramfenikol, streptomycin, sulfametoksazol, tetraciklin, amoksisicilin-klavulonska kiselina, cefalotin, cefoksitin, ceftiofur). Veoma zabrinjavajuća je i povećana otpornost *Salmonella spp.* na ceftriakson, pa se javlja bojazan da će u skorijoj budućnosti doći do rezistencije na ovaj cefalosporin koji predstavlja lek izbora u lečenju salmoneloze [14,10]. Kao posledica rezistencije bakterija iz roda *Salmonella* javlja se porast broja neuspešnih tretmana, pojava ozbiljnih infekcija sa tendencijom produžavanja toka bolesti i generalizacijom procesa, porast broja hospitalizovanih slučajeva oboljenja i porast mortaliteta [13].

Osim patogena prenosivih hranom, sa zdravstvenog aspekta i dodavanje soli i hemijskih aditiva predstavlja sve veći problem u proizvodnji mesa i proizvoda od mesa. I pored veoma značajne uloge u stvaranju senzornih i strukturnih osobina mesa, upotreba soli povezana je sa pojavom hipertenzije i povećanim rizikom od kardiovaskularnih oboljenja, zbog čega redukovanje koncentracije dodate soli predstavlja potrebu, ali i izazov za mesnu industriju [15, 10, 16, 17]. Ipak redukovanje koncentracije dodate soli ispod uobičajeno korišćenih, omogućava rast mikroorganizama kvara, dovodi do smanjenja održivosti proizvoda, koji kao takav predstavlja rizik po zdravlje potrošača [15, 16, 17].

Kao rezultat svega navedenog javlja se potreba za novim antimikrobnim sredstvima koji mogu da se dodaju u meso u cilju inhibicije patogenih bakterija i mikroorganizama kvara, a da pritom predstavljaju prirodnu alternativu korišćenim hemijskim aditivima i konzervansima i ne dovode do pojave bakterijske rezistencije [18, 5, 17]. Jedna od mogućnosti jeste upotreba etarskih ulja koja predstavljaju aromatične, isparljive tečnosti koje se izdvajaju iz biljaka različitim metodama [18, 17, 19].

ETARSKA ULJA I NJIHOVA HEMIJSKA GRADA

Etarska ulja predstavljaju smešu aromatičnih i lako isparljivih jedinjenja male molekulske mase, koje se rastvaraju u lipidima i organskim rastvaračima [18, 20, 21, 22, 23, 5, 17]. Sintetišu se u različitim organima biljaka kao što su korenje, stabla, listovi, kora, cvetovi, semenke, plodovi i dr., a skupljaju se u sekretornim ćelijama, šupljinama, kanalima i ćelijama epiderma odakle se ekstrahuju [18, 20, 22, 23, 5, 17]. Etarska ulja između ostalog imaju ulogu da štite biljku od invazije mikroorganizama kao i od mehaničkih povreda [25].

Postoji više metoda za ekstrakciju etarskih ulja, ali najčešće korišćen je destilacija na pari. Takođe u istu svrhu može se koristiti i ekstrakcija tečnim ugljen dioksidom na niskim temperaturama i pod visokim pritiskom [20]. Ova metoda je skuplja, ali etarska ulja dobijena na ovaj način ispoljavju jaču antimikrobnu aktivnost i imaju izraženije organoleptičke osobine [18]. Osobine etarskih ulja variraju zavisnosti od podneblja, sastava zemljišta, organa biljke iz koje se ekstrahuju ali i faze ciklusa u kojoj se biljka nalazi. Najjaču antimikrobnu aktivnost ispoljavaju etarska ulja koja su ekstrahovana iz biljaka tokom ili neposredno nakon cvetanja [18, 20, 17].

Etarska ulja sadrže različit broj komponenti (od svega nekeoliko do stotinu i više), što se može odrediti gasno-hromatografskom analizom. Koncentracija zastupljenih jedinjenja je različita a glavne komponente, kojima se najčešće pripisuje uloga u antibakterijskim osobinama ulja, zastupljena su u ulju u značajnijem procentu, dok se neka jedinjenja mogu naći samo u tragovima. Istraživanja sprovedena na žalfiji, timjanu i origanu su pokazala da upravo manje zastupljene komponente imaju kritičnu ulogu u antibakterijskoj aktivnosti etarskih ulja pomenutih biljaka. Ova pojava se pripisuje sinergističkom delovanju komponenti ovih ulja, zbog čega etarska ulja u punom sastavu imaju jače izražene antimikrobne osobine nego njihove pojedinačne, glavne komponente [18, 20, 26].

Aktivne komponente etarskih ulja, na osnovu hemijske strukture, mogu se podeliti na terpene, terpenoide, fenilpropene i „ostale“ komponente [25, 19]. Terpeni se sintetišu u citoplazmi iz acetyl-Co A [25]. Glavnu klasu terpene čine monoterpeni ($C_{10}H_{16}$) i seskviterpeni ($C_{15}H_{24}$), a u manjim koncentracijama često se nalaze i hemiterpeni (C_5H_8), diterpeni ($C_{20}H_{32}$), triptenteni ($C_{30}H_{40}$) i dr. [20, 5, 25,

17, 27, 29]. Primenjene u vidu zasebnih komponenti, neke vrste terpena kao što su monoterpeni, pokazuju slabu ili nikakvu antibakterijsku aktivnost [25].

Terpenoidi su terpeni koji su podlegli enzimskim modifikacijama i sadrže kiseonik, a položaj npr. metil grupe je ili promenjen ili je nema [28]. Terpenoidi se dele na alkohole, estre, aldehide, ketone, etre, fenole i epokside. Za razliku od terpena, ova jedinjenja često poseduju veoma jaka antibakterijska svojstva. Antimikrobna aktivnost terpenoida pripisuje se njihovoj funkcionalnoj grupi, hidroksil grupi ili fenolnim komponentama [20, 25, 27, 29, 30].

Ipak uprkos uvreženom mišljenju da su fenolne komponente nosioci antibakterijske aktivnosti, rezultati skorašnjih studija sprovedenim na etarskim uljima origana, karanfilića, cimeta, belog luka, korijandera, ruzmarina, žalfije, liminove trave, zimzelena i drugih biljaka su pokazala da ne-fenolne komponente ovih ulja takođe ispoljavaju antibakterijsku aktivnost na Gram pozitivne i Gram negativne bakterije [22, 30].

Fenilpropani su organska jedinjenja koja su manje zastupljena u etarskim uljima. U fenilpropene spadaju eugenol, izoeugenol, metil eugenol, vanilin, safrole, cinamaldehyd, cinamil alkohol, metil cinamat, estragol, i dr. [20, 25, 27].

Pored pomenutih, etarska ulja sadrže veliki broj različitih jedinjenja, koja nastaju kao proizvod degradacije nezasićenih masnih kiselina, laktona, terpena, glikozida. U ostala jedinjenja spadaju i komponente koje sadrže sulfur i nitrogen, a njihovi predstavnici su alicin i alil izotiocianat (AITC) [28, 20, 25].

ODREĐIVANJE ANTIMIKROBNE AKTIVNOSTI I MEHANIZAM DELOVANJA ETARSKIH ULJA

Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) po stavu većine autora predstavlja meru antimikrobne aktivnosti etarskih ulja i neophodno ju je odrediti pre aplikacije ulja u meso ili neku drugu hranu. Pored MIC važno je odrediti i minimalnu baktericidnu koncentraciju (MBC). [18, 23, 17]. Antimikrobna aktivnost etarskih ulja određuje se metodom difuzije, dilucije ili bioautografičkom metodom. Metod difuzije se koristi najčešće za određivanje postojanja antimikrobne aktivnosti etarskih ulja, dok se agar diluciona metoda koristi za određivanje jačine antimikrobnog delovanja [18]. Test za određivanje minimalne inhibitorne koncentracije nije standardizovan, ali NCCLS metoda za testiranje antibiotika je modifikovana i prilagođena testiranju etarskih ulja [31, 18]. Ipak na ishod testa utiču različiti faktori poput metode koja se koristi za ekstrakciju etarskih ulja (u smislu hemijskog sastava dobijenog ulja), količine inokuluma, faze rasta bakterije, podloge koja se koristi kao i pH vrednosti, vremena i temperature inkubacije. Kao posledica varijacije ovih faktora u literaturi se nalaze različite inhibitorne koncentracije, zbog čega se preporučuje da istraživači pre početka eksperimenta sami odrede minimalne inhibitorne koncentracije [18, 17].

Rezultati mnogobrojnih oglada sprovedenih u cilju određivanja antibakterijskog dejstva etarskih ulja zaključeno je da Gram pozitivne bakterije osetljivije na dejstvo etarskih ulja nego Gram negativne bakterije u koje spada i *Salmonella* spp. [32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39,40,18].

Manja osetljivost Gram negativnih bakterija se objašnjava razlikom u građi ćelijskog zida koji ograničava difuziju hidrofobnih jedinjenja kroz lipopolisaharidni omotač [18].

S obzirom na to da se etarska ulja sastoje od velikog broja hemijskih komponenata i njihovo antibakterijsko dejstvo je zasnovano na više različitih mehanizama. Različite komponente etarskih ulja samostalno ili sinergistički deluju na različite strukture bakterijske ćelije. Zbog svoje hidrofobne prirode etarska ulja intereaguju sa lipidnom membranom bakterijske ćelije i povećavaju njenu permeabilnost. Permeabilnost ćelijske membrane nastaje kao rezultat promene membranskog potencijala, kolapsa protonske pumpe, izlaska jona iz ćelije što za posledicu ima lizu i ćelijsku smrt. Smatra se da je ovaj mehanizam najodgovorniji za oštećenje bakterijske ćelije [18, 20, 23, 5, 17]. Za oštećenje ćelijske membrane odgovorna su fenolna jedinjenja koja sadrže hidroksilnu grupu, kao što su karvakol, timol i eugenol, zbog kojih etarska ulja i deluju antibakterijski na bakterije prenosive hranom. Komponente etarskih ulja ne deluju samo na lipide membrane, već i na proteine kao što je enzim ATP-aza. Rezultati istraživanja su pokazali da etarska ulja mogu delovati i na druge enzime koji su uključeni u regulaciju energije ili odgovorne za sintezu strukturnih komponenti ćelije [18, 5]. Elektonska mikroskopija predstavlja metod izbora za posmatranje fizičkih efekta etarskih ulja na mikroorganizme [18].

KONTROLA *SALMONELLA* SPP. U MESU KORIŠĆENJEM ETARSKIH ULJA

U različitim ogledima ispitivan je antimikrobni uticaj etarskih ulja na patogene bakterije uključujući i *Salmonella* spp., kao i njihova potencijalna aplikacija u meso i proizvode od mesa, u cilju stvaranja bezbednijeg proizvoda i smanjenja incidencije novih oboljenja izazvanih ovim bakterijama.

Zbog veoma izraženog antimikrobnog dejstva, Govaris i sar. [42] su ispitivali uticaj etarskog ulja origana, na *S. enteritidis* u mlevenom ovčijem mesu na temperaturama od 4° C i 10° C, kao i dejstvo etarskog ulja origana i nisina u istim uslovima. Rezultati su pokazali da etarsko ulje origana aplikovano u 0.6% kao i 0.9%. koncentraciji pokazuje antimikrobnu aktivnost na obe temperature, s tim što je primenjeno u koncentraciji od 0.9% bilo potentnije. Nisin dodat u dozi od 500 i 1000 IU/g nije pokazao antimikrobni efekat ali u kombinaciji sa etarskim uljem origana u obe koncentracije pokazuje sinergistički efekat i ima baktericidno dejstvo na *S. enteritidis*.

Antibakterijska aktivnost etarskog ulja origana na *S. enteritidis* ispitivana je i ranije u ogledima na filetima bakalara i tradicionalnom Grčkom apetajzeru od usoljene ikre [43, 44, 25]. Na salati od ikre vršena su i istraživanja u kojima je dokazan sinergistički efekat NaCl i etarskog ulja mente (*Mentha piperita*) na *S. enteritidis* [44, 12].

Hayouni i sar. [12] proučavali su dejstvo etarskog ulja žalfije (*Salvia officinalis*) i peruanskog bibera (*Schinus molle*) na *S. anatum* i *S. enteritidis* u koncentracijama od 0.02, 0.06, 0.1, 1, 1.5, 2 i 3%, u mlevenom govedem mesu, skladištenom na temperaturi od 4° C do 7° C tokom 15 dana. U koncentracijama od 0.02, 0.06 i 0.1% etarsko ulje žalfije je ispoljilo bakteriostatski efekat na obe bakterije, dok je ulje peruanskog bibera ispoljilo isti efekat i u koncentraciji od 1%. U višim koncentracijama (1.5, 2 i 3% za etarsko ulje *S. officinalis*; 2 i 3% za etarsko ulje *S. molle*) etarska ulja su ispoljila baktericidni efekat na obe bakterije, a *S. enteritidis* je pokazala veću osetljivost od *S. anatum*.

Rezultati oglada, u kom su Rattanachaikunsopun i Phumkhachorn [46] ispitivali dejstvo više vrsta etarskih ulja, su pokazali da najjači antimikrobni efekat na *S. enteritidis* ima etarsko ulje bosiljka (*Ocimum basilicum*). Ono je u koncentraciji od 50, 100 i 150 ppm dodato u mešavinu mlevenog svinjskog mesa (62,5%), prokuvanih i iseckanih svinjskih kožica (27,5%), soli (2,5%), šećera (2,5%) i mlevenog prženog pirinča (10%) i skladišteno na 4° C, tokom pet dana. U kontrolnom uzorku u koji nije dodavano etarsko ulje bosiljka broj bakterija je bio 5 log CFU/g nakon pet dana, u uzorku u kom je dodata koncentracija od 50 ppm nakon trećeg dana skladištenja se smanjio na 2 log CFU/g, dok je nakon dodavanja većih koncentracija broj bakterija bio manji od 1 log CFU /g.

Pored oglada u kojima su dodavana etarska ulja, sprovedeni su i ogledi u kojima je ispitivano dejstvo pojedinačnih komponenti etarskih ulja na *Salmonella spp.* u mesu. Tako je dokazano da karvakol može da spreči širenje *Salmonella* u mesu [47, 5], kao i da citral može da redukuje nivo CFU *Salmonella typhimurium* [48, 5].

Prilikom aplikacije etarskih ulja u meso i proizvode od mesa treba voditi računa o njihovoj interakciji sa komponentama hrane. Masti i proteini umanjuju antibakterijsko dejstvo etarskih ulja. Smatra se da ugljeni hidrati nemaju značajan uticaj, dok voda, i so u višim koncentracijama mogu potpomoći antibakterijsko dejstvo [18, 5]. U zavisnosti od koncentracije u kojoj se koriste, etarska ulja mogu imati i neke negativne efekte na senzorne osobine proizvoda. Da bi se negativni efekti na organoleptičke osobine sveli na minimum, etarska ulja se mogu aplikovati u vidu nanokapsula. Nanoenkapsulacijom se povećava fizička stabilnost etarskih ulja, omogućava se njihovo kontrolisano oslobađanje i sprečava interakcija sa sastojcima hrane [47, 25]. U istu svrhu etarska ulja se mogu aplikovati i kao sastavne komponente antibakterijskih pakovanja [5, 25, 50].

POTENCIJALNA OPASNOSTI UPOTREBE ETARSKIH ULJA PO LJUDSKO ZDRAVLJE I LEGALNI ASPEKTI NJIHOVOG KORIŠĆENJA

Pored brojnih prednosti koje pruža, upotreba etarskih ulja može imati i negativne posledice [18, 20, 17]. Zavisno od korišćene koncentracije, sastavne komponente nekih etarskih ulja kao što su eugenol, mentol i timol, mogu izazvati iritaciju mukoznih membrana, dok cinamaldehyd, karvakol, karvon i timol u *in vitro* ogleđima pokazuju umerene toksične efekte na ćelijskom nivou [18]. Neke komponente etarskih ulja ukoliko se često koriste mogu izazvati alergijski kontaktni dermatitis [18, 20, 17]. Iako generalno nemaju kancerogene osobine neka etarska ulja nakon metaboličke aktivacije mogu delovati kao sekundarni kancerogeni. Pojedina etarska ulja mogu izazvati sekreciju estrogena i dovesti do nastanka estrogen-zavisnih kancera, a kancer može nastati i pod dejstvom fotosenzitivnih molekula poput flavina, cianina i porfirina, koji se takođe mogu naći u uljima [51, 20, 17].

Zbog moguće genotoksičnosti i nekih drugih, potencijalno neželjenih dejstva, upotreba etarskih ulja kao aditiva u ishrani regulisana je zakonima i propisima. Za veliki broj komponenti etarskih ulja, kao što su karvakol, karvon, cinamaldehyd, citral, eugenol, limonin, mentol i timol, smatra se da ne predstavljaju rizik po ljudsko zdravlje, i registrovani su od strane Evropske Komisije. U Sjedinjenim Američkim državama FDA (Food and Drug Administration) je klasifikovala ove supstance kao GRAS (generally recognised as safe) ili kao odobrene aditive pri tom se uglavnom oslanjajući na listu aditiva odobrenih od EU. Ipak estragol, koji je zabranjen za upotrebu u Evropskoj uniji, dozvoljen je za upotrebu u Sjedinjenim Američkim državama i nalazi se na EAFUS listi [18, 20, 17].

Da bi se novi aditivi registrovali, potrebno je da prođu kroz toksikološke i metaboličke studije koje bi trebalo da osiguraju da ispitivane supstance ne predstavljaju rizik po ljudsko zdravlje (Commission Decision of 23 February, 1999; Commission Regulation (EC) No 1565/2000 of 18 July, 1565/ 2000; Commission Regulation (EC) No. 622/2002 and Regulation (EC) No 2232/96) [18].

ZAKLJUČAK

Iako su antimikrobne osobine etarskih ulja poznate od davnina, interesovanje za njihovu primenu u industriji hrane, pre svega mesa, javilo se tek predhodnih godina. Etarska ulja i njihove sastavne komponente su se pokazali korisnim u borbi sa *Salmonella spp.*, ali i drugim patogenima izazivačima bolesti prenosivih hranom. Pored inhibitornog i baktericidnog dejstva na patogene prenosive hranom, ona imaju antioksidativnu ulogu i inhibišu i rast bakterija kvara, produžavajući na taj način održivost mesa. Korišćenje etarskih ulja, kao prirodnih

konzervanasa i aditiva, može predstavljati veliki pomak u cilju stvaranja kvalitetnijeg, potrošačima prihvatljivijeg i pre svega bezbednijeg proizvoda.

ZAHVALNICA

Ovaj rad predstavlja rezultat projekta TR31034 finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

1. Humphrey T., Jorgensen F. (2006): Review. Pathogens on meat infection in animals establishing a relationship using Campylobacter and Salmonella as examples. *Meat Science*, vol. 74, 89–97.
2. Guo C., Hoekstra R. M., Schroeder C. M., Pires S. M., Ong, K. L., Hartnett E., et al. (2011): Application of Bayesian techniques to model the burden of human salmonellosis attributable to U.S. food commodities at the point of processing: adaptation of a Danish model. *Foodborne Pathogens and Disease*, vol. 8(4): 509-516.
3. Pires S. M., Evers E. G., van Pelt W., Ayers T., Scallan E., Angulo F. J., et al., (2009): Attributing the human disease burden of foodborne infections to specific sources. *Foodborne Pathogens and Disease*, vol. 6(4): 417-424.
4. Ravel A., Greig J., Tinga C., Todd E., Campbell G., Cassidy M., et al. (2009): Exploring historical Canadian foodborne outbreak data sets for human illness attribution. *Journal of Food Protection*, vol. 72, 1963-1976.
5. Bajpai, V. K., Baek, K. H., Kang, S. C. (2012): Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, vol. 45, 722-734.
6. Mani-López E., García S. H., López-Malo A. (2012): Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products, *Food Research International*, vol. 45, 713–721.
7. Williams S. M., Ebel D. E, Golden J. N., Schlosser D. W. (2014): Temporal patterns in the occurrence of Salmonella in raw meat and poultry products and their relationship to human illnesses in the United States, *Food Control*, 35(1): 267-273.
8. Bacon, R. T., Sofos, J. N. (2003): Food hazards: biological food; characteristics of biological hazards in foods, In R. H. Schmidt G. Rodrick (Eds.), *Food Safety Handbook*. 04-712-10641 (pp. 157–195). New York, NY: Willey Inter science.

9. Fratamico P., Bhunia A., Smith J. L. (Eds.). (2005). Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology (pp. 454). Wymondham, UK: Caister Academic Press.
10. Sofos J. N. (2008): Challenges to meat safety in the 21st century, *Meat Science*, vol. 78, 3-13.
11. Linscott A. J. (2011): Food-Borne Illnesses. *Clinical Microbiology Newsletter*, vol. 33, 41-45.
12. Hayouni E. A., Chraief I., Abedrabba M., Bouix M., Leveau J. Y., Mohammed H., Hamdi M. (2008): Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 125, 242-251.
13. Newell D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh M., Langelaar M., Threlfall J., Scheutz F., van der Giessen J., Kruse, H. (2010): Food-borne diseases, The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 139, 3-15.
14. IFT (Institute of Food Technologists). (2006): Antimicrobial Resistance – Implications for the Food System. Chicago, IL. 137 p.
15. Desmond E. (2006): Reducing salt: A challenge for the meat industry, *Meat science*, vol. 74, 188-196.
16. Weiss J., Gibis, M., Schuh, V., Salminen, H. (2010): Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, vol. 86, 196-213.
17. Bošković M., Baltić Ž. M., Ivanović J., Đurić J., Lončina J., Dokmanović M., Marković R. (2013): Use of essential oils in order to prevent foodborne illnesses caused by pathogens in meat, *Tehnologija mesa*, vol. 54, 1-2, 14-20.
18. Burt S. (2004): Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *International journal of food microbiology*, vol. 94, 223-253.
19. Marković T. (2011): Etarska ulja i njihova bezbedna primena, Istitut za proučavanje lekovitog bilja “dr Josif Pančić”, Beograd. (ISBN 978-86-83141-14-2)
20. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils– a review, *Food and chemical toxicology*, vol. 46, 446-475.
21. Marković R., Petrujkić B., Grdović S., Krstić M., Šefer D. (2008): Biljni ekstrakti-novi stimulatori rasta, 28. Savetovanje o lekovitim i aromatičnim biljkama, zbornik apstrakata, Vršac, Srbija, 08-11. oktobar, pg. 143.
22. Tajkarimi M. M., Ibrahim S. A., Cliver D. O. (2010): Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, vol. 21, 1199-1218.

23. Lv F., Liang H., Yuan Q., Li C. (2011): *In vitro* antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*, vol. 44, 3057-3064.
25. Hyldgaard M. , Mygind T., Meyer R. L. (2012): Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front. Microbio.* Vol. 3(12). [doi: 10.3389/fmicb.2012.00012](https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012).
26. Stojković, D., Glamočlija, J., Ćirić, A., Nikolić, M., Ristić, M., Šiljegović, J., Soković, M. (2013): Investigation on antibacterial synergism of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* essential oils. *Archives of biological sciences*, vol. 65 (2): 639-643.
27. Jayasena D. D., Jo, C. (2013): Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review, *Trends in Food Science & Technology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2013.09.002>.
28. Caballero B., Trugo L. C., Finglas P. M. (2013): *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Amsterdam:Academic Press.
29. Nikolić M., Glamočlija J., Ferreira C.F.R. I, Calhelha C.R., Fernandes A., Marković T., Marković D., et al. (2014): Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumoractivity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut and *Thymus vulgaris* L essential oils, vol. 52:183-190.
30. Nikolić M., Marković T., Mojović M., Pejin B., Savić A., Perić T., Marković D., et al. (2013): “Chemical composition and biological activity of *Gaultheria procumbens* L essential oil“, *Industrial Crops and Products*, vol. 49:561-567.
31. NCCLS (2000): Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard—Fifth edition. NCCLS document M7-A5. [ISBN 1-56238-3949] NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA19087-1898. USA.
32. Juliano C., Mattana A., Usai M. (2000): Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 12, 516–522.
33. Ruberto G., Baratta M.T., Deans S.G., Dorman H.J.D. (2000): Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Medica*, vol. 66, 687– 693.
34. Senatore F., Napolitano F., Ozcan M. (2000): Composition and antibacterial activity of the essential oil from *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae) growing wild in Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 15, 186– 189.
35. Canillac N., Mourey A. (2001): Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, vol. 18, 261– 268.
36. Demetzos, C., Perdetzoglou, D.K. (2001): Composition and antimicrobial studies of the oils of *Origanum calcaratum* Juss. and *O. scabrum* Boiss. et Heldr. from Greece. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 13, 460– 462.

37. Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P., Nychas G.-J.E. (2001): A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 91, 453–462.
38. Marino M., Bersani C., Comi G. (2001): Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 67, 187–195.
39. Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A.J. (2002): Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 79, 213–220.
40. Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto, G., Tomi F., Chessa M., Cerri R., Casanova J. (2002): Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 17, 15–19.
41. Harpaz S., Glatman L., Drabkin V., Gelman A. (2003): Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protection*, vol. 66(3): 410–417.
42. Govaris, A., Solomakos, N., Pexara, A., Chatzopoulou, P. S. (2010): The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella* Enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 137, 175-180.
43. Koutsoumanis K., Lambropoulou K., Nychas G. J. E. (1999): A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella* Enteritidis in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 49, 63-74.
44. Tassou C.C., Drosinos H. E., Nychas E. J. G. (1999): Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere or air, *Journal of Food Protection*, vol. 59 pp. 31–34.
45. Tassou C., Drosinos E. H., Nychas, G.-J. E. (1995): Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella* enteritidis and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 °C and 10 °C. *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 78, 593–600.
46. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. (2010): Antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum*) oil against *Salmonella enteritidis* in vitro and in food. *Biosci Biotechnol Biochem.*, vol. 74(6): 1200-1204.
47. Burt S. A., Fledderman, M. J., Haagsman, H. P., van Knapen, F., & Veldhuizen, E. J. A. (2007): Inhibition of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis on agar and raw chicken by carvacrol vapor. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 119, 346–350.

48. Kim J., Marshall M. R., Cornell J. A., Preston J. F., Wei C. I. (1995): Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella Typhimurium* in culture medium and on fish cubes. *Journal of Food Science*, vol. 60, 1364–1374.
49. Donsí F., Annunziata M., Sessa M., Ferrari, G. (2011): Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *Food Sci. Technol.* vol. 44, 1908–1914.
50. Velebit B., Petrović Z. (2012): Antimikrobna pakovanja u industriji hrane. *Tehnologija mesa*, vol. 51, 1, 71–79.
51. Guba R. (2001): Toxicity myths – essential oils and their carcinogenic potential. *Int. J. Aromather.*, vol. 11, 76–83.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS ON *SALMONELLA* SPP. IN MEAT AND MEAT PRODUCTS

**Marija Bošković¹, Milan Baltić¹, Jelena Janjić¹, Marija Dokmanović¹,
Jelena Ivanović¹, Tatjana Marković², Radmila Marković¹**

¹ Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Bulevar Oslobođenja 18, 11000, Belgrade, Republic of Serbia.

² Institute for Medicinal Plant Research "dr Josif Pančić", Tadeuša Koščuška 1, 11000 Belgrade, Republic of Serbia.

SUMMARY

The burden of diseases caused by food-borne pathogens remains one of the main health, but also economic concern. In spite of improvement in production techniques, hygiene and control measures made by food industry during recent years, *Salmonella spp.* together with some others bacteria present a cause of millions episodes of illness annually, from which some of these episodes results in death. One of the most important causes for this outcome is the overuse of antibiotic drugs in human and in veterinary medicine as well. This kind of practice has led to phenomenon of bacterial resistance and need for new antimicrobial agents. One of such possibilities is use of essential oils, oily, low molecular weight liquid, rarely colored, which are lipid soluble and soluble in organic solvents. They are obtained from plant material by different methods. Essential oils exhibit antibacterial activity against many pathogens including *Salmonella spp.*, but at different degrees which is determined by type of essential oils and their composition. The active compounds can be divided into four groups according to their chemical structure: terpenes, terpenoids, phenylpropenes, and "others." Chemical composition of essential oils is different and depends on type of climate, soil composition, age and vegetative cycle stage of plant. Health issues associated with meat are also caused by using of salt, which is why reducing salt intake present new trend in meat industry, but at the same time result in problem of spoilage microbiota grow. Essential oils inhibit spoilage microorganisms extend meat shelf life and have antioxidant role, on which way their use improve quality of meat products. But their application in meat and meat products, depending on type of essential oil and used concentration may affect organoleptic properties of products which are why researchers consistently experimenting with these substances, working to develop new and better methods for the application of essential oils, primarily to improve the production of antimicrobial packaging and possibilities of nanoencapsulation of essential oils. Because of possible side effects,

for essential oils to be register as new additives, it is necessary to conduct toxicological and metabolic studies which should ensure that the test substances do not present a risk to human health.

Key words: essential oil, antibacterial properties, *Salmonella spp.*, meat.