



**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
ФАКУЛТЕТ ЗА ЗЕМЈОДЕЛСКИ НАУКИ И ХРАНА -
СКОПЈЕ**



М-р ЈАСМИНА СТОЈИЉКОВИЌ

**АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД
БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ *SALMONELLA* SPP. ВО
ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА**

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -

Скопје, 2019 година

**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
ФАКУЛТЕТ ЗА ЗЕМЈОДЕЛСКИ НАУКИ И ХРАНА - СКОПЈЕ**

КОМИСИЈА ЗА ОЦЕНА И ОДБРАНА НА ДОКТОРСКАТА ДИСЕРТАЦИЈА:

Проф. д-р МИЛЕНА ПЕТРОВСКА, претседател
Медицински факултет,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Проф. д-р МЕТОДИЈА ТРАЈЧЕВ, ментор
Факултет за земјоделски науки и храна,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Проф. д-р БИЛЈАНА ПЕТАНОВСКА ИЛИЕВСКА
Факултет за земјоделски науки и храна,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Проф. д-р ЛЈУПЧЕ КОЧОСКИ
Факултет за биотехнички науки,
Универзитет „Св. Климент Охридски“ во Битола

Проф. д-р МАРИЈА ГЛАВАШ ДОДОВ
Фармацевтски факултет,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Оцена (описно): _____

Датум на одбрана: _____

Научна област: Квалитет и безбедност на храна

Доктор на земјоделски науки

Благодарност

Со почит,

Јасмина Стојиљковиќ

Посветено

АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ *SALMONELLA* SPP. ВО ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА

АПСТРАКТ

Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis е една од најчестите патогени бактерии кои предизвикуваат заболување кај луѓето преку храната. Тестенините се корисна храна за луѓето и заземаат значајно место во нивната исхрана. Основни сировини за производство на тестенините се брашното и јајцата од кокошка и затоа претставуваат потенцијален ризик за присуство на бактеријата, пред сè поради недоволениот термички третман на смесата за време на фазата на сушење. Со цел да се отстранат или намалат микробиолошките ризици во тестенините, не треба да се занемари познавањето на антимикробната способност на етеричните масла од растенијата и можностите за нивна примена во технологијата на производство на тестенини.

Главна цел на истражувањето беше да се одреди антимикробниот ефект на различни удели на етеричните масла од босилек и тимијан (1, 2,5 и 5%) врз растот и размножувањето на два соја на бактерии од родот *Salmonella*: *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis* (D) ATCC 13076 - референтен сој и *Salmonella enteritidis* (група D) - епидемски сој. Бактериите беа инокулирани во тестенини со јајца, во услови на симулиран индустриски процес на производство и во лабораториски услови, инокулирани во замес од брашно и во јајце од кокошка, кои се користат како сировини за приготвување на тестото за изработка на тестенините со јајца (мострите беа експонирани на температури 37°C и 46°C).

Независно од уделот на додадените етерични масла од босилек и тимијан во примероците, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES постепено се намалуваше во секоја следна фаза од процесот на производство, како кај контролните, така и кај целните примероци. Влијанието на додадените удели на етерични масла од босилек и тимијан во тестенините и симулираниот процес на производството на тестенини, покажаа високо статистички значајно влијание на ниво $p < 0,001$ врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините, додека нивната интеракција покажа статистички значајно влијание на ниво $p < 0,01$ врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините. Статистичките модели за влијанието на уделот на етеричните масла од босилек и тимијан врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во основен раствор (FR + различни удели на ЕМ од босилек и тимијан), во брашно и во јајца со основен раствор, како и нивната интеракција, покажаа статистички значајно влијание врз бројот на бактериски клетки.

Клучни зборови: антимикробен ефект, босилек, тимијан, *Salmonella*, тестенини, брашно, јајца

ANTIMICROBIAL EFFECT OF ESSENTIAL OILS FROM BASIL AND THYME AGAINST *SALMONELLA* SPP. IN PASTA WITH EGGS

ABSTRACT

Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis is one of the most common pathogenic bacteria causing foodborne human disease. Pasta is a useful food for people and have a significant place in the diet. The basic raw materials for production of pasta are flour and chicken's eggs and therefore represent a potential risk for the presence of bacteria, primarily due to insufficient thermal treatment of the mixture during the drying phase. In order to eliminate or reduce microbiological risks in pasta, it should be useful the knowledge of the antimicrobial ability of plants essential oils and possibilities for their application in the technology of pasta production.

The main goal of the study was to determinate the antimicrobial effect of various concentrations of basil and thyme essential oils (1, 2.5 and 5%) on growth of two strains of bacteria from the genus *Salmonella*: *Salmonella enterica subsp. enterica subsp. enterica* serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - reference strain and *Salmonella enteritidis* (group D) - epidemic strain. The bacteria were inoculated in pasta with eggs, in conditions of a simulated industrial process of production and in laboratory conditions, inoculated in flour and chicken eggs, used as raw materials for preparing the dough for making pasta with eggs (the samples were exposed at 37°C and 46°C).

Regardless from the concentrations of added basil and thyme essential oils in the samples, the number of bacterial cells *S. enteritidis* ES and *S. enteritidis* RS was gradually decreased in each successive stage of the production process from the control to the target samples. The influence of the added concentrations of essential oils of basil and thyme in pasta and the simulated process of pasta production, showed a high statistical significance at level $p < 0.001$ on the number of bacterial cells of *S. enteritidis* ES and *S. enteritidis* RS in the pasta, while their interaction showed a statistically significant influence on the level $p < 0.01$. Statistical models for the influence of the concentrations of basil and thyme essential oils on the number of bacterial cells of *S. enteritidis* RS and *S. enteritidis* ES in basic solution (saline solution + various concentrations of essential oils of basil and thyme) in flour and eggs with basic solution, as well as their interaction, revealed a statistically significant effect on the number of bacterial cells.

Key words: antimicrobial effect, basil, thyme, *Salmonella*, pasta, flour, eggs

СОДРЖИНА

ЛИСТА НА ТАБЕЛИ.....	9
ЛИСТА НА СЛИКИ.....	12
ЛИСТА НА ГРАФИКОНИ.....	12
ЛИСТА НА УПОТРЕБЕНИ СИМБОЛИ И КРАТЕНКИ ВО ТЕКСТОТ.....	13
1. ВОВЕД.....	14
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА.....	19
2.1. ОСВРТ НА ДЕЛ ОД ТЕХНОЛОГИЈАТА НА ПРОИЗВОДСТВО НА ТЕСТЕНИНИ.....	19
2.2. <i>SALMONELLA</i> spp. МОЖЕН МИКРОБИОЛОШКИ РИЗИК ВО ПРОЦЕСОТ НА ПРОИЗВОДСТВО НА ХРАНА.....	22
2.2.1. Епидемиологија на салмонелозата од храна.....	22
2.2.2. <i>Salmonella</i> spp. можен микробиолошки ризик во процесот на производство на храна.....	25
2.2.3. <i>Salmonella</i> spp. можен микробиолошки ризик во производството на тестенини.....	28
2.2.4. Присуство на <i>Salmonella</i> spp. во храна и суровини за производство на храна со ниска a_w вредност.....	29
2.2.5. Присуство на <i>Salmonella</i> spp. во јајца за консумирање.....	30
2.3. АНТИМИКРОБНИ СВОЈСТВА НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА.....	36
2.3.1. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек.....	39
2.3.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимijan.....	42
3. КРАТОК ОПИС НА ТЕХНОЛОГИЈАТА НА ПРОИЗВОДСТВО НА ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА ВО ИНДУСТРИСКИ УСЛОВИ.....	46
4. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО.....	48
5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ.....	49
5.1. МЕТОДОЛОГИЈА ЗА УТВРДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИОТ ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ <i>SALMONELLA ENTERITIDIS</i> ВО УСЛОВИ НА СИМУЛИРАН ТЕХНОЛОШКИ ПРОЦЕС НА ПРОИЗВОДСТВО НА ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА.....	49
5.2. МЕТОДОЛОГИЈА ЗА УТВРДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИОТ ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ <i>SALMONELLA ENTERITIDIS</i> ВО СУРОВИНИ ЗА ПРОИЗВОДСТВО НА ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА ВО ЛАБОРАТОРИСКИ УСЛОВИ.....	52
5.3. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ДОБИЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ.....	58
6. РЕЗУЛТАТИ.....	59
6.1. АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВО ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА ВРЗ <i>SALMONELLA ENTERITIDIS</i> ВО УСЛОВИ НА СИМУЛИРАН ПРОЦЕС НА ПРОИЗВОДСТВО.....	59
6.1.1. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек во тестенини со јајца врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во услови на симулиран процес на производство.....	59
6.1.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимijan во тестенини со јајца врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во услови на симулиран технолошки процес на производство.....	63
6.2. АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ <i>SALMONELLA ENTERITIDIS</i> ВО ЛАБОРАТОРИСКИ УСЛОВИ.....	67
6.2.1. Антимикробен ефект на етеричните масла од босилек и тимijan во основен раствор врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES.....	67
6.2.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во брашно и во јајца.....	69
6.2.3. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимijan врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во брашно и во јајца.....	71
6.3. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ПОДАТОЦИТЕ.....	74
6.3.1. Пирсонов коефициент на корелација.....	74
6.3.2. Модел за антимикробното влијание на различните удели од етеричните масла врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во тестенините со јајца.....	75
6.3.3. Тестирање на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во тестенини со јајца зависно од додадените удели на етерични масла од босилек и тимijan.....	77
6.3.4. Тестирање на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES со додаток на етерично масло зависно од фазите на симулираниот процес на производство на тестенини со јајца.....	79

6.3.5. Модел за влијанието на различните удели на етеричните масла врз бројот на бактериски клетки на <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во брашно и во јајца	83
6.3.6. Тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во основен раствор зависно од уделот на етеричното масло од босилек и тимџан	85
6.3.7. Тестирање на разликите меѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во брашно и во јајца со основни раствори со различни етерично масло од босилек и тимџан	87
6.3.8. Компаративен приказ на добиените резултати за антимикробниот ефект на етеричните масла од босилек и тимџан врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES.....	90
7. ДИСКУСИЈА	94
7.1. АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНОТО МАСЛО ОД БОСИЛЕК ВРЗ <i>S. ENTERITIDIS</i> RS И <i>S. ENTERITIDIS</i> ES	97
7.1.1. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во услови на симулиран процес на производство на тестенини со јајца.....	97
7.1.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во лабораториски услови	100
7.2. АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНОТО МАСЛО ОД ТИМИЈАН ВРЗ <i>S. ENTERITIDIS</i> RS И <i>S. ENTERITIDIS</i> ES.....	106
7.2.1. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимџан врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во услови на симулиран процес на производство на тестенини со јајца.....	106
7.2.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимџан врз <i>S. enteritidis</i> RS и <i>S. enteritidis</i> ES во лабораториски услови	108
7.3. СПОРЕДБА НА АНТИМИКРОБНИОТ ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ <i>S. ENTERITIDIS</i> RS И <i>S. ENTERITIDIS</i> ES ВО ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА И ВО СУРОВИНИ ЗА НИВНО ПРОИЗВОДСТВО	112
8. ЗАКЛУЧОК.....	115
9. ЛИТЕРАТУРА.....	118

ЛИСТА НА ТАБЕЛИ

Табела 1. Испитувани контролни и целни примероци за секоја одделна фаза (замесување, обликување на тестенините, сушење, ладење, пакување, чување и дистрибуција) во услови на симулиран технолошки процес на производство на тестенини со јајца.....	50
Табела 2. Комбинации на испитувани контролни примероци опфатени во втората фаза на истражување.....	54
Табела 3. Комбинации на испитувани целни примероци со брашно опфатени во втората фаза на истражување.....	55
Табела 4. Комбинации на испитувани целни примероци со јајца од кокошка опфатени во втората фаза на истражување.....	55
Табела 5. Динамика на <i>S.enteritidis</i> RS (Log ₁₀) во различни фази на производство на тестенини со јајца со додавање на етерично масло од босилек.....	59
Табела 6. Динамика на <i>S.enteritidis</i> ES (Log ₁₀) во различни фази на производство на тестенини со јајца со додавање на етерично масло од босилек.....	61
Табела 7. Динамика на <i>S.enteritidis</i> RS (Log ₁₀) во различни фази на производство на тестенини со јајца со додавање на етерично масло од тимџан	63
Табела 8. Динамика на <i>S.enteritidis</i> ES (Log ₁₀) во различни фази на производство на тестенини со јајца со додавање на етерично масло од тимџан.....	65
Табела 9. Број на бактериски клетки (Log ₁₀) на <i>S.enteritidis</i> RS и <i>S.enteritidis</i> ES во основен раствор со различни удели на етерично масло од босилек.....	67
Табела 10. Број на бактериски клетки (Log ₁₀) на <i>S.enteritidis</i> RS и <i>S.enteritidis</i> ES во основен раствор со различни удели на етерично масло од тимџан.....	68
Табела 11. Број на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS (Log ₁₀) во брашно и во јајца со основен раствор од етерично масло од босилек.....	69
Табела 12. Број на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES (Log ₁₀) во брашно и во јајца со основен раствор на етерично масло од босилек.....	70
Табела 13. Број на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS (Log ₁₀) во брашно и во јајца со основен раствор од етерично масло од тимџан	71
Табела 14. Број на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES (Log ₁₀) во брашно и во јајца со основен раствор од етерично масло од тимџан	73
Табела 15. Пирсонов коефициент на корелација меѓу утврдениот број на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS и <i>S.enteritidis</i> ES во тестенина со јајца, FR, брашно и јајца независно од додадениот удел на етерични масла од босилек и тимџан.....	74
Табела 16. Влијание на фиксните променливи и нивната интеракција врз бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS и <i>S.enteritidis</i> ES во тестенини со јајца.....	76
Табела 17. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS во тестенини со јајца зависно од додадениот удел на етерично масло од босилек.....	77
Табела 18. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES во тестенини со јајца зависно од додадениот удел на етерично масло од босилек.....	78
Табела 19. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS во тестенини со јајца зависно од додадениот удел на етерично масло од тимџан.....	78

Табела 20. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES во тестенини со јајца зависно од додадениот удел на етерично масло од тимџан.....	79
Табела 21. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS во тестенини со јајца со додаток на етерично масло од босилек зависно од фазата на симулираниот процес на производство.....	80
Табела 22. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES во тестенина со јајца со додаток на етерично масло од босилек зависно од фазата на симулираниот процес на производство.....	81
Табела 23. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS во тестенини со јајца со додаток на етерично масло од тимџан зависно од фазата на симулираниот процес на производство.....	82
Табела 24. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES во тестенини со јајца со додаток на етеричното масло од тимџан зависно од фазата на симулираниот процес на производство.....	83
Табела 25. Влијание на фиксните променливи и нивната интеракција врз бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS и <i>S.enteritidis</i> ES во основен раствор, во брашно и во јајца.....	84
Табела 26. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS во основен раствор зависно од уделот на етерично масло од босилек.....	85
Табела 27. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES во основен раствор зависно од уделот на етерично масло од босилек.....	86
Табела 28. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS во основен раствор зависно од уделот на етеричното масло од тимџан.....	86
Табела 29. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES во основен раствор зависно од уделот на етеричното масло од тимџан.....	87
Табела 30. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS во основен раствор, во брашно и во јајца со додаток на етерично масло од босилек.....	88
Табела 31. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES во основен раствор, во брашно и во јајца со додаток на етерично масло од босилек.....	88
Табела 32. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> RS во основен раствор, во брашно и во јајца со додаток на етерично масло од тимџан.....	89
Табела 33. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>S.enteritidis</i> ES во основен раствор, во брашно и во јајца со додаток на етерично масло од тимџан.....	90
Табела 34. Споредба на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>Salmonella enteritidis</i> независно од сојот и фазите на производство, а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимџан во услови на симулиран процес за производството на тестенини со јајца.....	91

Табела 35. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>Salmonella enteritidis</i> во тестенини со јајца зависно од уделот на етеричните масла од босилек и тимијан.....	91
Табела 36. Споредба на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>Salmonella enteritidis</i> независно од сојот и медиумот (основен раствор, смеса од брашно и смеса од јајце со основен раствор), а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимијан.....	92
Табела 37. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на <i>Salmonella enteritidis</i> во медиумот (основен раствор, смеса од брашно и смеса од јајце со основен раствор), зависно од уделот на етеричните масла од босилек и тимијан.....	93

ЛИСТА НА СЛИКИ

Слика 1. Шематски приказ на индустриското производство тестенини со јајца46

ЛИСТА НА ГРАФИКОНИ

Графикон 1. Динамика на растот на <i>S.enteritidis</i> RS во примероци со додадено етерично масло од босилек по фази на симулираниот процес на производство.....	60
Графикон 2. Динамика на растот на <i>S.enteritidis</i> ES во примероци со додадено етерично масло од босилек по фази на симулираниот процес на производство.....	62
Графикон 3. Динамика на растот на <i>S.enteritidis</i> RS во примероци со додадено етерично масло од тимџан по фази на симулираниот процес на производство.....	64
Графикон 4. Динамика на растот на <i>S.enteritidis</i> ES во примероци со додадено етерично масло од тимџан по фази на симулираниот процес на производство.....	66

ЛИСТА НА УПОТРЕБЕНИ СИМБОЛИ И КРАТЕНКИ ВО ТЕКСТОТ

<i>S. enteritidis</i> RS	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - референтен сој
<i>S. enteritidis</i> ES	<i>Salmonella enteritidis</i> (група D) - епидемски сој
FR	физиолошки раствор
SERS	<i>S. enteritidis</i> RS
SEES	<i>S. enteritidis</i> ES
TB	тестенини со јајца со етерично масло од босилек
TT	тестенини со јајца со етерично масло од тимџан
MB	медиум со основен раствор на етерично масло од босилек
MT	медиум со основен раствор на етерично масло од тимџан
OR	основен раствор
EM	етерично масло
OREM	основен раствор на етерично масло

1. ВОВЕД

Болестите од храна настануваат со консумирање храна во која има присуство на живи клетки на инфективни агенси (инфекции), нивни токсини (интоксикации) или пак во храната се присутни и живи клетки на инфективни агенси и нивни токсини (токсоинфекции) (Bibek & Bhunia, 2008). Многу патогени причинители може да доведат до инфекција со консумирање на заразена храна и вода. Основните карактеристики на овие инфекции подразбираат присуство на потребен број клетки од причинителот во храната кои се способни да се населат во дигестивниот тракт, да ги колонизираат епителните клетки и да произведат токсини. Друга карактеристика на овие инфекции е краткиот период на инкубација, кој изнесува до 24 часа и појавата на симптоми кои претежно се поврзани со нарушување на нормалната функција на цревата. Сепак, кај одреден број причинители, пред сè оние кои заедно со нивните токсини ја поминуваат цревната бариера, може да доведат до појава на други симптоми кои зависат од органот или органскиот систем кој е инфициран. Типични претставници на инфекциите со храна кои воедно се присутни на целата планета се бактериите од родот *Salmonella*.

Салмонелозата е болест кај луѓето и животните која се добива пред сè со консумирање на заразена храна или вода. До денес познати се 2541 серотипови на бактерии од родот *Salmonella* (Popoff et al., 2002; Doyle & Beuchat, 2007), од кои 1504 припаѓаат на бактерии од видот *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. Симптомите обично се појавуваат од 12 до 24 часа по консумирањето на храна која содржи живи клетки на одреден патоген серотип на *Salmonella*, а траат 2 до 3 дена. Кај човекот, болеста се манифестира со нарушувања во гастроинтестиналниот тракт, абдоминална болка, мачнина и дијареја која често е со примеси на крв, проследени со појава на треска и главоболка. Обилната дијареја доведува до губење на големи количини на течност и електролити, што во тешките случаи води кон дехидратација на организмот. Особено се осетливи имунокомпромитираните лица, децата, постарите и хронично болните лица. Докажано е дека сите патогени серотипови на бактериите од родот *Salmonella* кои доведуваат до болест кај животните и птиците се патогени за човекот.

Во прехранбената индустрија, за време на производниот процес, како и по негово завршување, се применуваат најразлични физички, хемиски или други

постапки со суровините, а сè со цел да се отстранат или намалат микробиолошките ризици во храната. Најширока примена има термичката обработка на храната, но не помалку важна, особено при конзервирањето на храната, е употребата на хемиските методи со користење на разни конзерванси и поголеми концентрации на сол (Бошковиќ, 2016).

Во контекст на начините за намалување на микробиолошките ризици во храната, многу научници се занимавале со проучување на антимикробната и антиоксидативната способност на есенцијалните масла од растенијата и можностите за нивна примена во технологијатата на производство на храна (Friedman et al., 2002). Така, Lachowicz et al. (1998) и Shirazi et al. (2014) испитувајќи ја антимикробната активност на етеричните масла на растенијата од родот *Ocimum spp*, утврдиле дека босилекот има блага антимикробна активност врз некои грам (+) бактерии, како што се *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, потоа на грам (-) бактерии (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*), квасци (*Rhodotorula*) и муви. Fyfe et al. (1998), утврдиле дека етеричното масло од босилек во удел од 0,2 % е моќен инхибитор на растот и развојот на *Listeria monocytogenes* и *Salmonella enteritidis*. Според истражувањата на Karagözlü et al. (2011), етеричните масла од нане и босилек во концентрација од 0,08 mL/L инокулирани во примероци на сурова сечена салата за време на чување во фрижидер имале негативен ефект врз растот и размножувањето на *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*. Meena & Seethi (1994), исто така, утврдиле дека етеричното масло од босилек имало умерен антимикробен ефект врз *Aspergillus niger* и *Lactobacillus acidophilus*. Ela et al. (1996), покажале дека етеричното масло од босилек има антибактериско и антифунгално дејство врз *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Aspergillus niger*. Barbosa et al. (2009) ја тестирале „in vitro“ антимикробната активност на етеричните масла од оригано, тимиян, босилек, мајоран, лимонска трева, ѓумбир и каранфилче со метод на разредување на агар и извршиле определување на минималната инхибиторна концентрација (MIC) против некои грам-позитивни бактерии (*Staphylococcus aureus* и *Listeria monocytogenes*) и некои грам-негативни бактерии (*Escherichia coli* и *Salmonella enteritidis*). Mazzarrino et al. (2015) со помош на метод на диск дифузија и минимална инхибиторна концентрација, ја тестирале отпорноста на 10 различни соја на *Salmonella enteritidis* и *Listeria monocytogenes* спрема 21 етерично масло. Најдобар

ефект покажале етеричните масла од оригано (*Origanum vulgare*), цимет (*Cinnamomum zeylanicum*), каранфилче (*Caryophyllus aromaticus*), црвен тимџан (*Thymus vulgaris*) и *Melaleuca alternifolia*. Во овие истражувања биле користени минимални инхибиторни концентрации од 0,6 mL/mL за *Origanum vulgare*, до 20,0 mL/mL за *Melaleuca alternifolia*.

Thanissery & Smith (2014b) утврдиле дека етеричното масло од тимџан има инхибиторен ефект врз *Salmonella enteritidis* и *Campylobacter coli*, кое во експериментални цели било инокулирано во филети од бројлери и во нивни крилца. Nair et al. (2014) го испитувале ефектот на додавањето на различни удели на карвакрол, еугенол, етерично масло од тимџан и транс-цинамалдехид врз отпорноста на бактериите од родот *Salmonella* (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg*, и *Salmonella typhimurium*) во производи добиени од месо на мисирки. Примероците биле анализирани по нивно складирање 24 h на 4 °C, при што било регистрирано значително намалување на бактериите од родот *Salmonella* ($p \leq 0,05$) кога гореспоменатите екстракти биле додавани во примероците во удели од 1, 2 и 5%. Така, според истите автори, додавањето на екстракти од некои растенија, како што е на пример карвакролот, може да го намалат бројот на бактерии од родот *Salmonella*, без промена на pH-вредноста на месото.

Антимикробниот ефект на етеричните масла од растенијата се должи на присуството на одредени соединенија во нив. Така на пример, етеричното масло од босилек содржи естрагол и линалол (Elansary et al., 2016; Mith et al., 2016; Avetisyan et al., 2017; Hanif et al., 2017), а маслото од тимџан, тимол [5-metil-2-(1-metil)-fenol], (Bagamboula et al., 2003). Kalily et al. (2016), утврдиле дека линалолот ги перфорира мембраните на бактериските клетки, што резултира со зголемување на пропустливоста на мембраната и губење на виталните молекули од клетката. Линалолот, исто така, ја инхибира и подвижноста на клетката, доведувајќи на тој начин до агрегација на бактериските клетки.

Некои типови бактерии од родот *Salmonella* се способни да развијат резистенција на некои етерични масла. Во тој правец е и истражувањето на Kisluk et al., (2013), кои ја проучувале можноста *Salmonella* Senftenberg да развие отпорност на етеричното масло од босилек. При тоа, било утврдено дека бактеријата може да преживее на растението босилек најмалку 100 дена. Понатаму, било утврдено дека *Salmonella* Senftenberg може да се развива во складирани собрани листови од

босилек и дека во однос на *Salmonella typhimurium* е поотпорна на компонентите од маслото од босилек, како што се линалолот, естраголот и еугенолот.

Тестенините и производите од пченица претставуваат храна која се карактеризира со оптимален сооднос на основните хранливи материи. Затоа, тие имаат значајно место во исхраната на луѓето (Plavšić et al., 2010). Тестенините имаат многу предности за потрошувачите. Тие лесно се подготвуваат, евтини се, имаат добра хранлива вредност и може да се чуваат подолго време по производството во однос на другите видови храна (Bejarovic, 2001).

Постојат литературни податоци кои се однесуваат на микробиолошката исправност на тестенините, од аспект на ризиците за здравјето на консументите. Ricci et al. (2017) во ниту еден од тестираните примероци од тестенини не утврдиле присуство на *Salmonella* spp. и *Listeria monocytogenes*. Слични резултати добиле и Plavšić et al. (2010) кои кај сите испитани примероци на тестенини произведени во индустриски услови не утврдиле микробиолошка неисправност. Сепак, кај одреден број примероци на тестенини произведени во мали производни погони, констатирале микробиолошка неисправност која се должела на присуството на коагулаза позитивни стафилококи и зголемен вкупен број мезофилни микроорганизми. Во ниту еден од испитаните примероци на тестенини, независно од начинот на производство, авторите не утврдиле присуство на бактерии од родот *Salmonella*. Наспроти ова, Rayman et al. (1979) забележале дека патогените бактерии од родот *Salmonella* може да преживеат во сушени тестенини.

Според Scioscia et al. (2016) термичкиот третман на свежи тестенини на температура од 102 °C за време од 100 секунди и нивното пакување во модифицирана атмосфера (MAP) овозможува отсуство на индикатори на микробиолошка неисправност на производите, како што се: *Escherichia coli*, *Clostridium* spp., сулфиторедуирачки бактерии, *Salmonella* spp. и *Listeria monocytogenes*. Освен тоа, овој третман овозможил и подобрување во микробиолошките параметри кои се користат за контрола на хигиената на процесот, како што се: вкупните мезофилни аеробни бактерии, бактериите од фамилијата *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., квасците и мувлите (Scioscia et al., 2016).

Една од основните и критичните контролни точки во производството на суви тестенини е процесот на сушење во комори со проток на воздух (Zanoni, 2006). Резултатите од истражувањата на Putra & Ajiwiguna (2017) покажале дека

повисоката температура и брзина на воздухот во коморите го засилуваат процесот на испарување на замесот.

Состојките и суровините, како што се на пример јајцата, а кои се користат при производството на тестенини со сушење, може да бидат по потекло од различни добавувачи. Состојките и суровите подлежат на процесирање со цел да се произведат крајните производи во согласност со утврдените спецификации. При тоа, доколку некоја состојка која се користи во процесот на производство не подлежи на некаков третман пред да влезе во финалниот прехранбен производ, мора да биде предмет на соодветна проценка за микробиолошките ризици од страна на производителот (Beuchat et al., 2011, 2013). Треба да се има предвид дека дури и во најдобро организираните субјекти за производство на тестенини може да се внесат бактерии од родот *Salmonella* и да дојде до контаминација на производите по завршување на производниот процес. Нивното преживување не зависи само од околината или храната, туку и од други фактори, како што се: составот на матрицата и температурата на складирање.

Salmonella spp. може да опстане многу долг временски период во тешки, суви услови (Podolak et al., 2010; Van Doren et al., 2013). Главните причини за контаминација на храната со ниска влага со *Salmonella* spp., во која спаѓаат и тестенините, се лошите хигиенски практики, отстапувањето на објектите од дизајнот на градбата, дизајнот на опремата и нивното несоодветно одржување (Carrasco et al., 2012).

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

2.1. ОСВРТ НА ДЕЛ ОД ТЕХНОЛОГИЈАТА НА ПРОИЗВОДСТВО НА ТЕСТЕНИНИ

Тестенините и сродните прехранбени производи од пченично брашно или од брашна од други видови житни култури, претставуваат храна која има оптимален сооднос на основните хранливи материи неопходни во исхраната на луѓето. Овој вид на прехранбени производи има повеќе предности за потрошувачите во однос на другите видови храна, и тоа: се подготвуваат лесно и на повеќе начини, имаат ниска цена, добра хранлива вредност, може да се чуваат подолго време по производството, итн. (Plavšić et al., 2010; Bejarović, 2001). Тестените содржат релативно низок процент на масти, а висок процент на јаглехидрати и имаат добар аминокиселински состав на протеините. Главните состојки за правење тестенини се брашно добиено од тврда пченица и вода (Wrigley et al., 2004). Тестенините од овој вид брашно имаат жолтеникава боја, отпорни се на кинење, не ја губат формата, не се лепат и не се растураат. Еден од најважните фактори кои влијаат врз квалитетот на тестенините и прифаќањето од страна на потрошувачите е нивната текстура (Peštović et al., 2015).

Во однос на другите видови прехранбени производи, кај тестенините лесно може да се утврдат нивните составни компоненти и да се анализираат нивните својства бидејќи претставуваат макроскопски хомоген материјал (Ogawa, 2014).

Производството на тестенини може да биде индустриско и занаетчиско. Индустриското производство на тестенини се состои од неколку технолошки фази, и тоа: подготовка на суровините за производство, дозирање на суровините и додатоките, замесување на тестото под вакуум, обликување на свежите тестенини, сечење и подготвување на свежите тестенини за сушење; сушење, кое опфаќа три подфази (претсушење, сушење и стабилизација - ладење), пакување на готовите производи и транспорт на готовите производи до местата на чување и продажба (Plavšić et al., 2010).

Процесот на сушење, како физички метод кој се користи во производството на храна, е еден од најстарите начини за продолжување на нејзиниот рок на траење, при што производот го задржува потребниот квалитет (Cengel, 2000; Wang, 2005; Berk, 2009; Wannapakhe, 2011; Ogawa, 2014). На овој начин се минимизира ризикот за

микробна контаминација. Сушењето на одредени видови храна е сложен процес. Тоа претставува процес на одделување на течната (водената) фаза од храната која се третира со помош на топлина, до содржина на сува материја, односно влага, карактеристична за сувиот производ. Дефиницијата се базира на фактот дека испарувањето на водата е поврзано со соодветна размена на топлина. Во исто време, размената на топлина е проследена со одделување на течната фаза од третираната храна во форма на водена пареа што се ослободува во нејзината околина.

Процесите на сушење на одделните видови храна може да се одвиваат на ниска (LT, до 55 °C), висока (HT, до 75 °C) и многу висока температура (UHT, од 80 до 120 °C), во зависност од максималната температурна подносливост на одреден вид храна за време на обработката (Kill & Turnbull, 2008).

Во процесот на производство на тестенините, сите фази имаат влијание врз безбедноста на финалниот производ. Сепак, една од основните и критични контролни точки во овој процес е сушењето на свежите тестенини (Zanoni, 2006). Најчестиот принцип на сушење на тестенините кој се користи во индустриското производство е внесувањето на топол воздух во објектот (комората) што доведува до испарување на водата од свежите тестенини (Putra & Ajiwiguna, 2017). Свежите тестенини се сушат во услови каде што температурата и влажноста на воздухот во коморите се менуваат во текот на овој процес, а за кое време производот преминува во сува форма. Со оглед на тоа дека процесот на сушење на температура од 30°C трае неколку дена, а со цел скратување на времетраењето на сушење, денес оваа фаза во индустриски услови се спроведува на температури повисоки од 30 °C.

Фазата на сушење на тестенините се базира на принципот на конвекција, односно на размена на топлина и влага помеѓу свежите тестенини и загреаниот воздух што кружи околу нив. За време на оваа фаза прво испарува влагата од површината на тестото (замесот), а потоа влагата од внатрешноста на тестото се движи кон неговата површина. Како резултат на овој процес доаѓа до формирање градиент на содржина на влага во центарот на тестенините и на нивната површина, а времето што е потребно за негов баланс зависи од дебелината на замесот и брзината на дифузија на влагата. Според тоа, произлегува дека основни параметри на воздухот кои ја одредуваат брзината на сушење на тестото, односно на тестенините, а тоа се: температурата и влажноста на воздухот, како и брзината на струење на воздухот во комората за сушење (Bejarović, 2001).

Putra & Ajiwiguna (2017) утврдиле дека повисоката температура на воздухот и зголемената брзина на струење на воздухот во коморите за сушење ја зголемуваат стапката на испарување. Освен тоа, тие во нивното истражувања утврдиле дека ефектот на температурата на воздухот при сушењето на свежите тестенини е помал доколку брзината на струење на воздухот е поголема. Macmanus et al. (2009) утврдиле дека при сушење на свежите тестенини на температури на воздухот од 55°C до 81°C и брзина на струење на воздухот од 1,3 m/s до 2,51 m/s, дневно се одделуваат од 4,6 kg до 5,3 kg вода. Истражувањата на Mamat et al. (2017) укажуваат на тоа дека со продолжување на времето на сушење се намалува влажноста на воздухот во комората за сушење.

Условите на кои се изложени свежите тестенини за време на процесот на сушење имаат големо влијание врз квалитетот на финалниот производ, а пред сè на текстурата и изгледот на тестенините (Güler et al., 2002). Од тие причини, режимот на сушење на тестенините обично се утврдува врз основа на долгогодишно практично искуство во овој процес. Така, според Donnelly & Ponte (2000), сушењето на тестенините на температура на воздухот во коморите од 60 до 80 °C овозможува производство на високо квалитетни производи.

Според гореизнесеното, опишан беше редоследот на фазите кои се вклучени во производството на тестенини, а сушењето на свежите тестенини е последната фаза на овој технолошкиот процес. Реализацијата на оваа фаза бара многу вештина, посветеност и одговорност. Еден од најважните моменти во оваа фаза е точното дефинирање на брзината на сушење, бидејќи зависно од времетраењето на фазата, можно е да се појават одредени нарушувања во однос на квалитетот на финалниот производ. Така, доколку сушењето на свежите тестенини се одвива пребрзо, односно за многу кратко време и на повисоки температури на воздухот, тие може да напукнуваат и да се кршат или пак во нив да се создаваат дефекти во вид на пукнатини, да се појавуваат бели дамки и нетранспарентност во бојата на самата тестенини. Спротивно, кога сушењето на свежите тестенини се одвива премногу бавно, тие може толку да бидат изменети што воопшто да не одговараат на посакуваниот квалитет на финалниот производ.

2.2. *SALMONELLA* SPP. МОЖЕН МИКРОБИОЛОШКИ РИЗИК ВО ПРОЦЕСОТ НА ПРОИЗВОДСТВО НА ХРАНА

2.2.1. Епидемиологија на салмонелозата од храна

Бактериите од родот *Salmonella* припаѓаат на фамилијата *Enterobacteriaceae*. Според класификацијата на бактериите од родот *Salmonella*, сите серотипови припаѓаат на еден од двата вида: *Salmonella bongori*, кој има најмалку 10 екстремно ретки серотипови и *Salmonella enterica* (Garrity et al., 2001; Brenner et al., 2005; Vos et al., 2009; Krieg et al., 2010; Whitman et al., 2012). Видот *Salmonella enterica* фенотипски и генотипски е поделен на шест подвидови: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* и *indica*. Подвидовите на *Salmonella enterica* се диференцирани според нивните антигени и биохемиски карактеристики, главно во однос на шеќерот и аминокиселинскиот метаболизам (Forshell & Wierup, 2006).

Клеточниот сид на бактериите од родот *Salmonella* е изграден од липиди, полисахариди, протеини и липопротеини. Липополисахаридниот дел од клеточниот сид, заради липидот А, кој ја носи токсичноста, се ендотоксини. Ендотоксинот е одговорен за патогените ефекти. Видовите на моносахариди и полисахариди во страничниот синџир на липополисахаридот ја детерминираат специфичноста на соматскиот, или О-антиген. Меѓу бактериите од родот *Salmonella* се утврдени околу 60 О-антигени кои се обележани со броеви. На површината на бактериите се наоѓаат израстоци, таканаречени флагели, со чија помош тие може да се движат. Флагелите поседуваат антигени својства, а овој антиген се означува како Н-антиген. Карактеристично за родот *Salmonella* е дека во иста бактериска клетка може да содржат и по повеќе различни О- и Н-антигени. Салмонелите се групирани според соматските О-антигени во групи, означени со големи букви на латиница. Врз основа на соматските и флагеларните антигени, се врши серотипизација на бактериите од родот *Salmonella*, па така денес се познати повеќе од 2541 серотипови. Класификацијата на бактериите од родот *Salmonella* според Kauffman-White покажува дека повеќето од нив кои предизвикуваат заболувања кај луѓето се поделени во неколку групи, и тоа: А, В, С, С2, D и Е (Grimont et al., 2000).

Бактериите од родот *Salmonella* се кратки бацили, 0,7-1,5 x 2,5 µm, грам-негативни, аеробни или факултативни анаеробни, каталаза позитивни, оксидаза

негативни. Тие ферментираат шеќери при што произведуваат гас, произведуваат H_2S , не создаваат спори и се подвижни, освен *Salmonella pullorum* и *Salmonella gallinarum*, кои се неподвижни (Forshell & Wierup, 2006).

Бактериите од родот *Salmonella* можат да растат и да се размножуваат во температурен опсег од 5,2 °C до 47 °C. Сепак, оптималната температура за нивен раст и размножување изнесува 35 °C до 37 °C. Овие бактерии се осетливи на топлина, па така температура поголема од 55 °C ги убива (Меѓународна комисија за микробиолошки спецификации за храна, ICMSF, 1996). Оптималната pH-вредност за да може добро да растат и да се размножуваат изнесува 4,5-9,0. pH-вредностите поголеми од 9,0 или помали од 4,5 имаат бактерициден ефект врз овие бактерии. Активноста на вода (a_w) за нивен нормален раст е помала од 0.93 (Mahmoud, 2011).

На стандардни хранителни подлоги салмонелите растат во форма на просирни сиво-бели колонии со правилни рабови чија големина се движи од 2 до 4 mm. За нивна изолација и серотипизација се користат повеќе селективни и диференцијални подлоги. Од цврстите подлоги за изолација на салмонелите се користат брилијантно-зелениот агар, Endo-агар, SS-агар (*Salmonella-Shigella* агар), XLD-агар (xylose-lysine-deoxycholate agar), MacConkey-агар, од полутечните подлоги, Wilson-Blair, а како течни хранливи подлоги за збогатување на растот на салмонелите се користат бујонот Selenit F, Rappaport-Vassiliadis (RV), тетра-тионатниот бујон, декстрозен бујон и други, (Mijatović, 2016).

Бактериите од родот *Salmonella* ферментираат гликоза и маноза, но не и лактоза или сахароза (Yoshikawa, 1980).

Реакцијата со метил црвено (MR) е позитивна, а реакцијата со ацетил-метил карбинол или Voges Proskauer (VP) и индол е негативна и имаат способност да го редуцираат нитратот во нитрит.

Бактериите од родот *Salmonella* се релативно отпорни на сушење, солење и димење. Поради оваа способност, овие бактерии може да бидат присутни во различни видови храна, па заедно со *Campylobacter* spp претставуваат најважните причини за алиментарни заболувања кај луѓето. Сепак, тие не се толерантни на високи концентрации на готварска сол (над 9 %), па затоа не може да се најдат во саламурено месо (Franco & Landgraf, 1996). Инхибиторен ефект на овие бактерии покажуваат и солите на азотната киселина, односно нитритите, а нивниот ефект се зголемува со намалување на pH-вредноста на средината (Jay et al., 2005).

Главен резервоар на салмонелите се домашните животни, кои во исто време се и директни и индиректни вектори кои ги пренесуваат бактериите кај луѓето. Она што претставува посебен проблем во епидемиологијата на салмонелозата кај луѓето е непостоењето на клинички видливи симптоми на салмонелоза кај голем број инфицирани животни што оневозможува поставување сомнеж за постоењето на инфекција. Но, не само домашните животни, туку и птиците, влекачите, глодарите и дивите животни можат да бидат носители на салмонели и да имаат сериозно епидемиолошко значење. Поради овие причини, многу видови храна, најчесто поврзани со сурово месо, живина и живинско месо, јајца, млеко, млечни производи и храна без термичка обработка, може да содржат бактерии од родот *Salmonella* (Bajrai et al., 2012). Така, бактериите од родот *Salmonella* добро се размножуваат во млекото, што пред сè зависи од температурата и времето на чување на млекото. Млечната киселина неповолно влијае врз растот и размножувањето на салмонелите. Доколку овие бактерии се најдат во млекото пред неговата обработка, тие во млечно-киселинските производи брзо угинуваат. Во сирењето, преживуваат 6 до 13 месеци, во зависност од температурата на складирање и условите на зреењена сирењето.

Болестите од храна се болести кои настануваат со консумирање храна во која се присутни патогени микроорганизми или нивни токсин (Бразилска национална агенција, ANVISA, 2001). Според Светската здравствена организација (СЗО), 30 % од луѓето во индустриски развиените земји страдаат од болести од храна. Се смета дека во 2000-та година најмалку два милиона луѓе ширум светот починале од дијареја предизвикана од бактерии од родот *Salmonella* (Burt, 2004; Jones, 2011). Во Соединетите Американски Држави, салмонелозата е причина за околу 1,3 милиони болести од храна, со околу 15000 хоспитализации и 500 смртни случаи годишно, што одговара на 15,1 % од инцидентите проследени со кампилобактериоза (13,8 %) и шигелоза (Isaacs et al., 2005, Sampathkumar, 2003 ; Schroeder, 2005).

Според извештаите на EFSA (2012) (Европска агенција за безбедност на храната) и ECDC (Европски центар за превенција и контрола на болести), дури во 41,3 % од потврдените случаи на салмонелоза кај луѓето во државите на Европската Унија била изолирана *Salmonella enteritidis*. Во тој контекст е и истражувањето на Papadopoulos et al. (2016) кои утврдиле дека соевите на *Salmonella enteritidis* што циркулираат преку синџирот на исхрана се совпаѓаат со профилите на серотипот на *Salmonella enteritidis* во Европа. *Salmonella enteritidis* е зоонотичен микроорганизам

кој ги напаѓа репродуктивните органи на живината, при што оваа бактерија се пренесува вертикално, преку јајцата. Кај животните и луѓето оваа бактерија предизвикува воспалителни промени во дигестивниот тракт (Švabić-Vlahović, 2008). И во Република Србија, *Salmonella enteritidis* била најчесто изолиран серотип на *Salmonella* од прехранбените производи, иако ретко бил изолирана и *Salmonella typhimurium* (Karabasil et al., 2013; Rašeta et al., 2014). Ова е во согласност со истражувањата на Ban et al. (2011), кои проучувајќи ја епидемиологијата на салмонелоза во Република Хрватска во периодот 1990-2009 година утврдиле дека најчесто изолиран серотип на *Salmonella*, дури во 84 %, бил *Salmonella enteritidis*. Според истите автори, во 32 % од случаите, како извор на инфекција биле инфицираните јајца, а во 10 % живината и живинското месо. Во овие епидемии, како извор на салмонелоза, не помал бил уделот и на тестенините (10 %). Слични резултати во своите истражувања добиле и DeKnecht et al. (2015), според кои, пилешкото месо била најглавната причина за појава на салмонелоза кај луѓето во Европа (42,4% од сите видови храна од кои била изолирана салмонела). Ivić-Kolevska & Kosić (2009) утврдиле дека во периодот од 2003 до 2005 година, како и во периодот 2006 и 2007 година, најчест извор на салмонела било пилешкото месо во Република Македонија, но и млекото, млечните производи и некои видови слатки.

Според истражувањата на Pavlović et al. (2014), во периодот од 2011 до 2013 година на територијата на градот Белград, Република Србија, уделот на салмонелозата изнесувал 80,4 % од сите евидентирани алиментарни епидемии. При тоа, како најчест извор на епидемиите со салмонелоза биле утврдени тортите и слатките (22,2 %), јајцата (8,9 %) и печеното пилешко месо (4,4 %). Milanović et al. (2014) во периодот од 2001 до 2011 година утврдиле зголемување на инциденцата на салмонелоза од храна на територијата на Црна Гора.

2.2.2. *Salmonella* spp. можен микробиолошки ризик во процесот на производство на храна

Бактериите од родот *Salmonella* се присутни насекаде во непосредното човеково опкружување. Од тие причини, тие многу лесно може да се внесат во производните погони на повеќе начини, но најчесто преку контаминирани сировини, опрема и алат, вода, воздух, преку персоналот, со неспроведувањето и

несоодветната контрола на штетниците, како и со неспроведувањето на континуиран мониторинг на контролните мерки (Finn et al. 2013).

Кај луѓето, инфекциите со бактерии од родот *Salmonella* најчесто се јавуваат по консумација на недоволно термички обработени месо, млечни производи, сурово млеко и јајца, коишто биле контаминирани со овие бактерии. Контаминацијата на суровините со салмонела пред нивно процесирање и постпроцесно на готовите прехранбени производи е последица на нивно пренесување од природните резервоари на бактериите во процесирањето на храната, а како резултат на одредени пропусти во спроведувањето на хигиенско-санитарните принципи пропишани за производството на храна.

Пренесувањето на бактериите од родот *Salmonella*, особено оние на видот *Salmonella enterica*, може да биде хоризонтално, од животните на луѓето и од луѓето на луѓе преку фекално-орален пат, и вертикално, од мајката на нејзиното потомство (Silva et al., 2014; Hanson et al., 2016). Не помалку значајно е директното и индиректно пренесување преку вектори, како што се на пример глодарите, црвите и инсектите, во чии организми *Salmonella enterica* може да биде присутна, со и без манифестација на клинички симптоми (Silva et al., 2014).

Суровините, како што се на пример суровото млеко и јајцата и разните адитиви кои се користат за производство на храна најчесто се набавуваат од различни добавувачи. При тоа, доколку тие претходно не биле подвргнати на соодветни контроли, секогаш постои безбедносен ризик за финалниот прехранбен производ. Од тие причини, во такви случаи, потребно е преработувачот да спроведе соодветни проценки за можните безбедносни ризици со цел елиминирање на ризикот од присуство на патогени бактерии во суровините (Beuchat et al., 2011, 2013). Ова се случува затоа што салмонелите што се присутни во суровините може да опстанат во тешки, суви услови за долги временски периоди (Podolak et al., 2010; Van Doren et al., 2013). Опстанокот на оваа бактерија не зависи само од околината или храната, туку и од други фактори, како што е на пример температурата на нивно складирање. Carrasco et al. (2012) како главни причини за контаминација на храната со салмонели ги потенцираат: ниската влага, лошите санитарни практики, супстандардните објекти, дизајнот на опремата и нејзиното несоодветно одржување. Понекогаш, дури и во најдобро организираните погони за процесирање на храна, каде што континуирано се спроведуваат хигиенско-санитарните мерки, во производната

средина може да се внесат бактерии од родот *Salmonella* и да настане контаминација на готовиот производ. Затоа, според Beuchat et al. (2011, 2013), неопходно е да се обрне внимание нивото на хигиена во влажните и во сувите зони во погоните за процесирање на храната: основно или средно ниво на хигиена во влажните зони и основно, средно или високо ниво на хигиена во сувите зони. Треба да се има предвид дека критериумите за спроведување и контрола на хигиената секогаш треба да бидат построги во сувите зони во однос на влажните зони. Сувите зони ги вклучуваат операциите на сушење и суво замесување, пакување и складирање. Потребно е овие зони физички да бидат одделени од влажните зони, заради елиминирање на ризикот од зголемување на влагата во нив.

Употребата на опрема во производството на храна со ниска влага која не е добро дизајнирана и одржувана, претставува значаен ризик за вкрстена контаминација. Постоењето на пукнатини во некои делови од машините, подовите и сидовите, како и завршетците на доводните цевки за вода, потенцијални места се за задржување на патогени бактерии и последична контаминација на производот (Finn et al., 2013).

Персоналот може да биде главен извор на вкрстена контаминација во производната средина (Greig et al., 2007; Todd et al., 2009). Несоодветното миење на рацете, чистење и перење на облеката и присуството на бактерии исфрлени од персоналот во вид на аеросоли, на пример преку кивање, кашлање, потенцијални извори се на патогени бактерии (Todd et al., 2009). Освен тоа, потребно е да се контролира движењето на персоналот во сувите и во влажните зони. Во согласност со овој дизајн, чешмите за миење на рацете не треба да се поставуваат во сувата зона. Ограничувањето на движењето на персоналот меѓу зоните заедно со редовната дезинфекција на чевлите, претставува важен фактор во ограничувањето на ширењето на бактериите во други делови на производствениот објект (Morita et al., 2006). Поради сите овие причини, неопходно е целиот персонал да биде соодветно едуциран и обучен за добра производна практика (GMP) и мора да биде свесен за негативните импликации кои се однесуваат на општото јавно здравје кога овие упатства не се почитуваат.

Контролата на штетниците на местото на производство е составен дел на спречување на вкрстена контаминација на салмонела. Штетниците кои се преносители на овие бактерии, се мобилни и затоа потребно е спроведување

соодветни мерки за да се спречи или да се ограничи нивното движење низ објектите за процесирање на храната. Така на пример, според истражувањата на Pennycott et al. (2006), дивите птици можат да носат различни серотипови од салмонела, додека пак Olsen & Hammack (2000) укажале на важноста на домашната мува (*Musca domestica*) како потенцијална опасност во пренесувањето на патогените бактерии.

Откако ќе се спроведат контролните мерки во производните погони, потребно е воспоставување на континуиран мониторинг кој ќе овозможи висок безбедносен стандард за крајниот производ (Beuchat et al., 2011).

2.2.3. *Salmonella* spp. можен микробиолошки ризик во производството на тестенини

Технолошкиот процес на производство на тестенини од брашно не може да овозможи целосно уништување на микроорганизмите кои се присутни во брашното, како основна сировина за овој вид производи. Некои видови микроорганизми можат да ги издржат условите на одделните фази на производство. Тие понатаму се способни да растат и да се размножуваат во финалниот производ. Освен тоа, дополнителен ризик за контаминација на суровините и финалните производи од брашно во вид на тестенини може да претставува и неисправната вода која се користи за производство на овие производи, потоа хигиената на персоналот и хигиената на работните површини, опремата и алатките (Tešanović, 2010).

Ricci et al. (2017) ги истражувале потенцијалните микробиолошки ризици, зависно од начинот на производство (индустриски или занаетчиски), на свежи и сушени тестенини. Тие не утврдиле присуство на *Listeria monocytogenes* и на *Salmonella* spp во ниту еден од испитаните примероци, независно од начинот на производство. Слично истражување било спроведено и од страна на Plavšić et al. (2010) на територијата на Република Србија. Овие автори констатирале дека сите примероци од тестенини произведени во индустриски услови биле микробиолошки исправни, додека во 18 примероци од вкупно 90 земени примероци од тестенини кои биле произведени занаетчиски, било утврдено присуството на коагулаза позитивни стафилококи и зголемување на вкупниот број на микроорганизми. Во овие истражувања не било утврдено присуство на бактерии од родот *Salmonella* во ниту еден од испитуваните примероци, независно од начинот на нивно производство.

Сепак, во некои експериментални истражувања, постојат податоци за преживување на патогени соеви на *Salmonella* во сушени тестенини. Така на пример, Rayman et al. (1979), утврдиле преживеани клетки на *Salmonella* во сушени тестенини чувана 360 дена на собна температура, која претходно била контаминирана со истата бактерија. Во контекст на ова, Un Ho King et al. (2014) го одредувале рокот на траење на варени тестенини произведени со различна концентрација на јајца (20 %, 40 %, 60 %, 80 % и 100 % како контрола) преку испитување на микробиолошкиот квалитет. Рокот на траење на тестенините произведени со 60 % додадени јајца, складирана на собна температура изнесувал 3 дена. Раст на мувла и позитивен наод на салмонелата биле утврдени на шестиот ден од производството.

Во своите истражувања, Scioscia et al. (2016) вршеле испитување на микробиолошкиот квалитет и безбедноста на свежи тестенини произведени од компанија од Беневенто (Benevento) од Италија зависно од термичкиот третман на тестото (80 секунди на 100 °C ; 97 секунди на 102 °C и 100 секунди на 102 °C). Тестенините потоа биле пакувани во услови на модифицирана атмосфера (МАП). Примероците за испитување биле земани во редовни интервали од 1, 7, 21, 28 и 35 дена. Во примероците од свежи тестенини третирани 100 секунди на 102 C, не било утврдено присуство на микробиолошки индикатори за безбедност (*Escherichia coli*, *Clostridium* spp., сулфиторедуирачки бактерии, *Salmonella* spp. и *Listeria monocytogenes*).

2.2.4. Присуство на *Salmonella* spp. во храна и сировини за производство на храна со ниска a_w вредност

Оптималната вредност за активноста на водата (a_w) ја дефинира потребата за влага на определен вид микроорганизам за негов раст и размножување. Ниската вредност на активноста на водата има негативно влијание врз растот и размножувањето на многу патогени бактерии, вклучително и врз бактериите од родот *Salmonella* (Podolak, 2010). Меѓутоа, постојат литературни податоци кои укажуваат на фактот дека некои видови храна со ниска влага, односно активност на водата помала од 0,60, овозможуваат услови за опстојување на *Salmonella* spp. Затоа, кај таа храна е потребно проширување на истражувањата во оваа насока, од причина

што порано се сметаше дека храната со ниска вредност за a_w претставува средина која не поддржува бактериски раст и дека таа не претставува ризик за безбедноста на здравјето на човекот (Smith & Marks, 2015).

Постои податок дека во периодот од 2007 до 2012 година, храната со ниска влага била причина за 20 % од епидемиите со *Salmonella* (Anonymous, 2014). Некои автори, во овој контекст ги посочуваат црниот бибер, пченичното брашно, путерот од кикирики и бадемот, како храна со ниска активност на водата кои биле причина за епидемии со *Salmonella* (CDC, 2004; Gieraltowski, 2013; McCallum et al., 2013; Farakos et al., 2014). Ако се има предвид фактот дека многу видови храна и прехранбени суровини со ниска влага, како што се на пример оревите, храната во прав и тестенините, кои се составен дел на многу други готови јадења, произлегува дека стотици готови производи може да бидат контаминирани и да претставуваат потенцијален ризик за епидемии.

Janning et al. (1994) проучувајќи го преживувањето на 18 бактериски соја, вклучувајќи ја и *Salmonella* spp. во безводен силициум гел со $a_w = 0,20$, утврдиле дека по првичното намалување на бројот на колонии, бактериите од родот *Salmonella* се стабилизираат и преживуваат долго време, од 248 до 1 351 дена. Истовремено, било утврдено дека *Salmonella* spp. била поотпорна на сушење во однос на другите испитувани видови бактерии.

Во своите истражувања, Berghofer et al. (2003) не утврдиле присуство на *Salmonella enterica* во ниту еден од 650 примероци на пченица пред мелење, како и во ниту еден примерок од финалните производи по мелење, како што се трици, брашно и друго.

2.2.5. Присуство на *Salmonella* spp. во јајца за консумирање

Согласно регулативата бр. 1237/2007 на Европската комисија, јајцата кои потекнуваат од јата несилки со непозната здравствена состојба, а за кои постои сомневање дека се контаминирани или се знае дека се инфицирани со *Salmonella enteritidis* или *Salmonella typhimurium*, може да се пласираат на пазарот само ако со нив се постапува на начин со кој се гарантира елиминација на сите серотипови на салмонела и истите се означени пред ставање во промет. Освен тоа, според прописите на ЕУ, од 1 јануари 2009 година, за исхрана на луѓето не може да се

користат јајца кои потекнуваат од фарми со комерцијални јата на несилки, каде што не се спроведува национална програма за контрола на *Salmonella* spp.

Во извештаите на Европската асоцијација за безбедност на храна (EFSA) може да се најдат податоци за присуството на *Salmonella* spp. во јајцата. Така, во 2007 година, вкупно 0,8 % од испитаните јајца во земјите на ЕУ, биле позитивни на салмонела, што било на нивото од 2006 година (EFSA, 2009). Во 2010 година, во испитувањата направени во петнаесет земји членки на ЕУ, било утврдено дека од испитаните јајца за консумирање 0,5 % биле позитивни на салмонела, што претставува намалување за 0,3 % во однос на 2007 година. Највисок процент на примероци позитивни на *Salmonella* се од мостри земени од продавници во Ирска (6,1 %) и Шпанија (5,3 %), додека во други седум земји (Австрија, Белгија, Кипар, Чешка, Италија, Романија и Словачка) не бил откриен ниту еден примерок на јајца позитивен на салмонела (EFSA, 2010, 2012). Во текот на 2011 година, најголем број истражувања за состојбата со салмонела во јајцата за консумирање биле направени во Германија, каде што воедно биле регистрирани и најмалку позитивни примероци на салмонела ($< 0,1$ %). Поголем број од овие истражувања се однесувале на испитување на присуството на салмонела во составните делови на јајцата: лушпа, жолчка и белка од јајце. При тоа, било утврдено дека највисоко ниво на контаминација има кај лушпата на јајцето, додека воопшто не било утврдено присуство на салмонела во белката и жолчката. Во останатите земји од ЕУ, овие истражувања биле од помал обем, но и во нив било утврдено многу низок удел на позитивни примероци на салмонела во јајцата за консумирање. Така на пример, во Шпанија, позитивни на салмонела биле само 0,2 % од испитаните примероци, додека во Полска и Португалија, не бил регистриран ниту еден позитивен примерок на салмонела (EFSA, 2013).

Во истражувањата направени во 2010 година за присуство на салмонела во производи од јајца, во земјите членки на ЕУ, било утврдено дека 1,1 % од вкупно испитаните примероци биле позитивни на салмонела, при што на пример, истражувањата направени на група суви производи од јајца во Унгарија покажале присуство на салмонела во 0 % до 5,8 % од сите испитани примероци.

Што се однесува до појавата на епидемии предизвикани од патогени соеви на *Salmonella* присутни во јајца и производи од јајца во земјите членки на ЕУ, го бележи следново: во 2008 година во Белгија биле регистрирани две епидемии

предизвикани од серотипот *Salmonella enteritidis* PT 21, којшто бил изолиран од тирамису подготвен со свежи јајца. Истата година во Чешка имало пријавени случаи на салмонелоза предизвикани од серотипот *Salmonella enteritidis* PT8 изолиран од јајца кои ги консумирале заразените лица. Било утврдено дека дополнителни фактори кои придонеле за појава на епидемијата биле: несоодветната термичка обработка, контаминирани ракавици на операторот со храна и подолгото време на чување (EFSA, 2010). И во 2011 година, како и во претходните години, јајцата биле најчест причинител на епидемии со *Salmonella* во земјите членки на ЕУ. Сепак, бројот на епидемии предизвикани со јајца се намалил од 159 во 2009 година, 149 во 2010 година, на 143 во 2011 година. Поголемиот број од епидемиите биле регистрирани во Полска и Шпанија (EFSA, 2013).

Кај кокошките несилки салмонелите може да се пренесат вертикално, при што јајцата кои кокошките ги несат да бидат инфицирани со овие бактерии. Ако се земат предвид превентивните програми и биосигурносните мерки кои ги практикуваат големите фарми за несилки, можноста за овој вид пренесување на салмонела се сведува на минимум. Доколку, јајцата се слободни од салмонела, тогаш патогените соеви на оваа бактерија кај јајцата со лушпа може да навлезат во внатрешноста на јајцето единствено преку неговата лушпа. Така, според Messens et al. (2007), можноста за пенетрација на салмонелата преку лушпата во внатрешноста на јајцето била поголема кога бројот на клетки од оваа бактерија на површината на лушпата бил поголем. При тоа, не е утврдено дека цврстината на лушпата на јајцата има влијание на пенетрацијата на *Salmonella enteritidis* во внатрешноста на јајцата (Jones & Musgrove, 2005; Murase et al., 2005; Gast & Holt, 2003).

Истражувањата за пенетрацијата на три серотипови на *Salmonella*: *enteritidis*, *infantis* и *montevideo* во внатрешноста на јајцата, кога бактериските клетки се инокулирани на мембраната на јајцата, покажале присуство на бактерии во жолчките на 25 и во албуминот на 125 од 138 испитани јајца, кога тие биле инкубирани 6 дена на температура од 25 °C. При тоа, не била утврдена значајност помеѓу серотиповите во однос на способноста за пенетрација (Murase et al., 2006).

Chen et al., (2005) утврдиле дека популацијата на *Salmonella enteritidis* инокулирана преку површината на јајцата во нивниот албумин чувани на температура од 22 °C, достигнува максимум за време од 4 недели, при што почетниот број на инокулирани клетки на *Salmonella enteritidis* од 10^6 се зголемил на

10^{10} клетки. Чувањето на јајцата на температури од 4 °C и 10 °C со ист број на инокулирани клетки на *Salmonella enteritidis* имало инхибиторен ефект на зголемувањето на популацијата на бактерии. Ова значи дека пониската температура на чување на јајцата има значително влијание врз безбедноста на јајцата.

Влијанието на температурата на држење на јајцата врз порастот на популацијата на инокулирани клетки на *Salmonella enterica serotip Enteritidis* во јајцата го испитувале Gast & Holt (2003). Тие утврдиле дека на температура од 37 °C, бројот на клетки инокулирани во јајцата обично се зголемува до 10^5 CFU/mL за време на инкубација од 12 h и 10^7 CFU/mL за време на инкубација од 12 до 15 h. Порастот на популацијата на *Salmonella enteritidis* кај јајца чувани на температура од 25 °C, изнесувал 10^5 CFU/mL за време од 18 до 27 h и 10^7 CFU/mL за време од 27 до 36 h. Во истата студија, биле истражувани можностите за брза детекција на *Salmonella enteritidis* со додавање на различен почетен број бактериски клетки во отвори во јајцата. Должината на инкубациското време што е потребно за откривање на малиот број на *Salmonella Enteritidis* во отворите, зависел од температурата на инкубација, почетниот број бактерии инокулирани во отворите во јајцата, дополнителното зголемување на обемот на бактериското размножување, како и од чувствителноста на тестот.

Главна цел на истражувањата направени од Gast et al. (2008) била да се утврди размножувањето на *Salmonella enteritidis* во мембраната и навлегувањето во содржината на жолчката во случаите на *in vitro* контаминирани јајца чувани на температура од 30°C за време од 30 часа. Иако жолчката е богата со материи кои имаат висока хранлива вредност, а нејзината внатрешност е стерилна, по миграцијата на *Salmonella enteritidis* од мембраната во внатрешноста на жолчката, таа таму забрзано се размножува. Ова претставува потенцијален ризик за консументите. За целите на студијата биле користени четири соја на *Salmonella enteritidis*. По инкубацијата на контаминираните јајца, сите четири соја на салмонела пенетрирале во жолчката. Овие резултати укажуваат на способноста за размножување на *Salmonella enteritidis* на површината од мембраната на жолчката и нејзино пенетрирање во содржината на жолчката во текот на првите 36 часа од нивното чување свежи, незамрзнати. Во тој контекст, авторите го истакнуваат замрзнувањето на јајцата како критична точка за да се заштити здравјето на потрошувачите од салмонелоза која се пренесува преку јајцата.

Baron et al. (1999) го споредувале растот на *Salmonella enteritidis* инокулирана во реконституирани индустриски белки од јајца во прав и во белките на свежи јајца при инкубација на температура од 30 °C за време од 24 часа. Авторите утврдиле побрзо зголемување на иницијалниот број на *Salmonella enteritidis* во белката од јајце реконституирана од индустриски белки во прав. Ова било во корелација со зголеменото присуство на денатурирани протеини при процесот на пастеризација, а особено присуството на денатуриран овотрансферин кое го зголемува присуството на железо неопходно за растот на *Salmonella enteritidis*.

Генерално, поволната температура на чување на свежите јајца го поттикнува растот на *Salmonella enteritidis* во нивната внатрешност. Затоа, свежите јајца треба да се чуваат на константна температура што не треба да надминува 20 °C (ACMSF, 1993, Martelli & Davies, 2012). Инаку, бактериите од родот *Salmonella* можат да растат на температура од 20°C во белката на јајцата, но можат да растат и на 10 °C. Ако *Salmonella enteritidis* доспее во жолчка од јајцето, тогаш таа може брзо да се размножува дури и на собна температура од 25°C (Gantois et al., 2009, Martelli & Davies, 2012). Луѓето најчесто се заразуваат со бактерии од родот *Salmonella* при консумирање на сурови и недоволно варени јајца (Martelli & Davies, 2012). При производството на тестенините со јајца, температурата на сушење на свежите тестенини изнесува 46 °C. Според Blackburn et al. (1997), бактериите од родот *Salmonella* може да преживеат на температури и повисоки од температурата на сушење на тестенините. Освен тоа, секогаш постои потенцијален ризик од контаминација на крајниот производ. Затоа е потребно да се изврши дополнителен третман за отстранување на *Salmonella enteritidis* од тестенините со јајца.

Leuschner et al. (2001), во своите истражувања ја потврдиле улогата на *Salmonella enteritidis* PT4 и PT6 како причинител на болест предизвикана од храна дури и во случаите кога во храната е присутен мал број бактериски клетки. Тие креирале лабораториска скала која го прикажува намалувањето на бројот на бактериите при производството на мајонез подготвен со јајца. Во текот на производството, разматените јајца биле инокулирани со ниско ниво на *Salmonella enteritidis* што резултирало со нејзино присуство во финалниот производ (1 - 3 log₁₀ CFU/g). При тоа, било забележано дека бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* останал стабилен во текот на периодот на чување (4 недели на температура

од 4 °C) и покрај изложеноста на ниска рН-вредност на мајонезот, која била во опсег од 4,2 до 4,5.

Little et al. (2008) како резултат на нивните истражувања објавиле податоци за преваленцијата на контаминацијата на свежите јајца со бактерии на родот *Salmonella*, а кои биле користени од операторите на храна во Англија и Велс. Истражувањето покажало дека поголемиот процент од јајцата не биле чувани во соодветни услови, не постоела Добра хигиенска практика (ДХП) при манипулација со јајцата, а дури 20,7 % од јајцата биле со поминат рок на употреба.

Други автори пак (Lievonon et al., 2004), исто така го истражувале спроведувањето на ДХП при ракувањето и подготовката на свежите јајца, а цел во нивните истражувања биле мали и средно големи ресторани, комерцијални кујни и кантини. Авторите утврдиле дека е потребна дополнителна едукација на персоналот за безбедно ракување со свежите јајца за да се намали ризикот за нивна контаминација со патогени микроорганизми.

Elson et al., (2005) спровеле епидемиолошко истражување во Англија и Велс за да ја утврдат преваленцијата на болести од храна послужена во кетеринг а предизвикани од користење на контаминирани јајца со *Salmonella enteritidis*. При тоа, бактериите од родот *Salmonella* биле изолирани во 17 јајца (0,3 %), а во 15 јајца била идентификувана *Salmonella enteritidis*.

Истражувањата во неколку европски земји укажале дека спроведувањето на ефективни политики и програми за контрола на *Salmonella enteritidis* во јајцата од кокошки може да помогне во намалување на епидемиите на салмонелоза кај луѓето (Edel, 1994; Gillespie et al., 2005; Poirier et al., 2008).

Епидемиите на салмонелоза кај луѓето предизвикана од консумирање на храна се поврзани со контаминирани свежи јајца (Mishu et al., 1994), делумно барени или целосно сварени јајца или јајца содржани во храната, вклучувајќи и „cheesecake“ (CDC, 1990), сладолед (Hennessy et al., 1996), цезар-салата (CDC, 1996) и туна-салата (CDC, 2003). Инциденцијата на големи епидемии на салмонелоза може да се спречат со користење на свежи јајца со пастеризирана лушпа и почитување на ДХП при ракување со храната (Boysen et al., 1996). Меѓутоа, во светски рамки се забележани епидемии на салмонелоза како резултат на користење свежи јајца со пастеризирана лушпа, а како причина за тоа се наведува вкрстената контаминација преку опремата за транспорт која претходно била во контакт со свежи јајца со непастеризирана

лушпа (Hennessy et al., 1996). Затоа, во кујните на институциите каде што се згрижени имуносупресивни стари лица со висок ризик се препорачува употреба само на пастеризирани свежи јајца. Согласно препораките на FDA (2001) и CDC (2003), со цел да се спречат епидемиите предизвикани од *Salmonella enteritidis* се препорачува да се купуваат свежи јајца од лиценцирани оператори кои гарантираат за условите на чување на јајцата, соодветно ракување со јајцата за да се избегне вкрстена контаминација и јајцата да не се консумираат сурови или недоволно варени. Покрај овие превентивни стратегии, пастеризацијата на лушпата од јајцата е потенцијално одржив метод за намалување на инциденцијата на болестите од храна предизвикани од *Salmonella enteritidis* (Schroeder et al., 2006).

Lievonen et al. (2004) истражувајќи го ризикот од појава на салмонелоза при консумирање на јајца кај луѓето во Финска утврдиле дека повозрасната популација почесто користи јајца во исхраната, но поради користењето на добри практики при ракување со јајцата постои минимален ризик за нивна контаминација.

2.3. АНТИМИКРОБНИ СВОЈСТВА НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА

Етеричните масла екстрахирани од растенијата со векови се користат за различни цели од страна на многу култури ширум светот. Не е познато дали на почетокот етеричните масла биле користени како лековити средства или за домашна употреба. Сепак, од неодамна големо внимание се посветува на ефективната употреба на етеричните масла во клиничките процедури во хуманата медицина (Ou et al., 2012; Kia et al., 2014; Watanabe et al., 2015). Уште во 4500 година пр.н.е., Египќаните користеле ароматични масла во козметиката. Во традиционалната кинеска и индиска медицина употребата на ароматични масла за прв пат била регистрирана во периодот меѓу 3000 и 2000 година пр.н.е. (Baser & Buchbauer, 2010). При тоа, во тоа време биле познати повеќе од 700 видови масла, како што се на пример маслата од цимет, ѓумбир и сандалово дрво, а кои се користеле за лекување на луѓето. Во Стара Грција, употребата на различни етерични масла за прв пат била регистрирана во периодот помеѓу 500 и 400 пр.н.е. Се употребувале масла од тимејан, шафран, мајорам, кумин и нане (Pauli & Schilche, 2009).

Ароматичните растенија и нивните етерични масла се користеле уште од античко време како зачини, односно додатоци во храната, потоа во земјоделството,

козметиката, во медицината како антимикробни средства за терапевтски цели, но и како инсектицидни средства и средства за ароматизирање (Bakkali et al., 2008).

Во 18 и 19 век, хемичарите за прв пат ги утврдиле активните компоненти на некои лековити растенија, како што се на пример: кофеинот, кининот, морфиумот и атропинот, за кои се сметало дека имаат важни биолошки ефекти (Tisserand, 1995). Некои етерични масла, како што се маслата добиени од лаванда и нане, сè уште се користат во фармацевтски цели. Тие ефикасно ќе може да се користат и во иднина, како алтернативни средства за многу синтетички произведени лекови (Ali et al., 2015).

Денес, во светот сè повеќе се одбегнува употребата на синтетички конзерванси во храната, затоа што за некои од нив е утврдено дека се токсични и имаат негативни ефекти врз здравјето на консументите и животната средина (Chivandi et al., 2016). Од друга страна, појавата на резистентност на антимикробните средства претставува една од најголемите опасности за јавното здравје (López-Pueyo et al., 2011). Оттука, употребата на природни антибактериски етерични масла како замена за синтетичките антимикробни средства има голема важност, бидејќи повеќето од нив имаат докажана ефективност. Тие се сметаат за безбедна и еколошка алтернатива во контролата на бактериите присутни во прехранбената индустрија и храната, но и во контролата на другите патогени микроорганизми, особено оние кои се отпорни на лекови (Friedman et al., 2002; Yap et al., 2013, 2014).

Интеракцијата на етеричните масла од растенијата со микробните клеточни мембрани резултира со инхибиција на растот кај некои грам-позитивни и грам-негативни бактерии (Rivera et al., 2015). Се претпоставува дека грам-позитивните бактерии се поосетливи на антибактериските својства на етеричните масла за разлика од грам-негативните бактерии. Ова претпоставка се заснова на фактот дека грам-негативните бактерии имаат надворешен слој кој штити и ја ограничува интеракцијата со хидрофобни соединенија. Од тие причини, може да се каже дека грам-негативните бактерии обично се поотпорни на антимикробните средства од растително потекло, при што некои од нив дури не покажуваат никаков ефект, во споредба со грам-позитивните бактерии (Rameshkumar et al., 2007; Stefanello et al., 2008). Утврдено е дека етеричните масла добиени од некои зачини и растенија имаат антимикробна активност против *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*,

Escherichia coli O157:H7, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus* (Burt, 2004).

Различни се механизмите со кои активните супстанции од етеричните масла го исполуваат своето антимикробно дејство, во зависност од нивната хемиска структура. Така на пример, терпените, кои имаат липофилен карактер и имаат висок афинитет кон липидите поради нивната хидрофобна природа, се поврзуваат со надворешните структури на бактериите (Paduch et al., 2007). Фенолните соединенија присутни во етеричните масла ја оштетуваат клеточната мембрана, што доведува до инхибиција на својствата на клеточните функции и излегување на внатрешните клеточни содржини надвор од бактериската клетка (Trombetta, 2005).

Во процесот на производство на храна, важно е да се преземат соодветни мерки за да се обезбеди сигурност и стабилност на производите за време на нивното чување во рамки на нивниот рок на траење (Souza, 2016). Антимикробните средства се користат како адитиви во храната главно од две причини: да се контролираат процесите на природно расипување (зачувување на храната, да се продолжи рокот на траење) и да се спречи, односно контролира растот на микроорганизмите, вклучувајќи ги и патогените микроорганизми (безбедност на храна) (Tajkarimi et al., 2010).

Растенијата од кои може да се екстрахираат етерични масла припаѓаат на разни родови распоредени во околу 60 семејства, како што се: *Alliaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae* и *Rutaceae* (Raut & Karuppayil, 2014).

Хемиски, растителните етерични масла главно претставуваат моно- и сесквитерпенски јаглеводороди и нивни оксигенирани деривати, заедно со алифатични алдехиди, алкохоли и естри. Исто така, од голема корист е да се нагласи дека хемискиот профил на етеричното масло е тесно поврзан со употребената постапка за негова екстракција и затоа изборот на соодветен метод за екстракција е многу важен. Според карактеристиките на секој растителен материјал, може да се применат некои специфични техники за екстракција, како што се: дестилацијата со пареа, екстракцијата со растворувач, екстракцијата според Soxhlet, хидродестилацијата со микробранова печка, микроекстракцијата со цврста фаза и директната термичка десорпција (Baser & Buchbauer, 2010).

2.3.1. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек

Босилекот (*Ocimum basilicum* L.) припаѓа на фамилија *Lamiaceae*. Тоа е едногодишно мирисно, тревно растение со разгрането стебло, кое расте во висина од 30 до 40 cm во неколку региони во светот. Листовите се овални и на крајот зашипени на долги стебленца. Во горниот дел од стеблото се наоѓаат мали, бели, двеуснати цветови. Босилекот е главната есенцијална маслена култура меѓу повеќе од 65 видови на родот *Ocimum*, која комерцијално се одгледува во многу земји (Sajjadi, 2006).

Ова растение, во голема мера се користи за да им даде карактеристична арома и вкус на некои видови храна, како што се салатите, пиците, месото и супите (Viuda-Martos et al., 2011). Во прехранбената индустрија, есенцијално масло од босилек се користи како аромат за кондиторски производи, безалкохолни пијалаци, сладоледи и зачини, а се користи и во козметичката индустрија (Hanif et al., 2017).

Етеричното масло од босилек има изразено антиоксидантно, антимикробно, антихипертензивно, антиканцерогено и антиинфламаторно дејство (Arranz et al., 2015). Неговиот хемиски состав се разликува зависно од сезоната во годината. Главно, овие етерични масла содржат монотерпени со кислород (60,7 - 68,9 %), сесквитерпенски јаглеводороди (16,0 - 24,3 %) и оксигенирани сесквитерпени (12,0 - 14,4 %). Hussain et al. (2008) детектирале околу 29 соединенија кои претставуваат 98,0 - 99,7 % од составот на маслото. Линалолот бил најзастапен (56,7 - 60,6 %), потоа следат епи- α -кадинолот (8,6 - 1,4 %), α -бергамотенот (7,4 - 9,2 %), γ -кадининот (3,3 - 5,4 %), гермакренот D (1,1 - 3,3 %) и камфорот (1,1 - 3,1 %). Покрај овие соединенија, како составни и важни компоненти на етеричното масло од босилек се јавуваат уште и: метилхавикол, метилкинанат, линолен, еугенол, камфор, цис-гераниол, 1,8-цинеол, α -бергамотен, β -кариофилен, гермакрен D, γ -кадинин, епи- α -кадинол и виридифлорол (Hussain et al., 2008, Opalchenovaa & Obreshkova, 2003).

Антимикробните својства на етеричното масло од босилек се должат на неговите составни компоненти, а пред сè на естраголот и линалолот (Elansary et al., 2016; Mith et al., 2016; Avetisyan et al., 2017; Hanif et al., 2017). Lachowicz et al., (1998) утврдиле дека суровото етерично масло од босилек е поефикасно од поединечниот ефект на составните компоненти линалол и метилкавикол, без разлика дали делуваат одделно или заедно.

Kalily et al. (2016) утврдиле дека линалолот ја перфорира мембраната на бактериските клетки, што резултира со зголемување на нејзината пропустливост. Тоа доведува до напуштање на виталните молекули од бактериската клетка. Линалолот, исто така, ја инхибира клеточната подвижност и предизвикува агрегација на бактериските клетки.

Резултатите од истражувањето на Zlotek et al. (2016), укажуваат на тоа дека со отстранување на јазмонската киселина (JA) може да се зголеми приносот на маслото во босилек и да се влијае врз хемискиот состав на етеричните масла. Бидејќи есенцијалните масла од босилекот со отстранета JA (особено JA2 и JA3) покажале поефикасен антиоксидативен и антиинфламаторски ефект, користењето на овие масла во производството на храна може позитивно да влијае врз нејзиниот квалитет и врз зачувувањето на здравјето на консументите.

Во литературата постојат многу истражувања во кои се испитувале антифунгалните, антибактериските и антиоксидантните способности на есенцијалните масла од растенијата од родот *Ocimum*, вклучувајќи го и босилекот. Во тие истражувања постојат многу разлики кои се однесуваат на методологиите за проценка на антимикробните својства, хербалниот и хемискиот состав, како и на географскиот регион. Ова го отежнува, па дури го прави и невозможно споредувањето на добиените резултати од тие истражувања.

Според добиените резултати од истражувањата на Moghaddam et al. (2011), есенцијалното масло од босилек покажало подобар ефект врз грам-негативните, отколку врз грам-позитивните бактерии. Маслото од босилек покажало голем ефект врз *Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, *Candida albicans* и *Aspergillus niger*, но не и врз *Pseudomonas putida* и *Pseudomonas aeruginosa* (Srivastava et al., 2014).

Во повеќе истражувања било утврдено дека етеричното масло од босилек има голем антимикробен ефект врз повеќе бактериски видови, како што се: *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Vibrio* spp. и *Aerobacter hydrophila*. Истовремено, било утврдено и дека етеричното масло од босилек има инхибиторен ефект врз некои видови габи: *Aspergillus sochraceus*, *Aspergillus niger* и *Candida albicans* (Koga et al., 1999; Opalchenovaa & Obreshkova, 2003; Hussain et al., 2008; Shirazi et al., 2014).

Ouibrahim et al. (2013) ги истражувале бактериостатскиот ефект на етеричното масло од босилек врз 20 грам-позитивни и грам-негативни бактериски соја. При тоа, тие утврдиле дека етеричното масло од босилек нема антимикробен ефект врз *Brochotrix thermosphacta*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactococcus lactis* и *Lactobacillus plantarum*, додека видовите *Vibrio* spp. покажале висока осетливост.

Во истражувањата на Elgayyar et al. (2001) било утврдено дека етеричното масло од босилек целосно го инхибира растот на *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* и габите *Aspergillus niger* и *Rhodotorula*, има силен антимикробен ефект спрема *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* и *Geothrichum candidum*, и не толку силен ефект спрема *Listeria monocytogenes* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Lachowicz et al. (1998), утврдиле дека етеричните масла од пет различни варијетети на босилек имаат слаба антимикробна активност врз три грам позитивни бактерии (*Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus*) и некои грам негативни бактерии (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*), квасци (*Rhodotorula*) и мувли.

Според Meena & Seethi (1994), етеричното масло од босилек има умерен антимикробен ефект врз *Aspergillus niger* и *Lactobacillus acidophilus*. И Ela et al. (1996), утврдиле дека етеричното масло од босилек има антибактериски и антифунгален ефект врз *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Aspergillus niger*.

За ефектот на етеричното масло од босилек врз бактериите од родот *Salmonella*, исто така, постојат литературни податоци. Така, според Fyfe et al. (1998), маслото од босилек во удел од 0,2 % претставува моќен инхибитор врз *Salmonella enteritidis*, но и врз *Listeria monocytogenes*. Маслата од нане и босилек во удели од 0,08% mL/L имале негативен ефект врз опстанокот на *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*, инокуирани во сурова сечкана салата, како и за време на нејзиното складирање во фрижидер (Karagözlü et al., 2011).

Босилекот ретко бил евидентиран како извор на епидемии на болести предизвикани од храна. Во 2007 година била регистрирана појава на заболување од босилек контаминиран со *Salmonella* Senftenberg. Kisluk et al., (2013) истражувајќи ја можноста *Salmonella* Senftenberg да развие отпорност на масло од босилек, утврдиле дека таа може да преживее на растението босилек најмалку 100 дена. Во споредба со *Salmonella typhimurium*, *Salmonella* Senftenberg била во можност да се расте во

складирани собрани листови од босилек. *Salmonella* Senftenberg е поотпорна на масло од босилек, линалол, естрагол и еугенол отколку *Salmonella typhimurium*. Ова може да укаже на фактот дека *Salmonella* Senftenberg се приспособила на животната средина со босилек преку развивање на отпорност спрема масло од босилек.

Истите автори ја испитувале отпорноста на *Salmonella* Senftenberg на линалол. Механизмите на отпорност на бактеријата вклучувале селективна пропустливост, регулиран ефлукс/прилив и подвижност контролирана со хемотакса. Оваа адаптација и отпорност на *Salmonella* Senftenberg спрема линалолот поттикнува размислувања за можна адаптација на патогени бактерии кон растенијата што произведуваат антимикробни соединенија Kalily et al. (2016).

2.3.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимџан

Тимџанот (*Thymus vulgaris* L.) е најчест вид на родот *Thymus*, кој припаѓа на фамилијата *Lamiaceae* (Elshafie & Camele, 2017). Етеричното масло од тимџан поседува антиоксидантни и антибактериски својства.

Антикروبната активност на етеричното масло од тимџан најчесто се припишува на тимолот, кој е застапен во удел од 45% (Bagamboula et al., 2003). Маслото од тимџан може да содржи големи количини на карвакрол, кој е застапен во удели од 33% во листовите, до 61% во стеблото. Уделите на тимол и карвакрол во етеричното масло од тимџан зависат од географската локација, времето на берба или методот на екстракција на маслото (Ultee et al., 2002; Belaqziz et al., 2013). Освен тимол и карвакрол, етеричното масло од тимџан, содржи и р-цимен, линалол, γ -терпинен и 1,8-цинеол (Vardar-Unlu et al., 2003).

Во своите истражувања Bounatirou et al. (2007), го испитувале хемискиот состав, антиоксидантните и антибактериските својства на етеричното масло од *Thymus capitatus* Hoff. et Link. Маслото го екстрахирале со хидродестилација на неговите надземни делови во текот на различните фази од развојот на растенијата кои биле собирани од различни локации. При тоа, овие автори утврдиле дека антибактериската активност на етеричното масло од тимџан била поголема во однос на синтетските антибиотици, особено на маслото добиено од растенија во цветање или по прецветување. Локацијата не покажала разлика во антимикробните и антиоксидантните својства на етеричното масло од *Thymus capitatus* Hoff. et Link.

Сепак, етеричните масла добиени од *Thymus pallescent*, собрани од различни локации, покажувале различни антимикробни ефекти (Hazzit et al., 2009).

Toroglu (2007) утврдил поголема антимикробна активност на етеричното масло од *Thymus eigi* во споредба со некои антибиотици, како што се ванкомицинот и еритромицинот.

Етеричното масло од тимџан или негова комбинација со други масла како на пример оригано, покажале голем антимикробен ефект спрема *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* O157:H7 и *Listeria monocytogenes* (Naidu, 2000; Tolonen et al., 2004; Almajano et al., 2008; Graumann & Holley, 2008; Gutierrez et al., 2008). Слични резултати добил и Evrendilek (2015), кој утврдил дека комбинацијата на етерични масла од оригано и тимџан има голем антимикробен ефект врз грам-позитивни и грам-негативни бактерии. Освен тоа, оваа комбинација покажала поголем антиоксидантивен капацитет и поголема содржина на фенолни соединенија. Додавањето на различни суб-летални удели на етерични масла од тимџан и оригано, како и на некои од нивните составни компоненти, како што се на пример карвакрол, тимол, транс-2-хексенал и цитрал, за време на раст на *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* доведува до појава на забележителни модификации на мембраната на бактериските клетки (Siroli et al., 2015). Сепак, етеричните масла од оригано и тимџан се поефикасни кога се применуваат поединечно отколку во комбинација (Gutierrez et al., 2008). Наспроти ова сознание, Thanissery & Smith (2014b) утврдиле дека комбинацијата на етеричните масла од тимџан и портокал го спречува растот на *Salmonella* spp и *Campylobacter* spp кога се употребуваат во удели од 0,5 %.

Во лабораториски услови, етеричното масло од тимџан показало одлична антибактериска активност спрема *Escherichia coli* и *Salmonella* spp. (Bosković et al., 2015). Sabulal et al. (2008) утврдиле антимикробен ефект на етеричните масла екстрахирани од *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* subsp. *gracilis* и *Thymus hyemalis* L. спрема 10 патогени микробни вида. Во истражувањата на Singh et al. (2003) било утврдено дека покрај некои други етерични масла, како што е на пример маслото од каранфилче, и етеричното масло од тимџан, ја намалува популацијата на *Listeria monocytogenes* во раствор на пептон.

Едно од петте етерични масла (етерични масла од шпанско оригано, оригано, цимет и лист на цимет) кои биле вклучени во испитувањата било маслото од

тимијан, со неговите составни компоненти тимол и карвакрол, при што бил утврден добар антимикробен ефект спрема *Salmonella enteritidis* RM1309, *Escherichia coli* и *Listeria monocytogenes* (Friedman et al., 2002).

Friedman et al. (2004) го истражувале антимикробниот ефект на 17 растителни етерични масла и девет составни компоненти на маслата спрема патогените соеви *Escherichia coli* O157:H7 и *Salmonella enteritidis* во сок од јаболка. Две од испитуваните составни компоненти на етеричните масла биле карвакрол и линалол, при што бил утврден поголем антимикробен ефект спрема *Salmonella enteritidis* отколку спрема *Escherichia coli*. Хидрозолот на тимијан покажал најголем антибактериски ефект врз *Salmonella typhimurium* и *Escherichia coli* O157:H7 што биле инокулирани во моркови и јаболка во однос на хидрозолите на црниот кимин, рузмаринот и лаворовиот лист (Tornuk et al., 2011).

Mazzarrino et al. (2015) го испитувале антимикробниот ефект на 21 етерично масло спрема 10 соја на *Salmonella enteritidis* и *Listeria monocytogenes*. При тоа, најголем антибактериски ефект имале етеричните масла од оригано, цимет, каранфилче и црвен тимијан.

Етеричните масла се многу ефикасни во инхибицијата на микроорганизмите и кога се во гасовита состојба. Затоа, ова може да се искористат за контрола на патогените бактериски во храната, како што се *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* и *Staphylococcus aureus*. Овој ефект го испитувале Nedorostova et al. (2009), при што утврдиле дека покрај останатите испитувани етерични масла, добар антибактериски ефект имале маслата од *Thymus vulgaris*, *Thymus pulegioides*, *Thymus serpyllum* и *Ocimum basilicum* var. *grant verte*. Постојат литературни податоци кои се однесуваат на додавањето на етерично масло од тимијан во некои видови храна или суровини за производство на храна, а во контекст на спречување микробна контаминација. Придонесите на овие истражувања одат во два правца: продолжување на рокот на траење на прехранбените производи, заради намален ризик за нивно расипување и второ, што е поважно, минимизирање на ризикот од присуство на патогени микроорганизми во финалните производи.

Emiroğlu et al. (2010) додавале етерични масла од тимијан и оригано за зголемување на антимикробната активност спрема *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp. и колиформни бактерии во говедско пате при складирање во

ладилник, на температура на одржување. Со цел да се зачува квалитетот и рокот на траење на свеж филетиран бранцин за време на складирање за период од 21 ден во ладилник, на температура на одржување, Kostaki et al., (2009) опишале постапка за употреба на масло од тимџан во комбинација со мешавина на CO₂, N₂ и O₂ во два различни соодноса: 40 % CO₂/ 50% N₂/10 % O₂ и 60 % CO₂/ 30% N₂/10 % O₂.

Jema et al. (2017) го испитувале антимикробниот ефект на есенцијалното масло од *Thymus capitatus* и на нејзина наноемулзија врз квалитетот на млекото инокулирано со *Staphylococcus aureus*. Утврден бил речиси двојно подобар антимикробен ефект при третман на млекото со наноемулзија во однос на есенцијалното масло. И Landry et al. (2015) го испитувале антимикробниот ефект на третман со наноемулзија, но за разлика од претходните автори, овие автори во истражувањето користеле наноемулзија на карвакрол. При тоа, бил добиен добар антимикробен ефект спрема *Salmonella enteritidis* (ATCC BAA-1045) и *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 42895) кои биле инокулирани во семиња од ротквицка во фаза на 'ртење.

Thanissery & Smith (2014a) утврдиле дека етеричните масла од тимџан и портокал биле ефикасни во намалувањето на растот на *Salmonella enteritidis* и *Campylobacter coli* кои биле инокулирани во филети од бројлери и во нивни крилца.

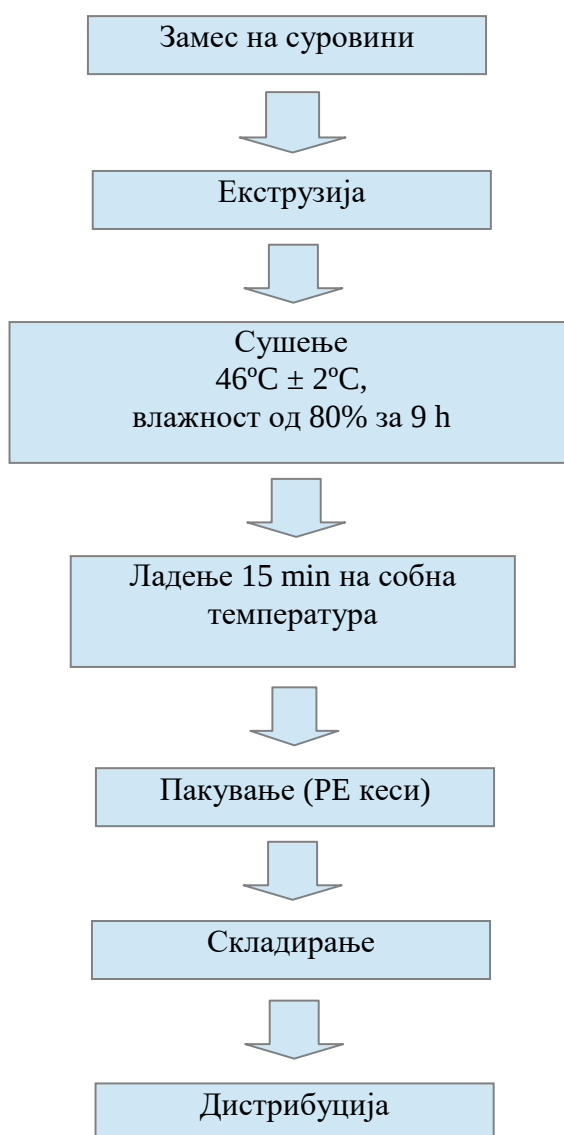
Додавањето на етеричното масло од тимџан во удел од 0,1 % во сечкано јагнешко месо пакувано во модифицирана атмосфера довело до значително продолжување на рокот на траење (Karabagias et al., 2011).

Во истражувањата Del Nobile et al. (2009) бил испитуван антимикробниот ефект на тимолот, етеричното масло од лимон и хитозан додадени во домашни свежи тестенини. Тетстенините биле инокулирани со мезофилни и психотрофни бактерии, колиформни бактерии и *Staphylococcus* spp. Од добиените резултати, било заклучено дека хитозанот имал најдобар ефект во забавувањето на растот на инкулираните микроорганизми.

Забележлива осетливост спрема патогени бактерии и бактерии кои може да бидат присутни во процесот на производство на храна била утврдена кога истите биле изложени на дејство на тимол и карвакрол, два монотерпенски фенола произведени од разни ароматични растенија, меѓу кои и тимџанот. Особено изразен антибактериски ефект покажал тимолот во однос на поголемиот дел од тестираните бактерии во споредба со карвакролот (Miladi et al., 2016).

3. КРАТОК ОПИС НА ТЕХНОЛОГИЈАТА НА ПРОИЗВОДСТВО НА ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА ВО ИНДУСТРИСКИ УСЛОВИ

Тестенините со јајца во индустриското производство се подготвуваат од следниве сировини: пченичен гриз и пченично брашно, свежи јајца или јајца во прав, β -каротен и вода. Индустрискиот технолошки процес на производство на тестенините со јајца е прикажан во дијаграмот на слика 1.



Слика 1. Шематски приказ на индустриското производство тестенини со јајца

Замесот на тестенините со јајца се приготвува од 10 kg меркапилен пченичен гриз, 2 kg пченично брашно Т-400, 24 свежи јајца и 0,1 kg јајца во прав, 3,2 до 3,4 L вода/kg брашно и 0,010 kg бета-каротен. Замесеното тесто, потоа се пренесува во екструдер каде што се обликуваат тестенините. Во екструдерот, смесата се обликува во две форми: во форма на шупливи цилиндри со должина 4 cm и дебелина на сидот од 1 mm и во правоаголна форма со должина од 5 cm и ширина од 0,7 mm. По екструдирање, обликуваните тестенини се ставаат во правоаголни кутии кои се редат на сита, мрежа со правоаголни рамки. Така спремените тестенини, наредени на сита, потоа се сушат во сушница на температура од 46°C и релативна влажност на воздухот од 80 % за време од 8 до 10 h за тестенините во форма на цилиндар и за време од 8 до 9 h за тестенините во форма правоаголник. Штелувањето на технолошките параметри на сушницата (температура, влажност, време) се врши преку контролна табла. По сушењето, тестенините се ладат на собна температура за време од 15 min. Оладените тестенини, со релативна влажност од 13 %, се пакуваат во полиетиленски ќеси, со соодветна пропишана декларација, секоја во количество од по 0,5 kg.

4. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Главна цел на истражувањето во овој труд беше да се одреди антимикробниот ефект на различни удели на етерични масла од босилек и тимиян врз растот и размножувањето два соја на бактерии од родот *Salmonella*: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - референтен сој и *Salmonella enteritidis* (група D) - епидемски сој, инокуирани во тестенини со јајца, во услови на симулиран индустриски процес на производство и во суровините за производство на тестенини, брашно и јајца, во лабораториски услови.

Подетално, целите на истражувањето беа:

- да се утврди антимикробниот ефект на различни удели на етерично масло од босилек врз *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - референтен сој и *Salmonella enteritidis* (група D) - епидемски сој во сите фази на производство на тестенини со јајца во услови на симулиран индустриски процес на производство,
- да се утврди антимикробниот ефект на различни удели на етерично масло од тимиян врз *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - референтен сој и *Salmonella enteritidis* (група D) - епидемски сој во сите фази на производство на тестенини со јајца во услови на симулиран индустриски процес на производство,
- да се утврди антимикробниот ефект на различни удели на етерично масло од босилек врз *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - референтен сој и *Salmonella enteritidis* (група D) - епидемски сој инокуирани во брашно и во јајца во лабораториски услови и
- да се утврди антимикробниот ефект на различни удели на етерично масло од тимиян врз *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - референтен сој и *Salmonella enteritidis* (група D) - епидемски сој инокуирани во брашно и во јајца во лабораториски услови.

5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

5.1. МЕТОДОЛОГИЈА ЗА УТВРДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИОТ ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ *SALMONELLA* *ENTERITIDIS* ВО УСЛОВИ НА СИМУЛИРАН ТЕХНОЛОШКИ ПРОЦЕС НА ПРОИЗВОДСТВО НА ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА

Првата фаза на истражувањето ги опфати испитувањата направени во услови на симулација на технолошкиот процес на индустриско производство на тестенини со јајца во лабораториски услови. Симулацијата на процесот производство на тестетнини со јајца во лабораториски услови ги опфати сите фази кои се применуваат во индустриското производство, и тоа:

- **замесување** - замесувањето на суровините се вршеше во порцелански сад со мешалка;
- **обликување на тестенините** - за обликување (екструдирање) на тестенините се користеше машина за развлекување и сечење на тестото „Tropez Posajt“;
- **сушење на свежите тестенини** -тестенините се сушеа во лабораториска сушница, раширени во еден тенок слој, на 46 °C, за време од 9 h;
- **ладење на исушените тестенини** - по сушењето, тестенините се ладеа на собна температура за време од 15 min;
- **пакување на тестенините** (финалниот производ) – пакувањето на тестенините се вршеше во полиетиленски ќеси, кои беа лепени со апарат за лепење (заварување) на ќеси „Горење“ и
- **чување и дистрибуција на тестенините.**

Пред почеток на симулираниот технолошки процес на производство на тестенини со јајца, во замесот се вршеше инокулација на два соја *Salmonella*: *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis* (D) ATCC 13076 (MicroBioLogics, Ins. Joins ATCC Proficiency Standard Program, Minesota, USA) -

референтен сој (во понатамошниот текст *S. enteritidis* RS) и *Salmonella enteritidis* (група D) – епидемски сој (во понатамошниот текст *S. enteritidis* ES).

Процедурата за инокулација на двата бактериски соја беше следна:

Во колба со волумен 300 mL беше одмерувано по 25 g мостра од замесот за секоја одделна фаза на симулираниот произведен процес: за секој контролен примерок и за секој примерок во кој беа додавани различни удели на етерични масла (во понатамошниот текст ЕМ) од босилек и тимиян (Табела 1) и по 0,1 mL суспензија на секој од бактериските соеви на *Salmonella enteritidis* (референтен и епидемски сој), со почетна концентрација од 10^9 CFU/mL.

Табела 1. Испитувани контролни и целни примероци за секоја одделна фаза (замесување, обликување на тестенините, сушење, ладење, пакување, чување и дистрибуција) во услови на симулиран технолошки процес на производство на тестенини со јајца

1.	КОНТРОЛНИ ПРИМЕРОЦИ
1.1.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> RS без додаток на етерично масло
1.2.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> ES без додаток на етерично масло
2.	ЦЕЛНИ ПРИМЕРОЦИ ПРИПРЕМАНИ ОД ЗАМЕСОТ ЗА СЕКОЈА ФАЗА ОДДЕЛНО СО ДОДАТОК НА РАЗЛИЧНИ УДЕЛИ НА ЕМ ОД БОСИЛЕК
2.1.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> RS со додаток на ЕМ од босилек во удел од 1
2.2.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> RS со додаток на ЕМ од босилек во удел од 2,5%
2.3.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> RS со додаток на ЕМ од босилек во удел од 5%
2.4.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> ES со додаток на ЕМ од босилек во удел од 1%
2.5.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> ES со додаток на ЕМ од босилек во удел од 2,5%
2.6.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> ES со додаток на ЕМ од босилек во удел од 5%
3.	ЦЕЛНИ ПРИМЕРОЦИ ПРИПРЕМАНИ ОД ЗАМЕСОТ ЗА СЕКОЈА ФАЗА ОДДЕЛНО СО ДОДАТОК НА РАЗЛИЧНИ УДЕЛИ НА ЕМ ОД ТИМИЈАН
3.1.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> RS со додаток на ЕМ од тимиян во удел од 1%
3.2.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> RS со додаток на ЕМ од тимиян во удел од 2,5%
3.3.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> RS со додаток на ЕМ од тимиян во удел од 5%
3.4.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> ES со додаток на ЕМ од бос тимиян илек во удел од 1%
3.5.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> ES со додаток на ЕМ од тимиян во удел од 2,5%
3.6.	Замес (25 g) + <i>S. enteritidis</i> ES со додаток на ЕМ од тимиян во удел од 5%

Во секоја мостра беа додавани по 225 mL бујонот селенит Ф (Торлак, Белград, Република Србија), за збогатување на растот на салмонелите. Вака подготвените примероци се хомогенизираа со тресење (вибрирање), по што се инкубираа во инкубатор, 24 h на температура од 37 °C.

По инкубацијата, односно збогатувањето на културите, подлогите добро се протресуваа. Од нив, по една микробиолошка еза се засејуваше на површина од SS-агар (Торлак, Белград, Србија). Вака засеаните подлоги се инкубираа во инкубатор, 24 h на температура од 37 °C. Броењето на израснатите колонии се вршеше со бројач на колонии. За секоја од фазите на симулираниот процес, микробиолошките испитувања беа направени во серија од по три повторувања. Заради спречување на контаминација со микроорганизми од околината, сите примероци беа земани под асептични услови.

Според оваа процедура, во сите испитани примероци по фази на симулираниот технолошки процес на производство на тестенини со јајца, одредени се следниве параметри:

- бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во контролните примероци, примероци од одделните фази на производство на тестенините без додавање на етерични масла од босилек и тимиајан,
- бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во контролните примероци, примероци од одделните фази на производство на тестенините без додавање на етерични масла од босилек и тимиајан,
- бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци, примероци со различни удели на етерично масло од босилек, во сите фази на производниот процес,
- бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци, примероци со различни удели на етерично масло од тимиајан, во сите фази на производниот процес,
- бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци, примероци со различни удели на етерично масло од босилек во сите фази на производниот процес и
- бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци, примероци со различни удели на етерично масло од тимиајан во сите фази на производниот процес.

Микробиолошките испитувања во оваа фаза на истражувањето беа направени во микробиолошката лабораторија при Институтот за јавно здравје во Лесковац, Србија.

5.2. МЕТОДОЛОГИЈА ЗА УТВРДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИОТ ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ *SALMONELLA* *ENTERITIDIS* ВО СУРОВИНИ ЗА ПРОИЗВОДСТВО НА ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА ВО ЛАБОРАТОРИСКИ УСЛОВИ

Втората фаза од истражувањето имаше за цел да го утврди антимикробниот ефект на различните удели на етеричните масла (босилек и тимиајан) врз растот и размножувањето на истите два соја на *Salmonella*, како и во првата фаза на истражувањето (*S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES) во лабораториски услови, инокулирани во замес од брашно и во јајце од кокошка, кои се користат како сировини за приготвување на тестото за изработка на тестенините со јајца (како во фаза 1 од истражувањето).

Примероците за испитување се подготвуваа на следниов начин:

- раствори од етерични масла (босилек и тимиајан) во физиолошки раствор до удели од 1 %, 2,5 % и 5 % (основен раствор), како и физиолошки раствор без етерични масла, беа инокулирани со по еден од бактериските соеви (*S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES);
- смеса од брашно „замесено“ со основните раствори на етерични масла од босилек и тимиајан (во наведените удели) и со физиолошки раствор без етерични масла, кои се инокулирани со испитуваните бактериските соеви (*S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES) и
- смеса од јајце претходно хомогенизирано со физиолошки раствор и додадени основни раствори на етеричните масла (босилек и тимиајан, во наведените удели) и со физиолошки раствор без етерични масла, кои се инокулирани со испитуваните бактериските соеви (*S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES).

За споредување на растот на бактериите се користени два вида примероци:

- **контролни примероци** - мостри инокулирани со секој од испитуваните бактериски соеви, и тоа: во физиолошки раствор и во основните раствори на

етерични масла (босилек и тимиајан), во брашно и во јајца без основни раствори на етерични масла (босилек и тимиајан) и

- **целни примероци** - мостри од брашно и од јајца со основни раствори од етерични масла од тимиајан и босилек.

Од сите примероци (целни и контролни) беа приготвувани по две мостри: едната мостра беше експонирана на температура од 46 °C (температура на сушење на тестенините заради контрола на влијанието на температурата во процесот на сушење на тестенините, за време од 9 часа), а другата мостра беше контрола на влијанието на температурата на инкубација (37 °C) во лабораториски услови. По периодот на експонирање на примероците во инкубатор, беше одредуван бројот на бактериски клетки.

Примероците беа подготвени според следнава шема:

1. КОНТРОЛНИ ПРИМЕРОЦИ - со одделно инокулирани *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES (табела 2)
 - 1.1. FR со бактерии (без додаток на ЕМ)
 - 1.2. Основен раствор на ЕМ од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 % со бактерии
 - 1.3. Основен раствор на ЕМ од тимиајан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 % со бактерии
 - 1.4. Брашно во FR со бактерии без додаток на ЕМ
 - 1.5. Јајца во FR со бактерии без додаток на ЕМ
2. ЦЕЛНИ ПРИМЕРОЦИ – БРАШНО - брашно во количество од 9 g „замесено“ во 5 mL физиолошки раствор со одделно инокулирани *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES (табела 3)
 - 2.1. Брашно во FR со бактерии (без додаток на основен раствор од ЕМ)
 - 2.2. Брашно замесено со основен раствор на ЕМ од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 % со бактерии
 - 2.3. Брашно замесено со основен раствор на ЕМ од тимиајан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 % со бактерии
3. ЦЕЛНИ ПРИМЕРОЦИ - ЈАЈЦА - 1 јајце хомогенизирано со 130 mL физиолошки раствор, по 1/2 инокулирани со *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES (табела 4)

- 3.1. Јајце хомогенизирано во FR со бактерии (без додаток на основен раствор од ЕМ)
- 3.2. Јајце со основен раствор на ЕМ од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 % со бактерии
- 3.3. Јајце со основен раствор на ЕМ од тимџан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 % со бактерии

Табела 2. Комбинации на испитувани контролни примероци опфатени во втората фаза на истражување

1.	КОНТРОЛНИ ПРИМЕРОЦИ
1.1.	Контрола на бактерии во FR (без додаток на основен раствор од ЕМ)
1.1.1.	Контрола на бактерии во FR (без додаток на основен раствор од ЕМ) експонирана на 37°C
1.1.2.	Контрола на бактерии во FR (без додаток на основен раствор од ЕМ) експонирана на 46°C
1.2.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од босилек
1.2.1	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 1% експонирана на 37°C
1.2.2.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 1% експонирана на 46°C
1.2.3.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 2,5% експонирана на 37°C
1.2.4.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 2,5% експонирана на 46°C
1.2.5.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 5% експонирана на 37°C
1.2.6.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 5% експонирана на 46°C
1.3.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од тимџан
1.3.1	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 1% експонирана на 37°C
1.3.2.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 1% експонирана на 46°C
1.3.3.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 2,5% експонирана на 37°C
1.3.4.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 2,5% експонирана на 46°C
1.3.5.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 5% експонирана на 37°C
1.3.6.	Контрола на бактерии во основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 5% експонирана на 46°C
1.4.	Брашно во FR со бактерии без додаток на ЕМ
1.4.1.	Брашно во FR со бактерии без додаток на ЕМ експонирани на 37°C
1.4.2.	Брашно во FR со бактерии без додаток на ЕМ експонирани на 46°C
1.5.	Јајца во FR со бактерии без додаток на ЕМ
1.5.1	Јајца во FR со бактерии без додаток на ЕМ експонирани на 37°C
1.5.2.	Јајца во FR со бактерии без додаток на ЕМ експонирани на 46°C

Табела 3. Комбинации на испитувани целни примероци со брашно опфатени во втората фаза на истражување

2.	ЦЕЛНИ ПРИМЕРОЦИ - БРАШНО
2.1.	Брашно со основен раствор од ЕМ од босилек со бактерии
2.1.1.	Брашно со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 1% со бактерии експонирана на 37°C
2.1.2.	Брашно со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 1% со бактерии експонирана на 46°C
2.1.3.	Брашно со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 2.5% со бактерии експонирана на 37°C
2.1.4.	Брашно со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 2.5% со бактерии експонирана на 46°C
2.1.5.	Брашно со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 5% со бактерии експонирана на 37°C
2.1.6.	Брашно со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 5% со бактерии експонирана на 46°C
2.2.	Брашно во FR со бактерии со додаток на ЕМ од тимџан
2.2.1.	Брашно со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 1% со бактерии експонирана на 37°C
2.2.2.	Брашно со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 1% со бактерии експонирана на 46°C
2.2.3.	Брашно со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 2.5% со бактерии експонирана на 37°C
2.2.4.	Брашно со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 2.5% со бактерии експонирана на 46°C
2.2.5.	Брашно со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 5% со бактерии експонирана на 37°C
2.2.6.	Брашно со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 5% со бактерии експонирана на 46°C

Табела 4. Комбинации на испитувани целни примероци со јајца од кокошка опфатени во втората фаза на истражување

3.	ЦЕЛНИ ПРИМЕРОЦИ - ЈАЈЦА
3.1.	Јајца со основен раствор од ЕМ од босилек
3.1.1.	Јајца со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 1% со бактерии експонирана на 37°C
3.1.2.	Јајца со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 1% со бактерии експонирана на 46°C
3.1.3.	Јајца со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 2.5% со бактерии експонирана на 37°C
3.1.4.	Јајца со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 2.5% со бактерии експонирана на 46°C
3.1.5.	Јајца со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 5% со бактерии експонирана на 37°C
3.1.6.	Јајца со основен раствор од ЕМ од босилек во удел од 5% со бактерии експонирана на 46°C
3.2.	Јајца со основен раствор од ЕМ од тимџан
3.2.1.	Јајца со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 1% со бактерии експонирана на 37°C
3.2.2.	Јајца со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 1% со бактерии експонирана на 46°C
3.2.3.	Јајца со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 2.5% со бактерии експонирана на 37°C
3.2.4.	Јајца со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 2.5% со бактерии експонирана на 46°C
3.2.5.	Јајца со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 5% со бактерии експонирана на 37°C
3.2.6.	Јајца со основен раствор од ЕМ од тимџан во удел од 5% со бактерии експонирана на 46°C

Постапката за изведување на експериментот беше следна:

- За секоја фаза од експериментот се подготвуваа свежи раствори на етерични масла од босилек и тимџан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %, кои се користени

како „основни раствори“ за инокулација со бактерии за „замесување“ на брашното и за хомогенизирање на јајцето;

- Со подготвена суспензија на бактериите *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES се инокулирани по 5 mL од основните раствори на етеричните масла (1 %, 2,5 % и 5 %), како и 5 mL физиолошки раствор (контрола), до финална концентрација на бактериските клетки од 10^9 CFU/mL. Се подготвуваа по две мостри од секоја смеса;
- Се подготвуваа смеси од брашно, и тоа: 9 g брашно и 5 mL од секој основен раствор на етеричните масла од различни удели (1 %, 2,5 % и 5 %), како и 9 g брашно и 5 mL од сите раствори инокулирани со бактериските соеви. Се подготвуваа по две мостри од секоја смеса;
- Се подготвуваа смеси од јајца од кокошка, и тоа: 5 mL разредено јајце (1 јајце со 130 mL физиолошки раствор), 5 mL од секој основен раствор на етеричните масла од различни удели (1 %, 2,5 % и 5 %), како и 5 mL разредено јајце и 5 mL од сите раствори инокулирани со бактериските соеви. Се подготвуваа по две мостри од секоја смеса.
- По хомогенизирање на мострите со брашно и со јајце, во секоја од нив беа додавани по 90 mL од бујонот селенит Ф, припремен според упатството на производителот, при што, целата содржина беше вортексирана до макроскопски видлива хомогеност;
- Една од мострите од сите примероци се експонираше на температура од 46 °C за време од 9 часа, а другата мостра на 37 °C;
- Од сите мостри се приготвуваа разредувања од 1:20 и 1:200 и од нив се пресадуваа по 0,1 mL на Милер Хинтонов агар, со посевка за броење на бактериски клетки (CFU). Петриевите плочи беа инкубирани на 37 °C за време од 18 часа (ISO 6579).

Секоја постапка со контролните и со целните примероци беше претходно валидирана во три независни последователни експерименти, со калкулирање на просечните вредности, кои беа употребени за статистичка обработка.

Како материјали и опрема за експериментот се користени:

- комерцијални екстракти на босилек и тимијан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 % на производителот Фитофарм, Скопје,
- брашно тип 500,
- јајца од кокошка,
- два соја *Salmonella*: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - референтен сој (*S. enteritidis* RS) и *Salmonella enteritidis* (група D) – епидемски сој (*S. enteritidis* ES),
- хранителни подлоги: Милер Хинтонов агар (Merck KGaA, Germany) и Selenit enrichment broth (селенит F бујон) (Merck KGaA, Germany),
- стерилен физиолошки раствор,
- инкубатор на 46 °C (Boxun B, Shanghai Boxun Industry and Commerce Co Ltd),
- вортекс (Fisher Bioblock Scientific),
- дензитометар (Vitek Denzychek, BioMerieux) и
- лабораториски садови и помагала (спрувети, колби, ези, петриеви плочи).

Вториот дел од истражувањата беше направен во Институтот за микробиологија при Медицинскиот факултет во состав на Универзитетот „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје.

5.3. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ДОБИЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ

Сите добиени податоци се статистички обработени со помош на статистички софтверски пакет, при што е користено:

- дескриптивна статистика за одредување на просечните вредности на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES изразен како Log_{10} ,
- општ линеарен модел, мултиваријантна постапка, со кој беше тестирана нултата хипотеза, односно статистички значајното влијание на независните (фактор) променливи и нивната интеракција врз средните вредности на различните групирања од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES изразен како Log_{10} ,
- Post-hoc Тукеј - тест за тестирање на разликите меѓу специфичните средни вредности на паровите во мултипната споредба за факторите вклучени во моделот,
- Пирсонов коефициент на корелација и
- ANOVA за да се утврди статистичката значајност на разликата во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES изразен како Log_{10} зависно од додадените удели на етеричните масла од босилек и тимијан.

6. РЕЗУЛТАТИ

6.1. АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВО ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА ВРЗ *SALMONELLA ENTERITIDIS* ВО УСЛОВИ НА СИМУЛИРАН ПРОЦЕС НА ПРОИЗВОДСТВО

6.1.1. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек во тестенини со јајца врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во услови на симулиран процес на производство

Просечните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS (Log_{10}) во примероци од одделните фази на производство на тестенини со јајца со различни удели на етеричното масло од босилек прикажани се во табела 5.

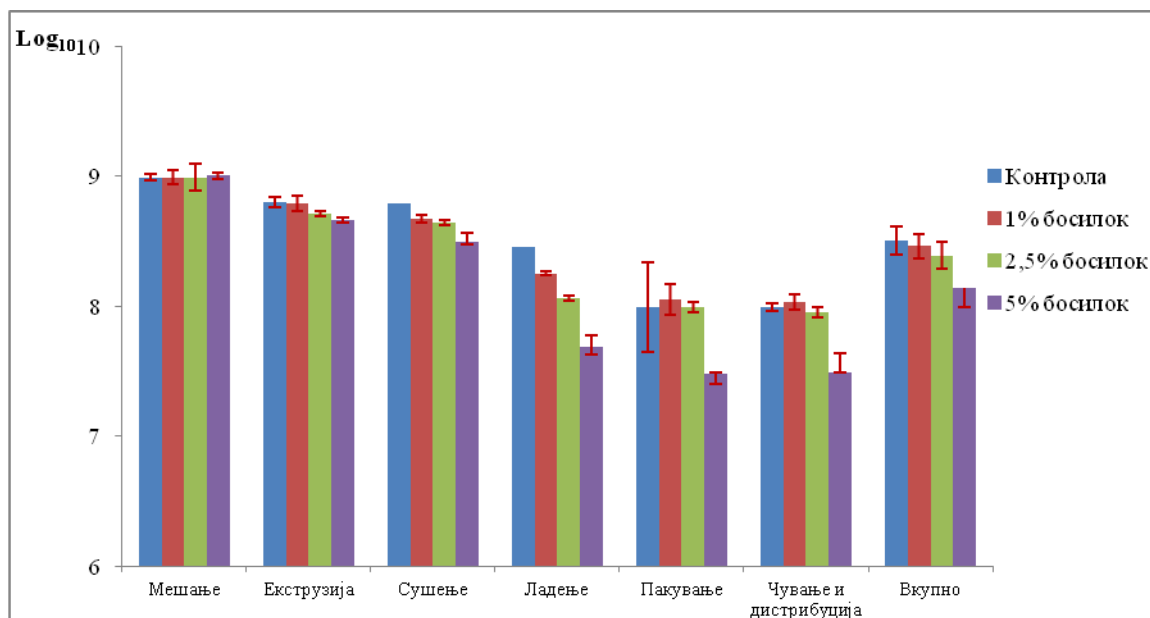
Табела 5. Динамика на *S. enteritidis* RS (Log_{10}) во различни фази на производство на тестенини со јајца со додавање етерично масло од босилек

Фаза на симулираниот процес на производство	n	Контрола ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	Удели на етеричното масло од босилек		
			1% ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	2,5% ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	5% ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)
Замесување	3	8,99±0,026	8,99±0,055	8,99±0,105	9,01±0,038
Екструзија	3	8,80±0,037	8,79±0,055	8,71±0,018	8,66±0,020
Сушење	3	8,79±0,003	8,67±0,031	8,64±0,017	8,49±0,016
Ладење	3	8,45±0,000	8,25±0,014	8,06±0,017	7,69±0,068
Пакување	3	7,99±0,347	8,05±0,115	7,99±0,041	7,48±0,081
Чување и дистрибуција	3	7,99±0,029	8,03±0,063	7,95±0,041	7,49±0,005
Технолошки процес	18	8,50±0,107	8,46±0,094	8,39±0,099	8,14±0,147

Според добиените резултати прикажани во табелата, на почетокот од технолошкиот процес, во фазата замесување, беше утврден најголем број бактериски клетки на *S. enteritidis* RS. Независно од уделот на додадено етерично масло од босилек во примероците и во контролата, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS изнесуваше од 8,99±0,026 Log_{10} до 9,01±0,038 Log_{10} . Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS постепено се намалува во испитуваните примероци во секоја следна фаза од процесот на производство, како кај контролните, така и кај целните примероци независно од додадениот удел на етерично масло од

босилек. Така, на крајот од технолошкиот процес, во последните две фази, пакување и чување и дистрибуција на финалниот производ, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS изнесуваше од $7,48 \pm 0,081 \text{ Log}_{10}$ во примероците со додаток на етерично масло од босилек во удел од 5 %, до $8,05 \pm 0,115 \text{ Log}_{10}$ за примероците со додаток на етерично масло од босилек во удел од 1 %. Освен тоа, во сите одделни фази на производство постои тренд на намалување на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS од контролниот примерок, без етерично масло од босилек, кон целниот примерок со додадено етерично масло од босилек во удел од 5 %. Ова намалување беше во фазата ладење на тестенините, кога почетниот број на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS се намали од $8,45 \text{ Log}_{10}$ на $7,69 \text{ Log}_{10}$, што претставуваше намалување за 8,99 %. Намалувањето на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS за целиот технолошки процес, при додавање на етерично масло од босилек изнесуваше 4,23 % (од $8,50 \text{ Log}_{10}$ на $8,14 \text{ Log}_{10}$).

Сликовито, динамиката на растот на *S. enteritidis* RS во целните примероци со додадено етерично масло од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %, како и во контролните примероци, инокулирани со овој сој на салмонела, во сите фази на симулираниот процес на производство на тестенините, прикажана е во графиконот 1.



Графикон 1. Динамика на растот на *S. enteritidis* RS во примероци со додадено етерично масло од босилек по фази на симулираниот процес на производство

Просечните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES (Log_{10}) во примероците од одделните фази на симулираниот процес на производство на тестенините со јајца, со додавање на различни удели на етерично масло од босилек прикажани се во табела 6.

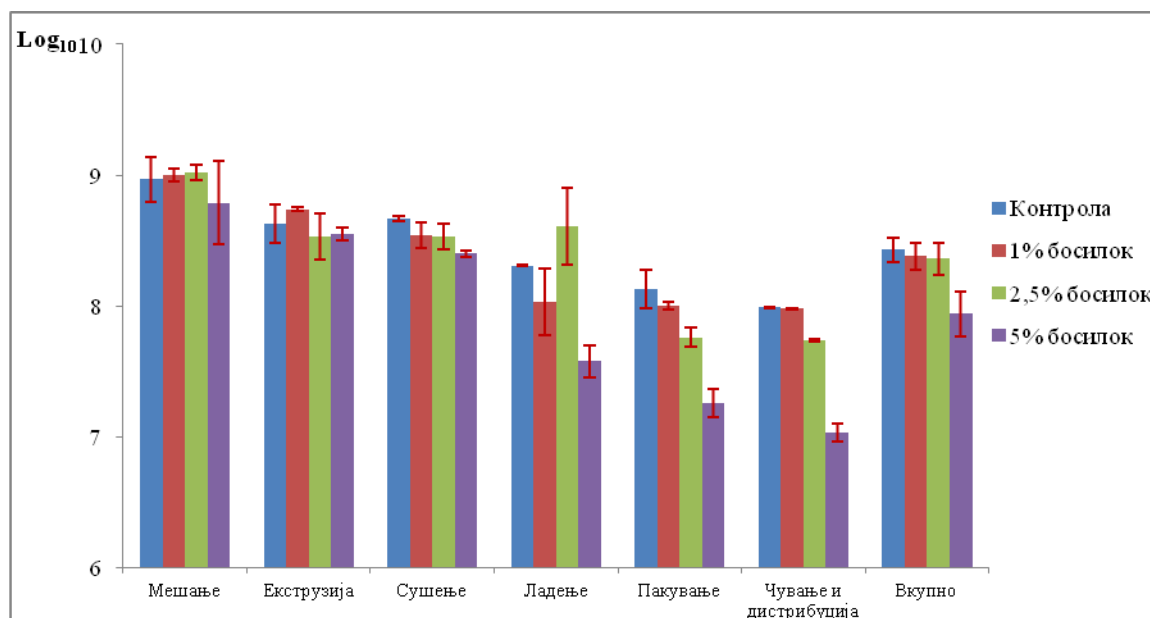
Табела 6. Динамика на *S. enteritidis* ES (Log_{10}) во различни фази на производство на тестенини со јајца со додавање етерично масло од босилек

Фаза на симулираниот процес на производство	n	Контрола ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	Удели на етерично масло од босилек		
			1% ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	2,5% ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	5% ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)
Замесување	3	8,97±0,173	9,00±0,051	9,02±0,061	8,79±0,319
Екструзија	3	8,63±0,149	8,74±0,015	8,53±0,173	8,55±0,052
Сушење	3	8,67±0,021	8,54±0,099	8,53±0,098	8,40±0,026
Ладење	3	8,31±0,006	8,03±0,254	8,61±0,293	7,58±0,122
Пакување	3	8,13±0,143	8,00±0,031	7,76±0,073	7,26±0,106
Чување и дистрибуција	3	7,99±0,005	7,98±0,003	7,74±0,012	7,03±0,067
Технолошки процес	18	8,43±0,093	8,38±0,104	8,36±0,124	7,94±0,170

Според прикажаните резултати, најголем број на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES беше утврден на почетокот на симулираниот процес на производство, фазата на замесување (8,79±0,319 Log_{10} до 9,02±0,061 Log_{10}) независно од уделот на додадено етерично масло од босилек во целните примероци, како и во контролниот примерок. Потоа, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES постепено се намалува во секоја наредна фаза од процесот на производство. Така, во последната фаза, чување и дистрибуција на финалниот производ, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES имаше најниски вредности и изнесуваа од 7,03±0,067 Log_{10} во примероците во кои беше додадено етерично масло од босилек во удел од 5 %, до 7,98±0,003 Log_{10} во примероците со етерично масло од босилек во удел од 1 %. Освен тоа, намалување на концентрацијата на *S. enteritidis* ES беше утврдено во секоја одделна фаза на симулираниот процес на производство од контролниот примерок во кој немаше додадено етерично масло од босилек, спрема примерокот со додадено етерично масло од босилек во удел од 5 %.

Сликовито, динамиката на растот на *S. enteritidis* ES во целните примероци со додадено етерично масло од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %, како и во

контролните примероци, инокулирани со овој сој на салмонела, во сите фази на симулираниот процес на производство прикажана е во графиконот 2.



Графикон 2. Динамика на растот на *S. enteritidis* ES во примероци со додадено етерично масло од босилек по фази на симулираниот процес на производство

6.1.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимџан во тестенини со јајца врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во услови на симулиран технолошки процес на производство

Просечните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS (Log_{10}) во примероци од одделните фази на производство на тестенини со јајца со различни удели на етеричното масло од тимџан се прикажани во табела 7.

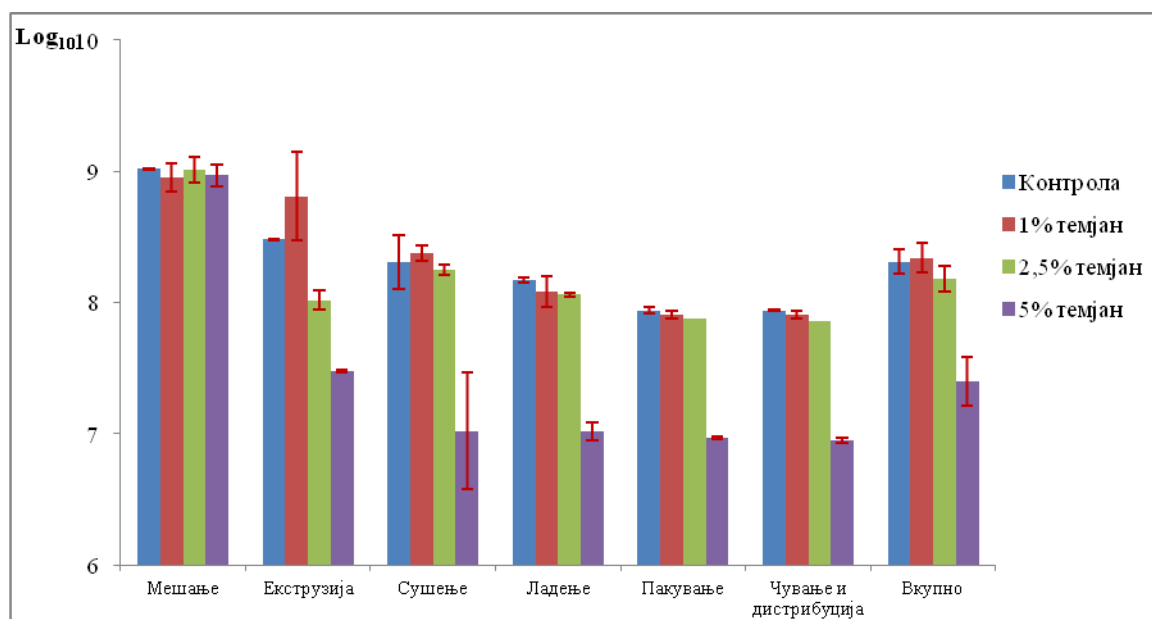
Табела 7. Динамика на *S. enteritidis* RS (Log_{10}) во различни фази на производство на
тестенини со јајца со додавање етерично масло од тимџан

Фаза на симулираниот процес на производство	n	Контрола	Уделина етерично масло од тимџан		
			1%	2,5%	5%
		$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$	$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$	$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$	$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$
Замесување	3	9,02±0,006	8,95±0,106	9,01±0,095	8,97±0,081
Екструзија	3	8,48±0,006	8,81±0,338	8,02±0,073	7,48±0,012
Сушење	3	8,31±0,205	8,38±0,060	8,25±0,037	7,02±0,444
Ладење	3	8,17±0,018	8,08±0,118	8,06±0,015	7,02±0,065
Пакување	3	7,94±0,026	7,91±0,031	7,88±0,003	6,97±0,010
Чување и дистрибуција	3	7,94±0,003	7,91±0,032	7,86±0,003	6,95±0,020
Технолошки процес	18	8,31±0,094	8,34±0,114	8,18±0,096	7,40±0,187

Според прикажаните резултати во табела 7, во првата фаза на симулираниот процес на производство на тестенините, замесување, во однос на другите фази на производство, во сите испитани примероци беше утврдена најголем број на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS, во контролните примероци, примероците без додадено етерично масло од тимџан, како и независно од додадениот удел на етерично масло од тимџан (8,95±0,106 Log_{10} до 9,02±0,006 Log_{10}). Потоа, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS постепено се намалува во секоја наредна фаза од процесот на производство. Така, во последните две фази (пакување и чување и дистрибуција на финалниот производ), добиените вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS беа слични и изнесуваа 6,95±0,020 Log_{10} за примероците со додаток на етерично масло од тимџан во удел од 5 %, до 7,91±0,032 Log_{10} за примероците со додаток на етерично масло од тимџан во удел од 1 %. Генерално, од табела 7 може да се забележи дека бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во секоја следна фаза од процесот на производство се намалува од контролните

примероци спрема целните примероци во кои беше додавано етерично масло од тимџан во удел од 5 %.

Сликовито, динамиката на растот на *S. enteritidis* RS во целните примероци со додадено етерично масло од тимџан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %, како и во контролите примероци, инокулирани со овој сој на салмонела, во сите фази на процесот на производство, прикажана е во графиконот 3.



Графикон 3. Динамика на растот на *S. enteritidis* RS во примероци со додадено етерично масло од тимџан по фази на симулираниот процес на производство

Анализата на графиконите 1 и 3, покажува дека бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS има поголемо намалување од фазата екструзија (обликување на тестенините) до последната фаза, чување и дистрибуција, во целните примероци кога беше додавано етерично масло од тимџан во удел од 5 %, наспроти целните примероци во кои беше додавано етерично масло од босилек во удел од 5 %.

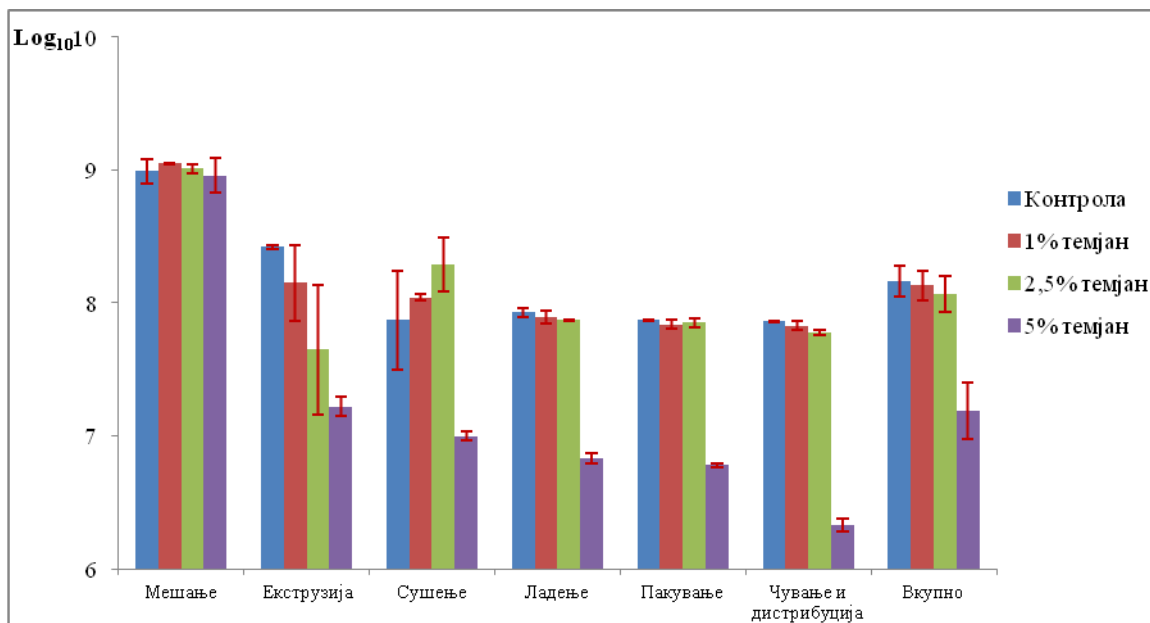
Просечните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES (Log₁₀) во примероци од одделните фази на производство на тестенини со јајца со различни удели на етеричното масло од тимџан се прикажани во табела 8.

Табела 8. Динамика на *S. enteritidis* ES (Log_{10}) во различни фази на производство на тестенини со јајца со додавање етерично масло од тимиајан

Фаза на симулираниот процес на производство	n	Контрола ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	Удели на етерично масло од тимиајан		
			1%	2,5%	5%
			($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)
Замесување	3	8,99±0,091	9,05±0,005	9,01±0,037	8,96±0,131
Екструзија	3	8,42±0,015	8,15±0,285	7,65±0,489	7,22±0,074
Сушење	3	7,87±0,373	8,04±0,023	8,29±0,201	7,00±0,035
Ладење	3	7,93±0,034	7,89±0,047	7,87±0,006	6,83±0,040
Пакување	3	7,87±0,003	7,84±0,031	7,85±0,034	6,78±0,015
Чување и дистрибуција	3	7,86±0,008	7,83±0,035	7,78±0,020	6,33±0,465
Технолошки процес	18	8,16±0,115	8,13±0,110	8,07±0,134	7,19±0,214

Слично како и во претходните случаи, најголем број бактериски клетки на *S. enteritidis* ES беше утврден на почетокот од симулираниот процес на производство на тестенини со јајца, фазата на замесување, во контролниот примерок, како и во целните примероци, независно од уделот на додаденото етерично масло од тимиајан (8,96±0,131 - 9,05±0,005 Log_{10}). Во секоја наредна фаза од процесот на производство бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES постепено се намалуваше, при што и овде, најмал број бактериски клетки на *S. enteritidis* ES беше утврден во последната фаза, фазата на чување и дистрибуција на финалниот производ (6,33±0,46 Log_{10} во целните примероци во кои беше додадено етерично масло од тимиајан во удел од 5 % до 7,83±0,035 Log_{10} во целните примероци со етерично масло од тимиајан во удел од 1 %). Генерално, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во секоја фаза на симулираниот процес на производство се намалуваше од контролниот примерок, во кој немаше додадено етерично масло од тимиајан, спрема целниот примерок со додадено етерично масло од тимиајан во удел од 5 %.

Сликовито, динамиката на растот на *S. enteritidis* ES во целните примероци со додадено етерично масло од тимиајан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %, како и во контролните примероци, во кои не беше додадено етерично масло од тимиајан, инокулирани со овој сој на салмонела, во сите фази на процесот на производство, прикажана е во графиконот 4.



Графикон 4. Динамика на растот на *S. enteritidis* ES во примероци со додадено етерично масло од тимџан по фази на симулираниот процес на производство

Од графиконите 2 и 4 може да се забележи дека бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES повеќе се намалува од фазата екструзија (обликување на тестенините) до последната фаза, чување и дистрибуција, во целните примероци кога беше додавано етерично масло од тимџан во удел од 5 %, наспроти целните примероци во кои беше додавано етерично масло од босилек во удел од 5 %.

6.2. АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ *SALMONELLA ENTERITIDIS* ВО ЛАБОРАТОРИСКИ УСЛОВИ

6.2.1. Антимикробен ефект на етеричните масла од босилек и тимиајан во основен раствор врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES

Во табела 9 се прикажани резултатите за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, инолуирани во физиолошки раствор со различни удели на етерично масло од босилек, (основни раствори) и во контролни примероци (FR без додавање на етерично масло од босилек), по една мостра од сите примероци претходно експонирана на температура од 46 °C за време од 9 часа (процес на сушење на тестенините во производниот процес), како и сите мостри култивирани во лабораториски услови на хранителни подлоги, на температура на инкубација од 37°C за време од 18 часа.

Табела 9. Број на бактериски клетки (Log_{10}) на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во основен раствор со различни удели на етерично масло од босилек

Сој на <i>Salmonella enteritidis</i>	t (°C)	Контрола	Удели на етерично масло од босилек		
			1%	2,5%	5%
<i>S. enteritidis</i> RS	37°C	5,53	0.00	0.00	0.00
	46°C	5,30	0.00	0.00	0.00
<i>S. enteritidis</i> ES	37°C	5,51	0.00	0.00	0.00
	46°C	5,70	0.00	0.00	0.00
$(\bar{x} \pm s_{\bar{x}})$		5,51±0,082			

Според прикажаните резултати во табела 9, во ниту еден од целните примероци во кои беше додадено етерично масло од босилек, независно од уделот, како и независно од температурата на експозиција на подлогите, не беше утврден раст на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES. Раст на двата соја на салмонела беше регистриран во сите контролни примероци, примероци во кои не беше додадено етерично масло од босилек, со тоа што почетниот број на бактериски клетки од 10^9 CFU (9 Log_{10}) се намали, независно од сојот, на просечна вредност од $5,51 \pm 0,082$

Log₁₀. Кај контролните примероци експонирани на температура од 46°C, намалувањето беше нешто поголемо кај *S. enteritidis* RS (5,30 Log₁₀) во однос на *S. enteritidis* ES (5,70 Log₁₀).

Во табела 10 се прикажани резултатите за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, инокулирани во физиолошки раствор со различни удели на етерично масло од тимџан (основни раствори), и во контролни примероци (FR без додавање на етерично масло од босилек), култивирани во исти лабораториски услови како и примероците во кои беше додадено етерично масло од босилек.

Табела 10. Број на бактериски клетки (Log₁₀) на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во основен раствор со различни удели на етерично масло од тимџан

Сој на <i>Salmonella enteritidis</i>	t (°C)	Контрола	Удели на етерично масло од тимџан		
			1%	2,5%	5%
<i>S. enteritidis</i> RS	37°C	5,51	0.00	0.00	0.00
	46°C	5,45	0.00	0.00	0.00
<i>S. enteritidis</i> ES	37°C	5,51	0.00	0.00	0.00
	46°C	5,70	0.00	0.00	0.00
$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$		5,54±0,054			

Слично како и кај примероците во кои беше додадено етерично масло од босилек, и овде, во ниту еден од целните примероци во кои беше додадено етерично масло од тимџан, независно од уделот, како и независно од температурата на експозиција, не беше утврден раст на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES. Кај контролните примероци, независно од бактерискиот сој и од температурата на експозиција, бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* од почетното ниво 10⁹ CFU (9 Log₁₀) се намали на 5,54±0,054 Log₁₀. Намалувањето на бројот на бактериски клетки на температура на експозиција 46 °C беше нешто поголемо кај *S. enteritidis* RS (5,45 Log₁₀) во однос на *S. enteritidis* ES епидемскиот сој (5,70 Log₁₀).

6.2.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца

Во табела 11 се прикажани резултатите за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во брашно и во јајца подготвени согласно опишаната методологија, со основни раствори од етерично масло од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %, инокулирани со бактериски клетки, по една мостра од сите примероци претходно експонирана на температура од 46 °C за време од 9 часа (процес на сушење на тестенините во производниот процес), и сите моистри култивирани во лабораториски услови, на температура на инкубација од 37 °C за време од 18 часа.

Табела 11. Број на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS (Log₁₀) во брашно и во јајца со основен раствор од етерично масло од босилек

Комбинација на ОРЕМ и медиум	t (°C)	n	Контрола	Удели на етерично масло од босилек		
				1%	2,5%	5%
			($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)
ОРЕМ од босилек	37 °C	1	5,53	0,00	0,00	0,00
	46 °C	1	5,3	0,00	0,00	0,00
Брашно со ОРЕМ од босилек	37 °C	1	5,98	5,7	5,85	5,6
	46 °C	1	5,95	5,75	5,85	5,6
Јајца со ОРЕМ од босилек	37 °C	1	5,56	5,6	5,53	5,3
	46 °C	1	5,53	5,6	5,48	0,00
Независно од медиумот	37 °C	3	5,69±0,145	3,76±1,88	3,79±1,898	3,63±1,818
	46 °C	3	5,59±0,190	3,78±1,892	3,77±1,891	1,86±1,866

Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во примероците со брашно и со јајца без додавање на основен раствор на етерично масло од босилек (контролите), независно од температурата на експонирање, покажаа слични вредности, односно 5,95 - 5,98 Log₁₀ во примероци со брашно, односно 5,53 - 5,56 Log₁₀ во примероци со јајца, или независно од медиумот 5,59±0,190 Log₁₀ при експонирање на температура од 46 °C, односно 5,69±0,145 Log₁₀ при експонирање на температура од 37 °C. Во примероците со брашно и со јајца со додавање на основен раствор на етерично масло од босилек, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS постепено се намалуваа од примероците со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 1 % спрема примероците со основен раствор на етерично

масло од босилек во удел од 5 %, кога беше утврден најслаб раст, односно $3,63 \pm 1,818 \text{ Log}_{10}$ при експозиција на температура од 37 °C и $1,86 \pm 1,866 \text{ Log}_{10}$ при експозиција на температура од 46 °C. При тоа, на хранливите подлоги со јајца со основен раствор на етерично масло од босилек експонирани на 46 °C за време од 9 часа воопшто не беше утврден раст на *S. enteritidis* RS.

Во табела 12 се прикажани резултатите за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца со основен раствор на етерично масло од босилек со различни удели, култивирани во лабораториски услови на хранливи подлоги инкубирани на температура од 37 °C и 46 °C.

Табела 12. Број на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES (Log_{10}) во брашно и во јајца со основен раствор на етерично масло од босилек

Комбинација на ОРЕМ и медиум	t (°C)	n	Контрола	Уделина етерично масло од босилек		
				1%	2,5%	5%
			$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$	$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$	$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$	$(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$
ОРЕМ од босилек	37 °C	1	5,51	0,00	0,00	0,00
	46 °C	1	5,7	0,00	0,00	0,00
Брашно со ОРЕМ од босилек	37 °C	1	6,00	5,7	5,85	5,72
	46 °C	1	6,04	5,78	5,9	5,78
Јајца со ОРЕМ од босилек	37 °C	1	5,6	5,6	5,58	5,6
	46 °C	1	5,56	5,7	5,56	3,3
Независно од медиумот	37 °C	3	$5,70 \pm 0,150$	$3,76 \pm 1,883$	$3,81 \pm 1,906$	$3,77 \pm 1,881$
	46 °C	3	$5,76 \pm 0,142$	$3,82 \pm 1,913$	$3,82 \pm 1,912$	$3,02 \pm 1,674$

Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во примероците со брашно без основен раствор на етерично масло од босилек, независно од температурата на експонирање, изнесуваше 6,00 - 6,04 Log_{10} . Во примероците со јајца овие вредности беа нешто пониски и изнесуваа 5,56 - 5,60 Log_{10} . Независно од медиумот бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES изнесуваше $5,70 \pm 0,150 \text{ Log}_{10}$ при експонирање на температура од 37 °C, односно $5,76 \pm 0,142 \text{ Log}_{10}$ при експонирање на температура од 46 °C. Во примероците со брашно и со јајца со основен раствор на етерично масло од босилек бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES постепено се намалуваше од примероците со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 1 % спрема примероците со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 5 %, кога беше утврден најслаб раст, односно $3,77 \pm 1,881 \text{ Log}_{10}$ при експозиција на

температура од 37 °C и $3,02 \pm 1,674 \text{ Log}_{10}$ при експозиција на температура од 46 °C. Исклучок беа примероците со јајца со основен раствор етерично масло од босилек експонирани на 37 °C кај кои воопшто не беше утврдено намалување на растот на *S. enteritidis* ES, туку напротив остана на ниво како и кај контролниот примерок независно од уделот на етеричното масло од босилек (5,58 - 5,60 Log_{10}). Сепак, кај примероците со јајца со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 5 % експонирани на температура од 46 °C за време од 9 часа, забележано беше поголемо намалување на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во однос на контролниот примерок ($3,30 \text{ Log}_{10}$ наспроти $5,56 \text{ Log}_{10}$).

6.2.3. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимџан врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца

Во табела 13 прикажани се резултатите за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во брашно и во јајца, со основен раствор на етерично масло од тимџан со различни удели, по една мостра од сите примероци претходно експонирана на температура од 46 °C за време од 9 часа (процес на сушење на тестенините во производниот процес), и сите моистри култивирани во лабораториски услови, на температура на инкубација од 37 °C за време од 18 часа.

Табела 13. Број на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS (Log_{10}) во брашно и во јајца со основен раствор од етерично масло од тимџан

Комбинација на ОРЕМ и медиум	t (°C)	n	Контрола ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	Уделина етерично масло од тимџан		
				1%	2,5%	5%
ОРЕМ од тимџан	37 °C	1	5,51	0,00	0,00	0,00
	46 °C	1	5,45	0,00	0,00	0,00
Брашно со ОРЕМ од тимџан	37 °C	1	5,96	5,58	5,58	5,48
	46 °C	1	5,97	5,53	5,53	5,38
Јајца со ОРЕМ од тимџан	37 °C	1	5,75	3,6	3,6	0,00
	46 °C	1	5,56	0,00	0,00	0,00
Независно од медиумот	37 °C	3	$5,74 \pm 0,130$	$3,06 \pm 1,633$	$3,06 \pm 1,633$	$1,83 \pm 1,826$
	46 °C	3	$5,66 \pm 0,158$	$1,84 \pm 1,843$	$1,84 \pm 1,843$	$1,79 \pm 1,793$

Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во примероците со брашно без основен раствор на етерично масло од тимџан, независно од температурата на експонирање, изнесуваше 5,96 - 5,97 Log₁₀. Во примероците со јајца овие вредности беа нешто пониски и изнесуваа 5,56 - 5,75 Log₁₀. Независно од медиумот, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS изнесуваше 5,74±0,130 Log₁₀ при експонирање на температура од 37 °C, односно 5,66±0,158 Log₁₀ при експонирање на температура од 46 °C, за време од 9 часа. Во примероците со брашно со основен раствор на етерично масло од тимџан бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS покажа намалување кај примероците со основен раствор на етерично масло од тимџан во удел од 5 %, при што намалувањето беше нешто поголемо кај примероците експонирани на 46 °C (5,38 Log₁₀) во однос на примероците експонирани на 37 °C (5,48 Log₁₀). Значително намалување во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS беше регистрирано во примероците со јајца со основен раствор на етерично масло од тимџан во удели од 1 % и 2,5 % експонирани на температура од 37 °C, додека во примероците со основен раствор на етерично масло од тимџан во удели од 5 % експонирани на 37 °C и примероците експонирани на 46 °C независно од додадените удели на етерично масло од тимџан воопшто не беше утврден раст на *S. enteritidis* RS.

Независно од инокулираниот медиум, најголемо намалување на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS беше утврдено во примероците со основен раствор на етерично масло од тимџан во удел од 5 % експонирани на температура од 37 °C и сите примероци независно од додадените удели на етерично масло од тимџан експонирани на температура од 46 °C (1,79±1,793 Log₁₀ до 1,84±1,843 Log₁₀).

Во табела 14 прикажани се резултатите за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца, со основен раствор на етерично масло од тимџан со различни удели, по една мостра од сите примероци претходно експонирана на температура од 46 °C за време од 9 часа (процес на сушење на тестенините во производниот процес), и сите мостри култивирани во лабораториски услови, на температура на инкубација од 37 °C за време од 18 часа.

Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во примероците со брашно без основен раствор на етерично масло од тимџан, независно од температурата на експонирање, изнесуваше 6,00 - 6,04 Log₁₀, додека во примероците со јајца овие вредности беа нешто пониски и изнесуваа 5,56 - 5,60 Log₁₀.

Табела 14. Број на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES (Log_{10}) во брашно и во јајца
со основен раствор од етерично масло од тимиајан

Комбинација на ОРЕМ и медиум	t (°C)	n	Контрола ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	Уделина етерично масло од тимиајан		
				1%	2,5%	5%
ОРЕМ од тимиајан	37 °C	1	5,51	0,00	0,00	0,00
	46 °C	1	5,70	0,00	0,00	0,00
Брашно со ОРЕМ од тимиајан	37 °C	1	6,00	5,64	5,70	5,60
	46 °C	1	6,04	5,60	5,85	5,60
Јајца со ОРЕМ од тимиајан	37 °C	1	5,60	0,00	4,00	0,00
	46 °C	1	5,56	0,00	3,78	0,00
Независно од медиумот	37 °C	3	5,70±0,150	1,88±1,880	3,23±1,689	1,86±1,866
	46 °C	3	5,76±0,142	1,86±1,866	3,21±1,712	1,86±1,866

Независно од инокулираниот медиум бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во испитуваните примероци изнесуваше 5,70±0,150 Log_{10} при експонирање на температура од 37 °C, односно 5,76±0,142 Log_{10} при експонирање на температура од 46 °C, за време од 9 часа. Во примероците со брашно со основен раствор на етерично масло од тимиајан бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES покажа намалување кај сите примероци независно од уделот на етеричното масло од тимиајан и независно од температурата на експозиција, при што намалувањето беше најголемо кај примероците со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удел од 5 % (5,60 Log_{10}). Во примероците со јајца со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удели од 1 % и 5 %, независно од температурата на експонирање, воопшто не беше утврден раст на епидемскиот сој на *Salmonella*, додека кај примероците со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удел од 2,5 % бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES изнесуваше 4,00 Log_{10} за примероците експонирани на температура од 37 °C, и 3,78 Log_{10} за примероците експонирани на температура од 46 °C.

Независно од инокулираниот медиум, најголемо намалување на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES беше утврдено во примероците со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удели од 1 % и 5 % (1,86±1,866 Log_{10} до 1,88±1,880 Log_{10}), независно од температурата на експонирање.

6.3. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ПОДАТОЦИТЕ

6.3.1. Пирсонов коефициент на корелација

Меѓузависноста во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES одреден за време на истражувањето во текот на симулираниот технолошки процес на производство на тестенини со јајца, независно од додадениот удел на етерични масла од босилек и тимиајан, како и во лабораториски услови, во основен раствор (FR со етерично масло од босилек и тимиајан), во брашно и во јајца (медиуми) со основен раствор на етерично масло од босилек и тимиајан, независно од уделот, беше утврдена со помош на Пирсоновиот коефициент на корелација. Вредностите на Пирсоновиот коефициент на корелација и нивното тестирање прикажани се во табела 15.

Табела 15. Пирсонов коефициент на корелација меѓу утврдениот број на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенини со јајца, FR, брашно и јајца независно од додадениот удел на етерични масла од босилек и тимиајан

	SERS + TT	SEES + TB	SEES + TT	SERS + MB	SERS + MT	SEES + MB	SEES + MT
SERS+ TB	0,746**	0,873**	0,695**	-0,432**	-0,082	-0,548**	-0,169
SERS + TT	1	0,742**	0,884**	-0,199	0,127	-0,328	0,058
SEES + TB		1	0,714**	-0,404	-0,167	-0,468*	-0,243
SEES + TT			1	-0,23	0,217	-0,34	0,152
SERS + MB				1	0,762**	0,967**	0,763**
SERS + MT					1	0,732**	0,922**
SEES + MB						1	0,735**

**статистички значајно на ниво $p < 0,01$

* статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Утврдена е статистички високо значајна позитивна поврзаност меѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенините со јајца со додаток на етерично масло од босилек и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со

додаток на етерично масло од тимиајан, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со додаток на етерично масло од босилек, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со додаток на етерично масло од тимиајан, додека статистички високо значајна негативна поврзаност е утврдена меѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со додаток на етерично масло од босилек и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во медиум со основен раствор на етерично масло од босилек и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со додаток на етерично масло од босилек и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во медиум со основен раствор на етерично масло од босилек.

Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со додаток на етерично масло од тимиајан покажа висока статистички значајна поврзаност со бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со додаток на етерично масло од босилек и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со додаток на етерично масло од тимиајан.

Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со додаток на етерично масло од босилек покажа статистички значајна поврзаност со бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со додаток на етерично масло од тимиајан, а негативна статистички значајна поврзаност со бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во медиум со основен раствор на етерично масло од босилек.

Растот на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES култивирани во лабораториски услови покажа статистички високо значајна позитивна поврзаност.

6.3.2. Модел за антимикробното влијание на различните удели од етеричните масла врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините со јајца

Во табела 16 се прикажани резултатите од мултиваријантниот општ линеарен модел за влијанието на додадените удели на етерични масла од босилек и тимиајан и симулираниот процес за производство на тестенини со јајца, како и нивната интеракција врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES.

Табела 16. Влијание на фиксните променливи и нивната интеракција врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенини со јајца

Фиксни променливи	df	SERS+ TB	SERS+ TT	SEES+ TB	SEES+ TT
Модел ^{a,b,c,d}	23	32,226***	23,916***	17,366***	15,880***
Општ просек	1	227652,324***	90395,194***	98002,687***	47111,460***
Удел	3	21,904***	68,375***	18,786***	41,494***
Процес	5	127,431***	57,693***	60,427***	40,300***
Удел x Процес	15	2,556**	3,765***	2,729**	2,617**
Грешка	48	0,022	0,052	0,050	0,095
Вкупно	72				

^aR² = 0,910; ^bR² = 0,881; ^cR² = 0,841; ^dR² = 0,828

***статистички значајно на ниво p<0,001

**статистички значајно на ниво p<0,01

Четири статистички модели за влијанието на фиксните променливи и нивната интеракција врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините со јајца со различни удели на етерични масла од босилек и тимиян покажаа висока статистичка значајност. Според добиените резултати од статистичкиот модел, влијанието на додадените удели на етерични масла од босилек и тимиян во тестенините и симулираниот процес на производството на тестенини покажаа високо статистички значајно влијание на ниво $p < 0,001$ врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините. Интеракцијата на додадените етерични масла од босилек и тимиян во тестенините и симулираниот процес на производството на тестенини со јајца, покажа статистички значајно влијание на ниво $p < 0,01$ врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините и високо статистички значајно влијание на ниво $p < 0,001$ врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенините со додаток на етерично масло од тимиян.

Вредноста за R² во сите четири статистички модели беше висока. Ова значи дека поголемиот дел од варијансата за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините може да се објасни со независните фактори вклучени во истражувањето.

6.3.3. Тестирање на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенини со јајца зависно од додадените удели на етерични масла од босилек и тимџан

Добиените резултати од тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со јајца зависно додадениот удел на етерично масло од босилек прикажани се во табела 17.

Табела 17. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со јајца, зависно од додадениот удел на етерично масло од босилек

SERS + TB	1%	2,5%	5%
Контрола	0,04	0,11	0,37*
1%	1	0,07	0,32*
2,5%		1	0,26*

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Најголема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS беше утврдена помеѓу целните примероци, тестенини со додаток на етерично масло од босилек, во удел од 5 % и бројот на бактериски клетки во контролните примероци тестенини без додаток на етерично масло и целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од босилек во удели од 1 % и 2,5 %.

Тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенините зависно од додадениот удел на етерично масло од босилек прикажани се во табела 18.

Табела 18. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со јајца, зависно од додадениот удел на етерично масло од босилек

SEES + TB	1%	2,5%	5%
Контрола	0,05	0,06	0,49*
1%	1	0,01	0,44*
2,5%		1	0,43*

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Најголема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES беше утврдена во целните примероци, тестенини со додаток на етерично масло на босилек, во удел од 5 % во однос на бројот на бактериски клетки во контролните примероци, тестенини без додаток на етеричното масло и целните примероци, тестенини со додаток на етерично масло од босилек, во удели од 1 % и 2,5 %.

Тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во примероци тестенини со јајца зависно од додадениот удел на етерично масло од тимџан прикажани се во табела 19.

Табела 19. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со јајца, зависно од додадениот удел на етерично масло од тимџан

SERS + TT	1%	2,5%	5%
Контрола	-0,03	0,13	0,91*
1%	1	0,16	0,94*
2,5%		1	0,78*

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Најголема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS беше утврдена во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од тимџан во удел од 5 %, во однос на бројот на бактериски клетки во контролните примероци тестенини без додаток на етерично масло и целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од тимџан во удели од 1 % и 2,5 %.

Тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во примероци тестенини со јајца, зависно од додадениот удел на етерично масло од тимиајан прикажани се во табела 20.

Табела 20. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со јајца, зависно од додадениот удел на етерично масло од тимиајан

SEES + TT	1%	2,5%	5%
Контрола	0,02	0,08	0,97*
1%	1	0,06	0,95*
2,5%		1	0,89*

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Најголема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES беше утврдена во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од тимиајан во удел од 5 %, во однос на бројот на бактериски клетки во контролните примероци тестенини со јајца без додаток на етерично масло и целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од тимиајан во удели од 1 % и 2,5 %.

6.3.4. Тестирање на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES со додаток на етерично масло зависно од фазите на симулираниот процес на производство на тестенини со јајца

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во примероци тестенини со јајца со додаток на етерично масло од босилек, зависно од фазите на симулираниот процес на производство прикажани се во табела 21.

Табела 21. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со јајца со додаток на етерично масло од босилек, зависно од фазата на симулираниот процес на производство

SERS + TB	Екструзија	Сушење	Ладење	Пакување	Чување и дистрибуција
Замесување	0,25*	0,34*	0,88*	1,12*	1,14*
Екструзија	1	0,09	0,63*	0,86*	0,88*
Сушење		1	0,54*	0,77*	0,79*
Ладење			1	0,24*	0,26*
Пакување				1	0,02

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Најголема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци, тестенини со додаток на етеричното масло од босилек, постоеше меѓу фазата замесување и останатите фази на симулираниот процес на производство на тестенините. Исто така, голема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од босилек, постоеше меѓу фазата екструзија и фазите ладење, пакување, чување и дистрибуција. Генерално, меѓу сите фази на симулираниот процес на производство, постоеше статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци тестенини со додаток на етерично од босилек, со исклучок на разликата меѓу фазите екструзија и сушење, како и фазите пакување и чување и дистрибуција.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци тестенини со јајца со додаток на етерично масло од босилек, зависно од фазите на симулираниот технолошки процес на производство на тестенините се прикажани во табела 22.

Табела 22. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенина со јајца со додаток на етерично масло од босилек, зависно од фазата на симулираниот процес на производство

SEES + TB	Екструзија	Сушење	Ладење	Пакување	Чување и дистрибуција
Замесување	0,33*	0,41*	0,81*	1,19*	1,26*
Екструзија	1	0,07	0,48*	0,86*	0,93*
Сушење		1	0,40*	0,78*	0,85*
Ладење			1	0,38*	0,45*
Пакување				1	0,07

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Најголема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од босилек постоеше меѓу фазата замесување и останатите фази на симулираниот процес на производство. Исто така, голема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероците тестенини со додаток на етерично масло од босилек постоеше меѓу фазата екструзија и фазите ладење, пакување, чување и дистрибуција. Генерално, меѓу сите фази на симулираниот процес на производство постоеше статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци тестенини, со додаток на етерично масло од босилек, со исклучок на разликата меѓу фазите пакување и чување и дистрибуција.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци тестенини со јајца со додаток на етерично масло од тимџан, зависно од фазата на симулираниот процес на производство прикажани се во табела 23.

Табела 23. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во тестенини со јајца со додаток на етерично масло од тимџан, зависно од фазата на симулираниот процес на производство

SERS + TT	Екструзија	Сушење	Ладење	Пакување	Чување и дистрибуција
Замесување	0,79*	1,00*	1,16*	1,32*	1,32*
Екструзија	1	0,21	0,37*	0,52*	0,53*
Сушење		1	0,16	0,31*	0,32*
Ладење			1	0,16	0,17
Пакување				1	0,01

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Најголема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци со додаток на етерично масло од тимџан постоеше меѓу фазата замесување и останатите фази на симулираниот технолошки процес на производство на тестенините. Исто така, голема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од тимџан постоеше меѓу фазата екструзија и фазите ладење, пакување, чување и дистрибуција. Генерално, меѓу сите фази на симулираниот процес на производство на тестенините постоеше статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од тимџан, со исклучок на разликата меѓу фазите екструзија и сушење, сушење и ладење, ладење и пакување, ладење и чување и дистрибуција и фазите пакување и чување и дистрибуција.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци тестенини со јајца со додаток на етерично масло од тимџан, зависно од фазата на симулираниот процес на производство на тестенините прикажани се во табела 24.

Табела 24. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во тестенини со јајца со додаток на етеричното масло од тимиијан, зависно од фазата на симулираниот процес на производство

SEES + TT	Екструзија	Сушење	Ладење	Пакување	Чување и дистрибуција
Замесување	1,14*	1,20*	1,37*	1,42*	1,55*
Екструзија	1	0,06	0,23	0,28	0,41*
Сушење		1	0,17	0,22	0,35
Ладење			1	0,05	0,18
Пакување				1	0,13

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Најголема статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од босилек постоеше меѓу фазата замесување и останатите фази на симулираниот процес на производство. Исто така, статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од тимиијан постоеше меѓу фазата екструзија и фазата чување и дистрибуција. Меѓу сите останати фази од симулираниот процес на производство не постоеше статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци тестенини со додаток на етерично масло од тимиијан.

6.3.5. Модел за влијанието на различните удели на етеричните масла врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца

Во табела 25 прикажани се резултатите од мултиваријантниот општ линеарен модел за влијанието на етеричните масла од босилек и тимиијан врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во медиумите кои беа предмет на истражување (физиолошки раствор/основен раствор, брашно и јајца), култивирани во лабораториски услови, како и нивната интеракција.

Табела 25. Влијание на фиксните променливи и нивната интеракција врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во основен раствор, во брашно и во јајца

фикси променливи	df	SERS + MB	SERS + MT	SEES + MB	SEES + MT
Модел ^{a,b,c,d}	11	11,139***	13,390***	58,482***	3486,047***
Општ просек	1	325,417***	213,563***	1886,370***	51908,697***
Удел	3	7,424**	17,120***	29,652***	4277,001***
Медиум	2	37,067***	36,933***	211,297***	8971,616***
Удел x медиум	6	4,352*	3,676*	21,957**	1262,083**
Грешка	12	1,172	1,082	0,223	0,005
Вкупно	24				

^aR² = 0,829; ^bR² = 0,856; ^cR² = 0,965; ^dR² = 0,999

***статистички значајно на ниво p<0,001

**статистички значајно на ниво p<0,01

*статистички значајно на ниво p<0,05

Четири статистички модели за влијанието на фиксните променливи и нивната интеракција врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во основен раствор (FR + различни удели на ЕМ од босилек и тимџан), во брашно и во јајца со основен раствор, култивирани во лабораториски услови, покажаа висока статистичка значајност.

Според добиените резултати од статистичкиот модел, уделот на етеричното масло од босилек врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES, како и уделот на етеричното масло од тимџан врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, покажаа високо статистички значајно влијание на ниво p < 0,001, додека уделот на етеричното масло од босилек покажа статистички значајно влијание на ниво p < 0,01 врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS.

Интеракцијата на уделите на етеричните масла од босилек и тимџан со испитуваните медиуми (основен раствор, брашно и јајца со основен раствор) покажаа статистички значајно влијание на ниво p < 0,01 врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES и на ниво p < 0,05 врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS.

Вредноста за R² во сите четири статистички модела беше висока. Ова значи дека поголемиот дел од варијансата за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis*

RS и *S. enteritidis* ES одредуван во испитуваните медиуми во лабораториски услови, може да се објасни со независните фактори вклучени во истражувањето.

6.3.6. Тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во основен раствор зависно од уделот на етеричното масло од босилек и тимџан

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основниот раствор, зависно од уделот на додадено етерично масло од босилек, култивирана во лабораториски услови прикажани се во табела 26.

Табела 26. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основен раствор, зависно од уделот на етерично масло од босилек

SERS + OREM од босилек	1 %	2,5 %	5 %
Контрола	1,87*	1,86*	2,89*
1 %	1	-0,01	1,03
2,5 %		1	1,04

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Статистички значајна разлика беше утврдена во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS меѓу контролните примероци (физиолошки раствор без додаток на етерично масло од босилек) и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основниот раствор со додаток етерично масло од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %. Помеѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основниот раствор со додаток на различни удели на етерично масло од босилек, не беше утврдена статистички значајна разлика.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основниот раствор зависно од уделот на додадено етерично масло од босилек прикажани се во табела 27.

Табела 27. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основен раствор зависно од уделот на етерично масло од босилек

SEES + OREM од босилек	1 %	2,5 %	5 %
Контрола	1,94*	1,92*	2,34*
1 %	1	-0,02	0,40
2,5 %		1	0,42

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Статистички значајна разлика беше утврдена во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во контролните примероци, без етерично масло од босилек и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци, основни раствори со додаток на етерично масло од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %. При тоа, меѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основните раствори со додаток на различни удели на етерично масло од босилек, не беше утврдена статистички значајна разлика.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основните раствори, зависно од уделот на додаденото етерично масло од тимџан прикажани се во табела 28.

Табела 28. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основен раствор, зависно од уделот на етеричното масло од тимџан

SERS + OREM од тимџан	1 %	2,5 %	5 %
Контрола	3,25*	3,25*	3,89*
1 %	1	0,00	0,64
2,5 %		1	0,64

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Статистички значајна разлика беше утврдена во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во контролните примероци без додаток на етерично масло од тимџан и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци, основни раствори со додаток на етерично масло од тимџан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %. Меѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во целните примероци,

основни раствори со додаток на различни удели на етерично масло од тимиајан, не беше утврдена статистички значајна разлика.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности за бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основни раствори, зависно од уделот на етерично масло од тимиајан прикажани се во табела 29.

Табела 29. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основен раствор, зависно од уделот на етеричното масло од тимиајан

SEES + OREM од тимиајан	1 %	2,5 %	5 %
Контрола	3,86*	2,51*	3,87*
1 %	1	-1,35	0,01
2,5 %		1	1,36

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Статистички значајна разлика беше утврдена во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во контролните примероци без додаток на етерично масло од тимиајан и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци со додаток на етерично масло од тимиајан во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %. При тоа, меѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основните раствори со додаток на различни удели на етерично масло од тимиајан не беше утврдена статистички значајна разлика.

6.3.7. Тестирање на разликите меѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца со основни раствори со различни етерично масло од босилек и тимиајан

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основен раствор, во брашно и во јајца со основни раствори со различни удели на етерично масло од босилек, култивирана во лабораториски услови, прикажани се во табела 30.

Табела 30. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основен раствор, во брашно и во јајца со додаток на етерично масло од босилек

SERS+ MB	Брашно со OREM од босилек	Јајца со OREM од босилек
OREM од босилек	4,43*	3,47*
Брашно со OREM од босилек	1	0,96

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Статистички значајна разлика беше утврдена во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основните раствори и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во брашно и во јајца со основни раствори на етерични масла од босилек ($p < 0,05$). При тоа, помеѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во брашно и во јајца со основни раствори со различни удели на етерично масло од босилек не беше утврдена статистички значајна разлика.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основен раствор, во брашно и во јајца со основни раствори со различни удели на етерично масло од босилек, култивирана во лабораториски услови, прикажани се во табела 31.

Табела 31. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основен раствор, во брашно и во јајца со додаток на етерично масло од босилек

SEES+ MB	Брашно со OREM од босилек	Јајца со OREM од босилек
OREM од босилек	4,45*	3,91*
Брашно со OREM од босилек	1	0,53

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Статистички значајна разлика беше утврдена во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основните раствори и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца со основни раствори на етерични масла од босилек ($p < 0,05$). При тоа, меѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца со основни раствори со различни удели на етерично масло од босилек не беше утврдена статистички значајна разлика.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основен раствор, во брашно и во јајца со основни раствори со различни удели на етерично масло од тимиајан, култивирана во лабораториски услови прикажани се во табела 32

Табела 32. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основен раствор, во брашно и во јајца со додаток на етерично масло од тимиајан

SERS+ MB	Брашно со OREM од тимиајан	Јајца со OREM од тимиајан
OREM од тимиајан	4,26*	-0,94
Брашно со OREM од тимиајан	1	3,31*

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Статистички значајна разлика беше утврдена во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основните раствори и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во брашно со основни раствори од етерично масло од тимиајан во различни удели ($p < 0,05$).

Не постоеше статистички значајна разлика во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во основните раствори и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во јајца со основни раствори од етерично масло од тимиајан во различни удели.

Постоеше статистички значајна разлика ($p < 0,05$) помеѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во брашно и во јајца со основни раствори од етерично масло од тимиајан во различни удели.

Добиените резултати за тестирањето на разликите меѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основен раствор, во брашно и во јајца со основни раствори со различни удели на етерично масло од тимиајан, култивирана во лабораториски услови, прикажани се во табела 33.

Табела 33. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основен раствор, во брашно и во јајца со додаток на етерично масло од тимејан

SEES+ MB	Брашно со OREM од тимејан	Јајца со OREM од тимејан
OREM од тимејан	4,35*	0,97*
Брашно со OREM од тимејан	1	3,39*

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Статистички значајна разлика ($p < 0,05$) беше утврдена во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во основните раствори и бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца со основни раствори од етерично масло од тимејан во различни удели. Исто така, статистички значајна разлика ($p < 0,05$) беше утврдена и помеѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во брашно и во јајца со основни раствори од етерично масло од тимејан во различни удели.

6.3.8. Компаративен приказ на добиените резултати за антимикробниот ефект на етеричните масла од босилек и тимејан врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES

Во табела 34 е прикажана споредбата на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* независно од сојот и фазите на производство, а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимејан во услови на симулиран процес за производството на тестенини со јајца. Анализата на варијанса покажа статистички висока значајна разлика ($p < 0,001$) во средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis*, зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимејан.

Табела 34. Споредба на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* независно од сојот и фазите на производство, а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимиајан во услови на симулиран процес за производството на тестенини со јајца

Зависна променлива: број на бактериски клетки на <i>Salmonella enteritidis</i>			
Извор на варијација	Степени на слобода во групата	Степени на слобода меѓу групите	F-вредност
Удели на ЕМ од босилек и тимиајан	7	280	16,635***

***статистички значајно на ниво $p < 0,001$

Тестирањето на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* во тестенини со јајца, зависно од уделот на етеричните масла од босилек и тимиајан е прикажано во табела 35.

Табела 35. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* во тестенини со јајца, зависно од уделот на етеричните масла од босилек и тимиајан

Етерично масло	Босилек				Тимиајан			
	Удел	1 %	2,5 %	5 %	0 %	1 %	2,5 %	5 %
Босилек	0 %	0,04	0,09	0,43*	0,23	0,23	0,34	1,17*
	1 %		0,04	0,38	0,19	0,18	0,29	1,13*
	2,5 %			0,34	0,14	0,14	0,25	1,08*
	5 %				-0,20	-0,20	-0,09	0,74*
Тимиајан	0 %					0,00	0,11	0,94*
	1 %						0,11	0,94*
	2,5 %							0,83*

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

Утврдена е статистички позитивна значајна разлика на ниво $p < 0,05$ помеѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* во контролните примероци и сите целни примероци со додадено етерично масло од босилек независно од уделот, како и примероците со додадено етерично масло од тимиајан во удели од 1 % и 2,5 % од една страна и примероците со додадено етерично масло од тимиајан во удел од 5 %, од друга страна. Статистички позитивна значајна разлика на ниво $p < 0,05$ е утврден помеѓу средните вредности на бројот на

бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* во контролните примероци со босилек и целните примероци со додадено етерично масло од босилек во удели од 1 % и 2,5 % и примероците со додадено етерично масло од босилек во удел од 5 %.

Во табела 36 прикажана е споредбата на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* независно од сојот и медиумот (основен раствор, смеса од брашно и смеса од јајце со основен раствор), а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимџан. Резултатите од анализата на варијанса покажаа дека постоеше статистички висока значајна разлика ($p < 0,001$) во средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis*, зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимџан.

Табела 36. Споредба на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* независно од сојот и медиумот (основен раствор, смеса од брашно и смеса од јајце со основен раствор), а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимџан

Зависна променлива: број на бактериски клетки на <i>Salmonella enteritidis</i>			
Извор на варијација	Степени на слобода во групата	Степени на слобода меѓу групите	F – вредност
Удели на ЕМ од босилек и тимџан	7	88	4,530***

***статистички значајно на ниво $p < 0,001$

Тестирањето на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* во медиумот (основен раствор, смеса од брашно и смеса од јајце со основен раствор), зависно од уделот на етеричните масла од босилек и тимџан е прикажано во табела 37. Статистички позитивна значајна разлика на ниво $p < 0,05$ е утврдена само меѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* во контролните примероци и на бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* во целните примероци со основен раствор на етерично масло од тимџан во удели од 1 % и 5 %.

Табела 37. Тестирање на разликите на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* во медиумот (основен раствор, смеса од брашно и смеса од јајце со основен раствор), зависно од уделот на етеричните масла од босилек и тимијан

Етерично масло	Удел	Босилек			Тимијан			
		1 %	2,5 %	5 %	0 %	1 %	2,5 %	5 %
Босилек	0 %	1,90	1,89	2,61	-0,03	3,53*	2,85	3,85*
	1 %		-0,01	0,71	-1,93	1,62	0,95	1,95
	2,5 %			0,73	-1,92	1,64	0,96	1,96
	5 %				-2,64	0,91	0,24	1,24
Тимијан	0 %					3,56*	2,88	3,88*
	1 %						-0,67	0,32
	2,5 %							1,00

*статистички значајно на ниво $p < 0,05$

7. ДИСКУСИЈА

Уште од најстари времиња биле познати позитивните ефекти од некои растенија, или одредени нивни делови, како што се цветовите, лисјата, корењата, што ги имаат врз здравјето на луѓето. Така, овие растенија со векови се користеле во традиционалната медицина, на почетокот во Индија и Кина. Во античка Грција, влијанието на лековитите својства на растенијата врз здравјето на луѓето го проучувале Хипократ, Аристотел и Теофратус. Тие дале значителен придонес во развојот на лекови базирани на растенијата. Лековитите својства на некои растенија, пред сè нивните антимикробни својства и денес имаат голема примена ширум светот, особено ако се има предвид појавата на сè поголемата резистенција спрема одделни лекови меѓу хуманата популација. Според податоците на Светската здравствена организација, дури околу 80% од светската популација за примарна здравствена заштита, денес се потпира на традиционалната медицина, што е особено изразено во земјите во развој (Gurib-Fakim, 2006; Prabuseenivasan et al., 2006). Одделни соединенија кои се составен дел на растенијата или нивните делови, денес се користат за медицински, фармацевтски и козметички потреби.

Утврдено е дека голем број зачини имаат антимикробен ефект врз различни видови микроорганизми (Škrinjar & Nemet, 2009; Tajkarimi et al., 2010). Етеричните масла од некои зачински и лековити растенија, како аромативи и природни конзерванси на храната се користеле уште од античко време. Поединечните компоненти на етеричните масла, самостојно или синергетски, делуваат на различните делови на бактериските клетки, па затоа, нивниот антимикробен ефект денес се користи и во прехранбената индустрија, за продолжување на одржливоста на прехранбените производи, односно за зголемување на нивната безбедност во исхраната на населението.

Фактот што етеричните масла на растенијата се составени од повеќе хемиски соединенија, доведува до заклучок дека и нивното антибактериско дејство се заснова врз различни механизми. Така, поради својата хидрофобна природа, етеричните масла исполуваат интеракција со липидната мембрана на бактериската клетка, зголемувајќи ја на тој начин нивната пропустливост. Зголемувањето на пропустливоста на бактериската клетка настанува како резултат на промената на потенцијалот на мембраната, откажувањето на протонската пумпа и излегувањето на

јони од бактериската клетка, што на крај доведува до лиза и клеточна смрт. Овој механизам се смета за најодговорен за оштетувањето на бактериската клетка (Bošković et al., 2013). Хидроксилната група која е составен дел на фенолите, како што се карвакролот, тимолот и еугенолот, а кои ги има во некои растенија, ја оштетува клеточната мембрана. Ако се има предвид дека овие соединенија се составен дел на етеричните масла на овие растенија, тогаш овие масла имаат антагонистички ефект воопшто на микроорганизмите, вклучително и на бактериите кои се пренесуваат преку храната. Состојките на етеричните масла не делуваат само на липидите во клеточната мембрана, туку и на протеините, како што е ензимот АТФ-аза. Повеќе истражувања укажуваат на тоа дека етеричните масла од некои растенија можат да делуваат и на некои други ензими кои се вклучени во регулирањето на енергијата во клетката или пак се одговорни за синтеза на структурните компоненти на клетката (Burt, 2004).

Безбедноста на храната претставува значаен здравствен и економски проблем. Многу микроорганизми кои се причинители на болести, а кои се пренесуваат преку храната, се причина да заболуваат милиони лица годишно на глобално ниво. Овие бактерии може да бидат присутни во различни видови храна од растително и од животнско потекло. И покрај долгогодишните истражувања и примената на резултатите од овие истражувања во контролата, подобрувањето на хигиенските услови на производство, превземените мерки за спречување на контаминација и искоренување на патогените причинители, постојаниот мониторинг на болестите кои се пренесуваат преку храната, безбедноста на храната се уште претставува голем проблем (Burt, 2004; Sofos, 2008; Newell et al., 2010; Linscott, 2011).

Од тие причини, постои потреба за употреба на нови антимикробни средства кои ќе имаат инхибиторен ефект на патогените бактерии, но и на микроорганизмите кои доведуваат до расипување на храната. Етеричните масла претставуваат добра алтернатива на веќе постојните медикаментозни средства, како што се антибиотиците и сулфонамидските препарати. Тие може да се користат и од аспект на примена на концептот на органско производство на природна и функционална храна, којашто во последно време станува сè попопуларна и поприфатена од потрошувачите. (Burt, 2004; Sofos, 2008; Gutierrez et al., 2009).

Во контекст на ова, многу научници ја испитувале антифугалната, антибактериската и антиоксидативната способност на етеричните масла од

растенијата и нивната примена во технологијата на производство на храна. Постојат истражувања кои покажуваат дека ефикасноста на етеричните масла во *in vitro* услови, како и кога се направени на модел на храна, не зависат само од видот, хемискиот состав и додадените удели на етерично масло, туку и од видот на бактеријата, начинот на апликација на маслото и физичко-хемиските карактеристики на моделот на храната која се користи за истражување, како што се нејзината pH-вредност, a_w -вредноста, присуството или отсуството на кислород во средината и температурата на средината (Friedman et al., 2002; Burt, 2004; Raybaudi-Massilia et al., 2006; Chouliara et al., 2007; Gutierrez et al., 2008; Simitzis et al., 2008; Duan et Zhao, 2009; Gutierrez et al., 2009; Govaris et al., 2010; Emiroğlu et al., 2010; Lv et al., 2011; Hsouna et al., 2011; Karabagias et al., 2011; Bajpai et al., 2012; Awaisheh, 2013; Khanjari et al., 2013; Teixeira et al., 2013).

Според наодите на Birmpa et al. (2018), една од главните состојки на етеричното масло од босилек е естраголот. Се смета дека антимикробниот ефект на ова етерично масло се должи токму на ова соединение (Karagözlü, et al., 2011).

Антикробниот ефект на етеричното масло од тимејан најчесто му се припишува на тимолот, кој во ова масло е застапен во удел од 45 % (Bagamboula et al., 2003). Маслото од тимејан може да содржи големи количества и на карвакрол (од 33 % во листовите до 61 % во стеблото), во зависност од локацијата, времето на берба или методот на екстракција на маслото (Ultee et al., 2002; Belaqziz et al., 2013). Инаку, утврдено е дека карвакролот има антибактериска активност врз *Salmonella* spp. во парчиња од риба чувани на температура на одржување од 4 °C (Bagamboula et al., 2004).

Фактот што босилекот и тимејанот се автохтони растенија на Балканскиот Полуостров, беше главната причина при изборот на етеричните масла од растенијата за испитувањата на нивниот антимикробен ефект направени во ова истражување.

Тестенините се корисна храна кои се користат во исхраната на луѓето. Тие содржат релативно низок процент на масти, висок процент на јаглехидрати и имаат добар состав на протеини. Главните состојки за правење тестенините се брашното, добиено од тврда пченица и водата (Wrigley et al., 2004).

Во ова истражување, во услови на симулиран процес, за производството на тестенините, покрај брашно и вода, беа додавани и јајца од кокошка. Вака произведените тестенини, во својот состав освен суровини од растително потекло,

содржеа и суровини од анимално потекло, јајца, што е интересно од аспект на безбедност на овој вид храна.

7.1. АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНОТО МАСЛО ОД БОСИЛЕК ВРЗ *S. ENTERITIDIS* RS И *S. ENTERITIDIS* ES

7.1.1. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во услови на симулиран процес на производство на тестенини со јајца

Антимикробниот ефект на етеричното масло од босилек врз *S. eneteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во услови на симулиран процес на производство тестенини со јајца беше следен со додавање на различни удели од маслото на почетокот на процесот на производство, за време на првата фаза, фазата замесување на тестото. Во истата оваа фаза беа инокулирани бактериски клетки од двата соја на *Salmonella*.

Генерално, утврдено беше дека постои тренд на намалување на бројот на бактериски клетки на *S. eneteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините со јајца во секоја фаза од процесот на производство, од контролните примероци кон целните примероци во кои беше додавано етерично масло од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %. Исто така, тренд на намалување на бројот на бактериски клетки беше регистриран во рамки на технолошкиот процес, за контролните примероци и целните примероци во кои беше додавано етерично масло од босилек во удели од 1 %, 2,5 % и 5 %, почнувајќи од првата фаза, фаза на замесување на тестото, па во секоја од следните фази на производство, екструдирање, сушење, ладење, спрема последните фази на процесот, фазата на пакување и фазата чување и дистрибуција на тестенините, кога беше утврден најмал број бакатериски клетки во испитуваните примероци.

Овој тренд на намалување на бактериските клетки на *S. eneteritidis* RS на крај на производниот процес (7,48 Log10) во однос на почетниот број (9,01 Log10) најголем беше во целните примероци во кои беше додавано етерично масло во удел од 5 % и изнесуваше 16,98 %. Во контролните примероци и целните примероци во кои беше додавано етерично масло од босилек во удели од 1 % и 2,5 % трендот на намалување на бактериските клетки изнесуваше од 10,68 % до 11,57 %. Во однос на

целиот технолошки процес, намалувањето на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во примероците со додавање на етерично масло од босилек во удел од 5 % спрема контролните примероци, без додавање етерично масло, изнесуваше 8,10 %. Сличен тренд на намалување на бројот на бактериски клетки постоеше и кај примероците во кои беше следен антимикробниот ефект на етеричното масло од босилек врз *S. enteritidis* ES. Така, за целните примероци во кои беше додадено етерично масло од босилек во удел од 5 % изнесуваше 20,02 %, додека во контролните примероци и целните примероци во кои беше додавано етерично масло од босилек во удели од 1 % и 2,5 % трендот на намалување на бактериските клетки изнесуваше од 10,92 % до 14,19 %. Во однос на целиот симулиран процес на производство, намалувањето на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во целните примероци со додавање на етерично масло од босилек во удел од 5 % спрема контролните примероци, без додавање етерично масло, изнесуваше 5,81 %.

Тестирањето на разликите на средните вредности во бројот на бактериски клетки на двата соја на салмонела покажа статистичка значајност на ниво $P < 0.05$ меѓу целните примероци тестенини со јајца со додаток на етерично масло од босилек во удел од 5 % во однос на контролните примероци, контролните примероци без додаток на етерично масло од босилек и целните примероци тестенини со јајца со додаток на етерично масло од босилек во удели од 1 % и 2,5 %. Во однос на тестирањето на разликите во бројот на бактериски клетки на двата соја на салмонела, независно од додадениот удел на етерично масло од босилек, утврдена беше статистички значајна разлика на ниво $p < 0.05$ помеѓу секоја наредна фаза од симулираниот технолошки процес на производство на тестенините со јајца. Уделот на додадено етерично масло од босилек, како и самиот симулиран технолошки процес на производство на тестенини со јајца имаа високо статистички значајно влијание врз намалувањето на бројот на бактериски клетки од двата соја, *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES. Освен тоа, она што е исто така важно да се потенцира е дека интеракцијата меѓу додадените удели на етерично масло од босилек и процесот на производство на тестенините имаа статистичка значајност на ниво $p < 0,01$ врз намалувањето на бројот на бактериски клетки од двата соја на салмонела.

Тренд на намалување на почетниот број на бактериски клетки на *Salmonella* spp. во примероци во кои било додавано етерично масло од босилек во своите истражувања утврдиле de Oliveira et al. (2013) и Hayouni et al. (2008). Исто така, и

Fyfe et al. (1998), утврдиле дека етеричното масло од босилек во удел од 0,2 % претставува инхибитор на растот на *Listeria monocytogenes* и *Salmonella enteritidis*, додека Karagözlü et al. (2011), утврдиле дека етеричните масла од нане и босилек во удел од 0,08 % mL/L имале негативен ефект врз преживувањето на бактериските клетки на *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* инокулирани во сурова сецкана салата складирана во фрижидер, на температура на одржување. Lachowicz et al. (1998), утврдиле слаб антимикробен ефект на етеричните масла од пет различни варијетети на босилек на некои грам позитивни бактерии (*Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*) и грам негативни бактерии (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*), квасци (*Rhodotorula*) и мувли. Исто така, и Eriotou et al. (2015) го испитувале антимикробниот ефект на етеричните масла добиени од пет различни варијетети на босилек кои растат на територијата на Република Грција врз грам-позитивни и грам-негативни бактерии, при што била утврдена статистички значајна зголемена осетливост на грам-позитивните во однос на грам-негативните бактерии.

Сепак, постојат истражувања кои укажуваат на постоење на резистентност на некои бактериски видови на дејството на етеричното масло од босилек. Така, Nabrdalik & Grata, (2016) врз основа на осетливоста спрема етеричното масло од босилек, грам-негативните бактерии ги поделиле на две групи. Првата група ја сочинуваат осетливи бактериски видови во кои спаѓаат *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei* и *Klebsiella pneumoniae*, а втората група ја сочинуваат бактериски видови отпорни на дејството на етеричното малсло од босилек. Во оваа група спаѓаат *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella enteritidis*. Слични резултати добиле и Hammer et al. (1999) кои утврдиле дека *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella enteritidis* се отпорни на повеќе етерични масла, меѓу кои и на етеричното масло од босилек. Во овој контекст се и истражувањата на Gupta et al. (2009), според кои од испитуваните бактериски видови, *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella typhi* биле најотпорни на етеричните масла од босилек (*Ocimum basilicum*).

7.1.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од босилек врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во лабораториски услови

Истражувањата направени во лабораториски услови имаа за цел да го утврдат антимикробниот ефект на различните удели на етеричното масло од босилек врз суровинските компоненти кои се користат за производство на тестенините. За реализација на овој дел од истражувањето беа користени контролни примероци - мостри инокулирани со секој од испитуваните бактериски соеви, *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, и тоа: во физиолошки раствор и во основните раствори на етерично масло од босилек, во брашно и во јајца без основни раствори на етерично масло од босилек и целни примероци - мостри од брашно и од јајца со основни раствори од етерично масло од босилек. Смесата од брашно и смесата од јајца беа подготвувани во ист сооднос како при производството на тестенините. При тоа, антимикробниот ефект беше следен на две темепратури на експозиција: температура на инкубација од 37 °C и на 46 °C (температура на сушење на тестенините која се применува во индистриското производство на тестенини, а се примени и во првата фаза на истражување во услови на симулиран процес на производство). Температурата од 37 °C беше одбрана затоа што според литературните податоци идеалната температура за раст на бактериските клетки од родот *Salmonella* изнесува 35 – 37 °C, со опсег од 5,2 °C и до 47 °C (Mahmoud, 2011). Тие се релативно отпорни на сушење, солење и димење. Како резултат на овие особини, бактериите од родот *Salmonella* може да се докажат во различни видови на храна и заедно со бактериите од родот *Campylobacter* денес претставуваат најважните причини за појава на алиментарни заболувања кај луѓето (Franco & Landgraf, 1996).

Ако се анализираат добиените резултати за бројот на бактериски клетки во контролните примероци, во физиолошки раствор и во основните раствори на етерично масло од босилек, во смеса од брашно и во смеса од јајца без основни раствори на етерично масло од босилек по експозиција на температура од 37 °C и 46 °C, независно од бактерискиот сој, може да се забележи нешто поголема вредност во смесите од брашно и смесите од јајца (5,53 - 6,04 Log₁₀) во однос на примероците со инокулирани бактериски клетки во физиолошкиот раствор (5,3 - 5,7 Log₁₀).

Иако овие разлики при статистичката обработка не покажаа статистичка значајност, сепак може да каже дека најверојатно медиумите брашно и јајца се

однесуваат протективно во однос на бактериските клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES при експозиција за определеното време и користените температури користени во методологијата. Оваа претпоставка уште повеќе се потврдува со анализа на примероците во истите медиуми во кои беше додавано основен раствор со етерично масло од босилек во користените удели. Имено, во примероците физиолошки раствор независно од инокулираниот бактериски сој на салмонела во кои беше додавано етерично масло од босилек (основен раствор) независно од уделот, бројот на бактериски клетки по експозиција на користените температури изнесуваше 0 (нула), односно етеричното масло од босилек имаше 100 % антимикробен ефект врз инокулираните бактериски клетки во физиолошкиот раствор. Во примероците со смеси од брашно и смеси од јајца, таков ефект се доби единствено во целните примероци со смеса со јајца со основен раствор од етерично масло од босилек во удел од 5 % во кои беа инокулирани бактериски клетки на *S. enteritidis* RS при експозиција на температура од 46 °C. Во сите останати комбинации на инокулирани бактериски соеви на салмонела, температура на експозиција и удел на додадено етерично масло од босилек беа регистрирани бактериски клетки чии број се движеше од 3,3 Log₁₀ кај примероците со инокулирани бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во смеса од јајца со додадено етерично масло од босилек во удел од 5 % експонирани на температура од 46 °C, до 5,9 Log₁₀ кај примероците со инокулирани бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во смеса од брашно со основен раствор со етерично масло од босилек во удел од 2,5 % експонирани на температура од 46 °C.

Во прилог на ова одат резултатите добиени во истражувањата на некои автори, според кои причината за послабот антимикробен ефект на етеричните масла од растенијата, вклучително и етеричните масла од босилек и тимџан, е интеракцијата која етеричните масла, но и бактериите, ја прават со составните компоненти на храната (Burt, 2004; Nayouni et al., 2008). Протеините ги врзуваат фенолните соединенија, додека етеричните масла се раствораат во липидната фракција поради нивната хидрофобна природа, со што стануваат помалку достапни за интеракција со бактериите (Nayouni et al., 2008). Од друга страна масите од храната формираат заштитен слој околу бактериската клетка и на тој начин ја штитат од дејството на антимикробните средства (Cutter, 2000). Па затоа, според некои од овие истражувања, утврдено е дека за да се добие антибактериски ефект

(бактериоциден и бактериостатски) во храната, потребно е да се додаде неколку пати поголем удел на етерични масла од растенијата во храната во однос на лабораториски утврдениот удел, изразен како MIC (минимална инхибиторна концентрација) или MBC (минимална бактерицидна концентрација) (Shelef et al., 1984, Nayouni et al., 2008; de Oliveira et al., 2013).

Статистичката обработка на податоците покажа дека ефектот на додавањето на етерично масло од босилек во физиолошки раствор (основен раствор), во кој беа инокулирани бактериските клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, независно од уделот, врз намалувањето на нивниот број во однос на контролата (физиолошки раствор со бактериски клетки од двата соја на салмонела без етерично масло од босилек) е значајно на ниво $p < 0,05$. Исто така, беше утврдена статистички значајна разлика на ниво $p < 0,05$ помеѓу бројот на бактериски клетки на двата соја на салмонела утврден во основниот раствор со етерично масло од босилек и бројот на бактериски клетки во смесата од брашно и смесата од јајца со основен раствор на етерично масло од босилек независно од уделот и температурата на експозиција на примероците. Направените статистички модели за утврдување на влијанието на фиксните променливи, уделот на етерично масло од босилек, медиумот (физиолошки раствор, смеса од брашно, смеса од јајца) и нивната меѓусебна интеракција врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES покажаа дека влијанието на уделот на додадено етерично масло од босилек врз намалувањето на бактериските клетки на *S. enteritidis* RS е статистички значајно на ниво $p < 0,01$, а високо статистички значајно ($p < 0,001$) врз намалувањето на бактериските клетки на *S. enteritidis* ES. Влијанието на медиумот покажа висока статистичка значајност ($p < 0,001$) врз намалувањето на бактериските клетки на двата бактериски соја, *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES. Интеракцијата на овие две фиксни променливи, уделот на додадено етерично масло од босилек и медиумот, покажа поголемо влијание ($p < 0,01$) спрема намалувањето на бактериските клетки на *S. enteritidis* ES, во однос на намалувањето на бактериските клетки на *S. enteritidis* RS ($p < 0,05$).

Добиените резултати од лабораторискиот дел од истражувањето за утврдување на антимикробниот ефект на етеричното масло од босилек се во корелација со повеќе литературни податоци. Така, според истражувањата на Rattanachaikunsorn & Phumkhachorn (2010), етеричното масло од босилек (*Ocimum basilicum*) покажало висок антимикробен ефект врз *Salmonella enteritidis*. И Nabrdalik

& Grata (2016) го испитувале ефектот на етеричното масло од босилек додавано во различни удели (0,25, 0,5, 1,0, 2,0 и 4.0 %) врз *Salmonella enteritidis* во хранлив бујон во кој било дополнително додавано 0,05 % (v/v) Tween 80 (полиетилен сорбитол естер). Почетниот број на бактериски клетки изнесувал 10^8 cfu/mL (8 log cfu/mL). Примероците биле експонирани на температура од 37 °C за време од 4, 24, 48 и 168 h. Намалувањето на бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* изнесувало од 3 до 26 % при експозиција за време од 4 h, до 22 – 46 % за време на експозиција од една недела. Во апсолутни вредности, почетниот број на бактериски клетки од 10^8 cfu/mL (8 log cfu/mL) по експозиција на примероците за време од 24 часа се намалил на 6,0287, 5,8783, 5,5903, 5,6037 и 5,6007 log cfu/mL соодветно на употребените удели на етерично масло од босилек (0,25, 0,5, 1,0, 2,0 и 4.0 %), а што било статистички значајно на ниво $p < 0,05$. Овие резултати се релативно слични на резултатите добиени во ова истражување кога би се споредувале вредностите за намалувањето на бактериските клетки независно од бактериските соеви на *Salmonella enteritidis* во контролните примероци и целните примероци со смесите од брашно и смесите од јајца со основен раствор на етерично масло од босилек.

Некои автори отишле понатаму во своите истражувања, па успеале да ги утврдат MIC (минимална инхибиторна концентрација) и MBC (минимална бактерицидна концентрација) вредностите за етеричното масло од босилек за некои бактериски родови, меѓу кои и родот *Salmonella*. Така, според Shirazi et al. (2014) MIC вредноста за етерично масло од босилек за грам-негативните *Salmonella typhi* и *Escherichia coli* изнесувала 145 - 160 $\mu\text{g/mL}$, додека според Beatovic et al. (2015) MIC вредностите изнесувале од 0,009 до 23,48 $\mu\text{g/mL}$ за *S.typhimurium* и *E.coli*, а MBC вредностите за истите бактериски видови од 0,28 до 135 $\mu\text{g/mL}$. Во нашето истражување најголем антимикробен ефект покажа етеричното масло од босилек додавано во удел од 5 %.

Она што е интересно како податок во контекст на испитувањето на антимикробниот ефект на етеричното масло од босилек, е фактот дека тоа може да се користи за контрола на патогените бактерии без истото да има влијание врз корисните бактериски видови, но само доколку се употребува во препорачаните дози. Така на пример, според истражувањата на Roldán et al. (2010) MBC концентрацијата на етеричното масло од босилек која има антимикробен ефект спрема грам-негативните бактерии изнесувала $\leq 10\text{mg/mL}$, при што најефикасна за

сите тестирани соеви на бактерии била концентрацијата од ≤ 5 mg/mL, додека за антимикробен ефект спрема некои грам-позитивни корисни бактерии концентрацијата изнесувала 80 mg/mL. Во истите истражувања било констатирано дека MIC вредностите на етеричното масло од босилек за корисните бактерии биле значително поголеми во однос на MIC вредностите за патогените бактерии (5 - 10 mg/mL).

Во литературата постојат податоци за присуството на *Salmonella* spp во разни сировини за производство на храна. Сепак, постојат релативно малку литературни податоци за постоењето на овој ризик кога станува збор за прехранбени производи или за сировини за нивно производство со ниска a_w -вредност, особено брашното од житни култури. Овде може да споменеме некои од овие истражувања. Така, Farakos et al. (2014) утврдиле дека температурата на средината, активноста на водата (a_w), супстратот, медиумот, серотипот и видот на салмонелата влијаат врз нејзиното преживување во храна со ниска активност на вода. Anderson et al. (2017) го испитувале намалувањето на бројот на бактериски клетки на *Salmonella enterica* serovar Agona инокулирани во овесно брашно во услови на различна a_w -вредност и температура на експозиција. Регресиониот модел на резултатите од овие истражувања покажал значителен ефект ($p < 0,05$) на a_w -вредноста (0,72 - 0,96) и температурата на експозиција (65 – 100 °C) во намалувањето на бројот на бактериски клетки (од $0,67 \pm 0,14$ до $7,34 \pm 0,02$ log cfu/g). Некои автори пак, се занимавале со истражување на можната контаминација на зрната на житните култури кои се користат за производство на брашно со *Salmonella* spp. Така, Berghofer et al. (2003), во ниту еден од вкупно 650 примероци на австралиската пченица, пред мелење не утврдиле присуство на *S. enterica*. За разлика од нив, Richter et al. (1993) утврдиле дека 1,3 % од $> 4\ 000$ примероци на пченица во САД (од сите шест американски сорти на пченица) биле позитивни на *S. enterica*. Највисока контаминација со *S. enterica* била утврдена кај меката црвена зимска пченица (2,3 %), а најниска кај сортата дурум (0,3 %). При тоа, било утврдено дека контаминацијата на пченицата најретко се случувала во текот на летните месеци од годината. Постојат литературни податоци од понов датум, кои се однесуваат на учеството на храна со ниска a_w -вредност, меѓу кои и брашното од пченица, во појавата на епидемии со *Salmonella* (CDC, 2004; Gieraltowski, 2013; McCallum et al., 2013; Farakos, et al., 2014.). Според добиените резултати во направеното истражување, независно од бактерискиот сој на

Salmonella, најдобар антимикробен ефект кај целните примероци беше утврден во смесите со брашно со основен раствор со етерично масло од босилек во удели од 1 % и 5 %, а најслаб ефект се доби кај целните примероци со основен раствор со етерично масло од босилек во удел од 2,5 % врз *S. enteritidis* RS.

Иако повеќето производи од брашно имаат солиден термички третман во нивната подготовка, како што е на пример печењето на лебот, варењето на тестенините, некои производи од брашно би можеле да бидат потенцијален ризик, особено ако за нивно производство се користат јајца.

Во литературата постојат податоци за појава на епидемии на салмонелоза кај луѓето што консумирале јајца (FAO / WHO, 2002), независно дали биле консумирани сурови, меко или тврдо варени, преку храна во која како една од суровините за нивна подготовка се користат јајца, како што е на пример сладоледот (Hennessy et al., 1996; Martelli & Davies, 2012), некои видови салати во кои се додаваат јајца (CDC, 1996 и 2003) и друго. Врз растот на бактериските клетки од родот *Salmonella* во контаминирани јајца, пред сè влијае на поволната температура на нивно складирање. Затоа, се препорачува тие да се чуваат на постојана температура која не треба да надминува 20 °C (Советодавен комитет за микробиолошка безбедност на храната, ACMSF, 1993). Утврдено е дека бактериите од родот *Salmonella* можат да растат на 20 °C, но и на пониски температури (10 °C) во белковини од јајца. Доколку овие бактерии доспеат во жолчката, тие добро растат на собна температура од 25 °C (Gantois et al., 2009, Martelli & Davies, 2012).

Во направените истражувања, термичкиот третман во контролните примероци со смесите со јајца во кои беа инокулирани двата соја на салмонела (без додавање на етерично масло од босилек), независно од бактерискиот сој и температурата на експозиција покажа речиси изедначено намалување од 9 Log₁₀ на 5,53 Log₁₀, односно 5,60 Log₁₀, или намалување за 37,78 - 38,55 %.

Кај целните примероци со смеси со јајца со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 5 %, се доби стопроцентен антимикробен ефект врз *S. enteritidis* RS, додека бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES се намали за 63,33 % во однос на почетниот број на бактериски клетки (од 9 Log₁₀ на 3,3 Log₁₀), при температура на експозиција од 46 °C. Поголемиот антимикробен ефект кај целните примероци со смеси од јајца со основен раствор на етерично масло од босилек во однос на примероците од смеса од брашно, при овие услови, можеби

може да се објасни со влијанието на антимикробните супстанции присутни во јајцата, во однос на брашното кое не содржи какви било антимикробни супстанции. Во прилог на ова одат некои литературни податоци. Така, многу протеини, како што се цистатинот (Saxena & Tayyab, 1997; Werierska et al., 1991), овомакроглобулинот (Miyagawa et al., 1991) и авидинот (Board & Fuller, 1974), се поврзуваат со антимикробниот ефект на белката од кокошкното јајце (*Gallus gallus*). Овотрансферинот, главниот протеин на белката од јајцето, се сосостои од два рецептора од кои секој реверзибилно го врзува железото, ограничувајќи го неговото количество со што го инхибира растот на микроорганизмите (Seviour & Board, 1972; Phelps & Antonini, 1975; Valenti et al., 1981). Друга важна компонента на протеините во јајцето е лизозимот (N-ацетилмурамид-глюканхидролаза). Тоа е ензим кој ја раскинува врската меѓу гликозидните бета-1,4-врзани остатоци на N-ацетилнеураминската киселина (НАМ) и N-ацетилглюкозаминот (НАГ) во структурата на пептидоглюканот на грам-позитивните бактерии и во помал обем кај грам-негативните бактерии (Burley & Vadehra, 1989; Bera et al., 2005).

Средните вредности на бројот на бактериски клетки, независно од сојот на *Salmonella enteritidis* во смесите од брашно и смесите од јајца во кои беше додаван основен раствор на етерично масло од босилек, независно од уделот и температурата на експозиција, покажаа статистички значајна разлика ($p < 0,05$).

7.2. АНТИМИКРОБЕН ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНОТО МАСЛО ОД ТИМИЈАН ВРЗ *S. ENTERITIDIS* RS И *S. ENTERITIDIS* ES

7.2.1. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимџан врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во услови на симулиран процес на производство на тестенини со јајца

Повеќе автори го проучувале антимикробниот ефект на етеричното масло од тимџан врз патогени бактерии (Bounatirou et al., 2007; Toroglu, 2007; Sabulal et al., 2008; Hazzit et al., 2009; Karabagias et al., 2011; Bošković et al., 2015; Evrendilek, 2015). Во ова истражување, антимикробниот ефект на етеричното масло од тимџан врз *S. eneteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во услови на симулиран процес на производство на тестенини со јајца беше следен со додавање на различни удели од етеричното масло

на почетокот на процесот на производство, за време на првата фаза, фазата замесување на тестото, паралелно со следењето на антимикробниот ефект на додавањето на различни удели на етерично масло од босилек. И во овој случај, во фазата замесување на тестото, беа инокулирани бактериски клетки од двата соја на *Salmonella*, *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES.

Според добиените резултати од истражувањето, утврдено беше дека етерично масло од тимејан, независно од уделот во основниот раствор (1%, 2,5% или 5%), има антимикробен ефект врз двата соја на салмонела во сите испитани целни примероци. Ова е во согласност со истражувањата на Niculae et al. (2009) според кои етеричните масла на *Thymus vulgaris*, *Mentha piperita* и *Rosmarinus officinalis* имаат силна антимикробна активност (бактериостатско и бактерицидно дејство) против *Salmonella enteritidis* и *Escherichia coli*, додадени во удели од 0,125 до 2 % (v/v).

Сепак, во нашите истражувања, најголемо намалување на бројот на бактериски клетки на двата соја на *Salmonella* во однос на почетниот инокулиран број, беше регистрирано кај целните примероци во кои беше додавано етерично масло од тимејан во удел од 5 %, во сите фази на симулираниот процес на производство, во однос на примероците во кои беше додавано етерично масло од тимејан во удели од 1 % и 2,5 %. Во однос на целиот процес на производство, намалувањето на бактериските клетки беше нешто поголемо кај примероците со *S. enteritidis* RS (16,70 %), во однос на примероците со *S. enteritidis* ES (11,89 %). Ако се има предвид почетниот број на бактериски клетки, нивното намалување во примероците со додадено етерично масло од тимејан во удел од 5 % за *S. enteritidis* RS изнесуваше од 0,55 % во фазата замесување на тестото до 15,52 % во фазата сушење, додека за *S. enteritidis* ES ова намалување изнесуваше од 0,33 % за фазата замесување на тестото, до 19,46 % во фазата чување и дистрибуција на тестенините. Ова би значело, дека можеби етеричното масло од тимејан додадено во удел од 5 % има продолжено антимикробно дејство кај *S. enteritidis* ES во однос на *S. enteritidis* RS. Во прилог на ова може да оди и анализата на антимикробниот ефект по фази на симулираниот процес на производство, кај примероците со додадено етерично масло од тимејан во удел од 5 %, при што, намалувањето на бактериските клетки на *S. enteritidis* RS во последните две фази на симулираниот технолошки процес на производство, пакување и чување и дистрибуција, во однос на првата фаза, замесување на тестото изнесува 22,30 - 22,59 %, додека овој тренд на намалување за

S. enteritidis ES е нешто поголем и изнесува 24,33 - 29,35 %. Овие резултати се во согласност со резултатите објавени од повеќе автори (Friedman et al., 2002; Burt, 2004; Friedman et al., 2004; Raybaudi-Massilia et al., 2006; Duan & Zhao, 2009; Niculae et al., 2009).

Тестирањето на разликите на средните вредности во бројот на бактериски клетки на двата соја на салмонела покажа статистичка значајност на ниво $p < 0,05$ меѓу примероците тестенини со јајца со додаток на етерично масло од тимџан во удел од 5 % во однос на контролните примероци, примероци без додаток на етерично масло од тимџан и примероците тестенини со јајца со додаток на етерично масло од тимџан во удели од 1 % и 2,5 %. Во однос на тестирањето на разликите на намалувањето на бројот на бактериски клетки на двата соја на салмонела, независно од додадениот удел на етерично масло од тимџан, утврдена беше статистички значајна разлика на ниво $p < 0,05$ меѓу фазата замесување на тестото и секоја наредна фаза од симулираниот процес на производство на тестенините со јајца. Уделот на додадено етерично масло од тимџан, како и самиот симулиран процес на производство на тестенини со јајца имаа високо статистички значајно влијание ($p < 0,001$) врз намалувањето на бројот на бактериски клетки од двата соја, *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES. Освен тоа, интеракцијата меѓу додадените удели на етерично масло од тимџан и процесот на производство на тестенините имаа висока статистичка значајност на ниво $p < 0,001$ врз намалувањето на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и статистичка значајност на ниво $p < 0,01$ за *S. enteritidis* ES.

7.2.2. Антимикробен ефект на етеричното масло од тимџан врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во лабораториски услови

Идентично, како што беа направени истражувањата во лабораториски услови кои имаа за цел да го утврдат антимикробниот ефект на различните удели на етеричното масло од босилек врз суровинските компоненти кои се користат за производство на тестенините, на ист начин беа следени истите процедури и за утврдување на антимикробниот ефект на различните удели на етеричното масло од тимџан. И во овој случај беа користени контролни примероци - мостри инокулирани со секој од испитуваните бактериски соеви, *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, и тоа:

во физиолошки раствор и во основните раствори на етерично масло од тимиајан, во брашно и во јајца без основни раствори на етерично масло од тимиајан и целни примероци - мостри од брашно и од јајца со основни раствори од етерично масло од тимиајан, при што смесата од брашно и смесата од јајца беа подготвувани во ист сооднос како при производството на тестенините.

Според добиените резултати, бројот на бактериски клетки во контролните примероци со инокулирани бактериски клетки независно од бактерискиот сој, по експозиција на температура од 37 °C и 46 °C, е малку поголем кај примероците со смесите од брашно и смесите од јајца (5,56 - 6,04 Log₁₀) во однос на примероците со физиолошки раствор (5,45 - 5,7 Log₁₀), но без статистичка значајност. Овие разлики се речиси идентични, како и во случајот со процедурата за утврдување на антимикробниот ефект на етеричното масло од босилек. Ова е за очекување бидејќи и во двата случаја, односно условите за двете контроли беа идентични, па според тоа, медиумите брашно и јајца најверојатно и овде се однесуваат нешто слабо протективно во однос на бактериските клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES.

Така, во овој дел од истражувањето, бројот на бактериски клетки по експозиција на користените температури изнесуваше 0 (нула) во примероците физиолошки раствор независно од инокулираниот бактериски сој на салмонела во кои беше додавано етерично масло од тимиајан (основен раствор) независно од уделот, односно етеричното масло од тимиајан имаше 100 % антимикробен ефект врз инокулираните бактериски клетки во физиолошкиот раствор. Ваков 100 % антимикробен ефект против *S. enteritidis* RS беше утврден кај целните примероци со смеси од брашно со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удел од 5 %, независно од температурата на експозиција, додека кај примероците со смеси од јајца овој ефект беше утврден за сите удели на основните раствори на етеричното масло од тимиајан (1 %, 2,5 % и 5 %). Според исражувањата на Millezi et al. (2011), минималната инхибиторна концентрација на етеричното масло од тимиајан (*T. vulgaris*) спрема *P. aeruginosa* и *S. enteritidis*, изразена во удели, изнесува 5% и 10%, соодветно, додека според Thanissery & Smith (2014a), комбинацијата на етеричните масла од тимиајан и портокал во удел од 0,5 % го спречува растот на бактерии од родовите *Salmonella* и *Campylobacter*. Дури и кога етеричното масло од тимиајан е додавано во многу помали удели (0,1 %), како што тоа го испитувале Karabagias et al. (2011) во сечкано јагнешко месо, пакувано во модифицирана атмосфера, утврден

бил антимикробен ефект кој резултирал со значително продолжување на рокот на траење.

Во однос на антимикробниот ефект на етеричното масло од тимџан против *S. enteritidis* ES, независно од температурата на експозиција, состојбата беше нешто поразлична. Имено, добиените резултати беа речиси идентични за целните примероци со смеса од брашно и смеса од јајца. Примероците со основен раствор на етерично масло од тимџан во удели од 1 % и 5 % имаа 100 % антимикробен ефект, додека кај примероците со основен раствор на етерично масло од тимџан во удел од 2,5 % беше утврдено присуство на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во број од 3,78 - 4,00 Log₁₀. Во контекст на другите извршени испитувања и добиени резултати овој наод не би требало да биде значаен.

Во сите останати комбинации на основни раствори на етерично масло од тимџан, смеси од брашно и смеси од јајца со основни раствори на етерично масло од тимџан, инокулирани со бактериски клетки на двата соја на салмонела, температура на експозиција и удел на етерично масло од тимџан, беа регистрирани бактериски клетки чии број се движеше од 3,6 Log₁₀ кај примероците инокулирани со бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во смеса од јајца со основен раствор на етерично масло од тимџан во удели од 1 % и 2,5 % експонирани на температура од 37 °C, до 5,85 Log₁₀ кај примероците инокулирани со бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во смеса од брашно со основен раствор на етерично масло од тимџан во удел од 2,5 % експонирани на температура од 46 °C.

Vajpai et al.. (2012) посочуваат дека MIC на етеричното масло од тимџан за инхибиција на *S. typhimurium* има широк опсег од 0,45 до 720 µL/mL, додека за инхибиција на *S. enteritidis* овој опсег е нешто потесен и се движи од 66,7 до 320 µg/ml. Слични вредности за MIC на етеричното масло од тимџан во однос на шест серовариетети на *Salmonella* добил и Bošković (2016) во своите истражувања. Така според овој автор, за инхибиција на *S. enteritidis* и *S. typhimurium* е потребно минимум 320 µg/mL етерично масло од тимџан, додека за инхибиција на *S. montevideo*, *S. senftenberg*, *S. infantis* и *S. givae* е потребно двојно поголема концентрација, односно 640 µg/mL. Во однос на активните соединенија во етеричното масло од тимџан, било утврдено дека најдобар антимикробен ефект има тимолот, при што минималната концентрација за инхибиција на *S. enteritidis* изнесувала 160 µg/mL, а за *S. montevideo*, *S. senftenberg*, *S. infantis* и *S. givae*, оваа

вредност била двојно поголема, односно 320 µg/mL. Наспроти овие истражувања, според Oulkheir et al. (2017) MIC вредноста изнесува 5 - 10 mg/mL, додека MBC изнесува 10 - 20 mg/mL.

Статистичката обработка на податоците покажа дека ефектот на додавањето на етерично масло од тимејан во физиолошки раствор (основен раствор), каде што беа инокулирани бактериските клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, независно од уделот, врз намалувањето на нивниот број во однос на контролата (физиолошки раствор со бактериски клетки од двата соја на салмонела без етерично масло од тимејан) е значајно на ниво $p < 0,05$. Статистички значајна разлика на ниво $p < 0,05$ беше утврдена помеѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, утврден во основниот раствор и бројот на бактериски клетки во смесата од брашно со основен раствор на етерично масло од тимејан, независно од уделот, како и помеѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES утврден во основниот раствор и бројот на бактериски клетки во смесата од јајца со основен раствор на етерично масло од тимејан, независно од уделот. Статистички значајна разлика на ниво $p < 0,05$ беше утврдена помеѓу бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES утврден во смесата од брашно со основен раствор на етерично масло од тимејан и бројот на бактериски клетки во смесата од јајца со основен раствор на етерично масло од тимејан, независно од уделот.

Направените статистички модели за утврдување на влијанието на фиксните променливи, уделот на етерично масло од тимејан, медиумот (физиолошки раствор, смеса од брашно, смеса од јајца) и нивната меѓусебна интеракција врз *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES, покажаа дека влијанието на уделот на додадено етерично масло од тимејан и медиумот врз намалувањето на бактериските клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES е високо статистички значајно на ниво $p < 0,001$. Интеракцијата на овие две фиксни променливи, уделот на додадено етерично масло од тимејан и медиумот, покажа поголемо влијание ($p < 0,01$) спрема намалувањето на бактериските клетки на *S. enteritidis* ES, во однос на намалувањето на бактериските клетки на *S. enteritidis* RS ($p < 0,05$), што е идентично како за интеракцијата на уделот на етеричното масло од босилек и медиумот.

Во контекст на добиените резултати од истражувањето, треба да се спомене дека поголем број автори се занимавале со испитување на антимикробното дејство на етеричното масло од тимејан врз патогени бактерии во храна од анимално

потекло, како што се јајцата, месото, млекото и производи од нив. Речиси во сите тие испитувања утврден е антимикробен ефект на етеричното масло од тимејан. Така на пример, Вошковиќ (2016) утврдил статистички значително намалување на почетниот број на бактериски клетки од повеќе видови бактерии од родот *Salmonella* ($10^6 = 6 \text{ Log cfu/g}$) инокуиран во мелено свинско месо, во кое било додавано етерично масло од тимејан во удели од 0,3 %, 0,6 % и 0,9 %. При тоа, половина од примероците биле спакувани во вакуум, а половина во модифицирана атмосфера (30 % O_2 /50 % CO_2 /20 % N_2). Сите примероци биле чувани на температура од 3 ± 1 °C. Бројот на бактериски клетки во примероците го одредувале во текот на 15 дена, во интервали од 3 дена. Намалувањето на бројот на бактериски клетки се зголемувало со зголемување на уделот на додадено етерично масло (0,3 %, 0,6 % и 0,9 %), при што кај примероците пакувани во модифицирана атмосфера бројот на бактериски клетки се намалил на 4,36, 4,06 и 2,11 log cfu/g, соодветно, а кај примероците пакувани во вакуум 4,51, 4,19 и 2,32 log cfu/g, соодветно. Најголемо намалување на бројот на бактериски клетки на *Salmonella* било регистрирано во нултиот и третиот ден од додавањето на етеричното масло од тимејан.

7.3. СПОРЕДБА НА АНТИМИКРОБНИОТ ЕФЕКТ НА ЕТЕРИЧНИТЕ МАСЛА ОД БОСИЛЕК И ТИМИЈАН ВРЗ *S. ENTERITIDIS* RS И *S. ENTERITIDIS* ES ВО ТЕСТЕНИНИ СО ЈАЈЦА И ВО СУРОВИНИ ЗА НИВНО ПРОИЗВОДСТВО

Лабораториските испитувања на антимикробниот ефект на етеричните масла од босилек и тимејан во тестенини со јајца и во сировини за нивно производство, покажаа нешто поголем антимикробен ефект на етеричното масло од тимејан во однос на етеричното масло од босилек спрема двата тестирани соја на *Salmonella*, *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES. Ова е во согласност со добиените резултат од истражувањата на некои автори. Така, Mazzarrino et al. (2015) испитувајќи го антимикробниот ефект на 21 етерично масло спрема 10 соја на *Salmonella enteritidis* и *Listeria monocytogenes*, утврдиле дека најголем антибактериски ефект имале етеричните масла од оригано, цимет, каранфилче и црвен тимејан. Подобар антимикробен ефект на етеричното масло од тимејан во однос на антимикробниот ефект на други етерични масла (магданос и кумин) додавано во удели од 0,6 % и 1,2

% врз *Staphilococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* вештачки инокулирани во говедски хамбургер чуван 4 дена на температура од 4 ± 1 °C, утврдиле и Alsaikali et al. (2016).

Во нашите истражувања, споредбата на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* независно од сојот и фазите на производство, а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимиајан во услови на симулиран процес за производството на тестенини со јајца (анализа на варијанса), покажа статистички висока значајна разлика ($p < 0,001$) во средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis*, независно од сојот, а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимиајан. Статистички позитивна значајна разлика на ниво $p < 0,05$ беше утврдена помеѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на двата соја на *Salmonella enteritidis* во контролните примероци и сите целни примероци со додадено етерично масло од босилек независно од уделот, како и помеѓу примероците со додадено етерично масло од тимиајан во удели од 1 % и 2,5 % од една страна и примероците со додадено етерично масло од тимиајан во удел од 5 %, од друга страна. Статистички позитивна значајна разлика на ниво $p < 0,05$ беше утврдена помеѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на двата соја на *Salmonella enteritidis* во контролните примероци со босилек и целните примероци со додадено етерично масло од босилек во удели од 1 % и 2,5 % и примероците со додадено етерично масло од босилек во удел од 5 %.

Споредбата на средните вредности од бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* независно од сојот и медиумот (основен раствор, смеса од брашно и смеса од јајце со основен раствор), а зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимиајан (анализа на варијанса), покажа дека постои статистички висока значајна разлика ($p < 0,001$) во средните вредности од бројот на бактериски клетки на двата соја на *Salmonella enteritidis* зависно од уделите на етеричните масла од босилек и тимиајан. Статистички позитивна значајна разлика на ниво $p < 0,05$ беше утврдена само помеѓу средните вредности на бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis*, независно од сојот во контролните примероци и на бројот на бактериски клетки на *Salmonella enteritidis* независно од сојот во целните примероци со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удели од 1 % и 5 %.

Добиените резултати од направените истражувања во оваа дисертација имаат научна и апликативна вредност. Несомнено е дека во научни цели, тие ќе дадат насоки за натамошни истражувања и со етеричните масла од други растенија. Истовремено, се овозможува проширување на интересот за истражување на ефектите на етеричните масла во производството и на други видови прехранбени продукти, особено ако се има предвид фактот дека безбедносните ризици се најголеми токму кај храната од анимално потекло.

Апликативниот придонес на ова истражување е директен, во процесот на производство на тестенини со јајца. Инхибиторниот ефект на етеричните масла од босилек и тимијан врз растот и размножувањето на бактериите од двата соја на *Salmonella*, *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во лабораториски услови кои ги репродуцираат условите на подготовка на тестенините со јајца, може да претставува основа за нивна употреба во индустриското производство со цел да се превенира контаминацијата на тестенините.

Примарната цел на сушењето во технологијата на производство на одредени видови на храна, како што се и тестенините со јајца, е да обезбеди подолго зачувување на квалитетот со намалување на содржината на влага во храната до ниво кое ризикот за микробна контаминација ќе го сведе на минимум (Cengel, 2000; Wang, 2005; Wannapakhe, 2011; Ogava, 2014). Температурата на сушење од 46 °C која се применува во индустриското производство на тестенини со јајца, а што беше практикувано и во методологијата на истражување во оваа дисертација, доволна е од аспект на спречување микробиолошки ризици. Добиениот антимикробен ефект на етеричните масла од босилек и тимијан во нашите истражувања е добар. Ова може да се искористи во процесот на индустриско производство на тестенини со јајца како дополнителен дел од технологијата на нивно производство, што би гарантирало поголема сигурност од аспект на безбедноста на финалниот производ, без при тоа да се зголемува температурата на сушење што неминовно би резултирало со зголемување на трошоците за енергија.

Намалувањето на потенцијалниот ризик од појава на салмонелоза со консумирање тестенини со јајца е поврзано со примената на добрата земјоделска практика, но и практиките во производството и ракувањето со овој вид производ.

8. ЗАКЛУЧОК

Врз основа на добиените резултати од направените испитувања за антимикробниот ефект на различни удели на етерични масла од босилек и тимиајан (1%, 2,5 % и 5 %) врз растот и размножувањето на два соја на бактерии од родот *Salmonella*: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (D) ATCC 13076 - референтен сој (*S. enteritidis* RS) и *Salmonella enteritidis* (група D) - епидемски сој (*S. enteritidis* ES), инокулирани во тестенини со јајца, во услови на симулиран индустриски процес на производство и во лабораториски услови, инокулирани во замес од брашно и во јајце од кокошка, може да се заклучи следново:

- Независно од уделот на додадено етерично масло од босилек во примероците, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS постепено се намалуваше во секоја следна фаза од процесот на производство, како кај контролните, така и кај целните примероци. Освен тоа, во сите одделни фази на производство постои тренд на намалување на бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS од контролниот примерок, без етерично масло од босилек, кон целниот примерок со додадено етерично масло од босилек во удел од 5 %.
- Независно од уделот на додадено етерично масло од босилек во целните примероци, како и во контролниот примерок, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES постепено се намалува во секоја наредна фаза од процесот на производство на тестенини со јајца. Освен тоа, намалување на концентрацијата на *S. enteritidis* ES беше утврдено во секоја одделна фаза на симулираниот процес на производство од контролниот примерок во кој немаше додадено етерично масло од босилек, спрема примерокот со додадено етерично масло од босилек во удел од 5 %.
- Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во контролните примероци, примероците без додадено етерично масло од тимиајан, како и независно од додадениот удел на етерично масло од тимиајан, постепено се намалува во секоја наредна фаза од процесот на производство, и тоа од контролните примероци спрема целните примероци во кои беше додавано етерично масло од тимиајан во удел од 5 %.

- Независно од уделот на додаденото етерично масло од тимиајан, најголем број бактериски клетки на *S. enteritidis* ES беше утврден на почетокот од симулираниот процес на производство на тестенини со јајца, фазата на замесување, во контролниот примерок, како и во целните примероци. Во секоја наредна фаза од процесот на производство, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES постепено се намалуваше, и тоа од контролниот примерок, во кој немаше додадено етерично масло од тимиајан, спрема целниот примерок со додадено етерично масло од тимиајан во удел од 5 %.
- Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во примероците со брашно и со јајца, со додавање на основен раствор на етерично масло од босилек, постепено се намалуваше од примероците со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 1 % спрема примероците со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 5 %.
- Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во примероците со брашно и со јајца со основен раствор на етерично масло од босилек постепено се намалуваше од примероците со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 1 % спрема примероците со основен раствор на етерично масло од босилек во удел од 5 %.
- Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS во примероците со брашно со основен раствор на етерично масло од тимиајан покажа намалување кај примероците со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удел од 5 %, при што намалувањето беше нешто поголемо кај примероците експонирани на 46 °C (5,38 Log₁₀) во однос на примероците експонирани на 37 °C (5,48 Log₁₀). Значително намалување во бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS беше регистрирано во примероците со јајца со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удели од 1 % и 2,5 % експонирани на температура од 37 °C, додека во примероците со основен раствор на етерично масло од тимиајан во удели од 5 % експонирани на 37 °C и примероците експонирани на 46 °C независно од додадените удели на етерично масло од тимиајан воопшто не беше утврден раст на *S. enteritidis* RS.
- Бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES во испитуваните примероци со брашно со основен раствор на етерично масло од тимиајан покажа намалување кај сите примероци независно од уделот на етеричното масло од

тимијан и независно од температурата на експозиција, при што намалувањето беше најголемо кај примероците со основен раствор на етерично масло од тимејан во удел од 5 %. Во примероците со јајца со основен раствор на етерично масло од тимејан во удели од 1 % и 5 %, независно од температурата на експонирање, воопшто не беше утврден раст на епидемскиот сој на *Salmonella*, додека кај примероците со основен раствор на етерично масло од тимејан во удел од 2,5 %, бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* ES изнесуваше 4,00 Log₁₀ за примероците експонирани на температура од 37 °C, и 3,78 Log₁₀ за примероците експонирани на температура од 46 °C.

- Според добиените резултати од статистичкиот модел, влијанието на додадените удели на етерични масла од босилек и тимејан во тестенините и симулираниот процес на производството на тестенини, покажаа високо статистички значајно влијание на ниво $p < 0,001$ врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините, додека нивната интеракција покажа статистички значајно влијание на ниво $p < 0,01$ врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во тестенините.
- Статистичките модели за влијанието на уделот на етеричните масла од босилек и тимејан врз бројот на бактериски клетки на *S. enteritidis* RS и *S. enteritidis* ES во основен раствор (FR + различни удели на ЕМ од босилек и тимејан), во брашно и во јајца со основен раствор, како и нивната интеракција, покажаа статистички значајно влијание врз бројот на бактериски клетки.
- Добиените резултати од направените истражувања во оваа дисертација имаат научна и апликативна вредност. Несомнено е дека во научни цели, тие ќе дадат насоки за натамошни истражувања и со етеричните масла од други растенија. Идните истражувања секако се неопходни и поради испитување на влијанието на други природни соединенија и нивното синергетско делување со компонентите на етаричните масла во инхибиција на патогени бактерии.

9. ЛИТЕРАТУРА

1. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food, ACMSF. (1993). Report of *Salmonella* in eggs. Advisory committee on the microbiological safety of food microbiology reports.
2. Ali, B., Al-Wabel, N.A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S.A., Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: a systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. No. 5, pp. 601–611.
3. Almajano, M.P., Carbo, R., Lopez Jimenez, J.A., Gordon, M.H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*. No. 108, pp. 55-63.
4. Alsaiqali, M., El-Shibiny, A.A., Adel, M., Abdel-Samie M.A.S., Ghoneim, S. (2016). Use of some essential oils as antimicrobial agents to control pathogenic bacteria in beef burger. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. No.11, pp. 109-120.
5. Anderson, N.M., Keller, S.E., Mishra, N., Pickens, S., Gradl, D., Hartter, T., Rokey, G., Dohl, C., Plattner, B., Chirtel, S., Grasso-Kelley, E.M. (2017). *Salmonella* inactivation during extrusion of an oat flour model food. *Journal of Food Science*. No. 82, pp. 738-743.
6. Anonymous. (2014). List of selected multistate foodborne outbreak investigations: *Salmonella*. Centers for disease control and prevention. Available at: <http://www.cdc.gov/foodsafety/outbreaks/multistateoutbreaksmultistateoutbreaks/outbreaks-list.html#salmonella>. Accessed 23 January 2014.
7. Arranz, E., Jaime, L., Lo'pez de las Hazas M.C., Rerlero, G., Santoyo, S. (2015). Supercritical fluid extraction as an alternative process to obtain essential oils with anti-inflammatory properties from marjoram and sweet basil. *Industrial Crops and Products*. No. 67, pp. 121-9.
8. Awaisheh, S. S. (2013). Efficacy of Fir and Qysoom essential oils, alone and in combination, in controlling *Listeria monocytogenes* in vitro and in RTE meat products model. *Food control*. No.34, pp. 657-661.
9. Avetisyan, A., Markosian, A., Petrosyan, M., Sahakyan, N., Babayan, A., Aloyan, S., Trchounian, A. (2017). Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. No.17, pp. 60-67.
10. Bagamboula, C., Uyttendaele, M., Debevere, J. (2003). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. *Journal of Food Protection*. No. 66, pp. 668-673.
11. Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., Debevere J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*. No. 21, pp. 33-42.
12. Bajpai, V.K., Baek, K.H., Kang, S.C. (2012). Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*. No.45, pp. 722-734.
13. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*. No. 46, pp. 446-475.
14. Ban, B., Vodopija R., Petrović, M.Z., Matica, B. (2011). Epidemiological characteristics of salmonellosis in New Zagreb during the 1990-2009 period. *Acta Medica Croatica*. No. 65, pp. 41-7.
15. Barbosa, L.N., Rall, V.L.M., Fernandes, A.A.H., Ushimaru, P.L.I., da Silva Probst, I., Fernandes, A. (2009). Essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria in minced meat. *Foodborne Pathogens and Disease*. No. 6, pp. 725-728.

16. Baron, F., Gautier, M., Brulé, G. (1999). Rapid growth of *Salmonella* Enteritidis in egg white reconstituted from industrial egg white powder. *Journal of Food Protection*. No. 62, pp. 585-591.
17. Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (2010). *Handbook of essential oils: Science, Technology and Applications*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
18. Bejarović, G. (2001). *Pasta production technology*. Tiski cvet, Novi Sad, Republic of Serbia.
19. Belaiziz, R., Bahri, F., Romane, A., Antoniotti, S., Fernandez, X., Duñach, E. (2013). Essential oil composition and antibacterial activity of the different parts of *Thymus maroccanus* Ball: an endemic species in Morocco. *Natural Product Research*. No. 27, pp. 1700-1704.
20. Bera, A., Herbert, S., Jakob, A., Vollmer, W. Gotz, F. (2005) Why are pathogenic staphylococci so lysozyme resistant? The peptidoglycan O-acetyltransferase OatA is the major determinant for lysozyme resistance of *Staphylococcus aureus*. *Molecular Microbiology*. No. 55, pp. 778–787.
21. Berghofer, L. K., Hocking, A. D., Miskelly, D., Jansson, E. (2003). Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *International Journal of Food Microbiology*. No. 85, pp. 137-149.
22. Beuchat, L.R., Komitopoulou, E., Beckers, H., Betts, R.P., Bourdichon, F., Joosten, H. Fanning, S., Ter Kuile, B. (2011). Persistence and survival of pathogens in dry food processing environments. Swammerdam Institute for Life Sciences (SILS), Faculty of Science (FNWI), [Brussels]: ILSI Europe, pp. 48.
23. Beuchat, L.R., Komitopoulou, E., Beckers, H., Betts, R.P., Bourdichon, F., Fanning, S. Joosten, H.M., Ter Kuile, B.H. (2013). Low water activity foods: increased concern as vehicles of foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*. No.76, pp. 150–172.
24. Berk, (2009). *Food Process Engineering and Technology*, third ed. Oxford: Academic Press..
25. Bibek, R., Bhumia, A. (2008). *Fundamental food microbiology*. CRS Press, Taylor Francis Group Boca Ration, London, New York.
26. Birmpa, A., Constantinou, P., Dedes, C., Bellou, M., Sazakli, E., Leotsinidis, M., Vantarakis, A. (2018). Antibacterial and antiviral effect of essential oils combined with non-thermal disinfection technologies for ready-to-eat Romaine lettuce. *Journal of Nutrition and Food Technology*. No. 1, pp. 24–32.
27. Blackburn, C. de W., Curtis, L.M., Humpheson, L., Billon, C., McClure, P.J. (1997). Development of thermal inactivation models for *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 with temperature, pH and NaCl as controlling factors. *International Journal of Food Microbiology*. No. 38, pp. 31–44.
28. Board, P.A. Fuller, R. (1974). Non-specific antimicrobial defences of the avian egg, embryo and neonate. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*. No. 49, pp. 15–49.
29. Bounatirou, S., Smiti, S., Miruel, M.G., Faleiro, L., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa, M.M., Firueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. (2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*. No. 105, pp. 146-155.
30. Bošković, M., Baltić, M., Janjić, J., Dokmanović, M., Ivanović, J., Marković, T., Marković, R. (2013). Antimikrobna aktivnost etarskih ulja na *Salmonella* spp. u mesu i proizvodima od mesa. *Lekovite sirovine*. No. 33, str. 39 – 52.
31. Bošković, M., Zdravkovic, N., Ivanovic, J., Janjic, J., Djordjevic, J., Starcevic, M., Baltic, Z.M. (2015). Antimicrobial activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano

- (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms. *Procedia Food Science*. No. 5, pp. 18- 21.
32. Bošković, M. (2016). Ispitivanje uticaja odabranih etarskih ulja na rast *Salmonella* spp. u mesu svinja pakovanog u vacuum i modifikovanu atmosferu. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
33. Boyce, T.G., Koo, D., Sverdlow, D.L. Gomez, T.M., Serrano, B., Nickey, L.N., Hickman-Brenner, F.W., Malcolm, G.B., Griffin, P.M. (1996). Recurrent outbreaks of *Salmonella enteritidis* infections in a Texas restaurant: phage type 4 arrives in the United States. *Epidemiology and Infection*. No. 117, pp. 29-34.
34. Бразилска национална агенција. Ministério da saúde. Agência nacional de vigilância sanitária, ANVISA. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 02 de janeiro de 2001.
35. Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. Garrity, G.M. (eds., 2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol. 2, parts A, B and C, Springer-Verlag, New York, NY.
36. Burley, R.W., Vadehra, D.V. (1989) *The avian egg: chemistry and biology* (New York, John Wiley).
37. Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *International Journal of Food Microbiology*. No. 94, pp. 223-253.
38. Carrasco, E., Morales-Rueda, A., García-Gimeno, R.M. (2012). Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: a review. *Food Research International*. No. 45, pp. 545–556.
39. Centers for disease control and prevention. CDC. (1990). Update: *Salmonella enteritidis* infections and shell eggs-United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. No. 39, pp. 909-12.
40. CDC. (1996). Outbreaks of *Salmonella* serotype Enteritidis infection associated with consumption of raw shell eggs-United States, 1994-1995. *MMWR Morb Mortal WklyRep*.No. 45, pp. 737-42.
41. CDC. (2003). Outbreaks of *Salmonella* serotype Enteritidis infection associated with eating shell eggs-United States, 1999-2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. No. 51, pp. 1149-52.
42. CDC. (2004). Outbreak of *Salmonella* serotype enteritidis infections associated with raw almonds—United States and Canada, 2003-2004. *Morb. Mortal.Wkly. Rep*.No. 53, pp. 484-487.
43. Cengel. Z. (2000). *Heat and mass transfer an engineering approach*, Second ed. McGraw-Hill.
44. Chen, J., Thesmar, H. S., Kerr, W. L. (2005). Outgrowth of *Salmonella* and the physical property of albumen and vitelline membrane as influenced by egg storage conditions. *Journal of Food Protection*. No. 68, pp. 2553-2558.
45. Chivandi, E., Danrarembizi, R., Nyakudya, T.T., Erlwanrer, K.H. (2016). Essential oils in food preservation. *Flavor and Safety*. Elsevier.
46. Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G. (2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. *Food Microbiology*. No. 24, pp. 607-617.
47. Cutter, C. N. (2000). Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection*. No.63, pp. 601-607.

48. De Knecht, L.V., Pires, S.M., Hald, T. (2015). Attributing foodborne salmonellosis in humans to animal reservoirs in the European Union using a multi-country stochastic model. *Epidemiology and Infection*. No. 143, pp. 1175-86.
49. de Oliveira, T. L. C., de Araújo Soares, R., Piccoli, R. H. (2013). A Weibull model to describe antimicrobial kinetics of oregano and lemongrass essential oils against *Salmonella* Enteritidis in ground beef during refrigerated storage. *Meat Science*. No.93, pp. 645-651.
50. Del Nobile, A.M., Di Benedetto, N., N. Suriano, N., A. Conte, A., C. Lamacchia, C., M.R. Corbo, R.M., Sinigaglia, M. (2009). Use of natural compounds to improve the microbial stability of Amaranth-based homemade fresh pasta. *Food Microbiology*. No. 26, pp. 151-156.
51. Donnelly, B.J., Ponte, J.G. (2000) Pasta: raw materials and processing. In "Handbook of Cereal Sci.Techonol. 2nd edn., ed. by Lorenz, K.J. and Kulp, K. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
52. Doyle, M.P., Beuchat, L.R. (2007). Food microbiology: fundamentals and frontiers. 3rd. ed. American Society for Microbiology. Washington.
53. Duan, J., Zhao, J. (2009). Antimicrobial efficiency of essential oil and freeze-thaw treatments against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* ser. Enteritidis in strawberry juice, *Journal of Food Science*. No.74, pp. 131-137.
54. Edel, W. (1994). *Salmonella* Enteritidis eradication programme in poultry breeder flocks in The Netherlands. *International Journal of Food Microbiology*. No. 21, pp. 171-8.
55. European food safety authority. EFSA. (2009). The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. *EFSA Journal*, 223.
56. EFSA. (2010). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. *EFSA Journal*, 8(1):1496.
57. EFSA. (2012). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2010. *EFSA Journal* 10(3):2597.
58. EFSA. (2013). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2011. *EFSA Journal* 11(4):3129.
59. Ela, M.A., El-Shaer, S.N., Ghanem, B.N. (1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*. No. 51, pp. 993-995.
60. Elansary, H.O., Yessoufou, K., Shokaralla, S., Mahmoud, E.A., Skalick-Voźniak, K. (2016). Enhancing mint and basil oil composition and antibacterial activity using seaweed extracts. *Industrial Crops and Products*. No. 92, pp. 50-56.
61. Elgayyar, M., Draurhon A.F., Golden, A.D., Mount, R.J. (2001). Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*. No. 64, pp. 1019-1024.
62. Elshafie, H. S., Camele, I. (2017). An overview of the biological effects of some mediterranean essential oils on human health. *BioMed Research International*, ID 9268468, vol. 2017, pp. 1-14 pages.
63. Elson, R., Little, C.L., Mitchell, R.T. (2005). *Salmonella* and raw shell eggs: Results of a cross-sectional study of contamination rates and eggs safety practices in the United Kingdom catering sector in 2003.g. *Journal of Food Protection*. No. 68, pp. 256-264.

64. Emiroglu, Z.K., Yemis, G.P., Coskun, B.K., Candoran, K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*. No. 86, pp. 283-288.
65. Eriotou, E., Anastasiadou, K., Nikolopoulos, D., Koulougliotis, D. (2015). Antimicrobial and free radical scavenging activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oil isolated from five plant varieties growing in Greece. *Journal of Nutrition & Food Sciences*. No.5, pp. 1-9.
66. Evrendilek, A.G. (2015). Empirical prediction and validation of antibacterial inhibitory effects of various plant essential oils on common pathogenic bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. No. 202, pp. 35-41.
67. FAO/WHO. (2002). Microbiological risk assessment series No. 2. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens.
68. Farakos, S. M. S., Hicks, J.W., Frank, J.E. (2014). Temperature resistance of *Salmonella* in low-water activity whey protein powder as influenced by salt content. *Journal of Food Protection*. No.77, pp. 631-634.
69. Finn, S., Condell, O., McClure, P., Amézquita, A., Fanning, S. (2013). Mechanisms of survival, responses, and sources of *Salmonella* in low-moisture environments. *Frontiers in Microbiology*. No. 4, pp. 1-15.
70. Food and Drug Administration. FDA. (2001). FDA Food Code. In.
71. Forshell, L.P., Wierup, M. (2006). *Salmonella* contamination: a significant challenge to the global marketing of animal foods products. *Revue Scientifique Technique Office International des Epizooties*. No. 25, pp. 541-554.
72. Franco B.D.G.M., Landgraf, M. (1996). *Microbiologia de alimentos*. São Paulo: Atheneu, pp.182.
73. Friedman, M., Henika, R.P., Mandrell, E.R. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*. No. 65, pp. 1545-1560.
74. Friedman, M., Henika, R.P., Levin, E. C., Mandrell, E.R. (2004). Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. No. 52, pp. 6042-6048.
75. Fyfe, L., Armstrong, F., Stewart, J. (1998). Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis by combinations of plant oils and derivatives of benzoic acid the development of synergistic antimicrobial combinations. *International Journal of Antimicrobial Agents*. No. 9, pp. 195-199.
76. Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesbrouck, F., Gast, R., Humphrey, T.J., Van Immerseel F. (2009). Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. *FEMS Microbiology Reviews*. No. 33, pp. 718-738.
77. Garrity, G.M., Boone, D.R., Castenholz, R.W. (eds., 2001). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol. 1, Springer-Verlag, New York, NY.
78. Gast, R.K., Holt, P.S. (2003). Incubation of supplemented egg contents pools to support rapid detection of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Journal of Food Protection*. No. 66, pp. 656-659.
79. Gast, R. K., Guraya, R., Guard-Bouldin, J., Holt, P. S. (2008). Multiplication of *Salmonella enteritidis* on the yolk membrane and penetration to the yolk contents at 30 °C in an in vitro egg contamination model. *Journal of Food Protection*. No 69, pp. 1426-1429.

80. Gieraltowski, L., Julian, E., Pringle, J., Macdonald, K., Quilliam, D., Marsden-Haug, N., Saathoff-Huber, L., Von Stein, D., Kissler, B., Parish, M., Elder, D., Howard-King, V., Besser, J., Sodha, S., Loharikar, A., Dalton, S., Williams, I., Behravesh, C.B. (2013). Nationwide outbreak of *Salmonella* Montevideo infections associated with contaminated imported black and red pepper: warehouse membership cards provide critical clues to identify the source. *Epidemiology and Infection*. No. 141, pp. 1244-1252.
81. Gillespie, I.A., O'Brien, S.J., Adak, G.K., Ward, L.R., Smith, H.R. (2005). Foodborne general outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 4 infection, England and Wales, 1992-2002: where are the risks? *Epidemiology and Infection*. No. 133, pp. 795-801.
82. 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*. No.137, pp. 175-180.
83. Graumann, G. H., Holley, R. A. (2008). Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 in ripening dry fermented sausage by ground yellow mustard. *Journal of Food Protection*. No. 71, pp. 486-493.
84. Greig, J.D., Todd, E.C., Bartleson, C.A., Michaels, B.S. (2007). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part1. Description of the problem, methods, and agents involved. *Journal of Food Protection*. No.70, pp. 1752-1761.
85. Grimont P., Grimont F., Bouvet P. (2000), Taxonomy of the genus *Salmonella*., In: Wray C., W.A. (Ed.) *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing. Oxon, pp. 1-17.
86. Gupta P.C., Batra, R., Chauhan, A., Goyal, P., Kaushik, P. (2009). Antibacterial activity and TLC bioautography of *Ocimum basilicum* L. against pathogenic bacteria. *Journal of Pharmacy Research*. No. 2, pp. 407-9.
87. Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, No. 27, pp. 1-93.
88. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*. No. 124, pp. 91-97.
89. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food Microbiology*. No.26, pp. 142-150.
90. Güler, S., Köksel, H., Ng, P.K.W. (2002) Effects of industrial pasta drying temperatures on starch properties and pasta quality. *Food Research International*. No. 35, pp. 421-427.
91. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. No.86, pp. 985-90.
92. Hanif, M.A., Nawaz, H., Ayub, M.A., Tabassum, N., Nazish, K., Nosheen, R., Muhammad, S., Mushtaq, A. (2017). Evaluation of the effects of zinc on the chemical composition and biological activity of basil essential oil by using Raman spectroscopy. *Industrial Crops and Products*. No. 96, pp. 91-101.
93. Hanson, D. L., Loneragan, G. H., Brown, T. R., Nisbet, D. J., Hume, M. E., Edrington, T. S. (2016). Evidence supporting vertical transmission of *Salmonella* in dairy cattle. *Epidemiology and Infection*. No. 144, pp. 962-967.
94. 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. No. 125, pp. 242-251.
95. Hazzit, M., Baaliouamer, A., Verissimo, A. R., Falerio, M. L., Miruel, M. G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian thymus oils. Food Chemistry. No. 116, pp. 714-721.
96. Hennessy, T.W., Hedberg, C.W., Slutsker, L. White, K.E., Besser-Wiek, J.M., Moen, M.E., Feldman, J., Coleman, W.W., Edmonson, L.M., MacDonald, K.L., Osterholm, M.T. (1996). A national outbreak of *Salmonella* enteritidis infections from ice cream. The New England Journal of Medicine. No. 334, pp. 1281-6.
97. Hsouna, A. B., Trigui, M., Mansour, R. B., Jarraya, R. M., Damak, M., Jaoua, S. (2011). Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Cerantia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. International Journal of Food Microbiology. No.148, pp. 66-72.
98. Hussain, A.I., Anwar, F., Hussain-Sherazi, S.T., Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry. No. 108, pp. 986-95.
99. International Commission on Microbiological Specifications for Foods, ICMSF. (1996). Microorganisms in foods: Characteristics of microbial pathogens. New York: Blackie Academic and Professional.
100. Isaacs, S., Aramini, J., Ciebin, B., Farrar, J. A., Ahmed, R., Middleton, D., Chandran, A. U., Harris, L. J., Howes, M., Chan, E., Pichette, A. S., Campbell, K., Gupta, A., Lior, L. Y., Pearce, M., Clark, C., Rodgers, F., Jamieson, F., Brophy, I., Ellis, A. (2005). An international outbreak of salmonellosis associated with raw almonds contaminated with a rare phage type of *Salmonella* Enteritidis. Journal of Food Protection. No. 68, pp. 191-198.
101. ISO 6579 standard Microbiology of food and animal feedingstuffs — Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
102. Ivić-Kolevska, S., Kocić, B. (2009). Food contamination with *Salmonella* species in the Republic of Macedonia. Foodborne Pathogens and Disease. No. 6, pp. 627-30.
103. Janning, B., Tveld, P. H. I., Notermans, S., Kramer, J. (1994). Resistance of bacterial strains to dry conditions—use of anhydrous silica-gel in a desiccation model system. Journal of Applied Bacteriology. No. 77, pp. 319-324.
104. Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. (2005). Modern Food Microbiology, 7th Ed., Springer Science and Business Media. NY, pp. 63-101.
105. Jemaa, B.M., Falleh, H., Neves, A. M., Isoda, H., Mitsutoshi Nakajima, M., Ksouri, R. (2017). Quality preservation of deliberately contaminated milk using thyme free and nanoemulsified essential oils. Food Chemistry. No. 217, pp. 726-734.
106. Jones, F.T. (2011). A review of practical *Salmonella* control measures in animal feed. Journal of Applied Poultry Research. No. 20, pp. 102-113.
107. Jones, D.R., Musgrove, M.T. (2005). Correlation of eggshell strength and *Salmonella* enteritidis contamination of commercial shell eggs. Journal of Food Protection. No. 68, pp. 2035-2038.
108. Kalily, E., Hollander, A., Korin, B., Cymerman, I., Yaron, S. (2016). Mechanisms of resistance to linalool in *Salmonella* Senftenberg and their role in survival on basil. Environmental Microbiology. No. 18, pp. 3673-3688.
109. Karabagias, I., Badeka, A., Kontominas, M. G. (2011). Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. Meat Science. No. 88, pp. 109-116.

110. Karabasil, N., Teodorović, V., Dimitrijević, M., Pavličević, N., Kureljušić, J., Đurić, S., Sočo, I., Savić Radovanović, R. (2013). Behavior of *Salmonella* Typhimurium in pork minced meat and pork skin at different storage temperatures. *Acta Veterinaria*. No. 63, pp. 655-663.
111. Karagözlü, N., Ergönül, B., Özcan, D. (2011). Determination of antimicrobial effect of mint and basil essential oils on survival of *E. coli* O157:H7 and *S. typhimurium* in fresh-cut lettuce and purslane. *Food Control*. No. 22, pp. 1851-1855.
112. Khanjari, A., Karabagias, I. K., Kontominas, M. G. (2013). Combined effect of N, O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat fillets. *LWT-Food Science and Technology*. No.53, pp. 94-99.
113. Kia, P.Y., Safajou, F., Shahnazi, M., Nazemiyeh, H. (2014). The effect of lemon inhalation aromatherapy on nausea and vomiting of pregnancy: A double-blinded, randomized, controlled clinical trial. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. No 16, e 14360.
114. Kill R.C., Turnbull K. (2008). *Pasta and semolina technology*, Wiley, Hoboken, Blackwell Science.
115. Kisluk, G., Kalily, E., Yaron, S. (2013). Resistance to essential oils affects survival of *Salmonella enterica* serovars in growing and harvested basil. *Environmental Microbiology*. No. 15, pp. 2787-2798.
116. Koga, T., Hirota, N., Takumi, K. (1999). Bactericidal activities of essential oil of basil and sage against a range of bacteria and the effect of these essential oils on *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiology Research*. No. 154, pp. 267-73.
117. Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*. No. 26, pp. 475-482.
118. Krieg, N.R., Ludwig, W., Whitman, W.B., Hedlund, B.P., Paster, B.J., Staley, J.T., Ward, N. & Brown, D. (eds., 2010). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol. 4, Springer-Verlag, New York, NY.
119. Lachowicz, K.J., Jones, P.G., Brirrs, R.D., Bienvenu, E.F., Wan, J., Wilcock, A. Coventry, J.M. (1998). The synergistic preservative effects of essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) against acid tolerant food microflora. *Letters in Applied Microbiology*. No. 26, pp. 209-214.
120. Landry, S.K., Micheli, S., McClements, J.D., McLandsborough, L. (2015). Effectiveness of a spontaneous carvacrol nanoemulsion against *Salmonella enterica* Enteritidis and *Escherichia coli* O157:H7 on contaminated broccoli and radish seeds. *Food Microbiology*. No. 51, pp. 10-17.
121. Leuschner, R.G.K., Boughtflower, M.P. (2001). Standardized Laboratory-Scale Preparation of Mayonnaise Containing Low Levels of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Journal of Food Protection*. No. 64, pp. 623-629.
122. Lievonon, S., Havulinna, A.S., Maijala, R. (2004). Egg Consumption Patterns and *Salmonella* Risk in Finland. *Journal of Food Protection*. No.67, pp. 2416-2423.
123. Linscott, A. J. (2011). Food-borne illnesses. *Clinical Microbiology Newsletter*. No. 33, pp. 41-45.
124. Little, C.L., Rhoades, J.R., Hucklesby, L., Greenwood, M., Surman-Lee, S., Bolton, F.J., Meldrum, R., Wilson, I., McDonald, C., de Pinna, E., Threlfall, E.J., Chan, C.H. (2008). Survey of *Salmonella* Contamination of Raw Shell Eggs Used in Food

- Service Premises in the United Kingdom, 2005 through 2006. Journal of Food Protection. No. 71, pp. 19-26.
125. López-Pueyo, M.J., Barcenilla-Gaite, F., Amaya-Villar, R., Garnacho-Montero, J. (2011). Antibiotic multiresistance in critical care units. *Medicina Intensiva/Sociedad Española de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias*. No. 35, pp. 41–53.
126. 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*. No.44, pp. 3057-3064.
127. Macmanus, C.N. (2009). Effect of drying temperature and drying air velocity on the drying rate and drying constant of cocoa bean. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. No. 1091, pp. 1-7.
128. Mahmoud, B.S.M. (2011). *Salmonella* – a dangerous foodborne pathogen. Published by InTech. Rijeka, Croatia.
129. Mamat, K.A., Yusof, M.S., Fauziah, W., Yusoff, W., M. Rahim, Z., Hassan, S., Qusyairi, M., Rahman, A., Abd Karim, M.A. (2017). Dehydration of traditional dried instant noodle (mee siput) using controlled temperature & humidity dryer. *IOP Conf. Series, Mechanical Engineering, Science and Technology International Conference*. 203 (2017) 012009, pp. 1-7.
130. Martelli, F., Davies, R.H. (2012). *Salmonella* serovars isolated from table eggs: A overview. *Food Research International*. No. 45, pp. 745-754.
131. Mazzarrino, G., Paparella, A., Chaves-Lopez, C., Faberi, A. Sergi M., Sigismondi C., Compagnone D., Serio A. (2015). *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* inactivation dynamics after treatment with selected essential oils. *Food Control*. No. 50, pp. 794-803.
132. McCallum, L., S. Paine, S., Sexton, K., Dufour, M., Dyet, K., Wilson, M., Campbell, D., Bandaranayake, D., Hope. V. (2013). An outbreak of *Salmonella* Typhimurium phage type 42 associated with the consumption of raw flour. *Foodborne pathogens and disease*. No.10, pp. 159-164.
133. Meena, M.R., Sethi, V. (1994). Antimicrobial activity of essential oils from spices. *Journal of Food Science and Technology*. No. 31, pp. 68-70.
134. Messens, W., Grijspeerdt, K., De Reu, K., de Ketelaere, B., Mertens, K., Bamelis, F., Kemps, B., De Baerdemaeker, J., Decuypere, E., Herman, L. (2007). Eggshell penetration of various types of hens's eggs by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Journal of Food Protection*. No. 70, pp. 623-628.
135. Mishu, B., Koehler, J., Lee, L.A. Rodrigue, D., Brenner, F.H., Blake, P., Tauxe, R.V. (1994). Outbreaks of *Salmonella* Enteritidis infections in the United States, 1985-1991. *Journal of Infectious Diseases*. No. 169, pp. 547-52.
136. Miladi, H., Tarek Zmantar, T., Yassine Chaabouni, Y., Kais Fedhila, K., Amina Bakhrouf, A., Mahdouani, K., Chaieb, K. (2016). Antibacterial and efflux pump inhibitors of thymol and carvacrol against food-borne pathogens. *Microbial Pathogenesis*. No. 99, pp. 95-100.
137. Mijatović I. (2016). Molekularna karakterizacija i antimikrobna osetljivost *Salmonella enterica* podvrste enteric izolovanih od živine sa područja Crne Gore. Doktorska disertacija. Departman za veterinarsku medicinu. Poljoprivredni fakultet. Univerzitet u Novom Sadu.
138. Milanović, M., Mugoša, B., Nikolić, G., Ljaljević, A. (2014). Epidemiološke karakteristike salmoneloza u Crnoj Gori od 2001. do kraja 2011. doi: 10.5937/cma2-5967.

139. Millezi, A.F., Caixeta, D.S., Rossoni, D.F., Cardoso, M.G., Piccoli, R.H. (2011). In vitro antimicrobial properties of plant essential oils thymus vulgaris, cymbopogon citratus and laurus nobilis against five important foodborne pathogens. *Ciência e Tecnologia de Alimentos Campinas*. No. 32, pp. 167-172.
140. Mith, H., Yayi-Ladékan, E., Kpoviessi, S.D.S., Bokossa, I.Y., Moudachirou, M., Georges, D., Antoine, C. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Ocimum basilicum*, *Ocimum canum* and *Ocimum gratissimum* in function of harvesting time. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. No. 19, pp. 1413-1425.
141. Miyagawa, S., Matsumoto, K., Kamata, R., Okamura, R., Maeda, H. (1991). Spreading of *Serratia marcescens* in experimental keratitis and growth suppression by chicken egg white ovomacroglobulin. *Japanese Journal of Ophthalmology*. No. 35, pp. 402-410.
142. Moghaddam D.M.A., Shayerh, J., Peyman Mikaili, P., Sharaf, D.J. (2011). Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*. No. 5, pp. 3453-3456.
143. Morita, T., Kitazawa, H., Iida, T., Kamata, S. (2006). Prevention of *Salmonella* cross contamination in an oilmeal manufacturing plant. *Journal of Applied Microbiology*. No. 101, pp. 464-473.
144. Murase, T., Holt, P. S., Gast, R.K. (2005). Growth of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in Albumen and Yolk Contents of Eggs Inoculated with This Organism onto the Vitelline Membrane. *Journal of Food Protection*. No. 68, pp. 718-721.
145. Nabrdalik, M., Grata, K. (2016). Antibacterial activity of *Ocimum basilicum* L. essential oil against Gram-negative bacteria. *Post Fitoterapia*. No. 17, pp.80-86.
146. Naidu, A. S. (2000). Overview. In A. S. Naidu (Ed.), *Natural food antimicrobial systems* (1-16). Boca Raton, Florida: CRC Press.
147. Nair, D.V.T., Nannapaneni, R., Kiess, A., Schillir, W., Sharma, C.S. (2014). Reduction of *Salmonella* on turkey breast cutlets by plant-derived compounds. *Foodborne Pathogens and Disease*. No. 11, pp. 981-987.
148. Nedorostova, L., Kloucek, P., Kokoska, L., Stolcova, M., Pulkrabek, J. (2009). Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control*. No. 20, pp. 157-160.
149. Newel, D.G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threfall, 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*. No. 30, pp. 3-15.
150. Niculae, M., Spînu, M., Şandru, C.D., Brudaşă, F., Cadar, D., Szakacs, B., Scirtu, I., Bolfă, P., Mateş, C.I. (2009). Antimicrobial potential of some Lamiaceae essential oils against animal multiresistant bacteria. *Lucrări Ştiinţifice Medicină Veterinară Timoara*. No. 42, pp. 170-175.
151. Ogawa, T. (2014). *Drying and Rehydration Kinetics of Pasta*. Thesis or Dissertation. Kyoto University.
152. Olsen, A.R., Hammack, T.S. (2000). Isolation of *Salmonella* spp. from the house fly, *Musca domestica* L., and the dumpfly *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), a taged-layerhouses. *Journal of Food Protection*. No.63, pp. 958-960.
153. Opalchenova, G., Obreshkova D. (2003). Comparative studies on the activity of basil an essential oil from *Ocimum basilicum* L. against multidrug resistant clinical

- isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *Journal of Microbiological Methods*. No. 54, pp. 105-110.
154. Ou, M.C., Hsu, T.F., Lai, A.C., Lin, Y.T., Lin, C.C. (2012). Painrelief assessment by aromatic essential oil massage on outpatients with primary dysmenorrhea: a randomized, double-blind clinical trial. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. No.38, pp. 817–822.
155. Ouibrahim, A., Tlili-Ait-kaki, Y., Bennadja, S., Amrouni, S., Djahoudi, A.G., Djebar, M.R. (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *Global Journal of Medical Microbiology Reviews*. No.1, pp. 65-70.
156. Oulkheir, S., Aghrouh, M., El Mourabit, F., Dalha, F., Graich, H., Amouch, F., Ouzaid, K., Moukale, A., Chadli, S. (2017). Antibacterial Activity of Essential Oils Extracts from Cinnamon, Thyme, Clove and Geranium Against a Gram Negative and Gram Positive Pathogenic Bacteria. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. No. 3, pp. 1-5.
157. Paduch, R., Kandefer-Szerszen, M., Trytek, M., Fiedurek, J. (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. No. 55, pp. 315-27.
158. Papadopoulos, T., Petridou, E., Zdragas, A., Mandilara, G., Nair, S., Peters, T., Chattaway, M., de Pinna, E., Passiotou, M., Vatopoulos, A. (2016). Comparative study of all *Salmonella enterica* serovar Enteritidis strains isolated from food and food animals in Greece from 2008 to 2010 with clinical isolates. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. No. 35, pp. 741-6.
159. Pauli, A., Schilche, H. (2009). In Vitro antimicrobial activities of essential oils monographed in the European pharmacopoeia, in *Handbook of essential oils; Science, Technology, and Applications*, K. H'usn'u, C. Baser, and G. Buchbauer, Eds., Chapter 12, pp. 353–547, CRC Press.
160. Pavlović, N., Maris, S., Zlatar, B., Purčić-Kljajić, D. (2014). Hrana izvor zaražavanja u epidemijama salmoneloza-istraživanje jačine dokaza. *Simpozijum – Bezbednost i kvalitet namirnica animalnog porekla*, str. 6-18.
161. Pennycott, T., Park, A., Mather, H. (2006). Isolation of different serovars of *Salmonella enterica* from wild birds in Great Britain between 1995 and 2003. *Veterinary Record*. No. 158, 817-820.
162. Peštorić, M., Pojić, M., Filipčev, B., Simurina, O., Torbica, A., Janic Hajnal, E. (2015). Sensory differentiation of commercially produced spaghetti. *Food and Feed Research*. No. 42, pp. 109–117.
163. Phelps, C.F., Antonini, E. (1975) A study of the kinetics of iron and copper binding to hen ovotransferrin. *Biochemical Journal*. No. 147, pp. 385–391.
164. Plavšić, V.D., Psodorov, B.Đ., Kalenjuk, M.B., Tešanović, V.D., Šarić, Č.LJ., Čabarkapa, S.I., Filipović, S.J. (2010). Comparison of microbiological safety of pasta and pasta related products depending on the conditions of production, *Food and Feed Research*. No.2, pp. 51-58.
165. Podolak, R., Enache, E., Stone, W., Black, D.G. Elliott, P.H. (2010). Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of *Salmonella* in low-moisture foods. *Journal of Food Protection*. No. 73, pp. 1919–1936.
166. Poirier, E., Watier, L., Espie, E., Weill, F.X., De Valk, H., Desenclos, J.C. (2008). Evaluation of the impact on human salmonellosis of control measures targeted to *Salmonella enteritidis* and *typhimurium* in poultry breeding using time-series

- analysis and intervention models in France. *Epidemiology and Infection*. No. 136, pp. 1217-24.
167. Popoff, M.Y., Bockemuhl, J., Hickman-Brenner, F.W. (1996). Kauffmann-white scheme. *Research Microbiology*. No. 147, pp. 756-9.
168. Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. No. 6, pp. 39.
169. Putra, N.R., Ajiwiguna, A.T. (2017). Influence of air temperature and velocity for drying process. *Procedia Engineering*. No. 170, pp. 516-519.
170. Rameshkumar, K. B., Georre, V., Shiburaj, S. (2007). Chemical constituents and antibacterial activity of the leaf oil of *Cinnamomum chemungianum* Mohan et Henry. *Journal of Essential Oil Research*. No. 19, pp. 98-100.
171. Rattanachikunsopon, P., Phumkhachorn, P. (2010). Antimicrobial Activity of Basil (*Ocimum basilicum*) Oil against *Salmonella* Enteritidis in Vitro and in Food. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. No. 74, pp. 1200-1204.
172. Raut, J.S., Karuppayil, S.M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*. No. 62, pp. 250-64.
173. Raybaudi-Massilia, R.M., Mosqueda-Melrar, J., Martín Belloso, O. (2006). Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in fruit juices. *Journal of Food Protection*. No. 69, pp. 1579-1586.
174. Rayman, M.K., D'Aoust, J.Y., Aris, B., Maishment, C., Wasik, R. (1979). Survival of microorganisms in stored pasta. *Journal of Food Protection*. No. 42, pp. 330-334.
175. Rašeta, M., Teodorović, V., Bunčić, O., Katić, V., Branković Lazić, I., Polaček, V., Vidanović, D. (2014). Antibiotic resistance and molecular studies on *Salmonella enterica subspecies enterica serovar* Infantis isolated in human cases and broiler carcasses. *Acta Veterinaria*. No. 64, pp. 257-268.
176. Ricci, V., Francesca Barone, F., Petrella, L. (2017). Microbiological quality of industrial and artisanal pasta from Italian market. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*. No. 3, pp. 44-49.
177. Richter, K.S., Dorneanu, E., Eskridge, K.M., Rao, C.S. (1993). Microbiological quality of flours. *Cereal Foods World*. No. 38, pp. 367-369.
178. Rivera Calo, J., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Ricke, S. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems—a review. *Food Control*. No. 54, pp. 111-19.
179. Roldán, L.P., Díaz, G.J., Durringer, J.M. (2010). Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the Lamiaceae family against pathogenic and beneficial bacteria. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. No. 23, pp. 451-461.
180. Sabulal, B., Georre, V., Pradeep, N. S., Dan, M. (2008). Volatile oils from the root, stem and leaves of *Schefflera stellata* (Gaertn.) Harms (Araliaceae): Chemical characterization and antimicrobial activity. *Journal of Essential Oil Research*. No. 20, pp. 79-82.
181. Sajjadi S.E. (2006). Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *Daru Journal of Pharmaceutical Sciences*. No. 14, pp. 128-130.
182. Sampathkumar, B., Khachatourians, G.C., Korber, D.R. (2003). High pH during trisodium phosphate treatment causes membrane damage and destruction of *Salmonella enterica serovar* Enteritidis. *Applied and Environmental Microbiology*. No. 69, pp. 122-129.

183. Saxena, I., Tayyab, S. (1997). Protein proteinase inhibitors from avian egg whites. Cellular and Molecular Life Sciences. No. 53, pp. 13–23.
184. Schroeder, C.M., Latimer, H.K., Schlosser, W.D., Golden, N.J., Marks, H.M., Coleman, M.E., Hogue, A.T., Ebel, E.D., Quiring, N.M., Kadry, A.R., Kause, J. (2006). Overview and summary of the Food Safety and Inspection Service risk assessment for *Salmonella enteritidis* in shell eggs. Foodborne Pathogens and Disease. No. 3, pp. 403-12.
185. Schroeder, C.M., Naugle, A.L., Schlosser, W.D., Allan, T., Hogue, T., Frederick, I., Angulo, J., Rose, J.S., Ebel, E.D., Disney, W.T., Holt, K.G., Goldman, D.R. (2005). Estimate of illnesses from *Salmonella* Enteritidis in eggs, United States, 2000. Emerging Infectious Diseases, No. 11, pp. 113-115
186. Scioscia, E., Viola, C., Colicchio, R., Pagliuca, C., Grazia Volpe, M., DiStasio, M., Varricchio, E., Salvatore, P., Pagliarulo, C. (2016). Microbiological profil shelf life of fresh pasta subjected to several cycles of pasteurization. 2nd IMEKO FOODS Promoting Objective and Measurable Food Quality & Safety, October, 2nd-5th 2016, Benevento, Italy.
187. Seviar, E.M., Board, R.G. (1972) Bacterial growth in albumen taken from the eggs of domestic hens and waterfowl. British Poultry Science. No. 13, pp. 557–575.
188. Shelef, L. A., Jyothi, E. K., Bulgarellii, M. A. (1984). Growth of enteropathogenic and spoilage bacteria in sage-containing broth and foods. Journal of Food Science. No.49, pp. 737-740.
189. Shirazi, M.T., Gholami, H., Kavooosi, G., Rowshan, V., Tafsiry, A. (2014). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. Food Science and Nutrition. No. 2, pp. 146-155.
190. Silva, C., Calva, E., Maloy, S. (2014). One health and food-borne disease: *Salmonella* transmission between humans, animals, and plants. Microbiology Spectrum. No. 2, pp. 1-9.
191. Simitzis, P. E., Deligeorgis, S.G., Bizelis, J.A., Dardamani, A., Theodosiou, I., Fegeros, K. (2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. Meat Science. No.79, pp. 217-223.
192. Singh, A., Singh, R. K., Bhunia, A. K., Singh, N. (2003). Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. LWTeFood Science and Technology. No.36, No. 787-794.
193. Siroli, L., Patrignani, F., Fausto Gardini, F., Lanciotti, R. (2015). Effects of sub-lethal concentrations of thyme and oregano essential oils, carvacrol, thymol, citral and trans-2-hexenal on membrane fatty acid composition and volatile molecule profile of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Salmonella* Enteritidis. Food Chemistry. No. 182, pp. 185-192.
194. Smith, D.F., Marks, B. P. (2015). Effect of rapid product desiccation or hydration on thermal resistance of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis PT 30 in wheat flour. Journal of Food Protection. No. 78, pp. 281-286.
195. Sofos, J. N. (2008). Challenges to meat safety in the 21st century. Meat Science. No.78, pp. 3-13.
196. Souza de L.E. (2016). The effects of sublethal doses of essential oils and their constituents on antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance among food-related bacteria: A review. Trends in Food Science & Technology. No. 56, pp. 1-12.

197. Srivastava, H.C., Shukla, P., Tripathi, S., Shanker, B. (2014). Antioxidant and antimicrobial activities of sweet basil oils. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. No. 5, pp. 279-285.
198. Stefanello, M. E. A., Cervi, A. C., Ito, I.Y., Salvador, M. J., Wisniewski, A., Simionatto, E. L. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Eugenia chlorophylla* (Myrtaceae). *Journal of Essential Oil Research*. No. 20, pp. 75-78.
199. Tajkarimi, M.M., Ibrahim, A.S., Cliver, O.D. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. No. 21, pp. 1199-1218.
200. Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., ... Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. No. 93, pp. 2707-2714.
201. Tešanović, D. (2010). Sanitarna zaštita i bezbednost u hotelijerstvu. Univerzitet u Beogradu, Visoka hotelijerska škola strukovnih studija, Beograd.
202. Thanissery, R., Smith, D.P. (2014a). Marinade with thyme and orange oils reduces *Salmonella* Enteritidis and *Campylobacter coli* on inoculated broiler breast fillets and whole wings. *Poultry Science*. No. 93, pp. 1258-1262.
203. Thanissery, R., Smith, D. P. (2014b). Effect of marinade containing thyme and orange oils on broiler breast fillet and whole wing aerobic bacteria during refrigerated storage. *Journal of Applied Poultry Research*. No. 23, pp. 228-232.
204. Tisserand, R. (1995). *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. Churchill Livingstone.
205. Todd, E.C., Greig, J.D., Bartleson, C.A., Michaels, B.S. (2009). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 6. Transmission and survival of pathogens in the food processing and preparation environment. *Journal of Food Protection*. No. 72, pp. 202-219.
206. Tolonen, M., Rajaniemi, S., Pihlava, J. M., Johansson, T., Saris, P. E. J., Ryhanen, E. L. (2004). Formation of nisin, plant-derived biomolecules and antimicrobial activity in starter culture fermentations of sauerkraut. *Food Microbiology*. No. 21, pp. 167-179.
207. Tornuk, F., Cankurt, H., Ozturk, I., Sagdic, O., Bayram, O., Yetim, H. (2011). Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium on fresh cut carrots and apples. *International Journal of Food Microbiology*. No. 148, pp. 30-5.
208. Toroglu, S. (2007). In vitro antimicrobial activity and antagonistic effect of essential oils from plant species. *Journal of Environmental Biology*. No. 28, pp. 551-559.
209. Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G., Bisignano, G. (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. No. 49, pp. 2474-8.
210. Ultee, A., Bennik, M. H. J., Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. No. 68, pp. 1561-1568.
211. Un Ho King, C., Benedicto, A. (2014). Effects of egg content on the quality and shelf-life of boiled noodles (Miki). *DLSU Research Congress 2014*, De La Salle University, Manila, Philippines, pp. 6-8.
212. Wang, J., Xia, S.Y. (2005). Drying characteristics and drying quality of carrot using a two-stage microwave process. *Journal of Food Engineering*. No. 64, pp. 505-511.

213. Wannapakhe, S., Chaiwong, T., Dandee, M., S., Prompakdee, S. (2011). Hot air dryer with closed-loop oscillating heat pipe with check for reducing energy in drying process I-SEEC, pp. 77-82.
214. Watanabe, E., Kuchta, K., Kimura, M., Rauwald, H.W.I., Kamei, T., Imanishi, J. (2015). Effects of bergamot (*Citrus bergamia* (Risso)Wright & Arn.) essential oil aromatherapy on mood states,parasympathetic nervous system activity, and salivary cortisollevels in 41 healthy females. *Forschende Komplementarmedizin*. No.22, pp. 43–49.
215. Wesierska, E., Saleh, Y., Trziszka, T., Kopec, W., Siewinski, M.Korzekwa, K. (2005) Antimicrobial activity of chickenegg white cystatin. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. No.21, pp. 59–64.
216. Whitman, W.B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Ludwig, W. & Suzuki, K.-i. (eds., 2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol. 5, parts A and B, Springer-Verlag, New York, NY.
217. Wrigley, C., Corke, H., Walker, C.E. (2004). *Encyclopedia of grain science*. 1st ed. Oxford: Elsevier.
218. Valenti, P., De Stasio, A., Mastromerino, P., Seganti, L., Sinibaldi, L. Orsi, N. (1981) Influence of bicarbonate and citrate on the bacteriostatic action of ovotransferrin towards staphylococci. *FEMS Microbiology Letters*. No. 10, pp. 77–79.
219. Van Doren, J.M., Neil, K.P., Parish, M., Gieraltowski, L., Gould, L.H., Gombas, K. L. (2013). Foodborne illness outbreaks from microbial contaminants in spices, 1973–2010. *Food Microbiology*. No. 36, pp. 456–464.
220. Vardar-Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E., Tepe, B. (2003). Antimicrobial and antitoxic activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. No. 51, pp. 63-67.
221. Viuda-Martos, M., Rúaiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J.A. (2011). Spices as functional foods. *Crit. Rev. Food Science and Food Safety*. No. 51, pp. 13-28.
222. Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H. & Whitman, W.B. (eds., 2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol. 3, Springer-Verlag, New York, NY.
223. Yap, P.S.X., Lim, S.H.E., Hu, C.P., Yiap, B.C. (2013). Combination of essential oils andantibiotics reduce antibiotic resistance in plasmid-conferred multidrug resistant bacteria. *Phytomedicine*. No. 20, pp. 710-713.
224. Yap, P.S.X., Yiap, B.C., Ping, H.C., Lim, S.H.E. (2014). Essential oils, a new horizon incombating bacterial antibiotic resistance. *Open Microbiology Journal*. No. 8, pp. 6-14.
225. Yoshikawa, T.T., Herbert, P., Oill, P.A. (1980). Salmonellosis teaching conference, Harbor-UCLA Medical Center, Torrance (Specialty Conference). *Western Journal of Medicine*. No.133, pp. 408-417.
226. Zanoni, B. (2006). *Tecnologia Alimentare. La classe delle operazioni unitarie di disidratazione per la conservazione dei prodotti alimentari*, Vol. I, Firenze, Firenze University Press.
227. Złotek, U., Monika Michalak-Majewska, M., Szymanowska, U. (2016). Effect of jasmonic acid elicitation on the yield, chemical composition, and antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oil of lettuce leaf basil (*Ocimum basilicum* L.). *Food Chemistry*. No. 213, pp. 1–7.

228. Škrinjar, M., Nemet, T. N. (2009). Antimicrobial effects of spices and herbs essential oils. *Acta Periodica Technologica*. No. 40, pp. 195-209.
229. Švabić-Vlahović, M. (2008). *Medicinska bakteriologija*, Savremena administracija, Beograd.