

Ispitivanje zdravstvene ispravnosti trajnih mesnih konzervi

Keškić, Marta

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:119019>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija
(Prehrambena tehnologija)

Marta Keškić

6460/PT

**ISPITIVANJE ZDRAVSTVENE ISPRAVNOSTI TRAJNIH MESNIH
KONZERV**

Modul: Kemija i tehnologija mesa i ribe

Mentor: Dr.sc. *Helga Medić*, red. prof.

Zagreb, 2016.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe

ISPITIVANJE ZDRAVSTVENE ISPRAVNOSTI TRAJNIH MESNIH KONZERV *Marta Keškić, 6460/PT*

Sažetak:

Konzerviranje mesa i mesnih prerađevina u svrhu produljenja trajnosti i prihvatljive kvalitete oduvijek je bio izazov za prehrambenu industriju. Dobra održivost i mikrobiološka ispravnost mesnih konzervi, zasnivaju se na toplinskoj obradi gdje se reducira najveći broj mikroorganizama. Mesne konzerve su proizvodi od različitih vrsta mesa, masnog tkiva, iznutrica, kožica, vezivnog tkiva i dodatnih sastojaka ili mesnih prerađevina, koji se nakon obrade toplinski tretiraju postupcima pasterizacije i sterilizacije u hermetički zatvorenoj ambalaži. Cilj ovog rada bio je ispitati zdravstvenu ispravnost trajnih mesni konzervi nakon isteka roka trajanja, na uzorcima mesnog doručaka, hašea, goveđeg nareška i pileće paštete. Određivan je ukupan broj mikroorganizama, oksidacija masti te udjel vode. Usporedbom rezultata s parametrima propisanim pravilnicima za svaki određeni proizvod, došlo se do zaključka da je samo pileća pašteta zdravstveno ispravna.

Ključne riječi: mesne konzerve, sterilizacija, mikroorganizmi, lipidna oksidacija

Rad sadrži: 23 stranice, 7 tablica, 21 literaturnih navoda,

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *prof.dr.sc. Helga Medić*

Pomoć pri izradi: *dr.sc Nives Marušić Radovčić, viši asistent*

Rad predan: lipnja, 2016

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

**University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Undergraduate studies Food Technology
Department of Food Engineering
Laboratory for Meat and Fish Technology**

ANALYSING FOOD SAFETY OF DURABLE CANNED MEAT *Marta Keškić, 6460/PT*

Abstract:

Preserving of meat and meat products for the purpose of extending shelf life and ensuring its safety and quality has always been a challenge for the food industry. Good sustainability and microbiological safety are based on heat treatments where the microbiological load of the product is drastically reduced. Canned meats are products from a wide range of meats, animal fats, intestines, skins, connective tissues and additional ingredients or meat products that are, after the formulation, processed by pasteurization or sterilization in hermetically sealed containers. The aim of this study was to determine the food safety of canned meats after the expiration date. The analysis was carried out on four different types of canned meats: luncheon meat, hash, canned beef and a chicken paté. The goal was to determine the total count of microorganisms, the oxidation level of the fats and water content. By comparing the results with the parameters laid out in the regulations for every specific product, it was concluded that the only viable and safe product was the chicken paté.

Keywords: *canned meat, pasteurization, sterilization, microorganisms, lipid oxidation*

Thesis contains: 23 pages, 7 tables, 21 references

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *prof. Helga Medić, PhD*

Technical support and assistance: *Nives Maručić Radovčić, PhD*

Thesis delivered: June, 2016

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Povijest mesnih konzervi	2
2.2. Meso	3
2.2.1. Kemijski sastav mesa	3
2.2.1.1. Proteini	3
2.2.1.2. Lipidi	4
2.2.1.3. Dušikovi i nedušikovi spojevi	4
2.2.1.4. Vitamini i minerali	5
2.2.1.5. Voda	5
2.3. Svojstva mesnih konzervi.....	5
2.3.1. Polutrajne i trajne konzerve.....	7
2.3.1.1. Polutrajne konzerve.....	7
2.3.1.2. Trajne konzerve.....	8
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	9
3.1. Materijal	9
3.2. Metode rada.....	10
3.2.1. Određivanje ukupnog broja mikroorganizama (Određivanje aerobnih mezofilnih bakterija HRN EN ISO 4833:2008)	10
3.2.1.1. Priprema fiziološke otopine	10
3.2.1.2. Priprema mikrobiološke podloge	10
3.2.1.3. Priprema uzoraka za mikrobiološko ispitivanje	11
3.2.2. Određivanje udjela vode gravimetrijski	12

3.2.3. Određivanje lipidne oksidacije.....	13
3. REZULTATI.....	14
4.1. Rezultati određivanja ukupnog broja mikroorganizama u uzorcima mesnih konzervi.....	15
4.2. Rezultati određivanja udjela vode u uzorcima mesnih konzervi.....	15
4.3. Rezultati TBA vrijednosti u uzorcima mesnih konzervi	16
5. RASPRAVA.....	17
6. ZAKLJUČCI	20
7. LITERATURA.....	21

1. UVOD

Meso je jedna od osnovnih i nutritivno najvrjednijih namirnica za pripremu hrane u mnogim kulturama diljem svijeta. Ono je i jedna od namirnica s najvećim udjelom proteina koji ovisno o vrsti, starosti i uhranjenosti životinje iznosi od 17-23%. Pod mesom na tržištu ili u preradi podrazumijevamo mišićno i masno tkivo, iznutrice i kože, cijele komade mesa, mesne odreske ili usitnjeno meso i masno tkivo, strojno otkoštено meso, kosti ovisno o vrsti stoke, peradi ili divljači.

Osim što služi za ljudski prehranu, meso je idealna podloga za rast mikroorganizama, jer je dobar izvor aminokiselina i dušika (Zimbardo i sur., 2009). Kada se mikroorganizmi u hrani krenu razmnožavati, proizvode toksine, koji su štetni, a mogu biti i smrtonosni za ljude (Billy i Wachsmuth, 1997).

U današnje vrijeme mikrobiološka kontaminacija mesa predstavlja ozbiljan rizik za zdravlje potrošača te je najuspješnija metoda očuvanja mesa konzerviranje. Konzerviranjem mesa ne samo da poboljšavamo njegov okus, već osiguravamo uništavanje patogenih i sporogenih mikroorganizama te omogućavamo da se hranom lako rukuje i transportira. Bakterijske vrste koje najčešće kontaminiraju meso su *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria* i bakterije roda *Bacillus* (Nasser, 2015).

Mesne konzerve su proizvodi dobiveni termičkom obradom različitih vrsta mesa, mesa, masnog tkiva, iznutrica, kože, vezivnog tkiva i dodatnih sastojaka ili mesnih prerađevina, koji se nakon obrade pune u hermetički zatvorenu ambalažu: limenke, staklenke, tube, posude i ovitke od prikladnog materijala te konzerviraju postupcima pasterizacije ili sterilizacije.

Cilj ovog rada bio je ispitati zdravstvenu ispravnost trajnih mesni konzervi nakon isteka roka trajanja, na uzorcima mesnog doručaka, hašea, goveđeg nareška i pileće paštete. Određivan je ukupan broj mikroorganizama, oksidacija nezasićenih masnih kiselina i masti te udjel vode.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Povijest mesnih konzervi

Povijest konzerviranja seže još u 18. stoljeće kada je Napoleon Bonaparte, u nastojanjima da osigura dovoljno hrane i unaprijedi opskrbu ratnih jedinica, ponudio 12 000 franaka onome tko izmisli postupak kojim će se u što većoj mjeri i kroz što duži period očuvati izvorna kvaliteta neke namirnice, tj. spriječiti njezino kvarenje i degradacija.

Petnaest godina kasnije, Nicola Apper, slastičar koji je živio nedaleko od Pariza, otkrio je novu tehniku kako izbjeći fermentaciju i truljenje namirnica koja je po njemu nazvala apertizacija. Sama riječ apertizacija, postala je sinonim za obradu (procesiranje) hrane koristeći vruću vodenu kupku. Postupak se sastojao od prokuhavanja namirnica, njihovog hermetičkog zatvaranja u staklene boce te konačnog prokuhavanja napunjenih boca. Hrana dobivena takvim postupkom pokazala se idealnim rješenjem za vojne pohode i dugotrajne plovidbe, kada je trebalo organizirati prehranu velikog broja ljudi u nesigurnim uvjetima.

Samo je konzerviranje patentirao Peter Durand, koji je 1810. godine postupak odveo jedan korak dalje i započeo s korištenjem limenki umjesto staklenih boca. Time se vrijeme sterilizacije sa 6 sati smanjilo na 30 minuta. 1813. Godine Bryan Dorkin i John Hall osnovali su prvu komercijalnu tvornicu za konzerviranje hrane dok je 1823. godine P.A. Augilbert izradio prvu limenku s rupom na poklopcu, kroz koju se limenka puni i zatvara nakon završetka kuhanja.

Trebalo je proći 50 godina, kako bi Louis Pasteur objasnio da učinkovitost konzerviranja leži u činjenici da se toplinom uništavaju, inhibiraju i inaktiviraju mikroorganizmi te se na taj na sprječava kvarenje hrane.

Otkrićem autoklava 1851. godine postignut je veliki napredak u proizvodnji konzervi te na temelju značajnih tehničko-tehnoloških inovacija poslije 1. svjetskog rata proizvodnja mesnih i drugih konzervi doživljava ekspanziju (Živković, 1986).

2.2. Meso

Meso je jedna od osnovnih namirnica u prehrani ljudi, jer je izvor lako probavljivih, biološki i energetski vrijednih sastojaka. Ono je animalni proizvod, odnosno namirnica dobivena klanjem životinja, i to: goveda, bivola, svinja, ovaca, koza i kopitara (konja, magaraca, mula i mazgi), te peradi (kokoši, pura, gusaka, pataka, biserki i domaćih golubova) i kunića. Nadalje meso je i namirnica dobivena odstrelom ili klanjem divljači (meso divljači) (Živković, 1986). U užem smislu meso označuje dijelove skeletne muskulature zajedno s vezivnim i masnim tkivom, kostima, hrskavicom, limfnim žlijezdama, limfnim i krvnim žilama i živcima (Lelas, 2008), a iz koje je uklonjeno koštano, hrskavično, grubo vezivno tkivo, kao i veće naslage masnog tkiva.

Polazeći od prethodne definicije pojma mesa u užem smislu, slijedi da kemijski sastav mesa prije svega zavisi od odnosa pojedinih tkiva u mišiću u trenutku smrti životinje. Taj odnos može veoma varirati, u zavisnosti od brojnih i složenih premortalnih faktora kao što su: vrsta, pasmina, spol, dob i uhranjenost životinje, o načinu hranidbe i o anatomskej poziciji pojedinih dijelova trupova. Prema podacima Forresta (1975), skeletni mišići sadrže oko: 7,0% vode, 18,5% proteina, 3,0% lipida, 1,5% neproteinskih dušičnih spojeva, 1,0% vitamina i minerala.

2.2.1. Kemijski sastav mesa

2.2.1.1. Proteini

Proteini u mesu, čine otprilike 18,5% mišićne mase, glavna su gradivna jedinica koja čini strukturu mesnih proizvoda. Oni su linearni polimeri, a nastaju povezivanjem monomernih jedinica, koje nazivamo aminokiselinama. Proteini imaju 4 strukturna nivoa koji određuju izgled proteina u prostoru tj. konformaciju. Te strukture definiraju se kao: primarna, sekundarna, tercijarna i kvartarna struktura. Sama stabilizacija strukture proteina uglavnom ovisi o nekovalentim vezama kao što su vodikove veze, van der Waalsove sile te elektrostatske i hidrofobne interakcije (Tornberg, 2005).

Proteini mogu biti podijeljeni u tri grupe: miofibrilarni (aktin, miozin), sarkoplazmatski (globulin, albumin, mioglobin, enzimi) i proteini vezivnog tkiva (kolagen). Miofibrilarni proteini predstavljaju između 50 i 55% od ukupnog sadržaja proteina u mesu,

sarkoplazmatski proteini čine između 30-34% dok preostalih 10-15% čine proteini vezivnog tkiva. Tijekom zagrijavanja, mesni proteini denaturiraju. Denaturacija uzrokuje strukturne promjene kao što su uništenje staničnih membrana, poprečno i uzdužno skupljanje vlakana mesa, agregacije i formiranja gela sarkoplazmatskog proteina te skupljanje vezivnog tkiva (Tornberg, 2005).

2.2.1.2. Lipidi

Lipidi koji su uz proteine najvažniji sastojak mesa najvarijabilnija su komponenta mišića. Osim velike energetske vrijednosti, lipidi sadrže i biološku vrijednost koju mjerimo količinom esencijalnih masnih kiselina. Nezasićene masne kiseline poput linolne, linolenske i arahidonske kiseline neophodne su zbog činjenice jer grade stanične stjenke, mitohondrije i druge intenzivno aktivne metaboličke stranice živih organizama. Lipidi se u mesu nalaze intramuskularno i ekstramuskularno, no ipak većina lipida dolazi u sastavu intramuskularnog masnog tkiva. Osim triacilglicerola, koji čine najveći udjel lipida u mesu, lipidi se sastoje od fosfolipida, glikolipida i sterola.

Na količinu lipida u mesu najviše utječu vrsta i pasmina životinja, spol, uhranjenost te anatomska pozicija trupa od koje potječe mišić. Lipidna oksidacija jedan je od glavnih faktora koji limitira kvalitetu i prihvatljivost mesa i mesnih proizvoda (Morrissey, 1998).

2.2.1.3. Dušikovi i nedušikovi spojevi

U mesu nalazimo dušikove i nedušikove spojeve.

Dušikovi spojevi su spojevi koje sadržavaju dušik, ali nisu proteini. Među dušikovim spojevima koji su važni za funkciju mišića *in vivo* i za njegove postmortalne promjene najbitniji su fosfatni spojevi bogati energijom kao što su adenzin trifosfat, kreatin i kreatin fosfat. Osim adenzin trifosfata nalazimo i druge nukleotide poput ADP-a i adenilne kiseline. Jedan od važnijih spojeva je i hipoksantin koji je uz glutaminsku kiselinu zaslužan za specifičnu aromu mesa.

U nedušikove spojeve većinom spadaju spojevi koji su nastali kao produkti razgradnje ugljikohidrata poput mliječne, pirogroždane, jantarne, fumarne i octene kiseline te mali broj ugljikohidrata poput inozitola.

2.2.1.4. Vitamini i minerali

Meso i mesni proizvodi izvrstan su izvor vitamina B-kompleksa od kojih su najvažniji tiamin, niacin i vitamin B12 koji se ne nalazi u biljnim namirnicama. S druge strane, meso je siromašno vitaminima A, C, D, E i K, osim u unutarnjim organima poput jetre i bubrega gdje su značajnije zastupljeni. Većina vitamina, osim vitamina B1 i B6, stabilna je tijekom toplinske obrade.

Minerali su značajan gradivni element mišićnog tkiva te ih u njemu ima oko 1% od čega je najviše kalcija, fosfora, natrija, kalija, i magnezija i elemenata u tragovima poput željeza, bakra i cinka (Lombardi-Bocia i sur., 2005). Krv, bubrezi, jetra i ostali crveni organi i u manjoj mjeri nemasno meso, posebno govedina dobar su izvor željeza. Željezo ima važnu ulogu u suzbijanju anemije koja je osobito raširena u zemljama u razvoju među trudnicama i djecom.

2.2.1.5. Voda

Količinski najvažniji anorganski sastojak mišićnog tkiva, koji utječe na kvalitetu i održljivost mesa je voda. Maseni udjel vode u mesu kreće se u rasponu od 70-80%. Od ukupne količine vode u mišićnom tkivu oko 4-5% otpada na vodu koja je vezana na hidrofilne koloide. Ovisno o udjelu vezane vode ovisit će sočnost mesa. Meso koje sadrži više vezane vode je sočnije (Kovačević, 2001). Udjel vode u mišićima ovisi o dobi i uhranjenosti životinje, pa ćemo kod starijih i debljih životinja imati njezin manji udjel.

2.3. Svojstva mesnih konzervi

Konzerve su proizvodi od različitih vrsta mesa, masnog i vezivnog tkiva, iznutrica, strojno otkoštenog mesa i dodatnih sastojaka, koji se nakon obrade pune i hermetički zatvaraju u odgovarajuću ambalažu te konzerviraju postupcima pasterizacije ili sterilizacije (Pravilnik, 2007). Kod toplinske obrade konzervi potrebno je zadovoljiti dva osnovna uvjeta: maksimalno očuvati organoleptička i prehrambena svojstva sadržaja, te postići potrebni sterilizacijski učinak s ciljem uništenja i inaktivacije mikroorganizama i njihovih spora i dobre održivosti proizvoda.

Ukoliko spore u konzervama nisu inaktivirane do kraja, vegetativni mikroorganizmi će se ponovno razviti iz spora čim se pojave pogodni uvjeti za rast. Novonastali mikroorganizmi uzrokovat će kvarenje konzerviranog mesa ili nastajanje toksina koji će sveukupno uzrokovati trovanje potrošača. Prema termorezistenciji bakterija koje kontaminiraju sadržaj konzerve na

prvo mjesto dolaze dvije grupe mikroorganizma koji proizvode spore, *Clostridium* koji je termorezistentniji i *Bacillus*. Drugi mikroorganizmi koji kontaminiraju sadržaj konzerve su psihrofilni *Pseudomonas sp.* i *Achromobacter*, mezofilni *E.Coli* i *Bacillus subtilis* i fakultativni termofili *Streptococcus thermophilus* i već spomenuti *Clostridium perfringens*. U tablici 1. prikazana je dopuštena količina mikroorganizama u konzerviranom mesu i drugoj konzerviranoj hrani od mesa.

Tablica 1. Dopuštena količina mikroorganizama u konzerviranom mesu i drugoj konzerviranoj hrani od mesa (Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, 2011)

Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i	Plan uzrokovanja n c		Kriteriji
Sterilizirane trajne mesne konzerve i druga sterilizirana konzervirana gotova jela (nakon termostatiranja 7- 10 dana na 37°C	preporučeni			
	Sulfitreducirajuće klostridije	5	0	M<1cfu/g
	Aerobne mezofilne bakterije	5	0	M/1cfu/g

Prema Pravilniku i u pogledu kakvoće konzerve moraju ispunjavati sljedeće uvjete:

- moraju biti hermetički zatvorene;
- ne smiju biti deformirane;
- vanjska površina mora biti čista i bez znakova korozije i oštećenja;
- izgled, sastav, okus, miris, boja, konzistencija i tekstura moraju biti svojstveni odgovarajućoj vrsti konzerve.

Konzerve punjene u limenu ambalažu moraju ispunjavati i sljedeće uvjete:

- dno i poklopac moraju biti lagano ulegnuti, a na pritisak ne smiju reagirati, osim kod konzervi s aluminijskim poklopcem koji se otvara na potez i čije dno može biti ravno ili blago ispupčeno;

- dupli šavovi limenke moraju biti pravilno formirani, bez deformacija na šavovima ili oko njih;
- uzdužni šav limenke mora biti preklopni ili dupli, a limenke s preklopnim uzdužnim šavom moraju biti zaštićene dopunskim slojem laka nakon izrade uzdužnog šava;
- unutarnje površine limenke moraju biti zaštićene dopunskim slojem laka koji je otporan na djelovanje sadržaja limenke i dobro prijanjati (Pravilnik, 2007).

Prema vrsti uporabljenih sastojaka i načinu proizvodnje konzerve se proizvode kao:

- konzerve od mesa u komadima,
- konzerve od mesa u vlastitom soku,
- konzerve od usitnjenog mesa,
- kobasice u konzervi,
- jela od mesa u konzervi,
- paštete
- namazi (Pravilnik, 2007).

2.3.1. Polutrajne i trajne konzerve

Tehnološki proces proizvodnje polutrajnih i trajnih konzervi mora biti izveden u najboljim higijenskim uvjetima, kako bi se kontaminacija sadržaja i neispravnost proizvoda svela na najmanju moguću mjeru.

Prema svojstvima sadržaja i tehnološkom postupku proizvodnje konzerve se stavljaju u promet kao: a) Polutrajne-pasterizirane (konzerve od mesa u komadima),

b) Trajne- termički sterilizirane (konzerve od mesa u vlastitom soku, konzerve od krupnog, sitnog ili fino usitnjenog mesa, jela u limenkama (gotova jela) i kobasice u limenkama (Kovačević, 2001).

2.3.1.1. Polutrajne konzerve

Polutrajne konzerve su proizvodi dobiveni toplinskom obradom namirnica do 100°C. Temperatura pasterizacije obično iznosi 75°C, s tim da u središtu limenke ne smije biti manja od 69°C, i trajnost takvih konzervi je do 6 mjeseci pri temperaturi +5°C. Polutrajne konzerve možemo

podijeliti na konzerve od mesa u komadima u limenkama i konzerve od mesa u komadima u ovitku. Pod polutrajne konzerve u limenkama spadaju šunka, plećka ,a pod konzerve u ovitku: kuhana šunka, prešana šunka, kuhana plećka, kuhana rolana vratina, kuhana prešana glava i dr. Kod kontrole kakvoće konzerve mesa u komadima potrebno je obratiti posebnu pozornost na količinu želatine u konačnom proizvodu, koncentraciju nitrita, nitrata, NaCl i polifosfata, organoleptičku ocjenu kakvoće (boja, okus, povezanost i miris sadržaja), te higijensku ispravnost-ukupan broj bakterija i broj pojedinih vrsta.

2.3.1.2. Trajne konzerve

Trajne ili sterilizirane mesne konzerve su proizvodi dobiveni toplinskom obradom namirnica iznad 100 °C. Termički sterilizirane mesne konzerve možemo podijeliti na konzerve od mesa u vlastitom soku, konzerve od krupnijeg, sitnijeg ili fino usitnjenog mesa, jela u limenkama (gotova jela) i kobasice u limenkama. U tablici 2. prikazana je održivost trajnih mesnih konzervi.

Tablica 2. Održivost trajnih mesnih konzervi s obzirom na način širenja topline (Živković, 1986)

Skupina trajnih konzervi	Način širenja topline	Praktična održivost	Temperatura pohrane
Konzerve od mesa u vlastitom soku	kondukcija i konvekcija	do 2 godine	+10 do +12°C
Konzerve od usitnjenog mesa	kondukcija	neograničena	+10 do +12°C
Jela u limenkama	konvekcija	neograničena	+10 do +12°C
Kobasice u limenkama	Kondukcija i konvekcija	neograničena	+10 do +12°C

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijal

Ispitivanje zdravstvene ispravnosti trajnih mesnih konzervi provedeno je na uzorcima 4 mesne konzerve različitog sadržaja kojima je istekao rok trajanja:

- ❖ proizvod od usitnjenog mesa
 - Uzorak 1: Mesni doručak (Podravka d.d, datum isteka roka trajanja: 13.6.1996)

- ❖ gotovo jela od mesa
 - Uzorak 2: Haše (Podravka d.d., datum isteka roka trajanja: 19.3.1984)

- ❖ konzerva od usitnjenog mesa
 - Uzorak 3: Goveđi narezak (Podravka d.d., datum isteka roka trajanja: 27.7.1994)

- ❖ pašteta
 - Uzorak 4: Pileća pašteta (Podravka d.d., datum isteka roka trajanja 8.2.1995).

3.2. Metode rada

3.2.1. Određivanje ukupnog broja mikroorganizama (Određivanje aerobnih mezofilnih bakterija HRN EN ISO 4833:2008)

Mezofilne bakterije rastu u temperaturnom rasponu od 20-45 °C, uz prisustvo kisika (aerobne). Većini ovih bakterija je optimalna temperatura rasta 37 °C, što znači da skupini aerobnih mezofilnih bakterija pripada većina patogenih bakterija. Povećan broj aerobnih mezofilnih bakterija u hrani indikator je starosti i lošije mikrobiološke kakvoće (kontaminacije i/ili početka kvarenja). Kod mikrobioloških briseva broj aerobnih mezofilnih bakterija predstavlja količinu bakterija koje se nalaze na površinama, rukama i priboru, koja ako je povećana ukazuje na nedovoljno čišćenje, pranje i dezinfekciju.

3.2.1.1. Priprema fiziološke otopine

Za pripremu fiziološke otopine, u prethodno steriliziranoj staklenoj boci, pomiješano je 34 g NaCl za analize i 2 L destilirane vode. Otopina je stavljena u autoklav na sterilizaciju 121 °C /15 minuta.

3.2.1.2. Priprema mikrobiološke podloge

Dehidrirane podloge moraju se čuvati na suhom i tamnom mjestu pri temperaturi +15 do +25°C. Kutije sa podlogom potrebno je dobro zatvoriti nakon svake upotrebe, te se u idealnim uvjetima skladištenja, dehidrirane podloge mogu čuvati maksimalno pet godina. Za pripremu mikrobiološke podloge odvagnuto je 47 grama dehidrirane podloge Tryptic Glucose Yeast Agar (BIOLIFE) te je dodano 2 litre čiste, destilirane i demineralizirane vode kako bi se dobila homogena suspenzija. Smjesa je ostavljena da stoji 15 minuta kako bi agar nabubrio te zatim zagrijana do vrenja kako bi se sastojci otopili. Nakon rehidriranja podloge se stave u autoklav na sterilizaciju na 121 °C tijekom 15 minuta. U ovo vrijeme nije računato vrijeme potrebno za zagrijavanje i hlađenje autoklava. Nakon sterilizacije i izjednačavanja tlaka boce su izvađene iz autoklava i odmah ohlađene pod mlazom hladne vode kako bi minimizirali vrijeme izloženosti podloge toplini.

3.2.1.3. Priprema uzoraka za mikrobiološko ispitivanje

Određivanje aerobnih mezofilnih bakterija provedeno je metodom decimalnog razrjeđenja. Odvagne se 10 grama uzorka u sterilnu vrećicu sterilnom tehnikom rada, doda se fiziološka otopina (90 ml) tako da odvaga bude 100 grama. Homogenizira se u Stomacheru i tako je dobiveno razrjeđenje 10^{-1} . Prije svakog razrjeđenja uzorak se homogenizira, kao i svako razrjeđenje prije priprave sljedećeg. Razrjeđenje 10^{-2} dobiveno je tako da je 1 mL dobro homogeniziranog razrjeđenja 10^{-1} preneseno sterilnom tehnikom rada u 9 mL sterilne fiziološke otopine (USDA, 1998). Istovremeno je 1 mL uzorka preneseno u sterilnu Petrijevu zdjelicu, kao i sljedeća razrjeđenja. Razrjeđenja su se radila metodom pokušaja i promašaja jer nije bilo moguće procijeniti ukupnu količinu mikroorganizama u uzorcima. Sadržaj epruvete je homogeniziran električnim vibratorom. U toku rada je otopljen Plate – Count – Agar i ohlađen na $45^{\circ}\text{C} - 50^{\circ}\text{C}$. Tako ohlađena hranjiva podloga sterilno izlivena u označene Petrijeve zdjelice s 1 mL prethodno ispipetiranog odgovarajućeg razrjeđenja. Kružnim pokretanjem Petrijeve zdjelice (u obliku broja osam) uzorci su dobro homogenizirani i ostavljeni da podloga očvrstne. Petrijeve zdjelice s čvrstom podlogom postavljene su u termostat na inkubaciju pri 30°C . Pomoću brojača kolonija određivan je broj aerobnih mezofilnih bakterija u 1 gramu nakon 24 – 48 sati (USDA, 1998).

Inkubacija: $30^{\circ}\text{C} / 72^{\text{h}}$

Izgled kolonija:

Broje se sitne sivkasto-bijele, okrugle ili elipsoidne kolonije, promjera 0,5-2 mm, zatim žute, crvene ili narančaste kolonije (bakterije iz zraka-rod *Micrococcus*) raznih veličina i oblika. Ponekad mogu narasti i plijesni pa se one broje posebno i uz njihov se broj naznači da se radi o plijesnima.

Izražavanje rezultata

Na odabranom decimalnom razrjeđenju izbrojimo porasle kolonije. Iz izbrojenog broja kolonija, poraslih na hranjivoj podlozi izračunamo CFU vrijednost.

$$\text{CFU} = \frac{\text{broj poraslih kolonija}}{\text{volumen upotrebljenog uzorka}} \times \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja} \quad (\text{jed/mL})$$

CFU= Colony- Forming Units (jedinice koje tvore kolonije)

3.2.2. Određivanje udjela vode gravimetrijski

Pod pojmom količina vode u različitim namirnicama, podrazumijeva se gubitak na težini uzorka sušenjem do konstantne mase. Udjel vode se odredilo gravimetrijskom metodom (ISO 1442:1997)

U niske aluminijske zdjelice se stavi kvarcni pijesak (oko 5 grama) i stakleni štapić, te se stavi u sušionik na temperaturu od 103°C. Posudice se suše 30 minuta. Nakon toga se posudice poklope u sušioniku, hlade u eksikatoru do sobne temperature (30 min), nakon čega se važu na vazi (m_0). U izvagane i osušene aluminijske posudice se doda oko 3 g uzorka homogeniziranog uzorka, lagano se pomiješa s kvarcnim pijeskom staklenim štapićem, te se posudice poklope i izvagaju (m_1). Posudice s uzorkom se otkope i stave u sušionik na 2,5 h na zadanu temperaturu, nakon čega se poklapaju i hlade u eksikatoru (30 min), te se važu (m_2). Postupak se ponavlja sve dok se dva uzastopna mjerenja (nakon 1 sat sušenja) ne razlikuju više od 0,1%.

Udjel vode izračuna se prema formuli:

$$\text{udjel vode (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

gdje je:

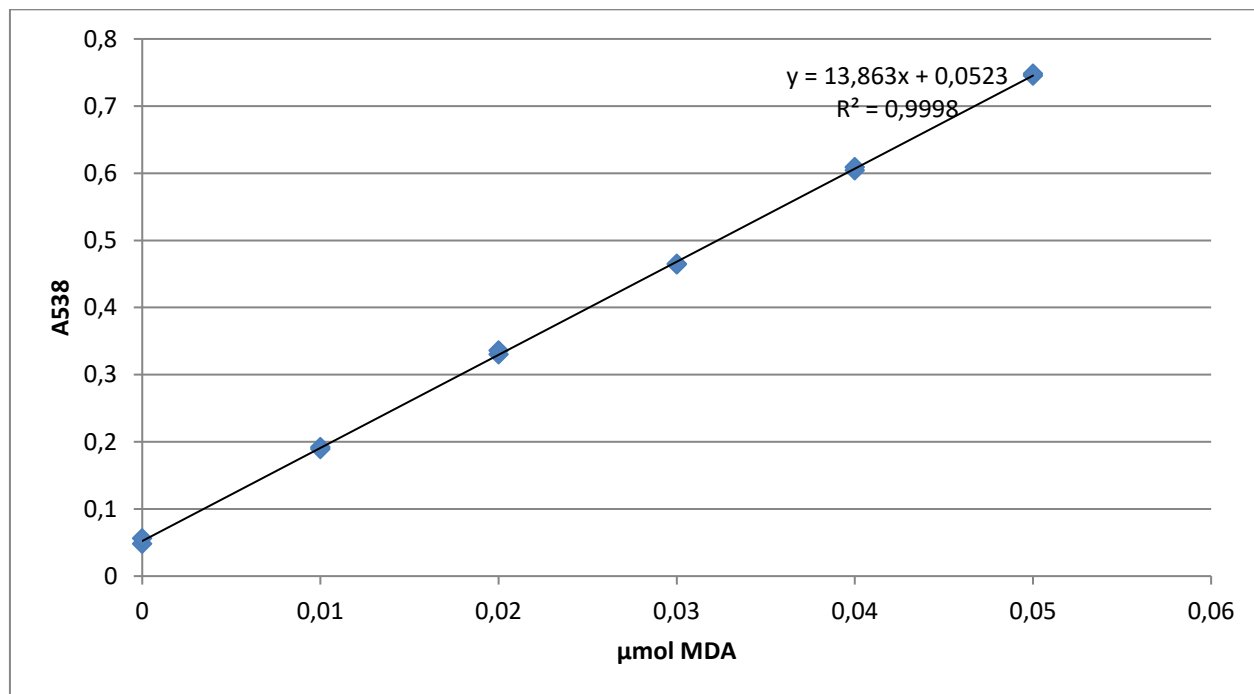
m_0 - odvaga aluminijske posudice, pijeska i staklenog štapića (g)

m_1 -odvaga aluminijske posudice, uzorka, pijeska i staklenog štapića prije sušenja (g)

m₂- odvaga aluminijske posudice, uzorka, pijeska i staklenog štapića nakon sušenja (g)

3.2.3. Određivanje lipidne oksidacije

Test tiobarbiturne kiseline (TBA) za određivanje malondialdehida, najkorištenija je metoda za procjenu lipidne oksidacije zbog svoje osjetljivosti i relativno jednostavnog postupka (Raharjo i Sofos, 1993). TBA test uključuje reakciju između TBA i MDA, koja je produkt raspadanja lipidnog hiperperoksida, i nastanak ružičastog kompleksa sa maksimalnom apsorbancijom pri 532nm (Tarladgis i sur., 1964). Koncentracija MDA određena je metodom po Lemon i sur. (1975). Za provedbu TBA testa uzeto je 10 g uzorka i 20 ml TCA 7.5% (1:2). Dobivena smjesa homogenizirana je na Ultraturaxu 2 minute i zatim ostavljena da stoji 30 minuta. Nakon što je homogenizirani uzorak odstajao, profiltriran je u staklene bočice i dodano je 5ml otopine TBA (0,02 M). Također je i napravljena slijepa proba. U 5ml destilirane vode otpipetirano je 5ml otopine TBA. Zatvorene bočice stavljene su u vodenu kupelj na 100°C, 40 minuta te ohlađene pod mlazom hladne vode. Na kraju je na spektrofotometru očitana apsorbancija na 528nm i iz baždarnog pravca očitana c(MDA). Za svaki su uzorak provedena dva ispitivanja.



Slika 1. Dijagram ovisnosti intenziteta apsorbancije otopine uzorka o koncentraciji MDA

3. REZULTATI

U svakom od 4 uzorka: mesni doručak, haše, goveđi narezak i pileća pašteta, određen je ukupan broj mikroorganizama, oksidacija masti te udjel vode. Za određivanje ukupnog broja mikroorganizama izračunata je srednja vrijednost od dvije paralelne probe za svaki uzorak. Dobiveni rezultati uspoređeni su sa dopuštenim vrijednostima propisanim u Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu (Vodič, 2011).

U tablici 3. prikazani su rezultati za određivanje ukupnog broja mikroorganizama u navedenim uzorcima. Za svaki su uzorak napravljene dvije paralelne probe i zatim je izračunata srednja vrijednost.

U tablici 4. prikazani su rezultati za određivanje udjela vode u uzorcima i izračunata je srednja vrijednost.

U tablici 5. prikazani su rezultati za određivanje lipidne oksidacije odnosno TBA vrijednost. Za svaki su uzorak također analizirane dvije paralelne probe i zatim je izračunata srednja vrijednost.

4.1. Rezultati određivanja ukupnog broja mikroorganizama u uzorcima mesnih konzervi

Tablica 3. Prikaz ukupnog broja mikroorganizama [log CFU/mL] u uzorcima mesnih konzervi

Uzorak	Ukupan broj mikroorganizama u paraleli 1 [log CFU/mL]	Ukupan broj mikroorganizama u paraleli 2 [log CFU/mL]	Srednja vrijednost ukupnog broja mikroorganizama [log CFU/mL]
Mesni doručak	3,48	3,30	3,39
Haše	1,70	1,90	1,80
Govedi narezak	1,90	1,95	1,93
Pileća pašteta	0	0	0

4.2. Rezultati određivanja udjela vode u uzorcima mesnih konzervi

Tablica 4. Prikaz udjela (%) vode u uzorcima mesnih konzervi

Uzorak	Paralela	m ₀ [g]	m ₁ [g]	m ₂ [g]	w[%]	w[%] srednja vrijednost
Mesni doručak	1	18,74	21,72	19,75	65,88	65,68
	2	20,76	23,78	21,80	65,48	
Haše	1	18,02	21,02	19,03	66,18	66,20
	2	18,50	21,50	19,39	66,22	
Govedi narezak	1	25,70	28,67	26,99	56,67	56,42
	2	17,14	20,14	18,46	56,16	
Pileća pašteta	1	15,79	18,79	17,18	53,66	54,14
	2	18,76	21,75	20,12	54,61	

4.3. Rezultati TBA vrijednosti u uzorcima mesnih konzervi

Tablica 5. Prikaz rezultata TBA vrijednosti u mesnim konzervama

Uzorak	M [g]	A ₅₃₈	n(MDA) [mmol]	w(voda)%	V [mL] (ekstrakt)	n(MDA) [mmol]/ 100 g uz.	mg(MDA)/ 100 g uz.	mg(MDA)/ 100 g uz.
1	10,00	0,15	0,007	65,9	26,59	0,36	0,03	0,03
	10,00	0,14	0,006	65,5	26,55	0,33	0,02	
2	10,00	0,75	0,050	66,2	26,62	2,67	0,19	0,18
	10,00	0,66	0,043	66,2	26,62	2,31	0,17	
3	10,00	0,10	0,003	56,7	25,67	0,18	0,01	0,01
	10,00	0,10	0,003	56,2	25,62	0,17	0,01	
4	10,00	0,99	0,068	53,7	25,37	3,44	0,25	0,25
	10,00	1,01	0,069	54,6	25,46	3,52	0,25	

5. RASPRAVA

U današnje vrijeme, najvažniji je cilj prehrambene industrije proizvesti proizvode koji će biti zdravstveno ispravni i koji će zadovoljiti sve veće zahtjeve potrošača, kroz poboljšanje postojećih i razvoj novih prehrambenih proizvoda. Brojne fizikalne, kemijske i biološke opasnosti mogu ući u lanac hrane te učiniti namirnicu štetnom za zdravlje ljudi, te je stoga uveden pojam sigurnost hrane radi povećanja povjerenja u hranu koju jedemo. Razvoj novih metoda konzerviranja u prehrambenoj industriji te veći zahtjevi i briga potrošača za zdravlje, predstavljaju izazov u pogledu sigurnosti proizvoda, koja je nužan uvjet i najbitniji parametar kvalitete. Razumijevanje prije navedenih opasnosti temelj je sustava sigurnosti hrane - HACCP (The Hazard Analysis and Critical Control Points System), koji se bazira na analizi opasnosti u ključnim kontrolnim točkama, a ujedno je sustav osiguranja zdravstvene ispravnosti proizvoda. Radi se o sustavnoj kontroli tehnološkog procesa proizvodnje kod koje su kontrolne mjere usmjerene na one radnje i postupke koji su ključni za osiguranje zdravstvene ispravnosti proizvoda.

Konzerviranje mesa i mesnih preradevina, kako bi imali što dulji vijek trajanja uz očuvanu kvalitetu, oduvijek je bio izazov za prehrambenu industriju (Barbosa-Canovas i sur., 2014). Dobra održivost i mikrobiološka ispravnost mesnih konzervi, zasnivaju se na toplinskoj obradi gdje se reducira najveći broj mikroorganizama (Živković, 1986.) Kod toplinske obrade mesa bitno je očuvati organoleptička svojstva sadržaja te postići zadovoljavajući antimikrobni učinak u cilju postizanja sigurnosti i što dulje trajnosti proizvoda. Toplinska sterilizacija je u tom smislu najučinkovitiji način konzerviranja mesnih proizvoda, a smatra se uspješno provedenom ako je omjer između pokvarenih i djelotvorno steriliziranih konzervi 1:10 000 te ako su mikroorganizmi koji su prisutni nepatogeni.

Cilj ovog rada bio je ispitati zdravstvenu ispravnost mesnih konzervi nakon isteka roka trajanja. Naime, nakon provedene toplinske sterilizacije sterilizirane trajne mesne konzerve imaju rok trajanja dvije do četiri godine u ovisnosti o sadržaju, ali se smatraju upotrebljivim i puno dulji vremenski period i mogu se skladištiti na sobnoj temperaturi. Stoga smo istražili sterilizirane trajne mesne konzerve: mesni doručak, haše, goveđi narezak i pileću paštetu kojima je istekao rok trajanja prije minimalno deset godina. U ovom istraživanju ispitivao se ukupan broj mikroorganizama u uzorcima, udjel vode te lipidna oksidacija. Rezultati ukupnog broja mikroorganizama prikazani su u tablici 3. Kod mesnog doručka ukupan broj mikroorganizama iznosio je 3,39 log CFU/ml, hašea

1,80 log CFU/ml, goveđeg nareška 1,93 log CFU/ml dok je kod paštete ukupan broj mikroorganizama iznosio 0 log CFU/ml. Prema Vodiču za mikrobiološke kriterije i hranu (Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, 2011), za konzervirano meso i drugu konzerviranu hranu od mesa nije dozvoljena prisutnost aerobnih mezofilnih bakterija. Usporedbom rezultata možemo zaključiti kako su mesni doručak, haše i goveđi narezak zdravstveno neispravni te jedino pašteta udovoljava kriterijima Vodiča. Možemo zaključiti kako se hrana kojoj je istekao rok trajanja ne može produženo skladištiti, iako se radi o steriliziranim trajnim mesnim konzervama. S obzirom da je prošlo između deset i trideset godina od isteka roka trajanja, teško je detektirati razlog ovakvih rezultata. Prema Živkoviću (1986), mesnim konzervama od usitnjenog mesa i jelima u limenkama održivost je neograničena kada se skladište na temperaturi 10-12°C. Konzerve koje su ispitane u ovom radu bile su skladištene na sobnoj temperaturi pa je to jedan od mogućih razloga za njihovu zdravstvenu neispravnost. Slijedeći razlog je moguća postignuta komercijalna sterilnost u vrijeme kad su proizvedene koja uključuje uništavanje svih patogena i reduciranje broja mikroorganizama kvarenja na nivo da ne predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje ili umanjuju kvalitetu proizvoda. Kroz produljeno skladištenje na sobnoj temperaturi moglo je doći do rasta tih bakterija.

Kod procjene kakvoće i prihvatljivosti mesa, kao važan čimbenik za promjenu organoleptičkih svojstava mesa te formiranje potencijalno toksičnih spojeva, navodi se oksidacija lipida u mesu (Kušec i sur., 2014). Produkti oksidacije lipida, kao što su aldehidi, ketoni, alkoholi i kiseline, dovode do neželjenih promjena u okusu, boji, teksturi i smanjenju hranjive vrijednosti namirnica (Frankel, 1996; Lee i sur., 2015; St Angelo, 1996), čime se smanjuje ukupna kvaliteta prehrambenog proizvoda (Jung i sur., 2016). U ovom radu bio je određivan udjel vode kako bi se nakon analize mogla izračunati TBA vrijednost. Udjel vode u mesnom doručku iznosio je 65,68%, hašeu 66,20%, goveđem narešku 56,42%, a u pilećoj pašteti 54,14%. U tablici 5. prikazani su rezultati TBA vrijednosti izraženi kao mg (MDA)/100 g uzorka. Kolsarici i sur. (2010) su zaključili da za nepoželjan užegao miris i okus mesnih proizvoda vrijednost TBA testa odnosno mg MDA/ 100 g uzorka moraju biti veće od 1,0 mgMDA/kg. Ta koncentracija se smatra pragom detekcije za sekundarne produkte oksidacije masti. S obzirom da ti sekundarni produkti nisu stabilni, odnosno oni mogu ulaziti u daljnje kemijske reakcije, njihova se koncentracija kroz produljeni rok skladištenja mijenja.

Na temelju dobivenih rezultata možemo zaključiti da tijekom dugog skladištenja mesnih konzervi nije došlo do značajnog razvoja sekundarnih produkata oksidacije masti, koji bi utjecali na promjenu organoleptičkih svojstava. Najveći udjel masti sadrži pileća pašteta te je stoga kod nje određena najviša TBA vrijednost, što se vidi u tablici 5. Uz najveći udjel masti, pileća pašteta sadrži i najveći udjel nezasićenih masnih kiselina koje su podložnije oksidaciji od zasićenih. Ostale konzerve ispitane u ovom radu bile su proizvedene od svinjskog i goveđeg mesa, koje sadrže manje nezasićenih masnih kiselina u odnosu na pileće meso.

6. ZAKLJUČCI

1. Uzimajući u obzir dobivene rezultate ukupnog broja mikroorganizama u uzorcima te uspoređujući ih s dozvoljenim vrijednostima iz Vodiča za mikrobiološke kriterije moguće je zaključiti kako je pileća pašteta jedini zdravstveno ispravan proizvod više godina nakon isteka roka trajanja. Broj mikroorganizama u mesnom doručku, hašeu i goveđem naresku veći je od dozvoljenog te se ti proizvodi smatraju zdravstveno neispravnima.
2. TBA test je pokazao da su sekundarni produkti lipidne oksidacije u ispitivanim konzerviranim proizvodima prisutni u niskoj koncentraciji. Najveća koncentracija malondialdehida zabilježena je kod pileće paštete nakon produljenog roka skladištenja od 20 godina.

7. LITERATURA

Barbosa-Cánovas, G.V., Medina-Meza, I., Candoğan, K., Bermúdez-Aguirre, D. (2014) Advanced retorting, microwave assisted thermal sterilization (MATS), and pressure assisted thermal sterilization (PATs) to process meat products. *Meat Sci.* **98**, 420-434.

Billy, T.J., Wachsmuth, I.K. (1997) Hazard analysis and critical control point systems in the United States Department of Agriculture regulatory policy. *Rev. Sci. Tech.* **16**, 342–348.

Forrest, J.C. (1975) Principles of meat science, W.H.Freeman & Co, San Francisco.

Frankel, E. N. (1996) Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chem.* **57**, 51–55.

HRN EN ISO 4833:2008, Horizontalna metoda za brojenje mikroorganizama– Tehnika brojenja kolonija na 30° C.

ISO 1442:1997 Meat and meat products- Determination of moisture content (Reference method).

Jung, S., Chang Nam, K., Jo, C. (2016) Detection of malondialdehyde in processed meat products without interference from the ingredients. *Food Chem.* **209**, 90–94.

Kolsarici, N., Candoğan, K., Akoğlu, I.T. (2010) Effect of frozen storage on alterations in lipids of mechanically deboned chicken meats. *GIDA* **35**, 403-410.

Kovačević, D. (2001) Kemija i tehnologija mesa i ribe, 1.izd, Sveučilište J. J. Strossmayera, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek.

Kušec, G., Kozačinski, L., Njari, B., Medić, H., Pleadin, J., Margeta, V. (2014) Znanstvena studija o kakvoći zamrznutog mesa. Hrvatska agencija za hranu.

Lee, C. W., Choi, H. M., Kim, S. Y., Lee, J. R., Kim, H. J., Jo, C., Jung, S. (2015) Influence of *Perilla frutescens* var. *acuta* water extract on the shelf life and physicochemical qualities of cooked beef patties. *Korean J. Food Sci. An.* **35**, 389–397.

Lelas V. (2008) Procesi pripreme hrane, Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb

Lemon, D.W. (1975) An improved TBA test for rancidity. New Series Circular No.51. Environment Canada Fisheries and Marine Service, Halifax Laboratory, Canada.

Lombardi-Bocia, G., Lanzi, S., Aguzzi, A. (2005) Aspects of meat quality: trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. *J. Food Comp. Anal.* **18**, 39-46.

Nasser, L.A. (2015) Molecular identification of isolated fungi, microbial and heavy metal contamination of canned meat. *Saudi Journal of Biological Sciences* **22**, 513-520.

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (2011) Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu.

Morrissey, P.A., Sheehy, P.J., Galvin, K., Kerry, J.P., Buckley, D.J. (1998) Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.* **49**, 73-86.

Pravilnik o proizvodima od mesa (2007) *Narodne novine* **01**, Zagreb (NN 01/07).

Raharjo, S., Sofos, J. N. (1993) Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. *Meat Sci.* **35**, 145–169.

St Angelo, A. J. (1996) Lipid oxidation in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **36**, 175–224.

Tarladgis, B. G., Pearson, A. M., Dugan, L. (1964) Chemistry of the 2- thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. II. Formation of the TBA malonaldehyde complex without acid heat treatment. *J. Sci. Food Agr.* **15**, 602–607

Tornberg, E. (2005) Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Sci.* **70**, 493–508

USDA (1998), Food Safety and Inspection Service, Microbiology Laboratory Guidebook, 3.izd, US Government Printing Office, Washington, DC.

Zimbardo, M.J., Power, D.A., Miller, S.M., Wilson, G.E., Johnson, J.A. (2009) Difco™ & BBL™ Manual, Manual of Microbiological Culture Media, 2. Izd., Dickinson and Company, Sparks, Maryland.

Živković, J. (1986) Higijena i tehnologija mesa II dio. – Kakvoća i prerada, Udžbenici Sveučilište u Zagrebu, Tipografija, Đakovo.