Praćenje mikrobiološke ispravnosti i senzorskih svojstava narezane jabuke Cripps pink skladištene u kontroliranoj atmosferi

Hlupić, Lucija

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:159:913834

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Lucija Hlupić
6631/PT

PRAĆENJE MIKROBIOLOŠKE ISPRAVNOSTI I SENZORSKIH SVOJSTAVA NAREZANE JABUKE CRIPPS PINK SKLADIŠTENE U KONTROLIRANOJ ATMOSFERI

ZAVRŠNI RAD

Modul: Osnove prehrambenih tehnologija
Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Zagreb, 2016.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija
Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

PRAĆENJE MIKROBIOLOŠKE ISPRAVNOSTI I SENZORSKIH SVOJSTAVA NAREZANE JABUKE CRIPPS PINK SKLADIŠTENE U KONTROLIRANOJ ATMOSFERI

Lucija Hlupić, 6631/PT

Sažetak: Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj sastava atmosfere i temperature tijekom osam dana skladištenja svježe narezane jabuke sorte Cripps Pink i to praćenjem senzorskih svojstava i mikrobiološke ispravnosti. Svježe jabuke sorte Cripps Pink oguljene i narezane čuvane su u uvjetima modificirane atmosfere pri temperaturi između 4 i 6 ºC. Mikrobiološka analiza i senzorsko ocjenjivanje provedeno je u Laboratoriju za tehnologiju vrenja i kvasca Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu pri čemu je uzimanje uzorka bilo 1., 2., 3., 5. i 8. dan. Ispitivala se prisutnost PCA bakterija (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*), Enterobacteria te kvasaca. Analiza senzorske prihvatljivosti provedena je metodom bipolarne hedonističke skale. Dobiveni rezultati su pokazali pozitivan učinak kontroliranog sastava atmosfere na održivost skladištene jabuke.

Ključne riječi: jabuke, minimalno procesiranje, kontrolirana atmosfera, senzorska svojstva, mikrobiologija

Rad sadrži: 30 stranice, 12 slika, 4 tablice, 27 literaturna navoda, 0 priloga

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. Branka Levaj*

Pomoć pri izradi: *izv. prof. dr. sc. Jasna Mrvčić*

Rad predan: srpanj, 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food Technology

Department of Food – Technology Ingeneering

Laboratory for Technology of Fruits and Vegetables Preservation and Processing

MONITORING MICROBIOLOGICAL QUALITY AND SENSORY ATRIBUTES OF FRESH CUT APPLES CRIPPS PINK STORED IN A CONTROLLED ATMOSPHERE

Lucija Hlupić, 6631/PT

Abstract: The aim of this study was to determine the influence of the controlled atmosphere and the temperature during eight days of storaging fresh sliced apples Cripps Pink and monitoring of sensory properties and microbiological safety. Fresh apples Cripps Pink were peeled and sliced, kept under modified atmosphere at a temperature of between 4 and 6 °C. Microbiological analysis was performed in the Laboratory for Fermentation and Yeast Technology of Food Technology and Biotechnology in Zagreb, where the sample was taken fist, second, third, fifth and eighth day of the experiment- Study evaluates the presence of PCA bacteria (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*), Enterobacteria and yeasts..Analysis of sensory acceptability was conducted by the method of bipolar hedonic scale. The results showed a positive effect of controlled atmosphere composition on the viability of stored apples.

Keywords: apples, minimally processing, controlled atmosphere, sensory atributes, microbiology

Thesis contains: 30 pages, 12 figures, 4 tables, 27 references, 0 supplements

Original in: Croatian

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: *Ph.D. Branka Levaj, Full Professor*

Technical support and assistance: *Ph.D. Jasna Mrvčić, Associated professor*

Thesis delivered: July, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 2
2.1 Jabuka 2
2.2 Promjene tijekom skladištenja 4
2.2.1 Uloga kontrolirane atmosfere u skladištenju jabuka 5
2.3 Minimalno procesirano voće i povrće 7
2.3.1 Sorta jabuka za minimalno procesiranje 8
2.3.2 Mikrobiološko kvarenje minimalno procesirane jabuke 8
2.4 Senzorska analiza 10
3. EKSPERIMENTALNI DIO 11
3.1 Materijal 11
3.2 Pregled pokusa 11
Metode rada 12
3.2.1 Mikrobiološka analiza 12
3.2.2 Senzorska analiza 14
4. REZULTATI 16
4.1 Rezultati mikrobiološkog ispitivanja 16
4.1.1 PCA bakterije 16
4.1.2 Kvasci 17
4.1.3 Enterobakterije 18
4.2 Rezultati senzorske analize 19
5. RASPRAVA 21
6. ZAKLJUČAK 23
7. LITERATURA 24

1. UVOD

Voće i povrće važan su dio ljudske prehrane obzirom da su izvori biološki aktivnih spojeva. Potrošači u razvijenim zemljama postavljaju zahtjeve za namirnicama visoke kvalitete kao i za sigurnost hrane koju konzumiraju zbog rastuće svijesti o zdravlju. U isto vrijeme, potražnja potrošača za praktičnosti proizvoda je u porastu pa prodaja i minimalno procesiranog (fresh-cut) voća i povrća raste. Minimalno procesirano voće i povrće treba u potpunosti zadržavati svježinu i karakteristična svojstva što nije uvijek jednostavno obzirom da priprema obuhvaća samo čišćenje, pranje, rezanje, pakiranje i čuvanje u hladnjaku do konzumacije ili daljnje uporabe

Jabuka je popularna sirovina za minimalno procesiranje zbog široke primjene u ljudskoj prehrani i niske cijene. Sadnja i proizvodnja jabuke rasprostranjena je po cijelom svijetu te je jedna od najčešće konzumiranih voćnih vrsta u svijetu. S druge strane, mehaničko oštećenje tkiva prilikom rezanja jabuka rezultira narušavanjem kvalitete. Svježe rezano voće je osjetljivo na kvarenja i može olakšati brzi rast mikroorganizama. Za jabuke je karakteristično enzimsko posmeđivanje što može učiniti proizvod nepoželjan potrošačima.

U svrhu produljenja roka trajanja i sprječavanja, odnosno, usporavanja enzimskog posmeđivanja te degradacije teksture i okusa, potrebno je narezanu jabuku adekvatno skladištiti. Primjenom kontrolirane atmosfere mijenja se sastav plinova koji se razlikuje od normalnog zraka te smanjenjem udjela kisika usporava se proces disanja jabuke. Skladištenje jabuka u kontroliranoj atmosferi pospješuje se očuvanje kvalitete i okusa te se usporava rast mikroorganizama i potencijalnih kontaminanta.

Cilj ovog rada bio je ispitati stabilnost narezane jabuke sorte Cripps Pink praćenjem senzorskih svojstava i mikrobiološke ispravnosti tijekom osam dana skladištenja u priručnoj komori pri kontroliranim uvjetima sastava atmosfere i temperature.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 Jabuka

Jabuka (Malus × domestica Borkh.) prema botaničkoj klasifikacija (Ivančič, 2002.) spada u:

Red: Rosales

Porodica: Rosaceae

Potporodica: Maloideae

Rod: Malus

Vrsta: Malus × domestica Borkh.



Slika 1. Jabuka (Anonymus 1, 2016.)

Jabuka (Slika 1.) je drvenasta biljka iz porodice Rosaceae. U ovom rodu postoji preko 7500 kultivara domaće jabuke. Domaća jabuka (*Malus domestica* Borkh.) je hibrid koji je nastao u Aziji. Jabuka je listopadno drvo s gustom krošnjom koje može narasti preko 10 m. Plodovi jabuke variraju oblikom, veličinom, bojom i okusom što također ovisi o sorti jabuke. Jabuci odgovara umjereno kontinentalna klima. Dobro podnosi hladne zime, gdje minimalna temperatura ne pada ispod – 25 °C, a maksimalna temperatura ne prelazi 35 °C. Prema Miljkoviću (1991.), za sve fiziološke procese jabuke optimalna temperatura je 20 °C.

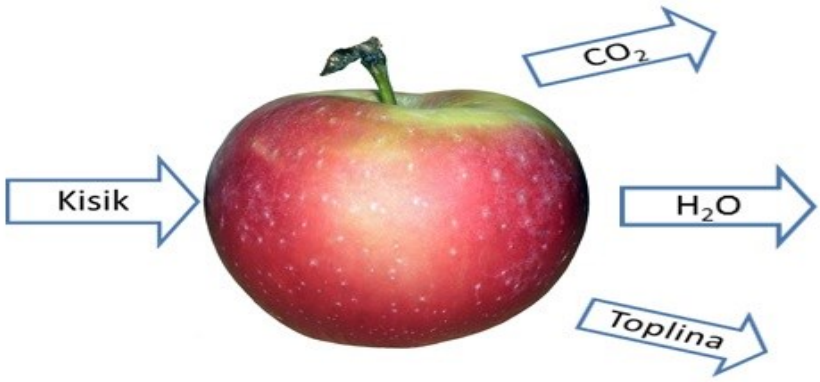
Plod jabuke bogat je hranjivim sastojcima čija količina ovisi o vrsti, načinu uzgoja, te se zbog toga u literaturi pojavljuju drugačije informacije o istima, no gotovo svi potrebni nutrijenti prisutni su barem u minimalnim količinama. Prema nekoj literaturi voda čini oko 82 % ploda, ugljikohidrata ima oko 12 %, masti i bjelančevina ima oko 1 %, a celuloza se nalazi u plodu u količini od oko 1 %. Kora sadrži flavonoide, dihidrokalkone, fenolne kiseline te antocijane (od 65 do 690, 21 do 141, 0-107, 0 do 213 mg kg-1 FW) (Jakobek, Barro, 2016.). Sadrži vlakna od celuloze, pektina i lignina, prisutna u topivom i netopivom obliku te šećere fruktozu i saharozu koji čine oko 9 % do 12 % u plodu i daju slatki okus. Jabuka sadrži više od 10 % dnevne količine vlakana koju preporučuju stručnjaci za prehranu Kiselost proizlazi iz prisutnosti jabučne, vinske i limunske kiseline. Jabuke sadrže sve esencijalne i neesencijalne aminokiseline (ali u vrlo malim količinama), aromatične tvari, boje (klorofil, karoteonidi i antocijani), vitamine i minerale (osobito ima dosta kalija), pa čak i masnoće (sjemenke sadrže 24 % ulja) (Kader, 1992.).

Nositelji antioksidacijskih svojstava su fenolni spojevi, biološki aktivni spojevi koji neutraliziraju slobodne radikale. Za najveći dio antioksidacijskog kapaciteta jabuke zaslužan je vitamin C (askorbinska kiselina) kao i fenolni spojevi. Konzumacija jabuka i njenih prerađevina ili ekstrakata bogati fenolnim spojevima povezana je s smanjenim rizikom od raka, kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa i mnogih drugih bolesti, iako neki od njih zahtijevaju daljnju potvrdu (Tsao, 2016.).

2.2 Promjene tijekom skladištenja

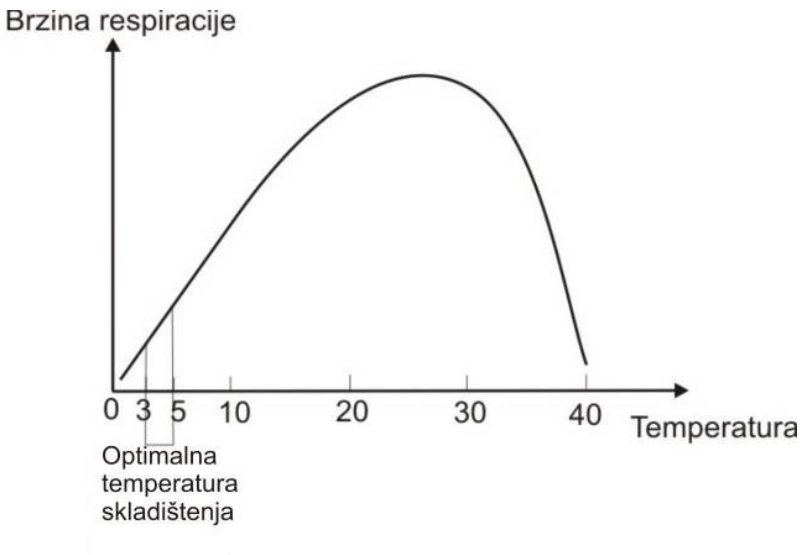
Kod jabuka je specifično dozrijevanje uslijed procesa koji nastupaju kod kasnijih faza rasta i razvoja, odnosno tijekom početnih faza starenja plodova, koje rezultira karakterističnim izgledom i kakvoćom plodova (Michalczuk, 1999). Respiracija predstavlja oksidoredukcijski proces u toku kojeg dolazi do razlaganja organskih spojeva (ugljikohidrata, organskih kiselina, bjelančevina) na jednostavnije produkte (CO_2 i H_2O), pri čemu dolazi do oslobađanja energije (Slika 4.). Respiracija, odnosno, disanje je fiziološki proces koji se odvija tokom vegetacije biljke, ali puno manjeg intenziteta nego u plodovima nakon branja. Jabuka spada u grupu klimakterijskog voća kod kojih dolazi do stvaranja velike količine ugljikova dioksida i etilena (C_2H_4) u periodu čuvanja.

Za uspješno skladištenje jabuke jako je važan optimalan stupanj zrelosti u vrijeme same berbe, a on ovisi o sorti. U skladištu se nakon berbe u plodovima nastavljaju procesi kao što su disanje, transpiracija, promjena sastojaka te promjene koje su uzrokovane mikroorganizmima, prije svega plijesnima i bakterijama. Sve navedene promjene zavise o više čimbenika, prije svega o temperaturi, relativnoj vlažnosti, sastavu atmosfere u kojoj se čuvaju plodovi, koncentraciji etilena svjetlosti i dr. (Jašić i sur., 2010).



Slika 4. Disanje jabuka

Najčešći načini za usporavanje ovih procesa i kvarenja su hlađenje i smanjenje udjela kisika u okolini. Temperatura je vrlo važan faktor koji utječe na voće poslije berbe, jer ima veliki utjecaj na brzinu bioloških reakcija, metabolizam i respiraciju. Kod većine biljnih vrsta porast temperature od 0 do 30˚C izaziva eksponencijalni porast respiracije (Graf 1).



Graf 1. Brzina respiracije ovisi o temperaturi

Atmosfera sa sniženim udjelom kisika neophodna je kako za neprerađene jabuke, tako i za minimalno procesiranu jabuku koja se najčešće pakira u atmosferi sniženog udjela kisika.

2.2.1 Uloga kontrolirane atmosfere u skladištenju jabuka

Regulacijom koncentracije plinova (O_2 i CO_2) utječe se na fiziološke procese plodova tj. onemogućava se disanje plodova, produkcija i djelovanje etilena, usporava se starenje plodova te mikrobna kontaminacija, produžuje se vrijeme čuvanja, smanjuju se gubici kvalitete i tržišne vrijednosti. Iz tih se razloga u današnje vrijeme skladištenje i čuvanje jabuka na duži vremenski period se sve više odvija u kontroliranoj atmosferi (CA).

Prema udjelu triju osnovnih plinovitih sastojaka (N_2, O_2, CO_2) uobičajena je klasifikacija kontrolirane atmosfere u tri kategorije (tipa): Tip I – atmosfera relativno bogata kisikom (16 do 11%) i više ili manje obogaćena s CO_2 (5 do 10 %), tako da je zbroj koncentracije O2 + CO_2= 21 %, odnosno N_2 = 79 %, Tip II – atmosfere ovog tipa su znatno siromašnije kisikom (2 do 3%) i umjereno obogaćene s CO_2 (2 do 5%), a N_2 = 92%. Atmosfere ovog tipa u praksi se najčešće primjenjuju.

Tip III – atmosfere niskog sadržaja kisika (kao kod tipa II) ali vrlo siromašne s CO_2 (0 do 2 %). Primjenjuju se kod vrsta (ili sorti) osjetljivih na prisutnost CO_2 (Lovrić, 2003.).

Sembok (2009.) navodi da su optimalni uvjeti kontrolirane atmosfere za Cripps Pink 2 % kisika i 1 % ugljičnog dioksida ili 1 % kisika i 1-3 % ugljičnog dioksida, na koje Cripps Pink također dobro reagira. Čuvanjem u kontroliranoj atmosferi, manji su gubici kiselosti, šećera i vitamina C, tako da je nutricionistička i organoleptička kakvoća veća.

Prema Phamu (2008.) jabuke Cripps Pink koje su bile skladištene u kontroliranoj atmosferi su zadržale bolju čvrstoću nego jabuke spremljene na normalnoj atmosferi, no nije poboljšala boju kožice. No s druge strane, kontrolirana atmosfera je imala nepoželjan učinak na proizvodnju etilena, pogotovo u dugo čuvanim plodovima.

2.3 Minimalno procesirano voće i povrće

Minimalno procesirana povrće i voće (Slika 2.) je svježe, sirovo obrađeno s ciljem omogućavanja direktne konzumacije. Njihova proizvodnja obično uključuje rezanje, ljuštenje ili guljenje ako je potrebno, pranje i dezinfekciju, a zatim pakiranje u zatvorene vrećice ili na plastične ladice zatvorene polimernim filmovima (Nguyen-the-Carlin, 1994). Minimalno procesirani proizvodi moraju zadovoljiti rok trajanja od 4 do 7 dana, što je ponekad teško izvedivo jer su svježe voće i povrće podložni mikrobiološkom kvarenju nakon branja zbog gubitka prirodne zaštite i visokog udjela vode i hranjivih tvari (Gutierrez, Bourke, Lonchamp, i Barry-Ryan, 2009). Neki od vodećih čimbenika očuvanja koji se koriste u posljednjih nekoliko godina su primjena kontrolirane atmosfere, uporaba eteričnih ulja kao antioksidansa, te uporaba antimikrobnih lijekova i drugih aditiva, primjena jestivih filmova, ultrazvuka, pulsirajućeg svjetla i ozona. (Azeredoa, Stamfordb, Nunes, Gomes Netoc, 2011.).

Sinonimi za minimalno procesirane proizvode su u engleskom jeziku npr. „ready-to-eat“, „ready to use“, „fresh-cut“ ili „like fresh“ voće i povrće (Cantwell, Suslow, 2002.).



Slika 2. Minimalno procesirano voće i povrće (Anonymus 2, 2016.)

U razvijenim zemljama popularna je takozvana „fresh – cut“ jabuka, svojevrstan novitet u industriji jabuka koja je potresena mnogim poteškoćama (Brushett i Lacasse, 2006.). S druge strane, raste zabrinutost da su svježe rezane jabuke skup oblik već praktičnog proizvoda, no trendovi su pokazali da su potrošači spremni platiti veću cijenu jabuke ukoliko su zadovoljni njenom kvalitetom i praktičnošću (Guthrie 2004; Ragaert et al. 2004).). Stoga je važno da se u industriji svježe izrezane jabuke razvija stabilan, kvalitetan i ukusan proizvod koji će privući potrošače dugoročno, pritom uzimajući u obzir da fresh-cut jabuke, za razliku od

nekog drugog minimalno procesiranog voća, pokazuju pojačanau sklonost enzimskom posmeđivanju kao rezultat oksidacije fenolnih spojeva koje kataliziraju polifenol oksidaza (PPO) i peroksidaza (POD). Kod fresh-cut jabuka potrebno je odabrati sortu koja nije sklona posmeđivanju zadržava poželjna svojstva te prilagoditi uvjete skladištenja. (Toivonen, 2006.).

2.3.1 Sorta jabuka za minimalno procesiranje

Cripps Pink jabuka, koja se koristila u ovom radu, zimska je sorta koja se razlikuje u odnosu na druge sorte. Bogata šećerom i uravnoteženom slatko-kiselom aromom, Cripps Pink je višenamjenska jabuka koja dobro podnosi skladištenje tijekom nekoliko mjeseca (Hanson, 2005.). Ime je dobila po lijepoj ružičastoj do svijetlo crvenoj boji (Slika 3). Plod je srednje veličine s blagim duguljastim oblikom. Kada sazriju, plodovi se tvrdi s visokim udjelom šećera, ali s blago kiselom aromom. Meso je krem do žute boje i nema izrazite sklonost posmeđivanju nakon rezanja te nema tendenciju postati brašnjavom. Cripps Pink je rezultat križanja Golden Delicious i Lady Williams sorte. Brendirana sorta u vlasništvu Apple and Pear Australia Ltd. naziva Pink Lady, može biti samo jabuka koja zadovoljava određene standarde veličine, boje i kvalitete (James, 2007.).



Slika 3. Cripps Pink jabuka (Anonymus 3, 2016.)

2.3.2 Mikrobiološko kvarenje minimalno procesirane jabuke

Osim promjene na boji uzrokovano enzimskim posmeđivanjem, patogeni truljenja (*Alternaria spp.,Cylindrocarpon heteroneum, Gloesporium spp., Phomopsis mali, Venturia inaequalis, Botrytis cinerea, Monilia fructigena*) na fresh-cut jabuci uzrokuju gubitke tijekom skladištenja. Smanjeni udio kisika usporava nepoželjne pojave narezane jabuke te usporava

proces enzimskog posmeđivanja,i razmnožavanja mikroorganizama i na taj način produljuje trajnost. Takva atmosfera naziva se modificirana atmosfera . Modificirana atmosfera može se postići aktivno ili pasivno, pri čemu se aktivna postiže ubrizgavanjem smjese plinova određenog sastava prije zatvaranja ambalaže, a pasivna podrazumijeva da spontano nastaje uslijed procesa disanja voća i povrća u zatvorenom pakiranju (Zagory i Kader, 1998.).

Budući da je voće kiselog karaktera, na njemu se lako razvijaju i izazivaju kvarenje plijesni i kvasci. Kvarenje voća pod utjecajem bakterija je sekundarnog značaja. Većina ovih mikroorganizama se odlikuje znatnom pektolitičkom aktivnošću tako da dovode do promjene konzistencije, odnosno uzrokuju omekšavanje tkiva. Stoga je potrebno provoditi proces u dobrim higijenskim uvjetima i pri temperaturi ispod 8°C kako bi se usporio rast i razvoj mikroorganizama, ali i općenito smanjile promjene senzorskih svojstava. Kako navode Juhrićeva i sur. (2011.), značajnije smanjenje broja kolonija mikroorganizama (uglavnom gljivica) u komorama s modificiranom atmosferom navode, bila je posljedica niskog udjela kisika, jer se pod tim uvjetima aerobni mikroorganizmi, kao i plijesni, ne razvijaju.

2.4 Senzorska analiza

Senzorska prihvatljivost, odnosno opći dojam potrošača, ključan je čimbenik razvoja prodaje minimalno procesiranog voća. U prethodnim istraživanjima se pokazalo kako je jabuka Cripps Pink jedna od senzorski najbolje ocijenjenih sorti zbog hrskave teksture i karakterističnog okusa (Corrigan, Hurst, Boulton 1997). U proizvodnji minimalno procesirane jabuke najveći problem predstavlja promjena boje i mekšanje tkiva koje djeluju nepoželjno.

Prema definiciji (Filajdić, 1988.), senzorska analiza je znanstvena disciplina koja potiče, mjeri, analizira u interpretira reakcije onih karakteristika hrane i tvari koje se zapažaju osjetilima vida, mirisa, okusa, dodira i sluha. odgovore na pitanja o kvalitetu koja se mogu svrstati u tri glavne kategorije: diskriminacija, deskripcija (opis), preferencija (prihvatljivost i dopadljivost). Senzorska analiza se suštinski razlikuje od kemijske analize po tome što su ljudi "mjerni instrumenti", kao i po tome što je cilj mjerenja u senzorskoj analizi potpuno različit od cilja mjerenja u kemijskoj analizi. Razlike u senzorskim svojstvima mjere se direktno uspoređivanjem dva ili više uzoraka za testiranje ili uspoređivanjem ispitivanog i referentnog uzorka, a u analizi sudjeluje tzv. panel, skupina ocjenjivača koji su odabrani da sudjeluju u senzorskom ispitivanju

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Materijal

Cilj ovog rada bio je ispitati stabilnost narezane jabuke sorte Cripps Pink praćenjem senzorskih svojstava i mikrobiološke ispravnosti tijekom osam dana skladištenja u priručnoj mini-pilot komori pri kontroliranim uvjetima sastava atmosfere i temperature

Plodovi jabuke Cripps Pink nabavljene iz trgovačke mreže u veljači 2016. godine. Plodovi su minimalno prerađeni tj. oprani, oguljeni i izrezani na komadiće veličine 3 cm, te skladišteni tijekom 8 dana u priručnoj mini-pilot komori s kontroliranom atmosferom s razinom kisika oko 11 - 15 %, te CO_2 oko 8 - 13 % i pri temperaturi od .4 do 6 °C

3.2 Pregled pokusa

Odvagano je oko 2 kilograma opranih jabuka te su oguljene i izrezane pomoću rezalice na 8 krišaka odvajajući ih pritom od peteljke i sjemene lože (Slike 5. i 6.). Svaka kriška prerezana je na dva dijela oštrim nožem Takvi komadići jabuke stavljeni su u prihvatnu posudu smještenu unutar komore za skladištenje namijenjene za skladištenje jabuke u kontroliranoj atmosferi. Prije početka pokusa komora je oprana vodom, kiselinom i lužinom te dezinficirana. Prije samog unošenja narezane jabuke u hladnjaču, uzeti su brisevi s površina na koje su jabuke položene kako bi se uvjerili da je prostor bakteriološki sterilan i nekontaminiran i komora je ohlađena na 6 °C i zaplinjena.



Slike 5. i 6. Rezanje i vaganje jabuka

Obzirom da je cilj bio produljiti trajanje jabuka , korištena je mješavina plinova dušika i ugljikovog dioksida u omjeru 80:20. Sastav plinova tijekom provođenja ispitivanja prikazan je u Tablici 1. Uzorci za analizu uzimani su kroz dozator hladnjače u kojemu su skladišteni, svakih 2 dana.

Tablica 1. Sastav atmosfere kroz 8 dana

Datum	Vrijeme	O_2 (%)	CO_2 (%)
8.2.	14:00	13,0	8,9
	14:40	11,2	10,3
	15:05	10,8	11,2
	15:40	9,9	12,0
9.2.	11:00	14,3	7,9
	12:50	13,3	8,9
	14:15	9,3	12,9
10.2.	10:30	14,4	8,4
	14:15	12,1	10,1
	14:40	11,4	10,8
11.2.	11:40	11,5	10,8
	12:00	9,8	11,2
	12:05	9,2	12,7
12.2.	10:30	11,6	11,3
15.2.	10:15	11,2	11,5

Metode rada

3.2.1 Mikrobiološka analiza

Analiza mikrobioloških parametra provedena je u Laboratoriju za tehnologiju vrenja i kvasca Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu. Ispitana je prisutnost PCA bakterija (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*), Enterobacteria te kvasaca.

Aparatura i pribor

1. sterilna vata na štapiću
2. vaga
3. pinceta
4. plamenik
5. plastične epruvete
6. staklene epruvete
7. Vortex uređaj
8. Petrijeve zdjelice
9. staklene i automatske pipete

Kemikalije:

1. etanol, 70%-tni
2. otopina antibiotika
3. OXI otopina
4. fiziološka otopina

Priprema uzorka:

Uzorci su uzimani direktno iz hladnjače za skladištenje u kontroliranoj atmosferi i to prvi, drugi, peti i osmi dan ispitivanja. Za potrebe mikrobiološkog testiranja, uzeto je otprilike 5 g uzorka koji je poslije izvagan. Uzorak je zatim prenesen u plastičnu epruvetu i pomiješan s 20 ml fiziološke otopine, te potom usitnjen prethodno steriliziranom pincetom i izmiješan - homogeniziran na Vortex uređaju. Nakon pripreme uzorka provedeno je nacjepljivanje na hranjive podloge za PCA bakterije, Enterobakterije i kvasce koje su pripremljene prema predlošku laboratorija u Petrijevim zdjelicama. Na hranjive podloge za kvasce nacjepljeno je 0,3 ml otopine antibiotika kako bi se spriječio razvoj bakterija, odnosno, ispitala samo prisutnost kvasaca, dok na hranjive podloge bakterija se dodaje nekoliko kapi OXI otopine koja djeluje kao inhibitor, tj. sprječava razvoj kvsaca. Na taj način može se pojedinačno pratiti razvoj kontaminanata, odnosno, posebno prebrojavati kolonije bakterija i kvasaca. Nakon nacjepljivanja, pripremljene Petrijeve zdjelice s uzorcima stavljene su na inkubaciju.

Uzorak brisa površine hladnjače (puž i košara) pripremljen je na način da je 1 cm površine prebriše sterilnom vaticom na štapiću i otopi u 10 ml fiziološke otopine. Tako pripremljen uzorak nacjepljuje se na gore navedene hranjive podloge.

Postupak određivanja

Broj mikroorganizma, odnosno kolonija, koji se razvio na hranjivoj podlozi računa se Kochovom metodom, odnosno metodom brojanja. Brojanje kolonija na hranjivoj podlozi u Petrijevoj zdjelici služi određivanju broja živih stanica. Prebrojavaju se petrijevke na kojima je broj kolonija od 25 do 300, a ovaj raspon se postigne nacjepljivanjem više decimalnih razrjeđenja. Na podloge su nacijepljeni redom volumeni od 0,5, 1 i 2 ml otopljenog uzorka. Broj kolonija odgovara broju bakterijskih stanica u uzorku samo ako se svaka kolonija razvila od jedne bakterijske stanice, zbog toga se broj kolonija označava kao broj jedinica koje tvore kolonije ili CFU (eng. colony forming units). Nakon što su kolonije prebrojane, uzimaju se srednje vrijednosti te se broj živih kolonija množi s 20 (uzorak jabuke je otopljen u 20 ml fiziološke otopine) i na kraju dijeli s masom uzorka.

Primjer 1:20 st/g x 20 ml / 5 g

Dobivene vrijednosti preračunavaju se u jedinicu CFU/g logaritmiranjem.

Primjer 2: $\log(3{,}5 \times 10^3) = 3{,}5440$

3.2.2 Senzorska analiza

Senzorsko ispitivanje jabuka skladištenih u kontroliranoj atmosferi tijekom 8 dana odvijalo se u Laboratoriju za procese konzerviranja i preradu voća i povrća na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu (Slika 7). Senzorska prihvatljivost jabuka provedena je primjenom hedonističke skale prema stupnju prihvaćanja preferencije ocjenjivača. U ocjenjivanju je sudjelovao panel od 10 članova s Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta. Ocjenjivači su izrazili mišljenje o proizvodu ocjenama od 1 do 8 , referirajući se na izgled, odnosno boju, okus, teksturu i opću prihvatljivost (Tablica 2.).

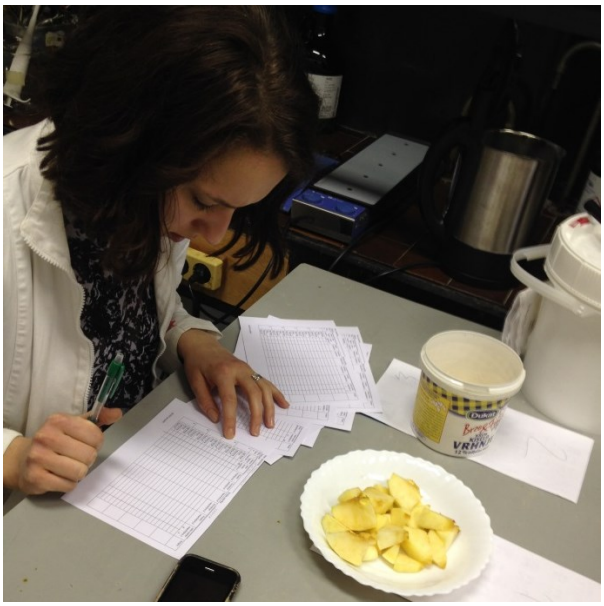
Postupak određivanja

Uzorak, odnosno, narezane jabuke, poslužene su na tanjuriće i predane na ocjenjivanje. Ocjenjivači su nakon kušanja narezane jabuke ispunili anketni listić, bodujući boju, okus, teksturu i opću prihvatljivost ocjenama od 1-8. Nakon što su svi sudionici ispitivanja ocijenili

sve uzorke, obrađeni su anketni listići tako što su izračunate srednje vrijednosti pojedinog svojstva posebno za svaki dan skladištenja.

Tablica 2. Hedonistička skala

Mišljenje	OCJENA
Vrlo visoko poželjan	8
Naročito visoko poželjan	7
Visoko poželjan	6
Osrednje poželjan	5
Neutralan	4
Osrednje nepoželjan	3
Visoko nepoželjan	2
Naročito visoko nepoželjan	1



Slika 7. Ocjenjivanje jabuka u Laboratoriju za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

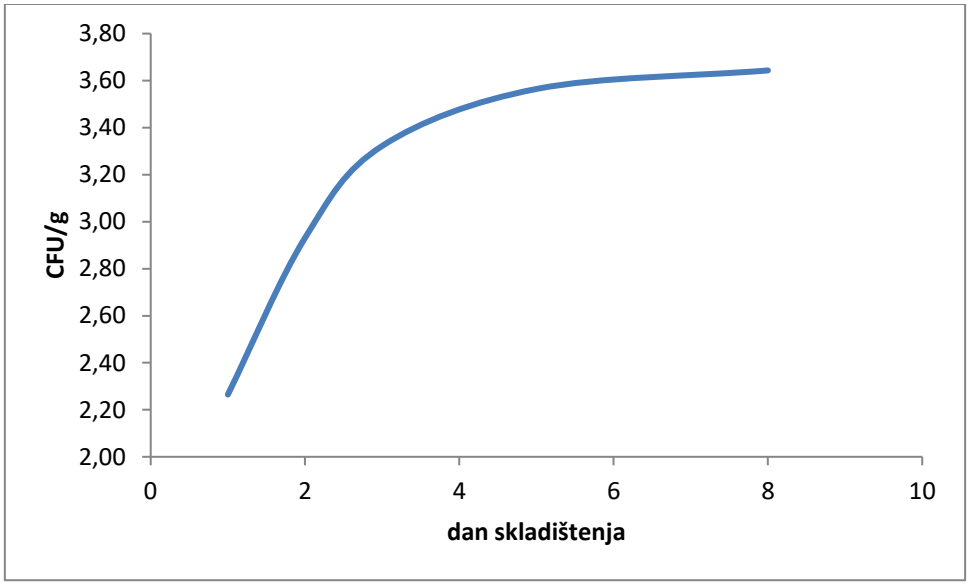
4. REZULTATI

4.1 Rezultati mikrobiološkog ispitivanja

4.1.1 PCA bakterije

Tablica 3. Broj MO razvijenih na PCA podlozi tijekom skladištenja

Dan skladištenja	Masa uzorka (g)	PCA bakterije (st/g)
1.dan	5,1023	$1,84*10^2$
2.dan	4,689	$8,53*10^2$
3.dan	4,7251	$2,1*10^3$
5.dan	4,8931	$3,67*10^3$
8.dan	4,9871	$4,4*10^3$

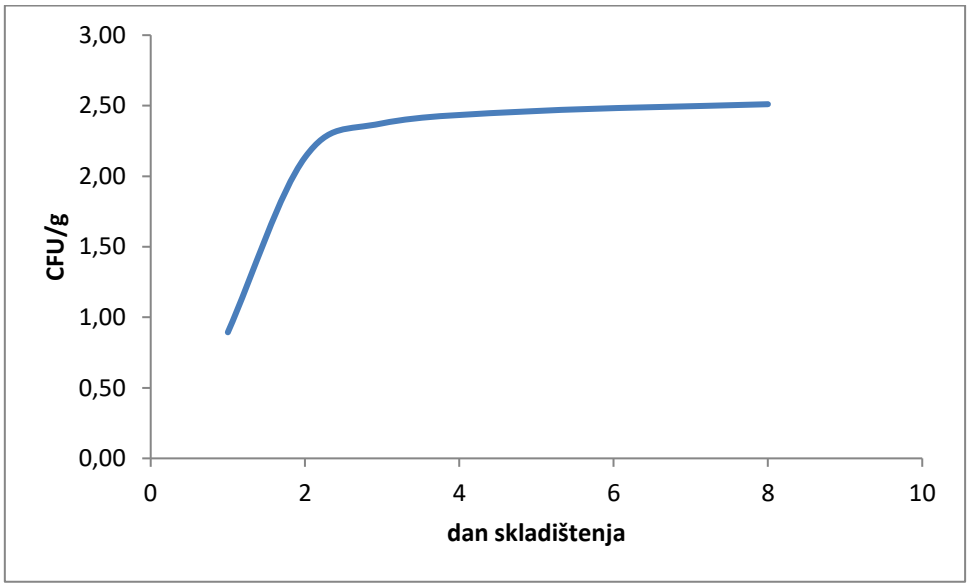


Graf 2. Razvoj kolonija PCA bakterija tijekom skladištenja

4.1.2 Kvasci

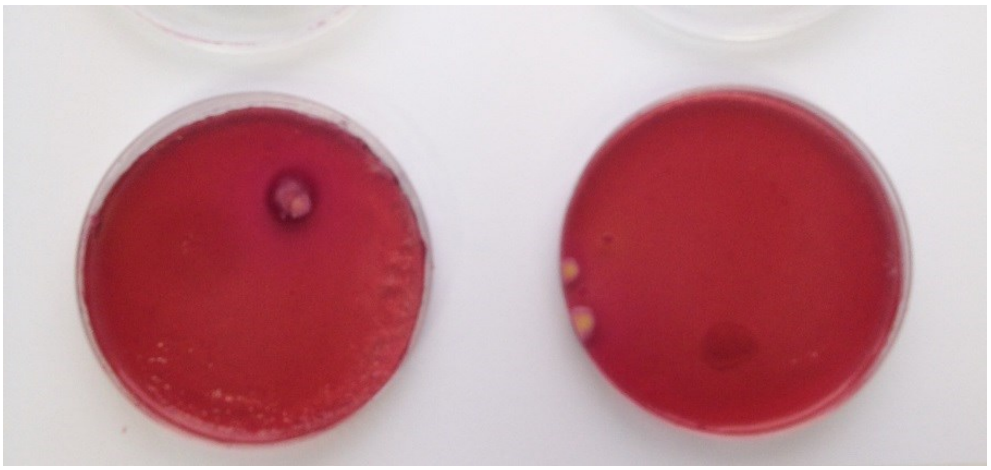
Tablica 4. Broj kvasaca razvijenih na podlozi tijekom skladištenja

Dan skladištenja	Masa uzorka (g)	Kvasci (st/g)
1.dan	5,1023	7,83
2.dan	4,689	$1,36*10^2$
3.dan	4,7251	$2,37*10^2$
5.dan	4,8931	$2,90*10^2$
8.dan	4,9871	$3,248*10^2$



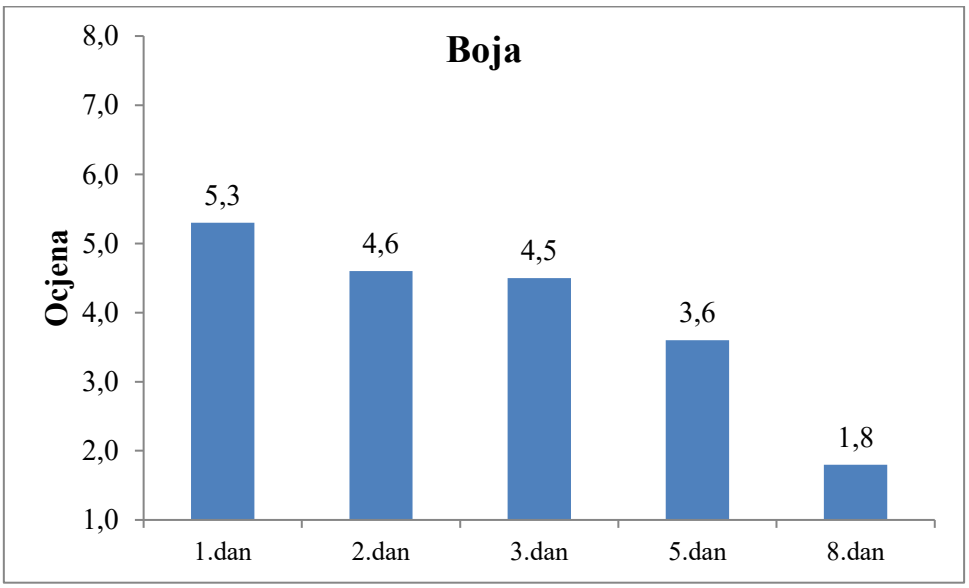
Graf 3. . Razvoj kolonija PCA bakterija tijekom skladištenja

4.1.3 Enterobakterije

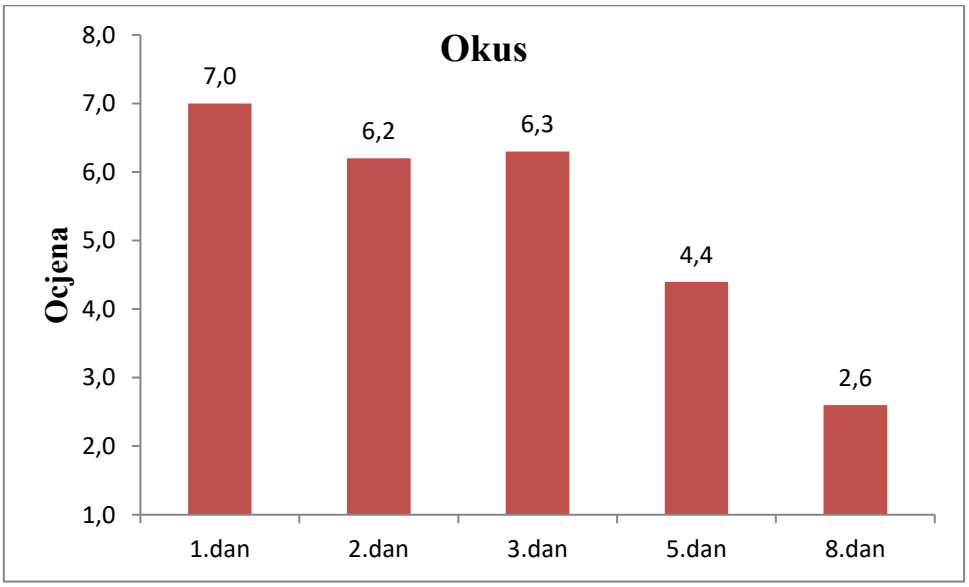


Slika 8. Hranjiva podloga uzorka jabuke prvog dana pokusa i 8.dana skladištenja

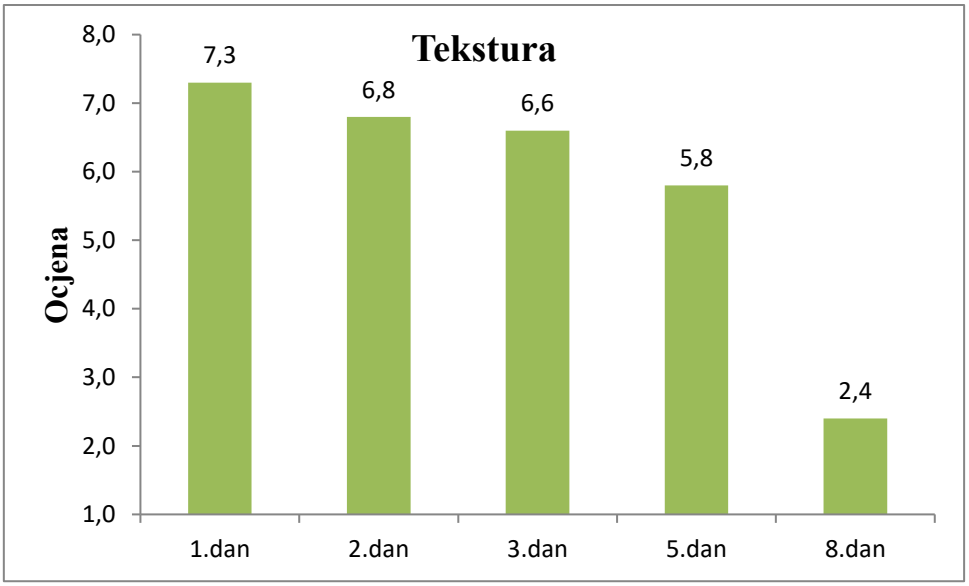
4.2 Rezultati senzorske analize



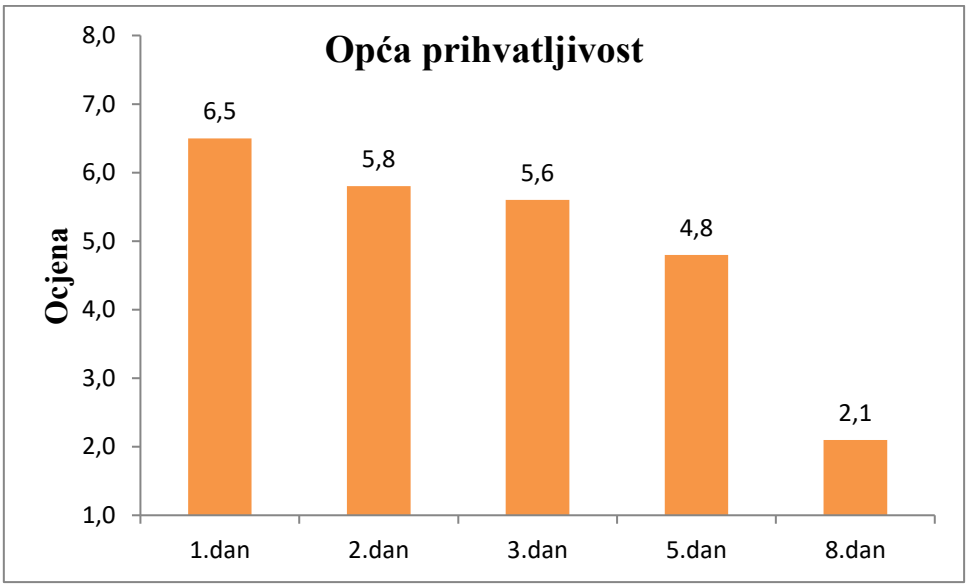
Slika 9. Prosječne vrijednosti senzorskih ocjena (1-8) za boju narezanih jabuka



Slika 10. Prosječne vrijednosti senzorskih ocjena (1-8) za okus narezanih jabuka



Slika 11. Prosječne vrijednosti senzorskih ocjena (1-8) za teksturu narezanih jabuka



Slika 12. Prosječne vrijednosti senzorskih ocjena (1-8) za opću prihvatljivost narezanih jabuka

5. RASPRAVA

Tablica 3. prikazuje porast kolonija PCA bakterija, što je bilo i očekivano. Najveći rast uočava se 8. dana skladištenja i iznosi $4,4*10^3$ (st/g), odnosno preračunato u CFU/g jedince (eng. colony-forming unit) iznosi 3,643. Osim toga, uočavamo prisutnost tih istih bakterija i na 1. danu skladištenja, ali u puno manjoj koncentraciji. Rast mikroorganizma, odnosno PCA bakterija tijekom 8 dana skladištenja prikazano je na Grafu 2. Vidljiv je eksponencijalan rast kolonija PCA bakterija.

Tablica 4. prikazuje broj kvasaca razvijenih na podlozi tijekom skladištenja. Kolonije kvasaca su se također razvile, najbrojnije na posljednjem 4. uzorku. Najveći broj stanica iznosio je 2,511 CFU/g.

Slika 8.prikazuje hranjivu podlogu uzorka jabuke prvog dana pokusa i 8.dana skladištenja te iz slike uočavamo da nije došlo do razvoja Enterobakterija prilikom skladištenja.

Svi uzorci zadovoljili su mikrobiološke kriterije, broj bakterija i kvasaca bio je <10 CFU/g, što je unutar dozvoljenih granica prema Zakonu o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (*NN* 81/13).

Mogući uzrok razvoja mikroorganizma je priprema narezane jabuke u laboratorijskim uvjetima pri sobnoj temperaturi bez posebno održavane sterilnosti prostora i bez posebno dezifinciranog pribora i opreme.

Graca i sur.(2015) proučavali su mikrobiološku kvalitetu komercijalne minimalno procesirane jabuke u Portugalu. Šezdeset i osam uzoraka svježe izrezane jabuke analizirani su prije isteka roka trajanja tj. do datuma koji je označen kao najbolje upotrijebiti do u 2011. i 2012. godini za aerobne mezofilne i psihrotrofne mikroorganizama, ukupne koliformne bakterije, mliječnu kiselinsku bakteriju (LAB) te pozitivne stafilokoke i gljivice. Uzorci su analizirani u skladu sa standardnim metodama i upotrebom Chromocult Agar za koliformne bakterije i Escherichiu coli. Kvasci su identificirani pomoću restrikcijske analize ITS-5. Otkrivena je prisutnost PCA bakterija te velika raznolikost kvasaca, povezanih s kvarenjem hrane. U uzorcima je detektirana prisutnost bakterija Escherichia coli, Listeria sp. i Salmonella sp. te mezofilni i psihrotrofni mikroorganizmi u rasponu od 3,3 do 8,9 te 4,9 do 8,4 log CFU/g.

Na temelju prethodnih istraživanja odabrana je navedena sorta jabuke zbog svojih poželjnih senzorskih osobina i zadovoljavajuće stabilnosti tijekom skladištenja.

U prethodnim istraživanjima se pokazalo kako je jabuka Cripps Pink jedna od senzorski najbolje ocijenjenih sorti zbog hrskave teksture i karakterističnog okusa (Corrigan, Hurst, Boulton 1997).

Slika 9. prikazuje rezultate senzorskog ocjenjivanja u kojemu su panelisti izražavali svoje mišljenje o boji proizvoda, odnosno narezanoj jabuci. Iz grafa je vidljivo da je boja svojstvo koje se najviše promijenilo tijekom skladištenja i takvu promjenu ispitanici su ocijenili nepoželjnom. Već kod prvog dana skladištenja boja je ocijenjena prosječnom ocjenom 5,3 što na hedonističkoj skali označava osrednje poželjno. Između 2. i 3.dana skladištenja nema velike razlike u ocjenama dok u 5.danu drastično opada na 3,6. odnosno, boja je osrednje nepoželjna. Konačno, jabuka nakon 8 dana skladištenja imala je neprivlačnu i odbojnu boju te su je panelisti ocijenili visoko nepoželjnim. Promjena boje rezultat je enzimskog posmeđivanja.

Poželjan ukus narezanih jabuke uspješno se održao tijekom 3 dana skladištenja, no nakon 8. dana ocijenjen je osrednje nepoželjnim. Iz Slike 10. vidljivo je da je najveća promjena bila nakon 5. dana skladištenja.

Slika 11. prikazuje rezultate senzorskih ocjena za teksturu narezanih jabuka. Iz grafa je vidljivo da se poželjna tekstura najduže očuvala tijekom skladištenja te bila je visoko poželjna tijekom 5 dana, no nakon 8.dana ocijenjena je nepoželjnom.

Panelisti su narezanu jabuku ocijenili opće prihvatljivom, a sukladno kao i kod ostalih parametra (boja, okus, tekstura), uzorak koji je bio skladišten 8 dana djelovao im je neprihvatljivo i odbojno.

U istraživačkom radu koji su objavili Guarrasi i sur. (2014) cilj je bio odrediti rok trajanja minimalno procesirane fresh-cut jabuke primjenom fizikalno-kemijskih i senzorskih analiza. Fresh-cut jabuka bila je skladištena 12 dana, a panelisti su ocjenjivali kiselost, slatkoću, boju, čvrstoću tijekom različitog vremena skladištenja (0,4,8 i 12 dana). Senzorskim ispitivanjem dobiveni su rezultati koji su pokazuju da su uzorci nakon 8. i 12. dana bili slabije ocjenjeni zbog prisutnosti smeđih i mekanih dijelova koji su utjecali na prihvaćanje proizvoda od strane panelista.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju podataka dobivenih mikrobiološkom analizom i senzorskim ispitivanjem minimalno procesirane jabuke Cripps Pink skladištene osam dana u kontroliranim uvjetima atmosfere i kontrolnih uzoraka, moguće je zaključiti:

1. Dobiveni rezultati su pokazali pozitivan učinak kontroliranog sastava atmosfere na održivost skladištene jabuke.
2. Proizvod i nakon 8 dana skladištenja zadovoljava mikrobiološke kriterije, odnosno, zdravstveno je ispravan.
3. Boja je svojstvo na koje je skladištenje najviše utjecalo. Promjene boje uočavaju se već nakon 2. dana, a nakon 8. dana skladištenja su tolike da je ocjenjena kao nepoželjna.
4. Poželjan okus zadržao se do 3. dana skladištenja. Nakon 5. dana uočen je pad ocjena.
5. Tekstura je tijekom skladištenja bila zadovoljavajuća što se pripisuje kvaliteti sorte Cripps Pink.
6. Sustav održavanja potrebnog sastava atmosfere u priručnoj mini-pilot komore potrebno je još dodatno unaprijediti.
7. Bez obzira na probleme održavanja sastava atmosfere, čuvanje kriški jabuke u priručnoj mini-pilot komori doprinijelo je očuvanju teksture istih. Ovim istraživanjem postignuto je značajno bolje očuvanje teksture nego boje, što ukazuje na potrebu nastavka istraživanja uz primjenu sredstava protiv posmeđivanja.
8. Sorta Cripps Pink je adekvatna za minimalno procesiranje.

7. LITERATURA

1. Anonymus 1. (2016.) Jabuka https://www.plantvillage.org/en/topics/apple Pristupljeno 25.svibnja 2016.
2. Anonymus 2 (2016.), Minimalno procesirano voće, https://www.interempresas.net/Horticulture/Articles/111810-use-bioconservacion-in-fruit-minimally-processed-vegetables.html Pristupljeno 7.6.2016.
3. Anonymus 3. (2016.) Cripps Pink jabuka http://bib.ge/fruit/open.php?id=52 Pristupljeno 7.svibnja 2016.
4. Brushett, L. Lacasse, S. T. (2006) Regional market analysis for fresh-cut apple slices. Co-operative Development Institute, S. Deerfield, MA. 53
5. Cantwell, M. I., Suslow, T. V. (2002) Postharvest Handling Systems: Fresh-Cut Fruits and Vegetables. U: Postharvest Technology of Horticultural Crops, 3. izd. (Kader, A. A., ured.), University of California, Oakland, California, str. 445-465.
6. Corrigan, V. K., Hurst, P. L., Boulton, G. (1997) Sensory characteristics and consumer acceptability of 'Pink Lady' and other late-season apple cultivars. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 25, 375-383.
7. Filajdić i sur. (1988) Metode za organoleptičku procjenu namirnica, Interna skripta PBF-a, Zagreb
8. Geíza Alves de Azeredoa, Tânia Lúcia Montenegro Stamfordb, Pollyana Campos Nunesc, Nelson Justino Gomes Netoc, Maria Elieidy Gomes de Oliveirac, Evandro Leite de Souzac, (2011) Combined application of essential oils from Origanum vulgare L. and Rosmarinus officinalis L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables, *Food Research International*, 5,1541–1548
9. Guarrasi, V i sur. (2014) Monitoring the Shelf-Life of Minimally Processed Fresh-Cut Apple Slices By Physical – Chemical Analysis and Electronic Nose, *Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Via Ugo La Malfa* 153, 90146 Palermo, Italija

10. Guthrie, J. F. (2004). Understanding fruit and vegetable choices. Economic and behavioural influences. USDA Economic Research Service Agriculture Information Bulletin 792
11. Gutierrez, J., Bourke, P. J., Lonchamp, J., Barry-Ryan, C. (2009). Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 10, 195-202.
12. Hanson B. (2005) The Best Apples to Buy and Grow, Izd. 181
13. Jakobek,L., Barro A.R. (2016) Ancient apple varieties from Croatia as a source of bioactive polyphenolic compounds. Journal of Food Composition and Analysis. 45, 9-15
14. James, H. J. (2007) Understanding the flesh browning disorder of 'Cripps Pink' apples, Faculty of Agriculture, Sydney, Australia
15. Jašić M, Šubarić D, Odobašić A, Hadžimusić V, Toloman A, Alihodžić D (2010) Čuvanje voća i povrća u hladnjačama s kontroliranom atmosferom, PrintCom d.o.o., Grafički inžinjering,.
16. Juhrićeva, K., Skudra, G., Skudra, L., 2011. Evaluation of microbiological contamination of apple fruit stored in a modified atmosphere. Enviromental and Experimental Biology 9:53-59
17. Kader A (1992) Postharvest Technology of Hortcultural Crops, University of California, Division of Agriculture and Natural resources
18. Lovrić, T. (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Hinus, Zagreb
19. Michalczuk, E.L., 1999. Fruit maturity, ripening and qualitiy relationships. Acta Horticulturae, 485:203-208
20. Miljković I.(1991) Suvremeno voćarstvo, Znanje, Zagreb
21. Nguyen, Carlin (1994) The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables, Institut National de la Recherche Agronomique
22. Pham, T.V., (2008) Prediction of change in quality of 'Cripps Pink' apples during storage.Thesis,Faculty of agriculture, Food and Natural resources
23. Ragaert, P., Verbeke, W., Devlieghere, F. and Debevere, J. (2004). Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits. Food Qual. Pref. 15: 259–270

24. Sembok, W.Z.B.W. (2009) Regulation of fruit color development, quality and atorage life of 'Cripps pink' apple with deficit irrigation and plant bioregulators. Thesis, School of Agriculture and Enviroment
25. Toivonen P. (2006) Fresh-cut apples: Challenges and opportunities for multi-disciplinary research, Agriculture and Agri-Food Canada, Kanada
26. Tsao R. (2016) Apples, *Reference Module in Food Science, from Encyclopedia of Food and Health*, 239-248
27. Zagory K., Kader A., Kerbel A., C.Y. Wang.;Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables., Critical Reviews in J. Food. Sci. Volume 28, Issue 1, 1989., DOI:10.1080/10408398909527490