

# Učinci hlađenja i zamrzavanja na kakvoću i mikrofloru mesa

---

**Landeka, Zvonimir**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:566688>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2022-10-01**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**VETERINARSKI FAKULTET**

**Zvonimir Landeka**

**UČINCI HLAĐENJA I ZAMRZAVANJA NA**  
**KAKVOĆU I MIKROFLORU MESA**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2020. godine**

**VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU**  
**ZAVOD ZA HIGIJENU, TEHNOLOGIJU I SIGURNOST HRANE**

**Predstojnik :**

Izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec

**Mentorice:**

Prof. dr. sc. Vesna Dobranić

Prof. dr. sc. Željka Cvrtila

**Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada :**

## POPIS PRILOGA

Tablice:

1. Tablica 1. Odnosi između temperature i  $a_w$  zamrznutog mesa

Slike :

1. Slika 1. Grafički prikaz promjene temperature tijekom zamrzavanja namirnice

## SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PODACI IZ LITERATURE	2
2.1 Osnove konzerviranja mesa	2
2.2. Konzerviranje niskim temperaturama	3
2.3. Hlađenje mesa	4
2.3.1. Postupci hlađenja mesa	5
2.3.2. Skladištenje i pakiranje ohlađenog mesa	6
2.4. Zamrzavanje mesa	7
3. RASPRAVA	12
3.1. Promjene u mesu kod zamrzavanja i odmrzavanja	12
3.1.1. Voda u njezina uloga u zamrzavanju	12
3.1.2. Promjene u mišićima i mišićnim vlaknima	15
3.1.3. Promjene na kemijskom sastavu i kakvoći mesa izazvane zamrzavanjem	15
3.1.4. Promjene mikroflore mesa tijekom hlađenja i zamrzavanja	17
4. ZAKLJUČCI	20
5. SAŽETAK	21
6. SUMMARY	22
7. LITERATURA	23
ŽIVOTOPIS	25

## 1. UVOD

The American Food and Drug Administration (FDA) smatra da između 24 i 81 milijun slučajeva i 10 000 bespotrebnih smrti svake godine u USA nastane zbog trovanja hranom. U Engleskoj i Walesu prema prijavljenim slučajevima pet puta se povećalo trovanje hranom u prošloj dekadi. Prema izračunu trovanja hranom uzrokovana *Salmonella enteridis* košta između 224 i 321 milijun funti. Kontrola temperature najvažniji faktor koji određuje sigurnu distribuciju razne vrste hrane uključujući meso. Kontrola temperature određuje osnovnu prehrambenu kakvoću i ekonomsku vrijednost proizvoda. Hlađenje i zamrzavanje mesa kao metode konzerviranja imaju brojne prednosti u očuvanju svojstava mesa čiji kemijski sastav karakteriziraju visokovrijedne bjelančevine, minerali i vitamini B kompleksa. U usporedbi s ostalim postupcima konzerviranja, hlađenjem i zamrzavanjem se najbolje očuvaju nutritivno vrijedni sastojci mesa. Kakvoća tako konzerviranog mesa prvenstveno ovisi o brzini i temperaturi postupka hlađenja i zamrzavanja, te o kristalima leda koji nastaju tijekom zamrzavanja, njihovom položaju i veličini. Higijenska kakvoća ohlađenog i zamrznutog mesa ovisi o mikroflori sirovine, ali i o načinu i vremenu pohrane, načinu prijevoza i pravilnom čuvanju mesa u veleprodajnim i maloprodajnim centrima. Cilj je ovog diplomskog rada prikazati učinke hlađenja i zamrzavanja na kakvoću i mikrofloru mesa.

## 2. PODACI IZ LITERATURE

### 2.1. Osnove konzerviranja mesa

Za konzerviranje mesa koriste se različiti fizikalni, kemijski i biološki postupci koji potpuno ili djelomično mogu isključiti nepovoljne utjecaje uzročnika kvarenja. Fizikalni postupci konzerviranja su hlađenje, smrzavanje, pakiranje u vakuumu, toplinska obrada, sušenje, liofilizacija, ionizirajuće i ultraljubičasto zračenje te primjena visokog tlaka i drugi.

Postupci konzerviranja inhibiraju, inaktiviraju ili uništavaju mikroorganizme. Mikroorganizmi mogu biti uništeni ili inaktivirani prilikom toplinske obrade mesa temperaturama sterilizacije i ionizirajućem zračenjem ili djelomično uništeni prilikom pasterizacije, kuhanja, salamurenja, dimljenja i fermentacije. Ipak, prilikom salamurenja, soljenja, dimljenja, kiseljenja i fermentacije mikroorganizmi su samo zaustavljeni u razvoju (inhibicija). Prilikom hlađenja rast nekih mikroorganizama može se zaustaviti, a nekih samo usporiti. Na temperaturama smrzavanja rast mikroorganizama potpuno prestaje. Pored inhibicije i inaktivacije mikroorganizama postupci konzerviranja usporavaju enzimske i kemijske reakcije u mesu kao i fizikalne promjene mesa (ŽIVKOVIĆ, 1986).

Temperatura ( $t$ ), pH i  $a_w$  poznati su kao faktori rasta mikroorganizama. Međutim kada su njihove vrijednosti nepovoljne za razvoj mikroorganizama tada oni djeluju inhibitorno ili letalno i predstavljaju antimikrobne parametre. Svaki parametar pojedinačno zavisno od svoje vrijednosti, pokazuje odgovarajući antimikrobni efekt međutim u mesu a naročito u proizvodima od mesa u isto vrijeme djeluje nekoliko antimikrobnih parametara pri čemu ukupan konzervirajući efekt počiva na njihovoj interakciji. Zahvaljujući tome ukupan konzervirajući efekt je po pravilu snažniji od prostog zbroja antimikrobnih efekata pojedinih parametara.

## 2.2 Konzerviranje niskim temperaturama

Temperatura je jedan od osnovnih činitelja koji određuje brzinu enzimatskih, kemijskih i fizikalnih promjena. Snižavanjem temperature za svakih 10°C brzina enzimatskih reakcija se smanjuje za oko dva puta što usporava ili zaustavlja razmnožavanje mikroorganizama i smanjuje intenzitet postmortalnih promjena u mišićima. Pri tome se smanjuje brzina kemijskih reakcija i intenzitet isparavanja vlage iz mesa. Na tim osnovama temperatura hlađenja i smrzavanja osigurava održivost i odgovarajući kakvoću mesa u određenom vremenskom periodu.

Pri snižavanju temperature najprije usporava, a zatim zaustavlja razmnožavanje mikroorganizama. Većina mikroorganizama prestaje se razmnožavati pri temperaturi od 0°C, ali postoje vrste koje mogu rasti na nižim temperaturama. Temperatura na kojoj se inhibiraju mikroorganizmi u mesu zavisi od vrijednosti pH, aktiviteta vode i redoksi potencijala, zatim prisustva nitrita, kuhinjske soli i drugih čimbenika. Ako su oni nepovoljni za rast, inhibicija se događa na višim temperaturama. Tako se *Clostridium botulinum* tip A i B inhibiraju pri vrijednosti pH 7,0 na temperaturi od 10°C, a pri pH 5,0 na temperaturi od 30°C. Na temperaturama ohlađenog mesa od -1 do +7°C inhibiraju termofilne i mezofilne vrste bakterija. Patogene bakterije pripadaju uglavnom mezofilima, hlađenje mesa predstavlja jednu od najvažnijih mjera za sprečavanje alimentarnih intoksikacija i toksikoinfekcija. Tipovi A i B *C. Botulinum* i *Bacillus cereus* ne mogu se razmnožavati na temperaturama nižim od 10°C, entero virulentni tip *E. coli* na temperaturama od 7 do 10°C, *Salmonella* vrste na temperaturama nižim od 6°C, a *Staphylococcus aureus* na temperaturama nižim od 5°C. Među značajnim patogenim vrstama psihrotrofno se ponašaju neproteolitični tipovi B i E *C. botulinuma*, *C. perfringens*, *Listeria monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica*.

Mikrofloru ohlađenog mesa čine pretežno aerobne, gram-negativne, psihrotrofne i psihrofilne vrste bakterija, koje su najčešći uzroci kvarenja mesa. Na početku skladištenja ohlađenog mesa dominiraju vrste koje zahtijevaju veću aktivnost vode na nižim temperaturama to je asocijacija *Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella*, a na višim temperaturama vrste iz porodice *Enterobacteriaceae*. Za vrijeme skladištenja ohlađenog mesa površina se postepeno suši i u populaciji počinju dominirati mikroorganizmi koji rastu pri nižim  $a_w$ -vrijednostima kao što su bacili, kvasci i plijesni. Kvarenje mesa u hladnjači se vidi kada proizvodi proteolize, nastali aktivnošću bakterijskih enzima, počnu



mijenjati miris i druge osobine mesa tada je broj bakterija u mesu veći od  $10^7/\text{cm}^2$ . DFD-meso kvvari se ranije sa manjim brojem bakterija na površini ( $>10^5/\text{cm}^2$ ). Razlozi za to su viši pH mesa ( $\text{pH}>6,2$ ) koji omogućava brži razvoj bakterija i mali sadržaj ili nedostatak ugljikohidrata uslijed čega bakterije počinju ranije razlagati bjelančevine mesa.

Smrzavanje zapravo inhibira, a samo djelomično inaktivira mikroorganizme. Broj inaktiviranih mikroorganizama na temperaturama smrzavanja zavisi od brzine smrzavanja, vrste mikroorganizama i dužine skladištenja. Mikroorganizmi brže odumiru pri sporom nego pri brzom smrzavanju, a smanjenje broja mikroorganizama događa se najčešće za vrijeme dužeg skladištenja. Kvasci i plijesni su otporniji od bakterija, a među bakterijama su otpornije gram-pozitivne od gram-negativnih vrsta. Patogeni mikroorganizmi smrzavanjem ne gube svoju virulenciju. Za vrijeme odmrzavanja temperatura mesa održava se relativno dugo ispod kriokopske točke i postoji mogućnost za razvoj psihrofilnih vrsta.

### 2.3.Hlađenje mesa

Temperatura mišića neposredno nakon klanja iznosi otprilike  $38^\circ\text{C}$ , a toplina koja se oslobađa biokemijskim reakcijama post mortem povećava temperaturu u dubini za još 1 do  $2^\circ\text{C}$ . Prilikom hlađenja temperatura mesa se snižava od  $-1$  do  $7^\circ\text{C}$ , na kojima se ne mogu razmnožavati patogene bakterije prije svega *Salmonelle*. U ohlađenom mesu sporije se odvijaju enzimske i kemijske reakcije i manji je intenzitet isparavanja vlage. Temperatura u dubini ohlađenog mesa goveda, svinja, ovaca i kopitara treba biti niža od  $7^\circ\text{C}$  u dubini mesa peradi i kunića niža od  $4^\circ\text{C}$ , a u unutrašnjim organima, krvi i krvnoj plazmi niža od  $3^\circ\text{C}$  (SAVELL i sur., 2005.).

#### 2.3.1. Postupci hlađenja mesa

Goveđe, svinjske i konjske polovice, trupovi ovaca i teladi hlade se rashlađenim zrakom, a trupovi zaklane peradi mogu se hladiti u rashlađenom zraku i vlažnim postupcima. Meso se može hladiti u parama kriogenih sredstava. U ovisnosti od brzine rashladnog procesa razlikuju se spori, brzi i ultrabrzi postupci hlađenja mesa. U industriji meso se hladi brzim i ultrabrzim postupcima. Hlađenje mesa je završeno kada je temperatura u svim

dijelovima mesa najviše 7 °C, odnosno u iznutricama najviše 3 °C. Svi zahtjevi vezani uz te postupke određeni su odredbama propisa.

Sporo hlađenje mesa ima tri faze. U prvoj fazi (cijedenje) polovice se ostavljaju nekoliko sati u hodniku ili prostoru između prostorije za klanje i predhladnjače da bi se dobro ocijedile i malo zasušile po površini. Slijedećih 16 do 18 sati meso je u predhladnjači pri temperaturi od 10°C i relativnoj vlažnosti zraka oko 75%. Za to vrijeme temperatura mesa se snizi na oko 15°C, a površina se zasuši, što je povoljno za održivost nedovoljno ohlađenog mesa. Meso se hladi u trećoj fazi na temperaturi od 4°C i relativnoj vlažnosti zraka od 85 do 90%. Kalo hlađenja je zbog dužine postupka i niske relativne vlažnosti zraka oko 3%.

Prilikom brzog hlađenja trupovi i polovice se hlade u komori ili u tunelu na temperaturi od -1°C do 1°C, relativnoj vlažnosti zraka od 90 do 95% i cirkulaciji zraka 1 do 3m/s. Postupak ima jednu fazu i traje sve dok se temperatura u dubini trupa ne snizi niže od 7°C. U ovim uvjetima svinjske polovice kao i trupovi ovaca, teladi i janjadi ohlade se za oko 24 sata, goveđe i konjske polovice odnosno četvrtine za 24 do 35 sati. U usporedbi sa sporim hlađenjem kod ovog postupka temperatura mesa se brže snižava, kalo hlađenja je manji, od 1,5 do 2,0% meso ima ljepšu i stabilniju boju i bolju održivost. Trupovi peradi koji vise na kolosijeku i nošeni konverom oko koga se nalaze dizne kroz koji se ubacuje hladan zrak, ohlade se za 60 minuta.

Ultrabrzo hlađenje ima dvije faze. U prvoj fazi meso se hladi na temperaturama smrzavanja, i to goveđe pri -6°C do -8°C, a svinjsko pri -8 do -12°C. Prva faza hlađenja odvija se kontinuirano u tunelima kroz koje konvejer prenosi trupove obješene na kolosijeku, pri jakoj cirkulaciji 2-4m/s i visokoj relativnoj vlažnosti zraka (95 do 100%). Prva faza hlađenja traje jedan do tri sata dok se temperatura površine mesa ne snizi do -1°C, a zatim se prekida da bi se spriječilo smrzavanje površine trupa koje je nepovoljno za kakvoću mesa. U dubini mesa temperatura je znatno viša pa se u drugoj fazi polovice drže u hladnim komorama pri temperaturi od -1 do 2°C i slaboj cirkulaciji zraka (0,1-0,3 m/s) dok se ne ujednači temperatura površine i dubine mesa. Hlađenje svinjskih polovica traje 12 do 14 sati, a goveđih od 16 do 18 sati. Svinjske polovice u prvoj fazi mogu se hladiti na temperaturi od -20°C do -30°C do jedan sat, a zatim u drugoj fazi još 10 do 12 sati. Cilj ultrabrzog hlađenja je vrlo brzo spuštanje temperature površine mesa, da bi mikroorganizmi koji su eventualno prilikom klanja dospjeli u meso bili inhibirani u lag-fazi, a isparavanje vlage se svelo na minimum što ima kao posljedicu dobru održivost,

privlačnu boju mesa i kalo hlađenja manji od 1,0%. Zbog znatne potrošnje energije troškovi su veći nego kod brzog hlađenja, ali se kompenziraju kraćim trajanjem postupka i manjim kalom. Ultrabrzi postupci hlađenja mogu utjecati nepovoljno na kakvoću mesa mladih ovaca i goveda ako se u njihovoj muskulaturi razvije snažna kontrakcija (rigor hlađenja; HONIKEL, 1998.; OMANOVIĆ i sur., 2013).

### 2.3.2. Skladištenje i pakiranje ohlađenog mesa

Optimalna temperatura skladištenja ohlađenog mesa je pri temperaturi od -1 do 2°C. Na višoj temperaturi bakterije se brže razmnožavaju, a vlaga jače isparava što ima za posljedicu manju održivost, veći kalo i promjene boje mesa. Da bi kalo pri skladištenju polovica i trupova bio mali u komorama se održava visoka relativna vlažnost 90 do 95% i slaba cirkulacija zraka (0,1-0,3m/s). Održivost ohlađenog mesa zavisi od stupnja kontaminacije, brzine hlađenja temperature i stupnja rasijecanja i usitnjavanja mesa. Meso je bolje održivo kada je manje kontaminirano mikroorganizmima, kada je brže ohlađeno i kada se čuva na nižoj temperaturi. Rasijecanjem trupova i polovica na manje komade, a posebno usitnjavanjem čiste površine mesa se kontaminiraju i smanjuje se održivost. Dobra održivost mesa se postiže higijenskim načinom rada prilikom klanja i rasijecanja i primjenom brzih i ultrabrzih metoda hlađenja. Goveđe polovice mogu biti održive od 3 do 4 tjedna, teleći trupovi od 1 do 3 tjedna, ovčji trupovi od 1 do 2 tjedna, svinjske polovice od 10 do 14 dana, a iznutrice do tri dana na temperaturama do 2°C.

Pakiranjem se produžava održivost ohlađenog mesa i proizvoda od mesa. Meso se pakira u uvjetima dobre higijene i uz održavanje hladnog lanca prilikom rasijecanja, okoštavanja, obrade i pakiranja. Meso se pakira u posude ili vrećice od plastičnih materijala i hermetički zatvara u vakuumu ili atmosferi zaštitnih plinova. Zbog opasnosti od razvoja patogenih bakterija za pakiranje se uzima meso čiji je pH niži od 5,8. Upakirano meso skladišti se na temperaturi od -1 do 2°C i intenzitetu svjetlosti do 60 luxa. Zavisno od broja mikroorganizama, temperatura skladištenja, pH, koncentracije i kombinacije plinova, održivost upakiranog mesa u komadima je od 3 do 6 tjedana, a održivost mljevenog mesa jedan do dva tjedna.

Prilikom pakiranja mesa u vakuumu stvaraju se mikroaerofilni uvjeti i oslobađa se izvjesna količina ugljičnog dioksida koji inhibiraju rast aerobnih gram-negativnih bakterija, čime se postiže bolja održivost mesa. Kvarenje vakuum-pakiranog mesa za

vrijeme skladištenja izazivaju mikroaerofilne bakterije koje stvaraju organske kiseline neugodnog mirisa (*Lactobacillus*, *Leuconostoc* i dr.; DURAKOVIĆ i sur., 2002).

#### 2.4. Zamrzavanje mesa

Čuvanje hrane zamrzavanjem nastaje pomoću nekoliko mehanizama. Pri temperaturama koje su ispod 0°C nastaje značajno smanjenje brzine rasta mikroorganizama te smanjenje promjena proizvoda uslijed djelovanja mikroorganizama. Isti utjecaj niskih temperatura vrijedi i za većinu drugih reakcija koje se normalno odvijaju u proizvodu, kao što su enzimatske i oksidacijske reakcije. Osim toga, na unutar proizvoda kod zamrzavanja hrane mijenja upotrebljivost vode da sudjeluje u reakcijama. Kako se temperatura snižava to se sve više vode pretvara u kruto stanje te je sve manje vode upotrebljivo za podržavanje kvarenja proizvoda.

Poznato je da se zamrzavanjem hrane omogućuje znatno dulje održanje njezine kvalitete. Smrznuta hrana znatno bolje očuva svoju boju, okus i sastav nego ako je konzervirana hlađenjem, sušenjem ili sterilizacijom. Jedini nedostatak ove metode je narušavanje teksture namirnice poradi stvaranja kristala leda u proizvodu. Zamrzavanje je proces kod kojeg se snižava temperatura namirnice ispod točke smrzavanja staničnog soka. Time postizemo da se reducira već spomenuta aktivnost mikroorganizama prisutnih u namirnici i bitno se usporavaju enzimatske aktivnosti enzimatskih sustava, pa se na taj način zaustavljaju procesi kvarenja hrane. Voda je također vrlo važan faktor za rast i razmnožavanje mikroorganizama.

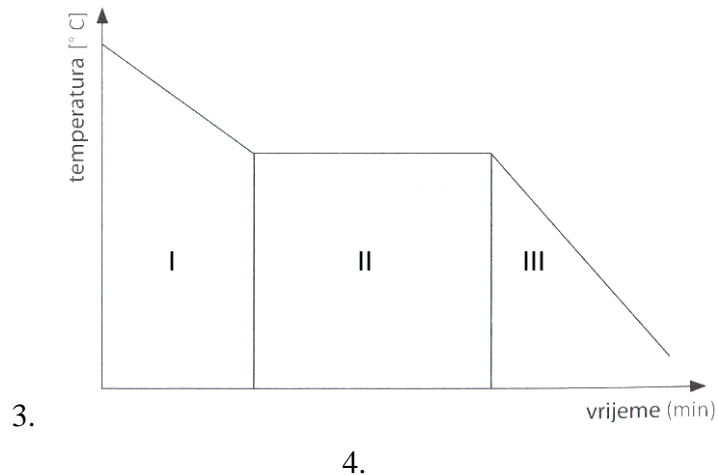
Aktivitet vode ( $a_w$ ) u mesu predstavlja dio vode koji je dostupan za biokemijske reakcije i rast mikroorganizama. Različite skupine mikroorganizama imaju različite minimalne vrijednosti  $a_w$  za svoj rast. Uz temperaturu i aciditet (pH),  $a_w$  predstavlja ključni čimbenik održivosti mesa i mesnih prerađevina. Poznato je da svi mikroorganizmi ne podnose na isti način niske temperature koje se koriste kod zamrzavanja. Ako se temperatura s optimalne za rast nekog mikroorganizma naglo snizi na vrijednost oko nule ili nižu kod njih se događa temperaturni šok. Na tu je pojavu naročito osjetljiv *Bacillus stearothermophilus*. Njegova je optimalna temperatura rasta 55°C. Ako mu se temperatura spusti sa optimalne na 20 °C on gubi sposobnost razmnožavanja. Ili na primjer, ako se *Clostridium perfringes* – u temperatura spusti sa 37 °C na 4°C praktično

mu se odmah inaktivira 95% prisutnih stanica. Neke opet druge bakterije imaju sposobnost da poslije temperaturnog šoka djelomično regeneriraju sposobnost razmnožavanja. Bakterije koje mogu namirnicu učiniti toksičnom ne mogu se razvijati na temperaturi nižoj od 3°C. Najniža temperatura za razvoj i razmnožavanje salmonela i stafilokoka je 7°C, za *Clostridium botulinum* tipa A, B i C je 10°C, dok za *Clostridium botulinum* tip E iznosi 3,30°C.

Najniže temperature pri kojima se mikroorganizmi još mogu razvijati jesu: za bakterije od 5 do 7°C, za kvasce od -7 do -10°C i za plijesni od -8 do -12°C. Također, treba napomenuti da pri uobičajenim temperaturama zamrzavanja i skladištenja (-18°C) spore nekih bakterija ostaju neoštećene i pod tim uvjetima, a njihova sposobnost razmnožavanja očuva se i poslije 10 godina skladištenja.

Reducirana aktivnost mikroorganizama posljedica je uklanjanja vode potrebne za njihov rast, jer smrzavanjem najveća količina vode prelazi u led, uz istodobno povećanje koncentracije otopljene tvari. Povećanjem koncentracije otopljene tvari smanjuje se aktivitet vode u namirnici do točke pri kojoj niti jedan mikroorganizam ne može rasti, dok se kemijske reakcije usporavaju. Ugibanje mikroorganizama kao i smanjenje njihove aktivnosti nastaje zbog izmijenjene strukture protoplazme mikroorganizma i smanjene mogućnosti razmjene tvari kroz staničnu stjenku (DURAKOVIĆ i sur., 2002).

Premda zamrzavanje hrane kao postupak očuvanja namirnice općenito rezultira visoko kvalitetnim proizvodom za potrošnju, kvaliteta je uvjetovana postupkom zamrzavanja i uvjetima skladištenja smrznutih proizvoda. Kod postupka zamrzavanja hrane ovisnost promjene temperature i vremena zamrzavanja može se grafički prikazati kao postupak koji se odvija u tri faze. Promjena temperature tijekom zamrzavanja namirnice prikazana je slici 1.



Slika 1. Grafički prikaz promjene temperature tijekom zamrzavanja namirnice (VAREŠ, 2004)

Faza I je faza u kojoj dolazi do kontinuiranog pada temperature, jer se u svakoj jedinici vremena oduzima ista količina topline. Ta faza traje do početka zamrzavanja odnosno do pojave centra kristalizacije. Faza II započinje kristalizacijom leda u namirnici i tu je temperatura namirnice konstantna zbog oslobađanja latentne topline kristalizacije koju je potrebno kontinuirano odvoditi. Ta faza traje tako dugo dok se većina vode ne pretvori u led, a temperatura hrane praktično se ne mijenja u tom periodu i to je vrijeme najintenzivnijeg stvaranja kristala leda. U fazi III temperatura hrane ponovno pada, a brzina snižavanja ovisna je o kapacitetu rashladnog postrojenja. Od spomenute tri faze zamrzavanja hrane odlučujuću ulogu u kvaliteti smrznutog proizvoda ima II faza jer u toj fazi dolazi do formiranja kristala leda.

Prema navodima literature pri temperaturi od  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  u mesu je smrznuto oko 85 % vode, a pri temperaturi  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  oko 88% (VUKOVIĆ, 2006). Hrana koju želimo čuvati u hladnjači sa prisilnom ventilacijom kroz neko duže vrijeme, najprije se mora podvrći režimu rashlađivanja (hlađenja), potom smrzavanja i tek nakon toga se skladišti kao duboko zamrznuti proizvod. Ovaj kombinirani postupak rada u hladnjačama je financijski zahtjevan, jer se u svim njegovim fazama troši puno energije. Pri određivanju toplinske bilance hladnjače za režim rashlađivanja kao i za režim skladištenja moraju se uzeti u obzir sva toplinska opterećenja komore ,hladnjače (HERCEG, 2009.).

Brzina stvaranja leda je funkcija uklanjanja topline kao i brzine difuzije vode iz otopine prema površini kristala leda. Pri maloj brzini zamrzavanja nastaje mali broj centara kristalizacije i kristali leda postepeno rastu do relativno velikih dimenzija. Voda iz stanice difundira kroz staničnu membranu u međustanične prostore pri čemu dolazi do

dehidracije stanice. Paralelno s kristalizacijom leda zbivaju se i drugi fizikalno-kemijski procesi od kojih su osmoza i difuzija najvažnije za kvalitetu zamrznute hrane. Tijekom sporog zamrzavanja dolazi zbog kristalizacije vode u međustaničnim prostorima do narušavanja ravnoteže između staničnog i izvanstaničnog prostora. Kako voda difundira iz unutrašnjosti stanice u međustanične prostore to ona pridonosi porastu veličine kristala već formiranog leda u međustaničnim prostorima. Stoga pravilno vođen proces zamrzavanja ima za cilj smanjiti efekte osmoze i difuzije. To je moguće postići povećanjem brzine zamrzavanja namirnice. Kako raste brzina zamrzavanja, raste i broj kristalića leda a njihova veličina se smanjuje.

Karakteristike sporog zamrzavanja su mali broj kristala leda, veličina kristala leda vrlo velika, kristali leda nalaze se u međustaničnom prostoru i mijenja se postojeći oblik stanica – dolazi do njihovih deformacija. Karakteristike brzog zamrzavanja su veliki broj malih kristala leda, kristali su jednoliko oblikovani i nalaze se unutar stanice i u izvanstaničnom prostoru i ne dolazi do značajnijeg deformiranja stanice (JOO i sur., 1999).

U procesu konzerviranja namirnice zamrzavanjem treba se odabrati najpogodniju temperaturu zamrzavanja za odgovarajuću namirnicu, brzina zamrzavanja i metodu zamrzavanja. Izbor najprikladnijeg postupka zavisao je i o agregatnom stanju hrane te da li je prethodno upakirana u ambalažu ili nije, da li je u izvornom ili prerađenom obliku. Zbog razlika u staničnom sastavu, razna hrana smrzava se različitom brzinom i pri različitim temperaturama, pa se tako primjerice neke vrste ribe smrzavaju već pri  $-0,5^{\circ}\text{C}$ . Brzina zamrzavanja hrane je čimbenik koji može utjecati na kvalitetu hrane, odnosno na njen nutritivni sastav. Naime, što je smrzavanje sporije to su kristali leda koji nastaju pri zamrzavanju veći. Ti veći kristali često uzrokuju stanična oštećenja do te mjere da narušavaju teksturu proizvoda (meso, riba, voće ili povrće). Kako bi se riješio ovaj problem, u industriji je razvijena metoda brzog smrzavanja. Metoda brzog smrzavanja je u zadnje vrijeme fizički najčešća industrijska metoda konzerviranja hrane, kod koje se hrana smrzne do temperature  $-18^{\circ}\text{C}$ ,  $-30^{\circ}\text{C}$  ili niže. Velika brzina procesa zamrzavanja čini ovu metodu vrlo djelotvornom i to iz više razloga. Kao prvo, tijekom brzog zamrzavanja stvaraju se mali kristalići leda, a oni bitno ne narušavaju biološku strukturu hrane, te u najvećoj mogućoj mjeri ostaju sačuvane originalne kvalitativne karakteristike svježih hrane. Nadalje, održavanje niske temperature eksponencijalno usporava kemijske i enzimske reakcije te u potpunosti onemogućava razvoj mikroorganizama. Istraživanja

su pokazala da je i sadržaj vitamina kod namirnica podvrgnutim metodi brzog smrzavanja bolje očuvan i količinski je veći, nego kod svježih namirnica koje su odstajale kroz neko duže vrijeme npr. više od 72 sata i slično.



### 3. RASPRAVA

#### 3.1. Promjene u mesu kod zamrzavanja i odmrzavanja

##### 3.1.1. Voda i njezina uloga pri zamrzavanju

Zamrzavanje mesa je proces u kojem se odvijaju promjene u njegovoj strukturi na molekularnoj razini u tijeku i nakon odvođenja topline. Kako meso (mišićno tkivo) u prosjeku sadrži 70-80 % vode te su promjene kod zamrzavanja mesa vezane manje ili više za proces stvaranja kristala leda. Kod smrzavanja mesa smrzava se samo slobodna voda, a od te vode na miofibrile otpada 70% , na sarkoplazmu 20 % i na ekstracelularnu tekućinu oko 10 %. Ova slobodna voda je kapilarnom strukturom zadržana u mesu, dok je manji dio vode koju nazivamo vezana vode vezan kemijski na bjelančevinama mesa.

Sa aspekta zamrzavanja vodi pripada središnja uloga. Voda je po svom kemijskom sastavu spoj atoma kisika i dva atoma vodika. Atomi kisika i vodika u vodi formiraju relativno jake vodikove veze. Kohezija je osobina molekule vode da uspostavlja vodikove veze s bliskim molekulama. Vodikova veza nastaje međusobnim privlačenjem i spontanom usmjeravanjem molekula tako da se elektronegativni atom kisika jedne pridružuje elektro-pozitivnim atomima vodika drugih molekula vode. Vodikove veze među susjednim molekulama neprestano pucaju i ponovno se oblikuju. Stvorena veza ima životni vijek od nekoliko mikro sekundi, a svaka molekula vode je u tekućem stanju povezana s oko  $3\frac{1}{2}$  susjednih molekula, što rezultira stvaranjem velike trodimenzionalne mreže koja je u čvrstom stanju leda jako pravilna (TOLDRA, 2010.).

U ledu su veze sa susjednim molekulama jake, a raspored molekula je fiksiran. Ako su temperature iznad 0 °C , energija termičkog kretanja je dovoljna da razori vodikove veze i da dozvoli molekulama stalnu promjenu njihovih susjeda. Kod 0 °C molekule vode dobivaju određeniju organizaciju, koja je posljedica opadanja kinetičke energije uslijed hlađenja vode, tada možemo govoriti o početnoj fazi smrzavanja. Oblik i veličina kristala koji nastaju u čistoj vodi prije svega zavise od temperature i brzine procesa zamrzavanja. Zamrzavanje vode u mesu daleko je složeniji proces na koji utječu kompleksni odnosi u pojedinim tkivima i tkivnim strukturama. Točka zamrzavanja mesa je između -0,5 i -1,5 °C. Pri temperaturi do -1 do -5 °C najveći dio vode mesa prelazi u zamrznuto stanje. Kod -10 °C zamrzava se kod goveđeg mesa oko 69% od ukupne vode u mesu. Pri temperaturi

od  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  praktički sva slobodna voda, koja nije vezana na bjelančevine, prelazi u led. Zamrzavanjem vode povećava se koncentracija otopljenih tvari (soli i dr.) u tekućoj fazi, pa se sve više snižava točka zamrzavanja za preostalu vodu. Tek pri temperaturama oko  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  zamrzava se pretežno cjelokupna slobodna voda u mesu, to jest nestaje tekuća faza i meso je jako smrznuto.

Kod sporog zamrzavanja mesa stvaraju se pretežno krupni kristali leda, koji mogu biti ponekad vidljivi golim okom. Ovi kristali leda nalaze se prije svega u međustaničnim prostorima. Jasno je da stvaranje kristala leda počinje najprije tamo gdje je točka ledišta viša, a to je u međustaničnim prostorima. Pošto je parcijalni tlak para nad kristalima leda u međustaničnim prostorima manji nego nad vodom u samom mišićnom vlaknu, to voda iz vlakana počinje prelaziti u međustanične prostore i tamo se zamrzavati. Ona tu počinje stvarati ili nove kristale leda ili povećava veličinu već postojećih kristala. Neka istraživanja ukazuju da je postoji mogućnost djelomičnog oštećenja staničnih struktura još i prije početka zamrzavanja vode u stanici, pod utjecajem hladnoće, onda razumljivo i to može biti razlog više, da oslobođena voda počinje difundirati kroz sarkoleme u međustanične prostore (JOO i sur., 1999).

Kod brzog zamrzavanja pri temperaturi  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , kristali leda u mesu koje je zamrznuto, smješteni su unutar stanice i nešto njih u međustaničnim prostorima. Ovi kristali su nepravilnog oblika i nejednake veličine te često ispunjavaju znatan dio mišićnog vlakna. Kada se promatraju presjeci mišićnih vlakana nakon smrzanja, rijetko se mogu vidjeti pravilno ovalni ili okrugli presjeci vlakana, jer kristali leda u priličnoj mjeri deformiraju vlakna. Pod djelovanjem tlaka, kojeg stvaraju nakupine leda, vlakna bivaju oštećena i njihov sadržaj može preći u intracelularni prostor. Kod neznatno bržeg zamrzavanja u rasponu temperature od  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , do temperature  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , stvara se nešto više kristala leda u vlaknima. Kod još bržeg zamrzavanja i zamrzavanja do temperature od  $-48\text{ }^{\circ}\text{C}$  pa i niže, nastaju skupine leda koje su smještene prvenstveno u vlaknima i to na njihovoj periferiji, što dovodi do promjena u sadržaju vlakna. Jasno je da veliki kristali leda mogu dovesti do ispupčenja i istežanja vlakna, dok sarkolema može ostati netaknuta. Tek vrlo brzim zamrzavanjem pri temperaturama od  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  i niže, dobivaju se vrlo fini igličasti kristali leda, koji su smješteni u velikoj mjeri unutar stanice. Na taj način zamrzavano meso, poslije odmrzavanja puno se ne razlikuje u boji od svježeg mesa. Općenito se može reći, da kod brzog zamrzavanja, odvajanje vode iz vlakana nije tako veliko kao kod sporog, pa iz tog razloga promjene u tkivu nisu tako znatne. Brzim snižavanjem temperature (brzo

odvođenje topline) dobiva se veća količina kristala, njihova raspodjela je ravnomjernija, a njihova veličina manja. Uslijed velike brzine odvođenja topline, nema dovoljno vremena za stvaranje većeg volumena kristala, jer se slobodna voda u mesu zamrzava gotovo momentalno te ne stigne difundirati iz vlakana u međustanične prostore. Ovo opet ima za posljedicu da će difuzni procesi resorpcije vode u mesu poslije odmrzavanja biti kraći. Kod brzog zamrzavanja velikih komada mesa temperatura i brzina zamrzavanja nisu iste za sve slojeve mesa unutar istog komada. Različiti slojevi tkiva zamrzavaju se različito i različitim brzinama, uslijed relativno veće ili manje toplinske provodljivosti. Površinski slojevi postaju vrlo brzo zamrznuti i tvrdi, dok je voda u središnjim dijelovima komada još uvijek tekuća. Daljnjim zamrzavanjem, ako se cijeli veći komad smrzava od početka do kraja pod istim uvjetima i to kada se počinje smrzavati centar tog komada mesa uslijed povećanja volumena dolazi do pucanja površine komada i stvaranja pukotina. Pored toga na takvom mesu se pojavljuje stezanje i deformacija mišićnih vlakana. Istovremeno i svako mišićno vlakno povećava svoj volumen u ovom postupku. Stoga dakle, sve ovo zajedno pokazuje određene negativne posljedice na inače vrlo osjetljivu i finu strukturu svih elemenata mišićnog vlakna. Također se pokazalo da je unutar stanična mehanička deformacija utoliko veća, ukoliko su temperature zamrzavanja niže. Vrlo velika brzina zamrzavanja nije poželjna iz ekonomskih razloga. Osim toga može doći do djelomičnog ili potpunog oštećenja staničnih membrana. Zamrzavanja velikom brzinom i postizanje vrlo niskih temperatura (do  $-196^{\circ}\text{C}$ ) ima za cilj da se kod nekih namirnica brzo prođe kritična zona kristalizacije leda, tako da se slobodna voda ne zamrzava, već samo staklasto očvrstne. Ona prelazi u otopinu visoke viskoznosti. No, teorijske postavke i praktična iskustva pokazuju da je to moguće postići jedino u mikroskopski tankim slojevima.

### 3.1.2. Promjene u mišićima i mišićnim vlaknima

Za vrijeme zamrzavanja i odmrzavanja mesa nastaju značajne promjene u sadržaju i strukturi stanica, poznate kao razdvajanje faza, agregacija protoplazme, te nastajanje određenih granula i vakuola u plazmi i u jezgrama stanica. Sve ove promjene posljedica su stvaranja kristala leda kod zamrzavanja i miješanja staničnih sadržaja prilikom odmrzavanja.

Kod zamrzavanja dolazi i do oštećenja ostalih staničnih organela jer stvaranjem kristala leda led stvara pritisak kojim gura stanične organele u okolni prostor i dovodi do njihovih oštećenja. Oštećenjem lizosoma oslobađaju se hidrolitički enzimi čime se brže odvijaju autolitski procesi u mesu. Istraživanja elektronskim mikroskopom su pokazala, a i općenito se smatra da su strukturalne promjene u mesu kod primjene brzih metoda zamrzavanja u principu nešto manje, oštećenja stanične strukture su manja nego kod sporih metoda zamrzavanja i oštećenja miofibrila su znatno slabija, a poprečna prugavost mišića ostaje bolje sačuvana što ukupno doprinosi homogenijoj teksturi. Ove promjene izaziva smrzavanje vode unutar stanice i u među staničnim prostorima te formiranje većih ili manjih kristala leda koji uzrokuju pritisak koji može čak razdvojiti vlakna i dovesti do njihovih puknuća ili pak mehanički pogurati i oštetiti stanične organele (RAHELIĆ, 1987).

### 3.1.3. Promjene na kemijskom sastavu i kakvoći mesa izazvane zamrzavanjem

Nepoželjne promjene prilikom zamrzavanja i odmrzavanja mesa uočavaju se već senzorski, kao gubitak mesnog soka i poremećaji konzistencije odmrznutog proizvoda. Glavni je razlog tome, što se mesni iscjedak prilikom odmrzavanja ne resorbira u potpunosti. Bjelančevine takvog mesa po svojim svojstvima podsjećaju na bjelančevine denaturirane toplinom. Prilikom zamrzavanja mesa, stvaranjem kristala leda migrira voda, a povećava se koncentracija otopljenih tvari. Međusobne aktivnosti tih tvari dovode do nastajanja nakupina, rastvaranja bjelančevina čime se smanjuje njihova sposobnost vezanja vode i rastvorljivost, a mijenja se površinska napetost i viskozitet. Paralelno s tim interakcijama dolazi i do postupnog sniženja pH vrijednosti. Danas se još uvijek ne zna dovoljno o svim kemijskim promjenama koje dovode do denaturacije bjelančevina zamrzavanjem. Neka saznanja govore da kod zamrzavanja kao i kod denaturacije toplinom značajnu ulogu imaju procesi stvaranja nakupina i umrežavanje molekula bjelančevina. Denaturacija bjelančevina zamrzavanjem je spor, ireverzibilan proces. Jače izraženi stupanj denaturacije pri lošem zamrzavanju očituje se gubitkom tekućine iz mesa - mesni iscjedak, promjenom izgleda, promjenom teksture, promjenom mirisa i okusa poslije odmrzavanja. Takvo meso gubi svježinu i sočnost, postaje drvenasto, vlaknasto i žilavo, a poslije kuhanja je prilično suho.

Određeni nukleotidi, odnosno njihovi razgrađeni produkti značajni su za okus mesa. Tako npr. inozin monofosfat (IMP) je ugodnog mirisa te povećava intenzitet okusa i mirisa drugih komponenata u mesu (slično kao npr. aditiv mono natrijev glutaminat kod uporabe u proizvodnji barenih i polutražnih mesnih preradevina). Pored IMP-a na dobar miris i okus još utječe i glutaminska kiselina, te određene aminokiseline i njihovi razgradni produkti kao na primjer karnozin i anserin. (KOVAČEVIĆ, 2001). Enzimatska razgradnja IMP-a preko inozina dovodi do nastajanja neprijatno gorkog nipoksantina. Taj spoj se može naći u mesu koje je duže skladišteno, a isto tako i u skladištenoj zamrznutoj ribi. Različite vrste mesa i riba imaju različite aktivnosti nukleozidhidrolaze. Snižavanjem temperature opada razgradnja adenzin-tri-fosfata (ATP), ali u području zamrzavanja razgradnja ATP-a se povećava. Ako bi temperatura i dalje padala u kontinuitetu, razgradnja ATP-a bi se usporavala. Ako je brzina zamrzavanja tako velika da u zamrznutom mesu zaostanu znatne količine adenzin difosfata i adenzin tri fosfata (ADP i ATP) onda je njihova daljnja sudbina ovisna o temperaturi skladištenja.

Pri temperaturi od  $-8^{\circ}\text{C}$  fosfati se u goveđem mesu brzo razlažu, ali pri temperaturi od  $-24^{\circ}\text{C}$  i niže ima ih oko 80% i nakon osam mjeseci skladištenja. Važno je da se pravilnim vođenjem procesa zamrzavanja mesa (brzo smrzavanje i odvođenje topline u kontinuitetu), te njegovim kvalitetnim skladištenjem i nakon toga pravilnim odmrzavanjem, meso trebalo očuvati u skoro izvornom obliku i takvim postupkom bi se izbjeglo dosta neželjenih pojava na mesu (MATEO i sur., 2004a).

Većina nepoželjnih promjena na lipidima tijekom zamrzavanja mogu biti enzimske ili opće kemijske prirode, a većinom su posljedica lošeg skladištenja smrznutog mesa. Povećanje kiselosti, nastajanje primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, saponifikacija i dr. pojave su koje ukazuju na pravce i intenzitet tih nepoželjnih promjena. Glavni putovi kvarenja lipida su hidroliza i oksidacija. Lipidi sa većim brojem nezasićenih masnih kiselina su posebno nestabilni kod zamrzavanja mesa (slično kao lipidi kod riba). U blizini točke zamrzavanja, prolazi hidroliza kroz jedan maksimum, a isto vrijedi i za mnoge enzimske reakcije. Lipidi koji se odvajaju od lipoproteinskih kompleksa, razlažu se dalje, do masnih kiselina i njihovih oksidacijskih produkata, koji, sa svoje strane, do određene mjere mogu denaturirati bjelančevine uslijed stupanja u reakcije sa određenim aminokiselinama. U stvari, dugo je već poznato da naročito nezasićene slobodne masne kiseline i njihovi oksidacijski produkti igraju značajnu ulogu kod denaturacije pod djelovanjem niskih temperatura.

Dugogodišnje iskustvo uči da su promjene bjelančevina prilikom zamrzavanja i potom skladištenjem u zamrznutom stanju znatno sporije. Naročito je interesantno ponašanje mesa vodene peradi i svinja, za koje je poznato, da prilikom dužeg skladištenja tih komada mesa u zamrznutom stanju, njihovi lipidi podliježu oksidacijskim promjenama na onim dijelovima koji sadrže veće količine masnog tkiva. Neki noviji podaci ukazuju da postoji i određeni odnos između hidrolize masti i denaturacije zamrzavanjem.

Kada je meso jednom bilo zamrznuto, njegov kapacitet zadržavanja vode je smanjen. To pak dovodi do povećanog kapanja, cijedenja ili nastajanja mesnog iscjetka. Koncentracija bjelančevina kod mesnog iscjetka iznosi oko 70% od ukupnog sadržaja mesa (JOO i sur., 1999) što predstavlja značajan ekonomski gubitak. Nema dokaza da dolazi do promjena okusa mesa pod utjecajem zamrzavanja i odmrzavanja. Međutim okus mesa može se promijeniti za vrijeme skladištenja smrznutog mesa i to prvenstveno uslijed oksidativnih promjena na lipidima što rezultira upaljenim užeglim okusom. Reakcija lipida s kisikom je autokatalitički proces (ENSER i sur., 1996).

#### 3.1.4. Promjene mikroflore mesa tijekom hlađenja i zamrzavanja

Mikrofloru ohlađenog mesa čine pretežno aerobne, gram-negativne, psihrotrofne i psihrofilne vrste bakterija, koje su najčešći uzroci kvarenja mesa. Na početku skladištenja ohlađenog mesa dominiraju vrste koje zahtijevaju veću aktivnost vode na nižim temperaturama, a na višim temperaturama bakterije porodice *Enterobacteriaceae*. Za vrijeme skladištenja ohlađenog mesa površina se postepeno suši i u populaciji počinju dominirati mikroorganizmi koji rastu pri nižim  $a_w$ -vrijednostima kao što su bacili, kvasci i plijesni. Kvarenje mesa u hladnjači očituje se kao promjena mirisa i drugih senzornih osobina mesa kao posljedice djelovanja produkata proteolize nastalih aktivnošću bakterijskih enzima. Tada je broj bakterija u mesu veći od  $10^7$  CFU/cm<sup>2</sup> (NORTH i LOVATT, 2012).

Mikroorganizmi se prestaju razmnožavati na temperaturama zamrzavanja i to psihrofilne bakterije pri temperaturi od -7 °C, kvasci pri -12 °C većina plijesni pri -15 °C a neke vrste i pri temperaturi od -18 °C. Psihrofilne vrste plijesni i kvasaca (*Cladosporium*, *Aureobasidium* i *Penicillium*) razvijaju se za vrijeme skladištenja na zamrznutom mesu stvarajući micelij koji uzrokuju crne i zelene diskoloracije. Inhibicija plijesni i kvasaca

na zamrznutom mesu zavisi kako od vrijednosti temperatura tako i od  $a_w$ -vrijednosti koja opada zbog povišenja koncentracije mineralnih tvari u nezamrznutom dijelu vode (CARLEZ i sur., 1994; LAGERSTEDT i sur., 2008).

Tablica 1.: Odnosi između temperature i  $a_w$  zamrznutog mesa (LEISTNER i sur., 1981.)

$^{\circ}\text{C}$	$a_w$	$^{\circ}\text{C}$	$a_w$
-1	0,990	-15	0,864
-3	0,971	-20	0,823
-5	0,953	-25	0,784
-10	0,907	-30	0,746

Iako se većina mikroorganizama prestaje razmnožavati pri temperaturi od 0 °C određene vrste mogu rasti na nižim temperaturama. Temperatura na kojoj se inhibiraju mikroorganizmi u mesu ovisi o pH, aktivitetu vode i redoks potencijalu, zatim količini nitrita, soli i drugih čimbenika (JAMES, 2002.). Ako su oni nepovoljni za rast, inhibicija se odvija na višim temperaturama. Pa se tako rast bakterije *Clostridium botulinum* tip A i B inhibira pri pH 7,0 na temperaturi od 10 °C, a pri pH 5,0 na temperaturi od 30 °C. Na temperaturama ohlađenog mesa od -1 do +7 °C inhibira se rast termofilnih i mezofilnih bakterija. Patogene bakterije pripadaju uglavnom mezofilima. Hlađenje mesa predstavlja jednu od najvažnijih mjera za sprečavanje alimentarnih intoksikacija i infekcija. Tipovi A i B *C. botulinum* i *Bacillus cereus* ne mogu se razmnožavati na temperaturama nižima od 10°C, enterovirulentni tip bakterije *Escherichia coli* na temperaturama od 7-10°C, *Salmonella* vrste na temperaturama nižima od 6°C, a *Staphylococcus aureus* na temperaturama nižima od 5°C. Među značajnim patogenim vrstama psihrotrofno se ponašaju neproteolitični tipovi B i E bakterije *C. botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica*. Mikrofloru ohlađenog mesa čine pretežno aerobne, gram-negativne, psihrotrofne i psihrofilne vrste bakterija, koje su najčešći uzroci kvarenja mesa. Na početku skladištenja ohlađenog mesa dominiraju bakterijske vrste koje zahtijevaju veću aktivnost vode na nižim temperaturama (asocijacija *Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella*), a na višim temperaturama vrste iz porodice *Enterobacteriaceae*, a potom kao što smo već naveli dominiraju kvasci i plijesni

koji rastu pri nižim  $a_w$ -vrijednostima. Tvrdo, suho i tamno meso kvari se ranije s manjim brojem bakterija na površini ( $>10^5/cm^2$ ). Razlozi za to su viši pH mesa ( $pH > 6,2$ ) koji omogućava brži razvoj bakterija i mali sadržaj ili nedostatak ugljikohidrata uslijed čega bakterije počinju ranije razlagati bjelancevine mesa.

Mikrofluoru mesa upakiranog u vakuumu čine gram-pozitivne mikroaerofilne psihrotrofne bakterije koje stvaraju mliječnu i druge organske kiseline kao što su *Lactobacillus*, *Leuconostoc* i *Carnobacterium*. Mikroflora mesa upakiranog u atmosferi zaštitnih plinova zavisi od koncentracije kisika. Pri niskoj koncentraciji kisika razvijaju se mikroaerofilni, prije svih *Brochotrix termosfacta* koja stvara mliječnu kiselinu i *Enterobacteriaceae*, u prisutstvu kisika pretežno *Pseudomonadaceae* (MILLS i sur., 2014).

Postupak zamrzavanja mesa u osnovi inhibira, a samo djelomično inaktivira mikroorganizme. Broj inaktiviranih mikroorganizama zavisi od brzine zamrzavanja, vrste mikroorganizama i dužine skladištenja. Mikroorganizmi brže odumiru pri sporom nego pri brzom zamrzavanju, a smanjenje broja mikroorganizama događa se najčešće za vrijeme dužeg skladištenja. Kvasci i plijesni su otporniji od bakterija, a među bakterijama su otpornije gram-pozitivne od gram-negativnih vrsta. Patogeni mikroorganizmi zamrzavanjem ne gube svoju virulenciju pa tijekom odmrzavanja kada se temperatura mesa održava relativno dugo ispod kriokopske točke, postoji mogućnost za razvoj psihrofilnih vrsta (LAGERSTEDT i sur., 2008).



## 6. ZAKLJUČCI

Struktura mesa mijenja se tijekom procesa hlađenja i zamrzavanja odnosno skladištenja uslijed skraćivanja mišićnih vlakana. U tom smislu zamrznuto meso ima manju sposobnost zadržavanja vode što posebno dolazi do izražaja tijekom odmrzavanja radi otpuštanja mesnog soka te utjecaja na kvalitetu mesa. Hlađenje, a posebno zamrzavanje inhibira, a samo djelomično inaktivira mikroorganizme. Broj inaktiviranih mikroorganizama na nižim temperaturama zavisi od brzine hlađenja i zamrzavanja, vrste mikroorganizama i dužine skladištenja. Mikroorganizmi brže odumiru pri sporom nego pri brzom zamrzavanju, a smanjenje broja mikroorganizama događa se najčešće za vrijeme dužeg skladištenja. Patogeni mikroorganizmi ni zamrzavanjem ne gube svoju virulenciju.

#### 4. SAŽETAK

Hlađenje i zamrzavanje mesa kao metode konzerviranja imaju brojne prednosti u očuvanju svojstava kako mesa tako i proizvoda od mesa. Kakvoća na taj način konzerviranog mesa prvenstveno ovisi o brzini i temperaturi postupka hlađenja i zamrzavanja, te o veličini kristala leda koji nastaju tijekom zamrzavanja, njihovom položaju i veličini. Higijenska kakvoća ohlađenog i zamrznutog mesa ovisi o mikroflori sirovine, ali i o načinu i vremenu pohrane, načinu prijevoza i pravilnom čuvanju mesa u veleprodajnim i maloprodajnim centrima.

Ključne riječi: meso, temperatura, zamrzavanje, mikroflora

## **5. SUMMARY**

### **COOLING AND FREEZING EFFECTS ON QUALITY AND MICROFLORA OF THE MEAT**

Cooling and freezing meat, as a conservation methods, have multiple advantages in keeping characteristics of meat and also meat products. Quality of meat, conserved with this method, primarily depends on speed and temperature of cooling and freezing process. Also, it depends of size and position of crystal ice molecules, that are created during freezing process. Hygienic quality of cooled and frozen meat depends on microflora of the meat, but also it depends upon method and time of storage, way of transport and adequate storing of the meat in retail and wholesale Centers.

Key words: meat, temperature, microflora

## 6. LITERATURA

1. CARLEZ, A., J.-P. ROSEC, N. RICHARD, J.-C. CHEFTEL (1994): Bacterial Growth During Chilled Storage of Pressure-Treated Minced Meat. *LWT - Food Science and Technology*, 27, 48-54.
2. DURAKOVIĆ, S., F. DELAŠ, L. DURAKOVIĆ (2002): Moderna mikrobiologija namirnica. Kugler, Zagreb.
3. ENSER, M., K. HALLET, B. HEWITT, G.A.J. FURSEY, J.D. WOOD (1996): Fatty acid content and composition of English beef, lamb, pork at retail. *Meat science* 42,443-456.
4. HERCEG, Z (2011): Procesi u prehrambenoj industriji. Plejada, Zagreb
5. HONIKEL, K. O. (1998.): Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science* 49, 4, 447-57.
6. JAMES, S. J. (2002): New developments in the chilling and freezing of meat. In: *Meat Processing. Improving Quality. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, pp 297-312.
7. JOO, S.T., R.G. KAUFFMAN, B.G. KIM, G.B. PARK (1999): The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Sci.* 52,:297-297.
8. KOVAČEVIĆ, D. (2001): Kemija i tehnologija mesa i ribe. Prehrambeno tehnološki fakultet. Str. 296.
9. LAGERSTEDT Å, L. ENFÄLT, L. JOHANSSON, K. LUNDSTRÖM (2008): Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. *Meat Sci.* 80, 457–461.
10. LEISTNER, L, W. RODEL, K. KRISPIEN (1981): Microbiology of meat products in high and intermediate – moisture ranges. In: *Water activity: influences on food quality. Academic press. New York.* Str 855-916.

11. MILLS, J., A. DONNISON, G. BRIGHTWELL (2014): Factors affecting microbial spoilage and shelf-life of chilled vacuum-packed lamb transported to distant markets: A review. *Meat Science*, 98, 1, 71-80.
12. NORTH, M. F., S. J. LOVATT (2012): *Chilling and Freezing Meat*. U: *Handbook of meat and meat processing*. Second edition. Ed.: Y. H. Hui. CRC Press. London & New York.
13. OMANOVIĆ, H., K. ŽDRALOVIĆ, A. ČAUŠEVIĆ, E. MUJIĆ, S. HALIMOVIĆ, N. PRAČIĆ (2013.): Uticaj pasmine na randman i kvalitet mesa različitih tipova teladi. *Radovi Poljoprivredno-prehrambenog fakulteta, Univerziteta u Sarajevu LVIII*, 63/2.
14. RAHELIĆ, S. (1987.): *Kvaliteta mesa plemenitih svinja*. Novi Sad.
15. SAVELL, J.W., S. L. MUELLER, B. E. BAIRD (2005): The chilling of carcasses. *Meat Science* 70,3, 449-459.
16. TOLDRA, F. (2010.): *Handbook of Meat Processing*. ISBN: 978-0-813-82182-5. Wiley-Blackwell.
17. Vareš, M. (2004): *Principi konzerviranja hrane*. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.
18. VUKOVIĆ, I. K. (2006): *Osnove tehnologije mesa*. Naučna KMD. Beograd, 2006.
19. ŽIVKOVIĆ, J. (1986): *Higijena i tehnologija mesa*. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb.

## **7. ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 16. veljače 1990. godine u Posušju, BiH. Završio sam osnovnu školu u Posušju, nakon koje sam upisao i završio Opću gimnaziju Fra Grge Martića. 2008. godine sam upisao Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija, sudjelovao sam u organizaciji i održavanju „Sportskih susreta Biomedicinskih fakulteta (Humanijada)“. Bio sam voditelj folklorne sekcije „Zavičajnog kluba Hercegovačkih studenata“. Također, vodio sam organizaciju „Hercegovačkih igara na Jarunu“.