Utvrđivanje udjela kolagena kao pokazatelja kvalitete kobasica

Peinović, Lovran

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:869084

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

Lovran Peinović

UTVRĐIVANJE UDJELA KOLAGENA KAO POKAZATELJA KVALITETE KOBASICA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2018.

Sveučilište u Zagrebu
Veterinarski fakultet
Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane

Predstojnica: izv. prof. dr. sc. Vesna Dobranić

Mentori: prof. dr. sc. Željka Cvrtila
izv. prof. dr. sc. Jelka Pleadin

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

ZAHVALA

Zahvaljujem Laboratoriju za analitičku kemiju Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu što mi je ustupio uzorke kobasica i omogućio provedbu analiza u svrhu izrade ovog diplomskog rada. Posebno se zahvaljujem voditeljici Laboratorija prof. dr. sc. Jelki Pleadin te njezinim suradnicama Višnji Štefan i Lidiji Dergestin Bačun, dipl. ing. na stručnoj pomoći tijekom izvođenja analiza i prikupljanja podataka.

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Željki Cvrtili na strpljenju, pomoći i vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

POPIS SLIKA

Slika 1.: Tehnološki proces proizvodnje trajnih kobasica

Slika 2.: Tehnološki proces proizvodnje obarenih kobasica

Slika 3.: Tehnološki proces proizvodnje polutrajnih kobasica

Slika 4.: Uređaj za destilaciju i titraciju, Gerhardt, Vapodest 50s

Slika 5.: Titracija sa 0,1 N klorovodičnom kiselinom

Slika 6.: Epruvete za mjerenje apsorbancije

Slika 7.: Spektrofotometar DR 6000, HACH

Slika 8.: Standardne otopine hidroksiprolina

POPIS TABLICA

Tablica 1.: Kobasice analizirane u radu - uzorci

Tablica 2.: Rezultati – trajne kobasice

Tablica 3.: Rezultati – trajne kobasice; kulen i zimska

Tablica 4.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - obarene kobasice

Tablica 5.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - obarene kobasice; pariška kobasica

Tablica 6.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - polutrajne kobasice

Tablica 7.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - polutrajne kobasice; kranjska i tirolska

Tablica 8.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - kobasice od mesa u komadima

Tablica 9.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - kuhane kobasice

SADRŽAJ

1. UVOD.....1

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJEG ISTRAŽIVANJA.....2

2.1. KVALITETA KOBASICA.....2

2.1.1. TRAJNE (FERMENTIRANE) KOBASICE.....4

2.1.2. TOPLINSKI OBRAĐENE KOBASICE.....7

2.2. ZNAČAJ BJELANČEVINA U PREHRANI.....12

2.3. PROCJENA KVALITETE U ODNOSU NA VAŽEĆE PROPISE U RH.....14

3. MATERIJALI I METODE.....18

3.1. UZORCI.....18

3.2. ODREĐIVANJE UKUPNIH BJELANČEVINA U MESNIM PROIZVODIMA.....19

3.3. ODREĐIVANJE HIDROKSIPROLINA/KOLAGENA U MESNIM PROIZVODIMA.....24

4. REZULTATI.....30

5. RASPRAVA.....35

6. ZAKLJUČAK.....38

7. LITERATURA.....39

8. SAŽETAK.....42

9. SUMMARY.....43

10. ŽIVOTOPIS.....44

1. UVOD

Riječ kvaliteta ili kakvoća potječe od latinskog “qualitas”, a predstavlja svojstvo, odliku, značajku, sposobnost, vrijednost. Taj se pojam koristi na razne načine i ne postoji njegova jasna definicija. Prema normi ISO 9000 je "Kvaliteta je stupanj do kojeg skup svojstvenih karakteristika ispunjava zahtjeve". S gledišta potrošača kvaliteta se povezuje s korisnošću ili cijenom. S gledišta proizvođača povezuje se s oblikovanjem i izradom proizvoda. Kvalitetu nekog proizvoda ili usluge određuje odnos želja i potreba korisnika i njihove realizacije.

Zahtjevi kvalitete kojima moraju udovoljavati mesni proizvodi u proizvodnji i pri stavljanju na tržište odnose se na nazive, definicije i opće zahtjeve, sastav i senzorska svojstva, vrstu i količinu sirovina te drugih tvari koje se koriste u proizvodnji i preradi, tehnološke postupke koji se primjenjuju u proizvodnji i preradi te dodatne zahtjeve označavanja (ANON., 2012.).

U skladu s tim u proizvodnji kobasica upotrebljavaju se različite vrste i kategorije mesa te je potrebno kontrolirati kvalitetu sirovine i gotovog proizvoda, a sve u svrhu zaštite potrošača i ujednačavanja kvalitete proizvoda na tržištu. Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (ANON., 2012.) omjer kolagena i bjelančevina mesa smatra se pokazateljem kvalitete. U tom smislu u okviru ovog rada biti će analizirani uzorci mesnih proizvoda iz skupina trajnih i toplinski obrađenih kobasica. Utvrđivati će se udio kolagena (bjelančevine vezivnog tkiva) i ukupnih bjelančevina standardnim akreditiranim metodama (spektrofotometrijska metoda HRN ISO 3496:1999 za određivanje hidroksiprolina/kolagena i titracijska metoda HRN ISO 937:1999 za određivanje ukupnih bjelančevina). Pri provedbi analitičkih postupaka provjeriti će se ponovljivost rezultata dvaju paralelnih određivanja sukladno zahtjevima normi, te točnost metoda, uz primjenu certificiranog referentnog materijala sa označenom vrijednošću ovih parametara. Nadalje, računskim putem, za svaki uzorak, odrediti će se udio kolagena u bjelančevinama mesa.

Cilj ovoga rada je utvrditi udio kolagena te omjer kolagena i bjelančevina mesa kao značajnog kriterija kvalitete mesnih proizvoda.

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJEG ISTRAŽIVANJA

2.1. KVALITETA KOBASICA

Kvaliteta hrane definirana je iz dvije perspektive; znanstvenog statusa i sklonosti potrošača. Znanstveni čimbenici koji utječu na kvalitetu hrane su: sastav, kvarenje, bojila, aditivi, hranjive tvari, arome, funkcionalni sastojci (utječu na zdravlje), onečišćenja, opća sigurnost itd. Sklonosti potrošača povezane su izravno sa ljudskim osjetilima - vid, dodir, miris, okus i osjet u ustima. Vizualni čimbenici se odnose na boju, vlagu i ukupni izgled. Taktilni čimbenici odnose se na elastičnost i mekoću odnosno tvrdoću. Osjet u ustima se odnosi na teksturu, mekoću, nježnost i žvakanje. Također, kvaliteta hrane ovisi i o genetici te biologiji životinja pa je tako teletina u usporedbi sa govedinom puno mekša i nježnija, piletina je nježnija od puretine, morska riba se razlikuje od slatkovodne ribe, a i bijelo meso se biološki razlikuje od tamnog mesa (NOLLET, 2007.). Kvaliteta bjelančevina mesa i mesnih proizvoda ovisi o količini ekstracelularnih proteina vezivnog tkiva prisutnih u koštanim, srčanim i glatkim mišićnim tkivima (tj. kolagena, elastina, proteoglikana i dr.). Značajne razine mesa slabe kvalitete (iz ekonomske i prehrambene točke gledišta) bogatog vezivnim tkivom mogu se utvrditi procjenom sadržaja kolagena odnosno hidroksiprolina (MESSIA i sur., 2008.). Kontrola kvalitete je glavni zadatak tijekom svih industrijskih procesa, pa tako i u prehrambenoj industriji, jer se kvaliteta hrane ne može nedvosmisleno definirati pomoću kemijskih analiza ili objektivnih mjerenja. Bitan korak u bilo kojoj strategiji orijentiranoj na kvalitetu je prepoznati i kvantificirati one parametre koji mogu bolje opisati i okarakterizirati proizvod (DELLAGLIO i sur., 1995.).

Kobasice su proizvodi dobiveni nadijevanjem prirodnih ili umjetnih ovitaka smjesom različitih vrsta i količina usitnjenog mesa, masnog tkiva, kožica, iznutrica, ostataka vezivnog tkiva i dodatnih sastojaka. Osnovno obilježje kobasica jest ovitak u kojem je nadjev. Ovitak štiti nadjev kobasice od vanjskih utjecaja, a ipak omogućava isparavanje vode iz nadjeva kao i prodiranje dima u nadjev. Osnovna je zadaća ovitka da održava proizvod u obliku i veličini koji su najpogodniji za naredne tehnološke operacije i rukovanje kobasicama u prometu. Zbog toga sami ovici moraju biti dovoljno čvrsti, kompaktni, elastični, nehigroskopni i otporni na djelovanje mikroorganizama. U samoj proizvodnji kobasica upotrebljavaju se prirodni i umjetni ovitci.

Kao prirodni ovitci kobasica upotrebljavaju se uglavnom obrađeni dijelovi crijeva životinja za klanje uključujući sluznicu jednjaka goveda i svinja te mokraćni mjehur goveda, svinja i ovaca. Za određene vrste kobasica upotrebljavaju se odgovarajuća crijeva koja najbolje odgovaraju obliku, veličini, sastavu i načinu obrade kobasica. Prema kvaliteti se crijeva razvrstavaju u I. i II. kvalitetu. Crijeva I. kvalitete moraju biti bjelkasta ili siva, normalno vlažna, dobro posoljena, čvrstih stijenki i bez ostataka seroze, sluznice i mišićnice te bez oštećenja. Također, moraju biti bez tragova rđe, patoloških promjena i bez solnih mrlja. Crijeva II. kvalitete su sive do tamnosive boje, normalno vlažna i dobro posoljena, a mogu biti s manjim ostacima sluznice, ali bez rđe, plijesni i patoloških promjena. Dozvoljene su djelomične solne mrlje kao i manja oštećenja stijenke s tim da crijevo može izdržati pritisak prilikom nadijevanja. Greške crijeva mogu biti premortalne i postmortalne. Premortalne su najčešće u vezi s različitim patološkim promjenama. Crijeva s patomorfološkim promjenama zbog zaraznih bolesti nisu upotrebljiva kao ovici za kobasice. Od postmortalnih promjena najčešće susrećemo gnjiljenje crijeva. Ono je posljedica zakašnjenja u čišćenju crijeva nakon evisceracije trupa zaklane životinje. Gnjiljenje može nastati i u nedovoljno očišćenim, odnosno u prekasno ili nepotpuno usoljenim crijevima.

Umjetni se ovitci sve više koriste u suvremenom kobasičarstvu od različitih materijala uz uvjet da nisu: škodljivi za zdravlje i obojeni bojama koje prelaze u nadjev i otapaju se u nekoj od komponenata nadjeva. Tiskarske boje što se upotrebljavaju za označavanje i deklariranje proizvoda ne smiju prolaziti kroz ovitak niti na sadržaj proizvoda. Prema podrijetlu i tehnološkim svojstvima umjetne ovitke dijelimo na: kolagene, celulozne, sintetske, natronske i pergamentne ovitke. Kolageni su ovitci po svojim svojstvima najsličniji crijevima. Proizvode se od nusproizvoda klanja, a bjelančevinska ih osnova čini jestivima. Propusni su za vodu i plinove, ali su nepropusni za mast. Celulozni ovitci se dobivaju iz hidroceluloze. Propusni su za vodu, zrak i mast. Upotrebljavaju se u proizvodnji kobasica bez ovitka pri čemu se nakon toplinske obrade umjetni ovitak odbacuje. Natronski i pergamentni ovitci su se prije često koristili, ali su u posljednje vrijeme potisnuti od kvalitetnijih umjetnih uvitaka iz uvoza. Sintetski ovici su umjetni ovici najbolje kvalitete. Proizvode se od poliamidskih folija. To su vrlo čvrsti ovitci bez šava koji vrlo dobro podnose hladnoću do -45 °C i toplinu do 120 °C. Nisu propusni za mast i plinove (ŽIVKOVIĆ, 1986.; HERAK-PERKOVIĆ i sur., 2012.).

2.1.1. TRAJNE (FERMENTIRANE) KOBASICE

Fermentirani proizvodi od mesa se konzumiraju već stoljećima u mnogim zemljama svijeta i čine jednu od najvažnijih skupina hrane. Većina proizvoda i dalje se oslanja na lokalnu, tradicionalnu proizvodnju jer je dostupno malo znanstvenih informacija, ali je znanje postalo važni alat za dosljednu proizvodnju visoke kvalitete i sigurnosti proizvoda. Fermentacija mesa je niskoenergetska, biološko zakiseljavajuća metoda čuvanja koja rezultira jedinstvenim i specifičnim svojstvima mesa, kao što su okus i miris, boja, mikrobiološka sigurnost, nježnost, i niz drugih poželjnih svojstava. Promjene sirovog mesa u fermentirani proizvod uzrokovane su "kultiviranim" ili "divljim" mikroorganizmima koji smanjuju pH. Mliječna kiselina, koja dovodi do antimikrobnog učinka kod fermentiranih proizvoda potječe iz prirodnih rezervi glikogena u tkivu životinje uz dodatak šećera tijekom proizvodnje (TOLDRA i sur., 2007.).
Tijekom zrenja fermentiranih kobasica dolazi do nekoliko kemijskih promjena koje određuju okus i miris krajnjeg proizvoda. Fenomen koji se događa tijekom fermentacije je acidifikacija šećera bakterijama mliječne kiseline i redukcija nitrata i nitrita u dušikov oksid mikrokokima. Međutim, kemijske promjene koje su uključene u ovaj proces, a posebno odgovorni agensi još nisu utvrđeni, iako su pripisani promjenama u većinskim komponentama (proteinima i lipidima) i dodanim sastojcima (začini i mirodije) u pripremi izvorne smjese. Tipičan okus i miris fermentiranim kobasicama ne može se pripisati samo poželjnim hlapivim tvarima već i velikom broju hlapljivih neugodnih spojeva prisutnih u proizvodu u odgovarajućim omjerima. Mikrobiološko zrenje kobasice zajedno s aktivnošću endogenih enzima mesa nedvojbeno je djelomično odgovorno za razvoj brojnih aromatičnih i ukusnih spojeva (ORDONEZ i sur., 1999.).

Nema nikakve sumnje da su trajne kobasice po sirovinskom sastavu i prehrambenoj vrijednosti najkvalitetniji i komercijalno najvredniji kobasičarski proizvodi. Razlog tome je što se proizvode od najkvalitetnijeg mesa i podvrgavaju vremenski dužem i skupom procesu zrenja (fermentaciji). U našoj se zemlji pripremaju od fino do vrlo grubo usitnjenog svinjskog mesa I. i II. kategorije uz dodatak goveđeg ili ovčjeg mesa, čvrstog masnog tkiva i dodatnih sastojaka. Ne podvrgavaju se toplinskoj obradi, nego se konzerviranje postiže hladnim dimljenjem te sušenjem i zrenjem na zraku. Nadjevaju se u konjska, goveđa i svinjska crijeva ili još češće u različite umjetne ovitke. Tehnološki proces proizvodnje trajnih kobasica odlikuju specifična priprema sirovina te hladno dimljenje i zrenje, a u manjoj se mjeri razlikuje s obzirom na sirovinski sastav i veličinu proizvoda (slika 1.). U izradi trajnih

kobasica koriste se prije svega meso i čvrsto masno tkivo (slanina) starijih, mesnatih svinja. U postupku suhog salamurenja, koje se vrši tijekom usitnjavanja osnovnih sirovina u „kuteru“, osim kuhinjske soli, nitrita i nitrata dodaju se i drugi aditivi (GDL, šećeri, škrobni sirup, starter-kulture) i smjesa specifičnih začina. Nakon vakuum-nadijevanja i hladnog dimljenja, koje obično traje 5-7 dana na temperaturi od +10°C do + 15°C, trajne se kobasice prenose u komore za zrenje. Sam proces zrenja trajnih kobasica može se definirati kao skup fizikalno-kemijskih, biokemijskih, mikrobioloških, senzornih i drugih promjena u nadjevu zbog kojih proizvod poprima specifičan izgled, okus i aromu. U zrenju prevladavaju fizikalne promjene nadjeva u smislu gubitka vode zbog sušenja. Pritom vrijedi osnovno pravilo sušenja da količina vode koja migrira od središta prema periferiji proizvoda u svakom razdoblju zrenja mora odgovarati količini vode koja izlazi iz proizvoda. Svako remećenje navedene zakonitosti uzrokuje tehnološke pogrješke pa i kvarenje samog proizvoda.

Slika 1.: Tehnološki proces proizvodnje trajnih kobasica

Trajne kobasice zriju u dvije faze. U fazi intenzivnog zrenja stabiliziraju se boja, konzistencija i okus proizvoda. To je posljedica bakterijske denitrificirajuće aktivnosti (*Lactobacillus, Micrococcus*) u tvorbi nitrozilmioglobina, odnosno pada pH i prijelaza mišićnih bjelančevina iz sol u gel-stanje. U fazi usporenog zrenja karakteristično je pljesnivljenje zimske salame, tj. njezino obrastanje specifičnom bijelom plijesni (*Penicillium, Aspergillus*). Tijekom toga postupka postupno se smanjuje temperatura sve do +10 °C i relativna vlažnost zraka u komori od 85% do 75%, a u zadnjim danima zrenja do 70%. U proizvodnji fermentiranih kobasica uvedena je primjena mikrobnih starter-kultura čime je ubrzan proizvodni proces, unaprijeđena kvaliteta, odnosno ujednačena su senzorska svojstva gotovih proizvoda. Zaštitno djelovanje bakterija mliječne kiseline očituje se u antagonističkom djelovanju na mikroorganizme kvarenja i patogene mikroorganizme preko antimikrobnih produkata, poput organskih kiselina ili bakteriocina. Trajnim kobasicama zbog senzoričkih svojstava ovitak mora dobro prijanjati uz nadjev, a površina ne smije biti deformirana; nadjev na presjeku mora imati izgled mozaika sastavljenog od približno ujednačenih komadića mišićnog tkiva crvene boje i masnog tkiva bijele boje; sastojci nadjeva trebaju biti ravnomjerno raspoređeni i čvrsto povezani; na presjeku kobasica ne smije biti šupljina i pukotina; kobasica se mora lako rezati. U našoj se zemlji trajne kobasice proizvode i stavljaju u promet kao: zimska salama, milanska salama, srijemska kobasica, kulen te trajne kobasice po specifikaciji.

Zimska salama se proizvodi od fino, milanska salama od krupnije, srijemska kobasica od grubo i kulen od vrlo grubo usitnjenog svinjskog mesa I. kategorije uz dodatak do 10% goveđeg mesa I. odnosno II. kategorije, čvrstog masnog tkiva i dodatnih sastojaka. U gotovom proizvodu ne smije biti više od 30% (zimska i milanska), odnosno 35% (srijemska kobasica i kulen) i 40% vode (proizvodi po specifikaciji). Za zimsku i milansku salamu je propisano da u gotovom proizvodu količina masti ne smije biti veća od dvostruke količine bjelančevina. Pri izradi nadjeva za srijemsku kobasicu odnos između grubo usitnjenog mesa I. kategorije i čvrstog masnog tkiva mora biti 65% prema 35%. Osnovna je katakteristika trajnih kobasica znatno manji sadržaj vode što pridonosi njihovoj dužoj trajnosti i težoj pokvarljivosti. Proizvodi se čuvaju u zračnim i suhim prostorijama u kojima moraju visiti i moraju biti zaštićeni od nepovoljnih vanjskih utjecaja. U procesima kvarenja trajnih kobasica prevladavaju promjena boje nadjeva, gnjilež ili ranketljivost, ali se mogu javiti i tehnološke pogrješke trajnih kobasica u vidu promjena vanjskog izgleda, promjena nadjeva ili promjena mirisa i okusa (ŽIVKOVIĆ, 1986.; HERAK-PERKOVIĆ i sur., 2012.).

2.1.2. TOPLINSKI OBRAĐENE KOBASICE

Toplinski obrađene kobasice su proizvodi od različitih vrsta mesa, strojno otkoštenog mesa, masnog i vezivnog tkiva, iznutrica i krvi različitog stupnja usitnjenosti i dodatnih sastojaka, koje se nakon punjenja u prirodne ili umjetne ovitke ili kalupe konzerviraju postupkom pasterizacije s dimljenjem ili bez njega. Na osnovi sastava proizvoda, načina proizvodnje i stupnja usitnjenosti, toplinski obrađene kobasice proizvode se kao: obarene, polutrajne, kobasice od mesa u komadima, kuhane kobasice i ostale toplinski obrađene kobasice.

Obarene kobasice su proizvodi od različitih vrsta mesa, masnog i vezivnog tkiva, strojno otkoštenog mesa te dodatnih sastojaka, čija je osnova nadjeva fino usitnjena. U proizvodnji se koristi meso I., II. ili III. kategorije (slika 2.). Količina bjelančevina mesa u proizvodu mora biti minimalno 9%. Obarene kobasice trebaju biti jedre i sočne, a pod laganim pritiskom ne smiju otpuštati tekućinu, nadjev treba biti ujednačene boje, površina treba biti bez oštećenja, većih nabora i deformacija.

Slika 2.: Tehnološki proces proizvodnje obarenih kobasica

U tehnološkom procesu njihove proizvodnje sve više dominira upotreba strojeva za fino usitnjavanje goveđeg i svinjskog mesa, masnog tkiva i drugih sastavnih dijelova sve do

potpune dezintegracije animalnih tkiva („mikrokuter“, „koloidni mlin“). Suvremenu proizvodnju obarenih kobasica karakterizira upotreba sve raznovrsnijih dodatnih sastojaka za poboljšanje tvorbe i veću stabilnost dodane emulzije masnog tkiva. Sve to skupa pridonosi boljem vanjskom izgledu i konzistenciji te izrazitijem mirisu i okusu proizvoda. Zajednička su svojstva obarenih kobasica da se pretežno izrađuju od mesnog tijesta i usitnjenog masnog tkiva, što njihovom nadijevu daje osobine emulzije masti u vodi. Imaju standardizirani sastav masti (max. 30%) i vode (max. 60%) u nadjevu, a podvrgavaju se dimljenju i barenju u pari ili vrućoj vodi. Mogu se čuvati ograničeno vrijeme u uvjetima obaveznog hlađenja i da se prije upotrebe za prehranu neke od njih još jedanput bare. Prema uobičajenoj praksi i odredbama postojećih propisa u našoj se zemlji industrijski proizvode i stavljaju u promet: hrenovka, safalada, posebna („ekstra“) kobasica, pariška kobasica, obarene kobasice prema specifikaciji („frankfurtska kobasica“, „bečka kobasica“, „viršle“, obarene kobasice od kokošjeg mesa, obarene kobasice s povrćem i drugi proizvodi).

U praksi su moguća dva načina proizvodnje obarenih kobasica i to od toplog mesa ili od ohlađenog ili smrznutog mesa. U klasičnom (tradicionalnom) postupku proizvodnje obarenih kobasica mesno tijesto se proizvodi od još toplog (neohlađenog) mesa neposredno nakon klanja goveda („topli prat“), kada je pH mesa visok i kada još nije došlo do razgradnje ATP-a. Takvo meso ima dobro izraženu sposobnost vezanja vode, a odlikuje ga „zatvorena“ mikrostruktura. Kratko raspoloživo vrijeme za iskorištavanje većih količina toplog goveđeg mesa, kao i njegov nedostatak na tržištu, razlogom su da se spomenuti način proizvodnje obarenih kobasica može organizirati samo u manjim pogonima mesne industrije. S druge strane, potrebno vrijeme zrenja prata u hladnjači od 24 sata i dulje produžuje sam tehnološki proces, što još u većoj mjeri utječe na smanjenje kapaciteta navedene proizvodnje obarenih kobasica. U proizvodnji obarenih kobasica od toplog mesa u mesno se tijesto dodaje kuhinjska sol, koja uz konzervirajuće ima i važno tehnološko značenje. Ono se očituje poboljšanom sposobnošću otapanja mišićnih bjelančevina, odnosno porastom pH, a time i porastom hidratacijske sposobnosti mesa. U velikim industrijskim pogonima obarene se kobasice proizvode od ohlađenog i u još većoj mjeri od smrznutog goveđeg mesa („hladni prat“). U takvom je mesu došlo do razgradnje ATP-a i glikogena, a uslijed pada pH i do znatnog smanjenja, pa čak i do gubitka sposobnosti hidratacije denaturiranih mišićnih bjelančevina. Zbog toga je takvom mesu potrebno dodavati različite aditive kako bi se ponovno aktivirala njegova hidratacijska sposobnost. Najčešći aditivi su polifosfati kojima je osnovni zadatak da nadomjeste tijekom smrzavanja razgrađene prirodne fosfate. Usitnjavanje

smrznutog mesa vrši se brzorotirajućim vakuum kuterima koji omogućuju finu dezintegraciju mišićnih i vezivnotkivnih vlakana što povećava njihovu sposobnost vezanja vode. Dimljenje obarenih kobasica danas se vrši u suvremenim uređajima u kojima se osim dimljenja obavlja i barenje proizvoda (automatske termičke dimne komore). Ne ulazeći u pojedinosti proizvodnje i svojstava mesnog tijesta, bitno je reći da je emulzija koloidno raspršenje neke tvari netopljive u vodi ili kojoj drugoj tekućini. Da se postigne stabilnost koncentrirane emulzije potreban je emulgator. Postoje dva tipa emulzije: emulzija masti ili ulja u vodi i emulzija vode u masti ili u ulju. Prema tome, može se smatrati da je mesno tijesto emulzija masti (diskontinuirana faza) u vodi (kontinuirana faza). Kao emulgator u tvorbi takve emulzije služe mišićne bjelančevine, prije svega aktomiozin. Prema definiciji emulzija je homogena smjesa masnog tkiva svinja i goveda te vode koja je dobivena upotrebom bjelančevinskih preparata (emulgatora) životinjskog ili biljnog podrijetla.

U ocjeni kvalitete obarenih kobasica u obzir treba uzeti propisane uvjete u pogledu organoleptičkih svojstava i kemijskog sastava. Prema tome, kvalitetne obarene kobasice moraju biti jedre i sočne tako da ne otpuštaju vodu. Moraju biti ugodnog svojstvenog okusa koji je upotpunjen mirisom dima i začina. Ovitak im je mrkocrvene boje, čvrsto napunjen, bez oštećenja, nabora i deformacija. Presjek obarenih kobasica mora biti homogen, svjetloružičaste boje i bez većeg broja sitnih šupljina kao i bez vidljivih dijelića vezivnog i masnog tkiva. U praksi su česta odstupanja od specifičnih organoleptičkih svojstava, koja se prije svega očituju u pojavi tehnoloških grešaka (greške vanjskog izgleda, greške boje kobasica, greške u strukturi nadjeva te greške u boji nadjeva). Održivost obarenih kobasica u rashladnoj vitrini (do +10 °C) i u hladnjaku (2-4 °C) iznosi za hrenovke u prirodnom ovitku do 3 dana, za safaladu 7-8 dana, a za posebnu kobasicu u umjetnom ovitku više od 10 dana. Stajanjem obarene kobasice gube na mirisu i okusu. U vakuumu pakirane hrenovke čuvane u hladnjaku mogu se održati do 21 dan (ŽIVKOVIĆ, 1986.; HERAK-PERKOVIĆ i sur., 2012.).

Polutrajne kobasice su proizvodi od različitih vrsta mesa, masnog i vezivnog tkiva, iznutrica i strojno otkoštenog mesa i dodatnih sastojaka te različitog stupnja usitnjenosti nadjeva. Nadijevaju se u prirodne ili umjetne ovitke, a podvrgavaju se toplinskoj obradi tj. kuhanju u vodi ili u pari i toplom dimljenju. Količina animalnih bjelančevina u proizvodima mora biti minimalno 6%. U proizvodnji se uglavnom upotrebljavaju srednje kvalitetne sirovine i to meso III. i IV. kategorije uz dodatak relativno velikih količina masnog tkiva, svinjskih kožica,

a u posljednje vrijeme i strukturiranih biljnih bjelančevina (slika 3.). Na presjeku polutrajnih kobasica ne smije biti neprosalamurenog mesa, sastojci u nadjevu trebaju biti što ravnomjernije raspoređeni i čvrsto povezani, nadjev treba dobro prijanjati uz ovitak, komadići masnog tkiva ne smiju ispadati iz nadjeva tijekom narezivanja.

Slika 3.: Tehnološki proces proizvodnje polutrajnih kobasica

Osnovne sirovine tj. goveđe i svinjsko meso usitnjavaju se ovisno o namjeni u vuku (Ø 10-13 mm) ili u kuteru (mesno tijesto), a masno tkivo u rezačici pa pomiješaju u mješalici ili izravno u kuteru te uz dodatak aditiva i začina pomoću vakuum-punilice nadijevaju u umjetne ili prirodne ovitke. U suvremenoj proizvodnji polutrajnih kobasica vrši se toplo dimljenje u automatskoj termičkoj dimnoj komori na temperaturi koja varira ovisno o vrsti i veličini kobasica 60-100 °C. Vrijeme toplinske obrade varira 3-5 sati. U tom se vremenu uz dimljenje, kobasice i kuhaju u pari (60-120 minuta). Dimljenje se obično prekida kada unutrašnja temperatura kobasice dosegne cca 75 °C. Nakon toplinske obrade kobasice se hlade na temperaturi 2-4 °C i pohranjuju na temperaturi 10-15 °C. Polutrajne se kobasice stavljaju u promet u nizovima, parovima ili pojedinačno ili se pakiraju nasječene u veće ili manje nareske. Čuvaju se obješene u zračnim i suhim prostorijama tako da ne dodiruju zidove, drugo meso i sl. Osnovno je obilježje polutrajnih kobasica da mesno tijesto čvrsto povezuje druge sastojke nadjeva. Glavna je sirovina krupnije ili finije usitnjeno meso životinja za klanje koje

se suho ili vlažno salamuri na uobičajene načine. Drugi značajni sastojak polutrajnih kobasica je mesno tijesto koje je za razliku od onog obarenih kobasica značajno čvršće. Osnovna je funkcija mesnog tijesta povezivanje krupno ili sitnije isječenih komada mesa i masnog tkiva u nadjevu. U prometu možemo susresti greške polutrajnih kobasica kao što su: zeleno obojenje nadjeva, kiseli okus i miris, truležni miris, miris po karbolu, nedovoljnu povezanost nadjeva, izdvajanje otopljene masti ispod ovitka te pljesnivost (ŽIVKOVIĆ, 1986.; HERAK-PERKOVIĆ i sur., 2012.).

Kuhane kobasice su proizvodi od različitih vrsta mesa, strojno otkoštenog mesa, masnog i vezivnog tkiva i iznutrica koji prethodno mogu biti toplinski obrađeni, te krvi i dodatnih sastojaka. Nadjev se puni u prirodne ili umjetne ovitke te toplinski obrađuje do temperature od najmanje +75 °C u sredini proizvoda. U našoj se zemlji proizvode sljedeće vrste kuhanih kobasica: tlačenica („švargla“, „prezvurst“), krvavica, jetrenica, jetrena pašteta u ovitku, a mogu se proizvoditi i kuhane kobasice po specifikaciji. Kuhane kobasice moraju ispunjavati sljedeće propisane uvjete: da im ovitak dobro prijanja uz nadjev, odnosno da ovitak nije oštećen, onečišćen, pljesniv, sluzav i ljepljiv, da su im svi sastojci nadjeva dobro prokuhani i da su na presjeku dobro povezani, da kobasice koje se stavljaju u promet bez ovitka imaju pravilan oblik bez većih deformacija. Prema sastavu kuhane se kobasice mogu razvrstati u dvije skupine; kuhane kobasice s krvi i kuhane kobasice s jetrima. U proizvodnji kuhanih kobasica s krvi (crna tlačenica i krvavica) osnovnu sirovinu čine mekani dijelovi svinjskih glava uz dodatak stabilizirane i dobro ohlađene miješane svinjske i goveđe krvi u omjeru 2/3 : 1/3. U proizvodnji jetrenice i jetrene paštete upotrebljava se prethodno pržena jetra u količini 15-30%. Jetra je nosilac karakterističnog okusa ovih proizvoda. Po koloidno-kemijskom svojstvima kuhane kobasice s jetrima su tipične emulzije u kojima je voda diskontinuirana, a mast kontinuirana faza. Radi poboljšanja tvorbe emulzije u proizvodnji navedenih proizvoda neophodno je dodavati emulgatore u količini do 2%. S obzirom na vrste i primarnu obradu sirovina, kuhane su kobasice podložne brzom mikrobiološkom kvarenju. Ono je posljedica prekomjerne inicijalne bakterijske kontaminacije sirovina i neprimjerene toplinske obrade. Kvarenje se najčešće očituje kiselim okusom proizvoda koji je posljedica upotrebe odstajalih sirovina, odnosno preduge pohrane proizvoda na sobnoj temperaturi. mikrobiološko se kvarenje očituje i gnjiljenjem kao i pojavom sivih i omekšalih mjesta u centru kobasice. U proizvodnji i u prometu javljaju se i tehnološke greške kuhanih kobasica. To se, prije svega, odnosi na nedovoljnu toplinsku obradu proizvoda, što se očituje u nedovoljnoj kuhanosti kožica i masnog tkiva (ŽIVKOVIĆ, 1986.; HERAK-PERKOVIĆ i sur., 2012.).

2.2. ZNAČAJ BJELANČEVINA U PREHRANI

Bjelančevine su važna i nezamjenjiva komponenta čovjekove hrane. Iako nisu u potpunosti definirane, postoji nekoliko karakterističnih svojstava po kojima se razlikuju od ostalih grupa organskih spojeva, a to su: sličan elementarni sastav koji varira u prilično uskim granicama (ugljik 50-55%, vodik 6-7,5%, dušik 15-19%, kisik 19-24%, sumpor 0,3-2,4%, fosfor 0,4-0,8%), pod djelovanjem kiselina, baza i proteolitičkih enzima bjelančevine se hidrolizom raspadaju na aminokiseline, pod utjecajem soli teških metala, neutralnih soli i tanina bjelančevine se talože, a zajedničko im je svojstvo da se u organskim otapalima, alkoholu, acetonu, kloroformu ne otapaju, postoje specifične obojene reakcije za identifikaciju pojedinih aminokiselina koje se nalaze u bjelančevinama, zajedničko je svojstvo bjelančevina u sličnosti strukture i velikoj molekularnoj težini. U živom se organizmu bjelančevine nalaze u obliku sol- i gel-stanja, s većim ili manjim sadržajem vode. Konzistencija im je različita, od čvrstog stanja kreatina kose ili noktiju pa do viskozne tekućine bjelanjka. Bjelančevine je moguće rastaviti na osnovne građevne jedinice aminokiseline preko međuprodukata peptona pomoću određenih enzima (proteolitičkih), bakterija truljenja, kao i djelovanjem kiselina i baza na bjelančevine. Aminokiseline su slatkasta okusa, a njihove su kemijske karakteristike da se većina može dovesti u vezu s masnim kiselinama s 2-6 ugljikovih atoma (imaju –COOH karboksilnu skupinu i amino skupinu $–NH_2$). Utvrđeno je i ispitano dvadesetak različitih aminokiselina dobivenih razgradnjom bjelančevina. Aminokiseline mogu stvarati soli s mineralnim kiselinama i bazama, a prema broju amino-skupina, odnosno karboksilnih skupina, kao i karatkteru ugljikovodičnog radikala, klasificiraju se u nekoliko grupa. Mnogo značajnija od kemijske je fiziološka klasifikacija aminokiselina, jer se upravo na osnovi aminokiselinskog sastava definira hranjiva vrijednost pojedinih bjelančevina.

Bjelančevine se vrlo lako mijenjaju pod utjecajem različitih čimbenika. Promjene koje se zbivaju s bjelančevinama uslijed zagrijavanja, zatim taloženja organskim otapalima ili solima nazivamo denaturiranje. Denaturiranje zagrijavanjem neziva se i koagulacija. Denaturiranje bjelančevina uvijek prati dehidratacija. Denaturiranje je moguće izvesti i promjenom aktualnog aciditeta (pH). Važnost bjelančevina u prehrani ljudi očituje se u njihovoj sposobnostida opskrbe organizma prijeko potrebnim dušikom u aminskoj formi. Animalni organizmi općenito mogu iskorištavati dušik samo u aminskoj formi, a to je istovremeneo specifična kemijska forma dušika u bjelančevinama i njihovim derivatima. U aktivnim tkivima čovjeka bjelančevine sudjeluju s 14-18%. Fiziološka važnost bjelančevina dosta je

kompleksna, jer su sve životne manifestacije usko povezane s njima. Dolaze u svim stanicama kao integralni dio protoplazme, u citoplazmi su veoma dispergirane u obliku respiratornih enzima, u jezgri stanice javljaju se kao nukleoproteidi, a hormoni i mnogi enzimi bjelančevinastog su karatktera. Bjelančevine dijelimo na potpuno, djelomično i nepotpuno hranjive. U potpuno hranjive bjelančevine ubrajamo one koje sadrže sve esencijalne aminokiseline u dovoljnoj količini za normalno održavanje, rast i razvoj organizma. Toj skupini pripadaju najvažnije bjelančevine jaja, mlijeka, mesa i njihovih prerađevina odnosno bjelančevine životinjskog porijekla. Djelomično hranjivim bjelančevinama pripadaju one koje mogu održavati život, ali njima nedostaju aminokiselinski faktori koji potiču rast. Nepotpuno hranjivim bjelančevinama pripadaju one koje nisu sposobne da izrađuju nova tkiva i zato ne mogu podržavati život. Tipičan primjer za ovu skupinu je želatina (ŠIMUNDIĆ i sur., 1994.).

Kolageni čine porodicu proteina kojima su tijekom evolucije namijenjene brojne uloge od kojih je najvažnija strukturna. Tijekom evolucije mnogostaničnih organizama razvila se skupina strukturnih bjelančevina, koje su pod utjecajem okoline i funkcionalnih potreba životinjskog organizma poprimile različite stupnjeve krutosti, elastičnosti i čvrstoće. Te se bjelančevine zajednički nazivaju kolagen. Među različitim tipovima kolagena najvažniji su oni u koži, kostima, hrskavici, glatkim mišićima i bazalnoj lamini. Kolagen je jedna od najrasprostranjenijih bjelančevina u tijelu jer čini 30% njegove mase.

Nekada se smatralo da kolagen sintetiziraju samo fibroblasti, hondroblasti, osteoblasti i odontoblasti. Poslije se ustanovilo da je sposobnost sinteze kolagena vrlo rasprostranjena i da je imaju mnoge vrste stanica. Glavne aminokiseline koje izgrađuju kolagen su glicin, prolin i hidroksiprolin. Kolagen sadržava dvije aminokiseline koje su karakteristične samo za tu bjelančevinu, hidroksiprolin i hidroksilizin.

Obnova kolagena izrazito je spor proces. U nekim organima kao što su tetive i ligamenti kolagen je jako stabilan. Međutim, na drugim mjestima, kao što je parodontalni ligament, izmjena kolagena je brza. Da bi se obnovio, kolagen se mora prvo razgraditi. Razgradnja započinje djelovanjem enzima koji se nazivaju kolagenaze. Ovi enzimi cijepaju molekulu kolagena na dva dijela koja su podložna daljnjoj razgradnji s pomoću nespecifičnih proteaza (enzima koji razgrađuju bjelančevine; JUNQUEIRA i sur., 2005.).

Kolagen je dugi, vlaknasti strukturni protein sisavaca koji sadrži visoku razinu hidroksiliranih aminokiselina i čini gotovo četvrtinu od ukupnog sadržaja proteina. Sama količina kolagena u mesu životinja je povezana sa nježnošću mesa. Za razliku od ostalih proteina sisavaca, kolagen sadrži visoku koncentraciju 4-hidroksiprolina (do 14% mase kolagena sastoji se od hidroksiprolina, a do samo 1% kod elastina). Ima i medicinsku primjenu kod zacjeljivanja rana, sanacije opeklina te kozmetičkih zahvata (COLGRAVE i sur., 2008.). Kolagen se sastoji od tri polipeptidna lanca (alfa lanca) koji čine jedinstvenu trostruku spiralnu strukturu. Da bi se namotao u trostruku spiralu lanci moraju sadržavati glicin kao svaku treću bazu. Kolagen je i glavni strukturni element u izvanstaničnom matriksu svih vezivnih tkiva, uključujući i kost, gdje predstavlja oko 80% ukupnih proteina. Dok mineralni sadržaj uglavnom utječe na čvrstoću i krutost, kolagen pruža skeletnu otpornost (DANEAULT i sur., 2015.). Peptidi kolagena su prirodni bioaktivni sastojci koji se koriste u mnogim nutricionističkim i kozmetičkim proizvodima te prehrambenim dodacima i kao takvi pružaju zdravlje koži. Oni su prisutni kao mješavina specifičnih peptida različitih duljina s visokim udjelom aminokiselina hidroksiprolina, glicina i prolina, koji su proizvedeni enzimskom hidrolizom izvornog kolagena ekstrahiranog iz životinjskih vezivnih tkiva. Hidroksiprolin u kolagenu je jedinstven i može se analitički koristiti za razlikovanje kolagena od drugih proteina (ASSERIN i sur., 2015.).

2.3. PROCJENA KVALITETE U ODNOSU NA VAŽEĆE PROPISE U RH

Pravilnikom o mesnim proizvodima (NN 131/2012) propisuju se zahtjevi za kvalitetom kojima u proizvodnji i pri stavljanju na tržište moraju udovoljavati mesni proizvodi dobiveni od zaklanih životinja i divljači, a odnosi se na: nazive, definicije i opće zahtjeve, sastav i senzorska svojstva, vrstu i količinu sirovina te drugih tvari koje se koriste u proizvodnji i preradi, tehnološke postupke koji se primjenjuju u proizvodnji i preradi te dodatne zahtjeve označavanja.

Prema navedenom Pravilniku količina ukupnih bjelančevina u proizvodu (%) je vrijednost dobivena množenjem količine dušika (izražena u postocima) s faktorom 6.25 (količina ukupnih bjelančevina (%) = dušik x 6.25). Prema tim eksperimentalnim vrijednostima računa se količina bjelančevina mesa u proizvodu (%) oduzimanjem količine (%) dodanih bjelančevina nemesnog podrijetla od količine ukupnih bjelančevina u proizvodu (%).

Prema odredbama cit. Pravilnika, a na osnovi sastava, tehnološkog postupka proizvodnje i načina konzerviranja, kobasice se mogu proizvoditi kao: trajne kobasice, toplinski obrađene kobasice i svježe kobasice. Trajne kobasice moraju sadržavati minimalno 16% bjelančevina mesa u proizvodu (za kulen i zimsku salamu prema odredbama istog pravilnika količina bjelančevina mesa u proizvodu mora biti minimalno 22%), toplinski obrađene ukoliko je riječ o obarenim kobasicama minimalno 9% bjelančevina mesa u proizvodu, dok polutrajne kobasice moraju imati minimalno 6%, a kobasice od mesa u komadima minimalno 12% bjelančevina mesa u proizvodu. Kuhane kobasice (pašteta) moraju sadržavati minimalno 6% bjelančevina mesa u proizvodu.

Do 1991. godine interpretacija rezultata i ocjena ispravnosti proizvoda se provodila prema ANONIM (1991.). U skladu s tim propisima, ŠIMRAK (1980.) je pretražio 43 uzorka kobasica u maloprodaji na zagrebačkom tržištu te utvrdio neispravnost senzorskih svojstava. Najčešće se radilo o greškama u izgledu proizvoda, te o neodgovarajućem sastavu, odnosno o prekomjernoj količini masnog tkiva i mesnog tijesta u nadjevu. Nadalje, JAKUPEK (1984.) je naveo da su najveća odstupanja u kvaliteti polutrajnih kobasica utvrđena u njihovom sirovinskom sastavu i to u postupcima analiza u 78% uzoraka, a u postupcima superanaliza u 58% uzoraka. U istraživanju koje je proveo KECKO (1987.) od ukupno pretraženih 90 uzoraka, čak njih 79 (odnosno 87,8%) nije zadovoljilo propisane odredbe kvalitete u smislu sastava. U senzoričkoj pretrazi zadovoljili su samo u pogledu mirisa i okusa. Prvenstveno se radilo o neadekvatnom sirovinskom sastavu s obzirom na nedostatnu količinu mesa te povećanu količinu masnog tkiva i mesnog tijesta u nadjevu temeljem čega se može sumnjati na patvorenje. U istraživanju koje je u okviru svoje magistarske rasprave proveo ŠKRIVANKO (2003.), od ukupno 837 kemijski analiziranih uzoraka kobasica utvrdio je kako čak 181 uzorak (21,62 %) nije udovoljavao odredbama nekog od tada važećih propisa i to: 55 uzoraka (6,57 %) zbog povećane količine dodanih polifosfata, 1 uzorak (0,12 %) zbog povećane količine nitrita, 67 uzoraka (13,65 %) zbog povećane količine vode i 62 uzorka obarenih kobasica (20,39 %) zbog više od 30 % masti.

Godine 2007. izdan je prvi Pravilnik kojim je propisana kvaliteta mesnih proizvoda u Republici Hrvatskoj (ANON., 2007.). Usporedbom rezultata analiza trajnih kobasica s minimalnim uvjetima, koje je za navedenu kategoriju proizvoda definirao tada važeći Pravilnik (ANON., 2007.), utvrđeno je da svi ispitani proizvodi u pogledu kemijskog sastava udovoljavaju propisanim uvjetima. U tri uzorka polutrajnih kobasica (šunkarica) utvrđen je

manji udjel bjelančevina mesa u odnosu na propisano, u trinaest uzoraka polutrajnih kobasica određen je sadržaj polifosfata iznad najveće dopuštene količine te je u jednom uzorku određena povišena razina natrijevog nitrita (tirolska kobasica). Svi uzorci obarenih kobasica udovoljavali su zahtjevima cit. Pravilnika (PLEADIN i sur., 2009.). U sklopu ovog Pravilnika provedeno je i istraživanje ocjene kvalitete hrenovki kao predstavnika obarenih kobasica na tržištu Krapinsko-zagorske županije (FRANJČEC i sur., 2011.). Kemijskim analizama određene su sljedeće prosječne količine: voda 58,36%, masti 27,75%, bjelančevine 11,75%, hidroksiprolin 0,24% i pepeo 1,11%. Navedeni kemijski pokazatelji nužni su za ocjenu kvalitete proizvoda. Nadalje, interpretirajući navedene rezultate u okvirima tadašnje legislative (min. količina bjelančevina u hrenovkama mora biti 10%) zaključeno je da svi pretraženi uzorci zadovoljavaju propisane uvjete (ANON., 2007).

Ministarstvo poljoprivrede (MP) je 29. studenoga 2012. u Narodnim novinama Republike Hrvatske objavilo novi Pravilnik o mesnim proizvodima (ANON., 2012.) kojim se propisuju zahtjevi kvalitete kojima u proizvodnji i pri stavljanju na tržište moraju udovoljavati mesni proizvodi zaklanih životinja i divljači. Zahtjevi koji se propisuju novim Pravilnikom (2012.) se odnose na nazive, definicije i opće zahtjeve; sastav i senzorička svojstva; vrstu i količinu sirovina te drugih tvari koje se koriste u proizvodnji i preradi; tehnološke postupke koji se pri tome primjenjuju; dodatne ili specifične zahtjeve za deklariranje ili označavanje te uzorkovanje i analitičke metode u kontroli kvalitete. Prema današnjim propisima kvaliteta prehrambenih proizvoda, pa tako i mesnih, određena je kemijskim sastavom te proizvođačkom specifikacijom odnosno deklaracijom. Pritom je sva odgovornost za proizvodnju kvalitetnog mesnog proizvoda na subjektu u poslovanju s hranom (AĆIMOVIĆ i sur., 2014.).

KOROŠEC i sur. (2016.) su u sklopu svojeg istraživanja utvrdili i usporedili fizikalno-kemijska svojstva (kemijski sastav i udio soli) te senzorska svojstva „pečene“ i „kuhane“ šunkarice. „Pečena“ šunkarica je u 100 g u prosjeku sadržavala 61,61 g vode, 22,76 g bjelančevina, 13,26 g masti i 2,20 g NaCl. U usporedbi s „pečenom“ šunkaricom, udio vode u uobičajenoj „kuhanoj“ šunkarici (67,83 g/100 g) bio je veći, a udio bjelančevina (18,64 g/100 g) manji. Izvršene su pretrage na jednom uzorku „pečene“ šunkarice i tri uzorka „kuhane“ šunkarice od tri različita proizvođača. „Pečena“ je šunkarica sadržavala 22,76% bjelančevina, a „kuhane“ šunkarice 15,13%, 19,23% te 21,57%. Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti da svi uzorci, osim „kuhane“ šunkarice koja sadrži 15,13% bjelančevina, udovoljavali

uvjetima Pravilnika (ANON., 2012.) koji propisuje da količina bjelančevina u šunkarici mora biti minimalno 12%.

PLEADIN i sur. (2013.) odredili su fizikalno-kemijska i senzorska svojstava autohtonih mesnih proizvoda koji se najviše proizvode u domaćinstvima Republike Hrvatske te ispitali njihovu varijabilnost pri proizvodnji primjenom istih tradicionalnih receptura i tehnologija proizvodnje. U radu ćemo se osvrnuti na rezultate vezane uz sadržaj bjelančevina u domaćem kulenu, slavonskoj kobasici i domaćoj salami. U domaćem se kulenu količina bjelančevina kretala od 47,17 do 47,90%, u slavonskoj kobasici od 28,37 do 36,29%, a u domaćoj salami od 27,09 do 31,51%. U skladu sa Pravilnikom (ANON., 2012.) svi uzorci su zadovoljili kriterij kojim se propisuje količina bjelančevina u proizvodu.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. **UZORCI**

Određivanje ukupnih bjelančevina provedeno je na sedamdeset i sedam uzoraka (n = 77) kobasica proizvedenih od različitih proizvođača i zastupljenih na tržištu Republike Hrvatske. Proizvodi su u tablici 1 razvrstani prema sistematizaciji propisanoj Pravilnikom o mesnim proizvodima (NN 131/12).

Tablica 1. Kobasice analizirane u radu svrstane prema sistematizaciji propisanoj Pravilnikom o mesnim proizvodima (ANON., 2012.)

SKUPINA	PODSKUPINA	NAZIV	BROJ UZORAKA
Trajne kobasice		Budimska	1
		Čajna	1
		Domaća goranska	1
		Kulen	1
		Panona	1
		Pizza pepperoni	1
		Pizza salami	1
		Sendvič FIT kobasica	1
		Sendvič salama	18
		Turist	1
		Wintera	1
		Zimska	3
Toplinski obrađene kobasice	Obarene kobasice	Hrenovka bez ovitka	1
		Hrenovka pileća	1
		Hrenovka special	1
		Hrenovka domaća	1
		Parizer	1
		Piko	1
		Pileća extra kobasica	1
	Polutrajne kobasice	Debrecinka	1
		Kranjska	3
		Kranjska special	1
		Mortadela	3
		Mortadela s maslinama	1

		Šunka za pizzu	2
		Tirolska	2
	Kobasice od mesa u komadima	Šunka u ovitku	15
		Šunka s hrenom	1
		Šunka premiere	1
	Kuhane kobasice	Čajna pašteta	2
		Jetrena Pašteta	3
		Pileća pašteta	3
		Pileća pašteta junior	1
			Ukupno: 77

Sve analize obavljene su u Laboratoriju za analitičku kemiju Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu.

3.2. ODREĐIVANJE UKUPNIH BJELANČEVINA U MESNIM PROIZVODIMA

PRINCIP METODE

Analitičko određivanje ukupnih bjelančevina u mesnim proizvodima provedeno je prema normi HRN ISO 937:1999 - Meso i mesni proizvodi - Određivanje količine dušika.

Testni dio uzorka razgrađen je u bloku za razaranje. Koncentrirana sulfatna kiselina korištena je za konverziju proteinskog dušika u amonij sulfat u točki vrelišta koja je povišena dodatkom kalij sulfata. Katalizator na bazi bakra korišten je kako bi se poboljšalo iskorištenje reakcije. Dodatkom natrij hidroksida došlo je do oslobađanja amonijaka. Oslobođeni amonijak je destiliran uporabom automatskog uređaja za destilaciju i titraciju. Sadržaj dušika je izračunat prema količini nastalog amonijaka, a sadržaj sirovih bjelančevina dobiven je množenjem rezultata sa faktorom konverzije 6,25.

MATERIJAL

Oprema

- uređaj za homogeniziranje, Grindomix GM 200, Retsch
- analitička vaga, s preciznošću odvage od 0,0001 g
- blok za razaranje, *Foss ili Tecator*
- kivete za razaranje, kapaciteta 300 mL
- nastavak za sakupljanje kondenzata, *Tecator*, prikladan za uporabu sa kivetama za

razaranje zajedno sa vodenim aspiratorom ili uređajem za neutralizaciju para

- uređaj za neutralizaciju para, Scrubber, *Tecator, Foss*
- uređaj za destilaciju i titraciju, *Gerhardt, Vapodest 50s*
- automatske pipete (dispenzeri), sa mogućnošću pipetiranja 25 mL
- menzure, volumena 50 mL
- Erlenmeyer tikvice, kapaciteta 250 - 300 mL
- digitalna bireta

Kemikalije

- Kjeldahl tablete katalizatora, sadržaj: 3,5 g kalijevog sulfata i 0,4 g bakrenog (II) sulfata pentahidrata
- sulfatna kiselina, p.a.
- vodikov peroksid, p.a.
- natrij hidroksid, p.a.
- borna kiselina, p.a.
- klorovodična kiselina, *0,1 N volumetrijska otopina*
- amonij-sulfat, p.a.
- triptofan, p.a.
- saharoza, p.a.
- miješani indikator, „for ammonia titrations“, *Merck*

PRIPREMA REAGENASA

- Svi reagensi bili su određene analitičke kvalitete. Korištena je destilirana voda.
- **33%-tna otopina natrij-hidroksida,** otopljeno je 1000 g NaOH u 2030 mL destilirane vode
- **1%-tna otopina borne kiseline,** otopljeno je 100 g borne kiseline u maloj količini destilirane vode uz zagrijavanje te je dodano 9900 mL destilirane vode
- **15%-tna otopina natrij-hidroksida,** otopljeno je 300 g NaOH u 1 700 mL destilirane vode
- **amonij sulfat,** min. 99,5 % (certificirane čistoće). Amonij sulfat je sušen na 102±2°C kroz 4 sata i držan u desikatoru. Sadržaj dušika u amonij sulfatu je 21,09 %
- **triptofan,** točke tališta 282°C, sadržaja dušika 137,2 g/kg. Prije uporabe je osušen

- **saharoza,** sadržaj dušika < 0,002 %. Nije sušeno prije uporabe

PROVEDBA METODE

Priprema uzorka

Uzorci su homogenizirani na uređaju Grindomix GM 200, Retsch pri različitom broju okretaja i dužini homogenizacije. Homogenizirani uzorci pohranjeni su u plastičnim posudicama koje su napunjene skroz do vrha kako bi se zbog manjeg kontakta sa zrakom usporio proces kvarenja. Uzorci su analizirani u što kraćem vremenskom periodu.

Testni dio uzorka

U tikvicu za destilaciju odvagano je oko 1,5 g testnog uzorka uz preciznost odvage 0,0001 g.

Razaranje uzorka

U tikvicu za destilaciju dodano je 25 mL sulfatne kiseline te 1 tableta katalizatora. Pomiješano je oprezno uz stvaranje vrtloga tekućine. U vrat tikvice umetnut je stakleni lijevak. Tikvica je zatim umetnuta u blok za razaranje („3106 Kj N Meat AOAC“). Temperatura je postepeno povećavana dok nije dosegla maksimum na 450 °C, a razgradnja uzoraka je trajala 2 sata. Pritom se pazilo da se kondenzirana tekućina ne slijeva po vanjskim stjenkama tikvice te da veća količina sulfatne kiseline ne ispari. Nakon završetka razgradnje razoreni uzorci su ohlađeni na ~ 40 ^{0}C i oprezno su isprani lijevci s malom količinom destilirane vode. Sadržaj je promiješan i potpuno ohlađen.

Destilacija i titracija

Destilacija i titracija provedene su pomoću uređaja Gerhardt, Vapodest 50s (slika 4). Tikvica za destilaciju s razorenim uzorkom spojena je na cijev aparata za destilaciju. Aparat je započeo destilaciju dodavanjem otopine natrij-hidroksida (100 mL) i vode (50 mL) u tikvicu za destilaciju te otopine borne kiseline (50 mL) u Erlenmayerovu tikvicu. Destilacija je trajala 3 minute i 33 sekunde uz maksimalni pritisak vodene pare (100 %). Nakon završetka programa aparat je odsisao suvišak tekućine iz tikvice za destilaciju, a sadržaj Erlenmayerove tikvice titriran je sa 0,1 N klorovodičnom kiselinom (slika 5). Utrošeni volumen klorovodične kiseline bilježen je sa preciznošću od 0,02 mL te su za svaki uzorak analizirane dvije paralelne probe. Sadržaj Erlenmeyerove tikvice titriran je sa 0,1 N klorovodičnom kiselinom, a završna točka titracije je prva promjena boje iz zelene u ružičasto.

Slika 4.: Uređaj za destilaciju i titraciju, Gerhardt, Vapodest 50s

Slika 5.: Titracija sa 0,1 N klorovodičnom kiselinom

IZRAČUN I IZRAŽAVANJE REZULTATA

Način izračunavanja i formula

Sadržaj dušika u uzorku, izražen kao postotak mase jednak je:

$$w_N = \frac{1{,}4007(V_s - V_b) \times c_s}{m}$$

gdje je:

V_S – volumen, u mililitrima, 0,1 N klorovodične kiseline potreban za određivanje

V_B – volumen, u mililitrima, 0,1 N klorovodične kiseline potreban za slijepu probu

m– masa, u gramima, testnog dijela uzorka

c_s– koncentracija klorovodične kiseline

Sadržaj ukupnih bjelančevina u uzorku:

$$Wp = Wn \times F$$

gdje je:

Wp– sadržaj ukupnih bjelančevina u uzorku

Wn– sadržaj dušika izražen na tri decimalna mjesta

F – faktor pretvorbe (6,25)

Kao rezultat uzima se aritmetička sredina dvaju određivanja ako je zadovoljen uvjet za ponovljivost.

Rezultat se izražava sa preciznošću od 0,01 g dušika na 100 g uzorka.

PROVJERA KVALITETE ANALITIČKOG ODREĐIVANJA

Ponovljivost

Razlika u rezultatu dvaju određivanja ne smije biti veća od 0,1 g dušika na 100 g uzorka.

3.3. *ODREĐIVANJE HIDROKSIPROLINA/KOLAGENA U MESNIM PROIZVODIMA*

PRINCIP METODE

Analitičko određivanje hidroksiprolina/kolagena u mesnim proizvodima provedeno je prema normi HRN ISO 3496:1994 - Meso i mesni proizvodi - Određivanje količine hidroksiprolina. U metodu je uključena hidroliza testnog dijela uzorka sa sulfatnom kiselinom na 105 °C nakon koje je napravljena filtracija i otapanje hidrolizata te oksidacija hidroksiprolina uz kloramin-T. Pri tome nastaje crveno obojani spoj sa *p*-dimetilaminobenzaldehidom. Spektrofotometrijsko određivanje provedeno je pri 558 nm.

MATERIJAL

Oprema

- **homogenizator**, Grindomix GM 200, Retsch
- **analitička vaga**, AUW220D Shimadzu sa točnošću odvage ± 0,0001g
- **termostat**, EPSA 2000, Bari
- **pH metar**, Mettler Toledo MP 220
- **vodena kupelj**, GFL, Burgwald
- **spektrofotometar**, DR 6000, HACH
- **kiveta** od 10 mL
- **odmjerne tikvice,** klasa A od 100 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL i 2000 mL
- **Erlenmayerova tikvica**
- **satno staklo**
- **aluminijska folija**
- **filtar papir**

Kemikalije

- **sulfatna kiselina**, 95-97%, *Merck*
- **natrij-hidroksid**, *Kemika*
- **limunska kiselina monohidrat**, *Sigma*
- **kloramin-T hidrat**, *Sigma*

- **L-4-hidroksiprolin**, *Fluka*
- **natrij-acetat (bezvodni)**, *Kemika*
- ***p*-dimetilbenzaldehid**, *Fluka*
- **1-propanol**, *Kemika*
- **2-propanol**, *Kemika*
- **perkloratna kiselina**, 60%, *Kemika*

PRIPREMA REAGENASA

Otopina sulfatne kiseline, c (H_2SO_4) ≈3 mol/L: U odmjernu tikvicu od 2 L dodano je 750 mL vode. Polagano uz protresanje dodano je 320 mL koncentrirane sulfatne kiseline (ρ_{20} = 1,84 g/mL). Otopina je ohlađena na sobnu temperaturu i dopunjena vodom do oznake.

Otopina pufera, pH = 6,8 koji se sastoji od: 26,0 g limunske kiseline monohidrata ($C_6H_8O_7$ x H_2O), 14,0 g natrij-hidroksida (NaOH) i 78,0 g bezvodnog natrij-acetata $\left[Na(CH_3CO_2)\right]$. Reagensi su otopljeni u 500 mL vode i kvantitativno preneseni u tikvicu od 1 L. Dodano je 250 mL 1-propanola i nadopunjeno vodom do oznake.

Otopina kloramin-T: Otopljeno je 1,41 g kloramin-T u 100 mL otopine pufera. Otopina je priređena na dan uporabe.

Reagens za razvijanje boje: Otopljeno je 10 g *p*-dimetilaminobenzaldehida u 35 mL otopine perkloratne kiseline $\left[60\%(m/m)\right]$ i polako dodano 65 mL 2-propanola. Otopina je priređena na dan uporabe.

Hidroksiprolin, standardne otopine:

„Stock“ otopina je pripremljena otapanjem u vodi 50 mg 4-hidroksiprolina-α-karbonatne kiseline (hidroksiprolin) u tikvici od 100 mL. Dodana je jedna kap otopine sulfatne kiseline i dopunjeno vodom do oznake. Otopina je stabilna mjesec dana na 4 °C.

Na dan uporabe, preneseno je 5 mL stock otopine u tikvicu od 500 mL i dopunjeno vodom do oznake. Nakon toga priređena je standardna otopina otapanjem 10 mL, 20 mL, 30 mL i 40 mL ove otopine u 100 mL vode kako bi se dobile koncentracije hidroksiprolina od 0,5 μg/mL, 1 μg/mL, 1,5 μg/mL i 2 μg/mL.

PRIPREMA UZORKA

Uzorci su homogenizirani na uređaju Grindomix GM 200, Retsch pri različitom broju okretaja i dužini homogenizacije. Homogenizirani uzorci pohranjeni su u plastičnim posudicama koje su napunjene skroz do vrha kako bi se zbog manjeg kontakta sa zrakom usporio proces kvarenja. Uzorci su analizirani u što kraćem vremenskom periodu.

PROVEDBA METODE

Testni dio uzorka

Izvagano je, sa točnošću od 0,0001 g, 4 grama testnog uzorka u Erlenmayerovu tikvicu pazeći da se uzorak ne raspršiпо stjenkama tikvice.

Hidroliza uzorka

Dodano je 30 mL ± 1 mL otopine sulfatne kiseline u Erlenmayerovu tikvicu. Tikvica je pokrivena sa satnim stakalcem i stavljena u termostat na 16 sati (ili preko noći) na 105 °C.

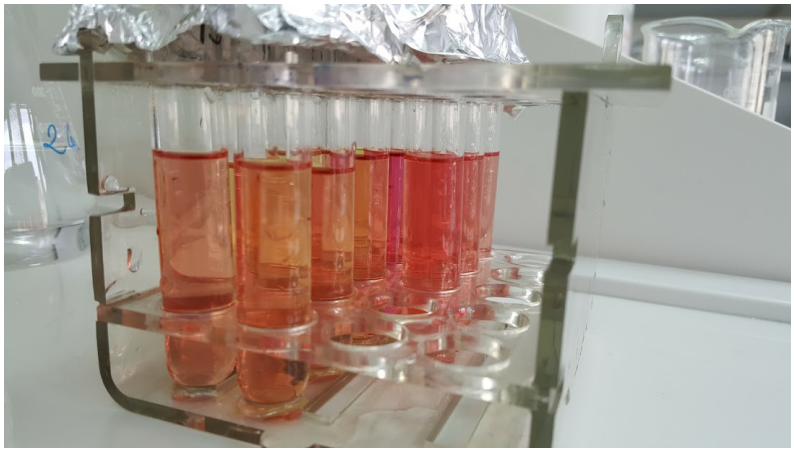
Vrući hidrolizat je filtriran kroz filter papir u tikvicu od 250 mL. Tikvica i filter papir su tri puta isprani sa po 10 mL vruće otopine sulfatne kiseline i dodan je hidrolizatu. Dopunjeno je vodom do oznake.

Razvijanje boje i mjerenje apsorbancije

Otpipetirano je 10 mL hidrolizata u tikvicu od 250 mL te dopunjeno vodom do oznake.

Zatim je otpipetirano 4,00 mL ove otopine u epruvetu i dodano 2,00 mL kloramin-T reagensa. Sadržaj je promiješan i ostavljen na sobnoj temperaturi 20 ± 1 min. Dodano je 2,00 mL reagensa za razvijanje boje, dobro promiješano i začepljeno aluminijskom folijom (slika 6). Epruveta je odmah stavljena u vodenu kupelj zagrijanu na 60 °C tijekom 20 minuta. Potom je epruveta hlađena pod mlazom vode najmanje 3 minute i ostavljena na sobnoj temperaturi 30 minuta.

Izmjerena je apsorbancija otopine u kiveti na 558 ±2 nm uz uporabu spektrofotometra HACH (slika 7), User program 10.



Slika 6.: Epruvete za mjerenje apsorbancije

Slika 7.: Spektrofotometar DR 6000, HACH

Izrada kalibracijske krivulje

Prethodno je konstruirana baždarna krivulja koja se sastoji od standarda hidroksiprolina koncentracije: 0,0 μg/mL, 0,5 μg/mL, 1,0 μg/mL, 1,5 μg/mL i 2 μg/mL te očitanih vrijednosti za standarde. Prilikom svake analize provjerene su dvije točke kalibracijske krivulje. Priređena je radna otopina standarda hidroksiprolina razrjeđivanjem 2,5 mL „stock“ otopine hidroksiprolina na volumen od 250 mL. Nakon toga priređene su standardne otopine razrjeđivanjem 10 mL i 40 mL ove otopine na 100 mL u odmjernoj tikvici vode kako bi se

dobile koncentracije hidroksiprolina od 0,5 μg/mL i 2 μg/mL (slika 8). Standardne otopine analizirane su na isti način kao i uzorci. Prije očitavanja koncentracije uzoraka očitane su koncentracije standarada te su dobivene vrijednosti uspoređene sa stvarnom koncentracijom.

Slika 8.: Standardne otopine hidroksiprolina

IZRAČUNAVANJE REZULTATA

Način izračunavanja hidroksiprolina

Za svaki testni uzorak izračunat je sadržaj hidroksiprolina, kao postotak mase, prema formuli:

$$w_h = \frac{6{,}25c}{m \times V}$$

gdje je:

w_h, sadržaj hidroksiprolina, izražen kao postotak mase, dobiven iz formule

c, koncentracija hidroksiprolina, u μg/mL, očitana iz baždarnog dijagrama

m, masa, u gramima, testnog dijela uzorka

V, volumen, u mL, alikvotnog dijela hidrolizata koji je uzet iz volumena od 250 mL

Rezultat izražen sa točnošću od 0,01%

Način izračunavanja kolagena

Količina kolagena (%) je količina bjelančevina vezivnog tkiva u proizvodu dobivena množenjem količine hidroksiprolina (%) s faktorom 8.

$$\%kolagena = \%hidroksiprolina \times 8$$

<u>PROVJERA KVALITETE ANALITIČKOG ODREĐIVANJA</u>

Ponovljivost

Razlika između dva rezultata, dobivena koristeći se istom metodom, na identičnim materijalima u istom laboratoriju od strane istog analitičara, koristeći se istom opremom u kratkom vremenskom intervalu ne smije prelaziti vrijednost ***r*** danu formulom:

$$r = 0{,}013 + 0{,}0322\overline{w_h}$$

gdje je:

$\overline{w_h}$ srednja vrijednost dva rezultata za sadržaj hidroksiprolina, izražena kao postotak mase.

4. REZULTATI

Rezultati istraživanja udjela ukupnih bjelančevina te hidroksiprolina i kolagena u trajnim kobasicama prikazani su tablično. Za trajne kobasice rezultati ispitivanja prikazani su tablicama broj 2 i 3. Za toplinski obrađene kobasice rezultati ispitivanja prikazani su tablicama: broj 4 i 5 (obarene kobasice), broj 6 i 7 (polutrajne kobasice), broj 8 (kobasice od mesa u komadima) te broj 9 (kuhane kobasice).

Tablica 2.: Rezultati – različite trajne kobasice

	UKUPNE BJELANČEVINE (%)	**HIDROKSIPROLIN (%)**	**KOLAGEN (%)**
Budimska	24,14	0,4900	3,920
Čajna	22,70	0,4120	3,296
Domaća goranska	18,11	0,2047	1,638
Panona	28,03	0,3768	3,014
Pizza pepperoni	16,31	0,5389	4,311
Pizza salami	17,04	0,4729	3,783
Sendvič FIT kobasica	19,77	0,4288	3,430
Sendvič salama	17,03	0,2800	2,240
Sendvič salama	17,00	0,2839	2,271
Sendvič salama	17,35	0,2910	2,328
Sendvič salama	16,74	0,2675	2,140
Sendvič salama	17,03	0,2740	2,192
Sendvič salama	17,90	0,2876	2,301
Sendvič salama	17,44	0,2868	2,294
Sendvič salama	17,95	0,2838	2,270
Sendvič salama	17,37	0,3043	2,434
Sendvič salama	17,21	0,2920	2,336
Sendvič	16,11	0,2449	1,959

salama			
Sendvič salama	16,97	0,2699	2,159
Sendvič salama	16,62	0,1663	1,330
Sendvič salama	17,27	0,3918	3,134
Sendvič salama	17,09	0,3869	3,095
Sendvič salama	16,76	0,3885	3,108
Sendvič salama	17,55	0,4166	3,333
Sendvič salama	18,43	0,4170	3,336
Turist	22,07	0,8269	6,615
Wintera	24,62	0,4833	3,866
$\bar{x}$	**18,62**	**0,3617**	**2,894**

Tablica 3.: Rezultati – trajne kobasice -kulen i zimska

	UKUPNE BJELANČEVINE (%)	**HIDROKSIPROLIN (%)**	**KOLAGEN (%)**
Kulen	22,67	0,2193	1,754
Zimska	24,97	0,4264	3,411
Zimska	27,38	0,3061	2,449
Zimska	29,66	0,2195	2,332
$\bar{x}$	**26,17**	**0,2928**	**2,487**

Tablica 4.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - obarene kobasice

	UKUPNE BJELANČEVINE (%)	**HIDROKSIPROLIN (%)**	**KOLAGEN (%)**
Hrenovka bez ovitka	10,21	0,3139	2,511
Hrenovka pileća	14,10	0,1578	1,262
Hrenovka special	13,52	0,2347	1,878
Hrenovka domaća	12,15	0,2591	2,073
$\bar{x}$	**12,50**	**0,2414**	**1,931**

Tablica 5.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - obarene kobasice - pariška kobasica

	UKUPNE BJELANČEVINE (%)	HIDROKSIPROLIN (%)	KOLAGEN (%)
Parizer	9,99	0,4038	3,230
Piko	10,39	0,2165	1,732
Pileća extra kobasica	13,48	0,1531	1,225
$\bar{x}$	**11,29**	**0,2578**	**2,062**

Tablica 6.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - polutrajne kobasice

	UKUPNE BJELANČEVINE (%)	HIDROKSIPROLIN (%)	KOLAGEN (%)
Debrecinka	15,34	0,7185	5,748
Mortadela	12,34	0,2985	2,388
Mortadela	12,78	0,3966	3,173
Mortadela	12,87	0,3513	2,810
Mortadela s maslinama	11,20	0,2749	2,199
Šunka za pizzu	10,09	0,3163	2,530
Šunka za pizzu	10,25	0,2175	1,740
$\bar{x}$	**12,12**	**0,3677**	**2,941**

Tablica 7.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - polutrajne kobasice - kranjska i tirolska

	UKUPNE BJELANČEVINE (%)	HIDROKSIPROLIN (%)	KOLAGEN (%)
Kranjska	14,76	0,2233	1,786
Kranjska	15,92	0,2791	2,233
Kranjska	15,59	0,2298	1,838
Kranjska special	17,06	0,3054	2,443
Tirolska	11,56	0,3283	2,626
Tirolska	11,62	0,3247	2,598
$\bar{x}$	**14,42**	**0,2818**	**2,254**

Tablica 8.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - kobasice od mesa u komadima

	UKUPNE BJELANČEVINE (%)	HIDROKSIPROLIN (%)	KOLAGEN (%)
Šunka u ovitku	14,50	0,1478	1,182
Šunka u ovitku	14,18	0,1359	1,087
Šunka u ovitku	14,62	0,1093	0,874
Šunka u ovitku	14,49	0,1186	0,949
Šunka u ovitku	12,43	0,1063	0,850
Šunka u ovitku	14,51	0,1503	1,202
Šunka u ovitku	13,95	0,1575	1,260
Šunka u ovitku	14,31	0,1366	1,093
Šunka u ovitku	13,95	0,1406	1,125
Šunka u ovitku	13,84	0,1458	1,166
Šunka u ovitku	14,42	0,1396	1,117
Šunka u ovitku	14,54	0,1096	0,877
Šunka u ovitku	13,78	0,1124	0,899
Šunka u ovitku	12,49	0,1664	1,331
Šunka u ovitku	13,10	0,1313	1,050
Šunka s hrenom	13,00	0,1001	0,807
Šunka premiere	18,56	0,1053	0,842
$\bar{x}$	**14,16**	**0,1302**	**1,042**

Tablica 9.: Rezultati - toplinski obrađene kobasice - kuhane kobasice

	UKUPNE BJELANČEVINE (%)	HIDROKSIPROLIN (%)	KOLAGEN (%)
Čajna pašteta	9,34	0,1572	1,257
Čajna pašteta	9,21	0,1958	1,566
Jetrena pašteta	9,02	0,1207	1,014
Jetrena pašteta	9,06	0,1505	1,204
Jetrena pašteta	9,74	0,2053	1,642
Pileća pašteta	11,87	0,1294	1,035
Pileća pašteta	11,56	0,1473	1,178
Pileća pašteta	9,02	0,0726	0,581
Pileća pašteta junior	9,34	0,0676	0,541
$\bar{x}$	**9,80**	**0,1385**	**1,113**

5. RASPRAVA

Kvaliteta hrane definira se s nekoliko aspekata pri čemu su najznačajniji znanstveni pristup definicije kvalitete te onaj koji je ovisan o sklonosti potrošača. Kontrola kvalitete je glavna briga u svim industrijskim procesima, pa tako i u prehrambenoj industriji, jer se kvaliteta hrane ne može nedvosmisleno definirati pomoću kemijskih analiza ili objektivnih mjerenja. Bitan korak u bilo kojoj strategiji orijentiranoj na kvalitetu je prepoznati i kvantificirati one parametre koji mogu bolje opisati i okarakterizirati proizvod (DELLAGLIO i sur., 1995.).

Prema odredbama Pravilnika (ANON., 2012.), trajne kobasice moraju sadržavati minimalno 16% bjelančevina mesa u proizvodu (za kulen i zimsku salamu prema odredbama istog pravilnika količina bjelančevina mesa u proizvodu mora biti minimalno 22%), toplinski obrađene kobasice, ukoliko je riječ o obarenim, minimalno 9% bjelančevina mesa u proizvodu, dok polutrajne kobasice moraju imati minimalno 6%, a kobasice od mesa u komadima minimalno 12% bjelančevina mesa u proizvodu. Kuhane kobasice (pašteta) moraju sadržavati minimalno 6% bjelančevina mesa u proizvodu.

Iz rezultata dobivenih u ovom radu vidljivo je da je u uzorcima trajnih kobasica utvrđen udio ukupnih bjelančevina od 16,11% do 28,03%, s prosječnim udjelom od 18,62%. Količina hidroksiprolina kretala se od 0,1663% do 0,8269%, s prosjekom od 0,3617%, a količina kolagena od 1,330% do 6,615%, uz prosjek od 2,894%. U uzorcima kulena i zimske (trajne kobasice) utvrđen je udio ukupnih bjelančevina od 22,67% do 29,66%, s prosječnim udjelom od 26,17%. Količina hidroksiprolina kretala se od 0,2193% do 0,4264%, s prosjekom od 0,2928%, a količina kolagena od 1,754% do 3,411% uz prosjek od 2,487%. Sve pretražene trajne kobasice udovoljavaju odredbama Pravilnika (ANON., 2012.). U prilog našim rezultatima možemo reći da su PLEADIN i sur. (2013.) istraživali kvalitetu trajnih kobasica na domaćem tržištu te utvrdili ukupnu količinu bjelančevina u kulenu od 47,17 do 47,90%, u slavonskoj kobasici od 28,37 do 36,29%, a u domaćoj salami od 27,09 do 31,51% te na osnovu toga zaključili da su svi pretraženi uzorci u skladu s odredbama cit. Pravilnika.

U uzorcima obarenih kobasica (toplinski obrađene kobasice) utvrđen je udio ukupnih bjelančevina od 9,99% do 13,48%, s prosječnim udjelom od 11,29%. Količina hidroksiprolina kretala se od 0,1531% do 0,4038%, s prosjekom od 0,2578%, a količina kolagena od 1,225%

do 3,230%, uz prosjek od 2,062%. U uzorcima hrenovki (toplinski obrađene kobasice; obarene kobasice) utvrđen je udio ukupnih bjelančevina od 10,21% do 14,10%, s prosječnim udjelom od 12,50%. Količina hidroksiprolina kretala se od 0,1578% do 0,3139%, s prosjekom od 0,2414%, a količina kolagena od 1,262% do 2,511% uz prosjek od 1,931%. Na osnovu dobivenih rezultata može se zaključiti da svi pretraženi uzorci odgovaraju odredbama kvalitete. FRANJČEC i sur. (2011.) proveli su slično istraživanje kvalitete na hrenovkama i utvrdili ukupnu količinu bjelančevina od 11,75% i hidroksiprolina od 0,24%, na osnovu čega su zaključili da svi pretraženi uzorci zadovoljavaju propisane uvjete.

U uzorcima polutrajnih kobasica (toplinski obrađene kobasice) utvrđen je udio ukupnih bjelančevina od 10,09% do 15,34%, s prosječnim udjelom od 12,12%. Količina hidroksiprolina kretala se od 0,2175% do 0,7185%, s prosjekom od 0,3677%, a količina kolagena od 1,740% do 5,748%, uz prosjek od 2,941%. U uzorcima kranjske i tirolske kobasice (toplinski obrađene kobasice; polutrajne kobasice) utvrđen je udio ukupnih bjelančevina od 11,56% do 17,06%, s prosječnim udjelom od 14,42%. Količina hidroksiprolina kretala se od 0,2233% do 0,3283%, s prosjekom od 0,2818%, a količina kolagena od 1,786% do 2,626%, uz prosjek od 2,254%.

U uzorcima kobasica od mesa u komadima (toplinski obrađene kobasice) utvrđen je udio ukupnih bjelančevina od 12,43% do 18,56%, s prosječnim udjelom od 14,16%. Količina hidroksiprolina kretala se od 0,1001% do 0,1664%, s prosjekom od 0,1302%, a količina kolagena od 0,807% do 1,331% uz prosjek od 1,042%.

U uzorcima kuhanih kobasica (toplinski obrađene kobasice) utvrđen je udio ukupnih bjelančevina od 9,02% do 11,87%, s prosječnim udjelom od 9,80%. Količina hidroksiprolina kretala se od 0,0676% do 0,2053%, s prosjekom od 0,1385%, a količina kolagena od 0,541% do 1,642% uz prosjek od 1,113%.

U skladu s navedenim možemo zaključiti da od 77 pretraženih uzoraka njih čak 76 (98,70%) zadovoljava propisane uvjete, što u usporedbi sa ranijim istraživanjima (ŠIMRAK, 1980.; KECKO, 1987.; ŠKRIVANKO, 2003.; PLEADIN i sur., 2009.) analizirane uzorke karakterizira kao više kvalitetne. Iznimku predstavlja uzorak parizera iz skupine obarenih kobasica koji radi utvrđene količine bjelančevina od 9,99% nije zadovoljio odredbe Pravilnika (ANON., 2012.).

Prema današnjim propisima kvaliteta prehrambenih proizvoda, pa tako i mesnih, određena je kemijskim sastavom te proizvođačkom specifikacijom odnosno deklaracijom, a odgovornost za proizvodnju kvalitetnog mesnog proizvoda je na subjektu u poslovanju s hranom (AĆIMOVIĆ i sur., 2014.) te službama koje provode nadzor nad kvalitetom proizvoda dostupnim na tržištu.

Prema normi ISO 9000 "Kvaliteta je stupanj do kojeg skup svojstvenih karakteristika ispunjava zahtjeve". Kvalitetu nekog proizvoda ili usluge određuje odnos želja i potreba korisnika i njihove realizacije. Zahtjevi kvalitete kojima moraju udovoljavati mesni proizvodi u proizvodnji i pri stavljanju na tržište odnose se na nazive, definicije i opće zahtjeve, sastav i senzorska svojstva, vrstu i količinu sirovina te drugih tvari koje se koriste u proizvodnji i preradi, tehnološke postupke koji se primjenjuju u proizvodnji i preradi te dodatne zahtjeve označavanja (ANON., 2012.). Kvaliteta po pitanju bjelančevina mesa i općenito mesnih proizvoda ovisi o količini ekstracelularnih proteina vezivnog tkiva prisutnih u koštanim, srčanim i glatkim mišićnim tkivima (tj. kolagena, elastina, proteoglikana i dr.). Značajne razine mesa slabe kvalitete (iz ekonomske i prehrambene točke gledišta) bogatog vezivnim tkivom mogu se utvrditi procjenom sadržaja kolagena odnosno hidroksiprolina (MESSIA i sur., 2008.).

Kvaliteta i sigurnost su kod potrošača dva važna elementa u percepciji hrane i odlučivanja povezanog s izborom hrane. Vjeruje se da potrošači općenito preferiraju proizvode visoke kvalitete. Kvaliteta i sigurnost su koncepti koji se ne mogu lako postići jer su klasificirani kao atributi vjerodostojnosti (tj. atributi proizvoda koje potrošač ne može potvrditi). Potrošači će vjerojatno izvući kvalitetu iz drugih obilježja proizvoda, bilo unutarnjih (npr. izgled proizvoda), bilo vanjskih (npr. oznaka kvalitete (VAN RIJSWIJK i sur., 2008.).

6. ZAKLJUČAK

Mesni proizvodi u proizvodnji i pri stavljanju na tržište moraju udovoljavati mnogobrojnim zahtjevima kvalitete kako od strane proizvođača tako i od strane potrošača. S obzirom na to vrste i kategorije mesa koje se upotrebljavaju u proizvodnji kobasica prolaze kontrolu kvalitete sirovine i gotovog proizvoda kako bi se zaštitili potrošači, ali i kako bi se ujednačila kvaliteta proizvoda na tržištu. Razmatrajući rezultate analiziranih uzoraka mesnih proizvoda iz skupina trajnih i toplinski obrađenih kobasica možemo reći da svi osim jednog uzorka (98,70 %) zadovoljavaju kriterije propisane Pravilnikom po pitanju omjera kolagena i bjelančevina mesa.

7. LITERATURA

1. AĆIMOVIĆ, M., L. KOZAČINSKI, B. NJARI, Ž. CVRTILA (2014.): Usporedni prikaz propisa o kakvoći mesnih proizvoda. Meso, 16, 4, 342-345.

2. ANONIMNO (1991.): Pravilnik o kakvoći mesnih proizvoda. Narodne novine 53/1991.

3. ANONIMNO (2007.): Pravilnik o proizvodima od mesa. Narodne novine 1/2007.

4. ANONIMNO (2012.): Pravilnik o mesnim proizvodima. Narodne novine 131/2012.

5. ASSERIN, J., E. LATI, T. SHIOYA, J. PRAWITT (2015.): The effect of oral collagen peptide supplementation on skin moisture and the dermal collagen network: evidence from an ex vivo model and randomized, placebo-controlled clinical trials. Journal of Cosmetic Dermatology, 0, 1-11.

6. COLGRAVE, M. L., P. G. ALLINGHAM, A. JONES (2008.): Hydroxyproline quantification for the estimation of collagen in tissue using multiple reaction monitoring mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1212, 150-153.

7. DANEAULT, A., V. COXAM, Y. WITTRANT (2015.): Biological Effect of Hydrolyzed Collagen on Bone Metabolism. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57, 1922-1937.

8. DELLAGLIO, S., E. CASIRAGHIB, C. POMPEI (1996.): Chemical, Physical and Sensory Attributes for the Characterization of an Italian Dry-cured Sausage. Meat Science, 42, 1, 25-35.

9. EGELANDSDAL, B., G. DINGSTAD, G. TOGERSEN, F. LUNDBY, O. LANGSRUD (2004.): Autofluorescence quantifies collagen in sausage batters with a large variation in myoglobin content. Meat Science, 69, 35-46.

10. FRANJČEC, I., B. NJARI, Ž. CVRTILA (2011.): Ocjena tržišne kakvoće obarenih kobasica. Meso, 13, 5, 351-353.

11. HERAK-PERKOVIĆ, V., Ž. GRABAREVIĆ, J. KOS (2012.): Veterinarski priručnik. Medicinska naklada. Zagreb. Str. 580-590.

12. JAKUPEK, A. (1984.): Kakvoća polutrajnih kobasica na zagrebačkom tržištu. Magistarska rasprava. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

13. JUNQUEIRA, L. C., J. CARNEIRO (2005.): Osnove histologije (prema 10. američkom izdanju). Školska knjiga. Zagreb

14. KECKO, I. (1989.): Istraživanje proizvodnje i kakvoće mesnih proizvoda na zagrebačkom tržištu nekad i danas. Doktorska disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

15. KOROŠEC, M., T. POLAK, M. LUŠNIC, K. BABIĆ, L. DEMŠAR (2016.): 'Pečena' šunkarica. Meso, 18, 6, 515-520.

16. LEPETIT, J. (2008.): Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. Meat Science, 80, 960-967.

17. M. L. NOLLET, L. (2007.): Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. Blackwell PublishingProfessional. 2121 StateAvenue,Ames, Iowa 50014, USA.

18. MESSIA, M. C., T. DI FALCO, G. PANFILI, E. MARCONI (2008.): Rapid determination of collagen in meat-based foods by microwave hydrolysis of proteins and HPAEC–PAD analysis of 4-hydroxyproline. Meat Science, 80, 401-409.

19. ORDONEZ, J. A., E. M. HIERRO, J. M. BRUNA, L. DE LA HOZ (1999.): Changes in the Components of Dry-Fermented Sausages during Ripening. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 39, 4, 329-367.

20. PLEADIN, J., N. PERŠI, A. VULIĆ, J. ĐUGUM (2009.): Kakvoća trajnih, polutrajnih i obarenih kobasica na hrvatskom tržištu. Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologijui nutricionizam 4 (3-4), 104-108.

21. PLEADIN, J., N. PERŠI, N. VAHČIĆ, D. KOVAČEVIĆ (2013.): Varijabilnost fizikalno-kemijskih i senzorskih svojstava autohtonih mesnih proizvoda između proizvodnih domaćinstava. Meso, 15, 2, 122-131.

22. ŠIMRAK, P. (1980.): Prilog poznavanju proizvodnje i kvalitete nekih polutrajnih kobasica. Magistarski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

23. ŠIMUNDIĆ, B., V. JAKOVLIĆ, V. TADEJEVIĆ (1994.): Poznavanje robe. Živežne namirnice s osnovama tehnologije i prehrane. Tiskara Rijeka d.d. Rijeka.

24. ŠKRIVANKO, M. (2003.): Utjecaj higijene pogona i tehnološkog procesa na higijensku ispravnost i kakvoću kobasica. Magistarska rasprava. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

25. TOLDRA, F. (2007.): Handbook of Fermented Meat and Poultry. Blackwell Publishing Professional. 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA.

26. VAN RIJSWIJK, W., L. J. FREWER (2008.): Consumer perceptions of food quality and safety and their relation to traceability. British Food Journal, 110, 10, 1034-1046.

27. ŽIVKOVIĆ, J. (1986.): Higijena i tehnologija hrane (kakvoća i prerada). Grafička radna organizacija „Tipografija“. Đakovo.

8. SAŽETAK

Utvrđivanje udjela kolagena kao pokazatelja kvalitete kobasica

Cilj ovoga rada je bio utvrditi udio kolagena te omjer kolagena i bjelančevina mesa kao značajnog kriterija kvalitete kobasica iz skupina trajnih i toplinski obrađenih kobasica pri čemu je utvrđen udio kolagena (bjelančevine vezivnog tkiva) i ukupnih bjelančevina standardnim akreditiranim metodama (spektrofotometrijska metoda HRN ISO 3496:1999 za određivanje hidroksiprolina/kolagena i titracijska metoda HRN ISO 937:1999 za određivanje ukupnih bjelančevina). U radu je analizirano ukupno 77 uzoraka od kojih je 31 uzorak trajnih kobasica, 7 uzoraka obarenih kobasica, 13 uzoraka polutrajnih kobasica, 17 uzoraka kobasica od mesa u komadima te 9 uzoraka kuhanih kobasica. Za trajne je kobasice prosječna količina ukupnih bjelančevina iznosila 19,59%, za obarene kobasice 11,98%, za polutrajne kobasice 13,18%, za kobasice od mesa u komadima 14,16%, a za kuhane kobasice 9,80%. Od ukupno pretaženih uzoraka (N=77) samo jedan uzorak nije zadovoljio odredbe Pravilnika (ANON. 2012.).

9. SUMMARY

Determination of collagen fraction as a quality sausage indicator

The aim of this paper was to determine the collagen fraction and the ratio of collagen and meat protein as a significant quality criterion of sausages from groups of dry and thermally treated sausages, whereby the percentage of collagen (protein binding) and total protein was determined by standard accredited methods (spectrophotometric method HRN ISO 3496: 1999 for determination of hydroxyproline / collagen and titration method HRN ISO 937: 1999 for determination of total proteins). In this paper a total of 77 samples were analyzed, out of which 31 were samples of dry sausages, 7 samples of coated sausages, 13 samples of semi-dry sausages, 17 samples of meat sausages in pieces and 9 samples of cooked sausages. For dry sausages, the average amount of total protein was 19,59%, 11,98% for coated sausages, 13,18% for semi-dry sausages, 14,16% for meat sausages in pieces, and for 9,80% for boiled sausages. Of the total number of samples transposed (N = 77), only one sample did not comply with the provisions of the Ordinance (ANON. 2012.).

10. ŽIVOTOPIS

Lovran Peinović je rođen 27.06.1991. u Zagrebu. Godine 2006. upisuje Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga – smjer prirodoslovna gimnazija. Nakon završene srednje škole 2010. godine upisuje Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom svog fakultetskog obrazovanja 2012. godine radi kao demonstrator na Zavodu za fiziku, a 2017. godine dobiva nagradu dekana u povodu Dana Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za izvrstan uspjeh u VI. godini studija akademske godine 2016./2017.