

# Upotreba cikle i poriluka kao izvora nitrata u proizvodnji polutrajnih kobasica

---

Stvorić, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:819239>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**UPOTREBA CIKLE I PORILUKA KAO IZVORA  
NITRATA U PROIZVODNJI POLUTRAJNIH  
KOBASICA**

DIPLOMSKI RAD

Martina Stvorić

Zagreb, rujan, 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:  
Proizvodnja i prerada mesa

**UPOTREBA CIKLE I PORILUKA KAO IZVORA  
NITRATA U PROIZVODNJI POLUTRAJNIH  
KOBASICA**

DIPLOMSKI RAD

Martina Stvorić

Mentor:  
izv. prof. dr. sc. Ivica Kos

Zagreb, rujan, 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA**  
**O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Martina Stvorić**, JMBAG 0011165075, rođena 18.02.1997. u Slavonskom Brodu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

**UPOTREBA CIKLE I PORILUKA KAO IZVORA NITRATA U PROIZVODNJI**  
**POLUTRAJNIH KOBASICA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Martina Stvorić*

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Martina Stvorić**, JMBAG 0011165075, naslova

**UPOTREBA CIKLE I PORILUKA KAO IZVORA NITRATA U PROIZVODNJI  
POLUTRAJNIH KOBASICA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

- |    |                                |        |       |
|----|--------------------------------|--------|-------|
| 1. | izv. prof. dr. sc. Ivica Kos   | mentor | _____ |
| 2. | prof. dr. sc. Danijel Karolyi  | član   | _____ |
| 3. | izv. prof. dr. sc. Marko Petek | član   | _____ |

## Zahvala

*Veliku zahvalnost u prvom redu dugujem svome mentoru izv. prof. dr. sc. Ivici Kosu na uloženom vremenu, trudu i radu tijekom izvedbe i pisanja ovog diplomskog rada. Zahvaljujem mu i na ogromnoj količini strpljenja i razumijevanja te na svim savjetima koje mi je uputio vezano uz izradu diplomskog rada, ali i brojnim savjetima koji će mi pomoći u daljnjem životu i novim životnim izazovima. Zahvalu želim posvetiti i svim drugim profesorima koji su me pratili tijekom školovanja, osobito svima koji su pridonijeli izradi mog diplomskog rada.*

*Veliko hvala mojim životnim uzorima mami, tati i bratu na nesebičnoj potpori, ljubavi i razumijevanju tijekom svih ovih godina, jer bez njih brojne stvari ne bi bile moguće. Hvala i drugim članovima moje obitelji koji su se radovali svim mojim uspjesima i uvelike me poticali u brojnim trenucima.*

*Zahvaljujem poduzeću TTR Kolovrat d.o.o. iz Zagreba na donaciji starter kultura.*

*I naravno želim zahvaliti svim svojim prijateljima i fakultetskim kolegama s kojima sam proživjela jedan divan period života, dijeleći sretna, a ponekad i one malo manje sretna trenutke koji su nas doveli do kraja jednog bezbrižnog i lijepog životnog poglavlja.*

*Velika HVALA svima!*

# Sadržaj

|  |    |
|--|----|
| <b>1. Uvod</b> .....   | 1  |
| <b>1.1. Cilj istraživanja</b> .....  | 3  |
| <b>2. Pregled literature</b> .....   | 4  |
| <b>2.1. Nitrati i nitriti u mesnim proizvodima</b> .....                         | 4  |
| 2.1.1. Upotreba nitrata i nitrita kao konzervansa kroz povijest .....            | 4  |
| 2.1.2. Nitrati.....  | 5  |
| 2.1.3. Nitriti .....   | 6  |
| 2.1.4. Utjecaj nitrita na boju proizvoda od mesa .....                           | 6  |
| 2.1.5. Utjecaj nitrita na mikrobiološku stabilnost proizvoda od mesa.....        | 8  |
| 2.1.6. Antioksidativni učinak nitrita .....                                      | 9  |
| <b>2.2. Zakonodavstvo pri upotrebi nitrata i nitrita</b> .....                   | 10 |
| <b>2.3. Štetni utjecaji nitrita na zdravlje ljudi</b> .....                      | 11 |
| <b>2.4. Alternativna zamjena sintetičkim nitratima i nitritima u hrani</b> ..... | 13 |
| <b>3. Materijali i metode</b> .....  | 16 |
| <b>3.1. Izrada polutrajnih kobasica</b> .....                                    | 16 |
| 3.1.1. Sirovine i dodaci.....  | 16 |
| 3.1.2. Tehnološki postupak proizvodnje.....                                      | 17 |
| <b>3.2. Uzimanje uzoraka za istraživanje</b> .....                               | 22 |
| <b>3.3. Metode korištene u istraživanju</b> .....                                | 22 |
| 3.3.1. Laboratorijske metode .....   | 22 |
| 3.3.2. Senzorska analiza .....   | 24 |
| 3.3.3. Statističke metode.....   | 25 |
| <b>4. Rezultati i rasprava</b> .....   | 26 |
| <b>4.1. pH vrijednost</b> .....  | 26 |
| <b>4.2. Aktivitet vode</b> .....   | 28 |
| <b>4.3. Instrumentalna boja</b> .....  | 29 |
| <b>4.4. Stupanj oksidacije</b> .....   | 35 |
| <b>4.5. Sadržaj rezidualnih nitrata i nitrita</b> .....                          | 37 |
| <b>4.6. Senzorska analiza</b> .....  | 41 |
| <b>5. Zaključak</b> .....  | 48 |
| <b>6. Literatura</b> .....   | 49 |

## Sažetak

Diplomskog rada studentice **Martina Stvorić**, naslova

### **UPOTREBA CIKLE I PORILUKA KAO IZVORA NITRATA U PROIZVODNJI POLUTRAJNIH KOBASICA**

Cilj rada bio je utvrditi utjecaj dodatka cikla i poriluka kao prirodnih izvora nitrata na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva polutrajnih kobasica pri različitom trajanju i temperaturama inkubacije. Za potrebe istraživanja proizvedene su polutrajne kobasice, a u kobasice kontrolnog tretmana su dodani nitriti, dok su u kobasice pokusnih tretmana dodane starter kulture (*Staphylococcus carnosus*) te prah cikla i poriluka. Pokusne kobasice su podijeljene u četiri tretmana prema trajanju (1,5 i 3 sata) i temperaturi inkubacije (30 i 40° C). Kobasice pokusnih tretmana imale su značajno veće vrijednosti boje a\* i b\*, sadržaja nitrata kao i TBARS vrijednosti u odnosu na kontrolni tretman, dok je sadržaj nitrata bio značajno manji. Veća temperatura i duža inkubacija rezultirala je smanjenjem sadržaja nitrata i blagim povećanjem sadržaja nitrita. Utvrđen je utjecaj na opisna senzorska svojstva, ali su značajno manje ocjene svojstava dopadljivosti utvrđene kod kobasica pokusnih tretmana.

**Ključne riječi:** polutrajne kobasice, nitrati, nitriti, cikla, poriluk



## Summary

Of the master's thesis – student **Martina Stvorić**, entitled

### **USE OF BEETROOT AND LEEK AS SOURCES OF NITRATE IN THE PRODUCTION OF SEMI-DURABLE SAUSAGES**

The objective of this study was to determine the effects of the addition of beetroot and leek as natural sources of nitrates on the physicochemical and sensory properties of semi-durable sausages at different incubation times and temperatures. Semi-durable sausages were prepared, and nitrites were added to the sausages in the control treatment, while starter cultures (*Staphylococcus carnosus*) and beetroot and leek powders were added to the sausages in the experimental treatments. The experimental sausages were divided into four treatments depending on the duration (1.5 and 3 hours) and incubation temperature (30 and 40 °C). Compared to the control treatment, the sausages in the experimental treatments had significantly higher values for color a \* and b \*, nitrate content, and TBARS values, while nitrite content was significantly lower. Higher temperature and longer incubation resulted in a decrease in nitrate content and a slight increase in nitrite content. The influence on the descriptive sensory traits was determined, but significantly lower likeability ratings were found in the sausages of the experimental treatments.

**Keywords:** semi-durable sausages, nitrates, nitrites, beetroot, leek

# 1. Uvod

Meso i proizvodi od mesa su neizostavne namirnice u prehrani velikog broja ljudi, predstavljaju izvor energije za ljudski organizam i najveći su izvor proteina iz hrane. Osim što ljudskom organizmu predstavljaju izvor energije i proteina, meso je važno jer je bogato i mikrohranjivima, posebice vitaminima B skupine i vitaminom A, dok su od minerala najzastupljeniji željezo, fosfor, selen, cink, magnezij i kalij, a svi oni su iznimno važni za normalno funkcioniranje organizma. Upravo zbog toga što je meso izuzetno bogato različitim hranjivim tvarima i vodom, ono predstavlja idealan medij za rast mikroorganizama. Kako bi se produžio vijek trajanja, odnosno smanjilo razmnožavanje prirodno prisutnih mikroorganizama, meso prolazi kroz različite postupke konzerviranja i to najčešće u vidu prerade i dodavanja kemijskih aditiva. Upravo je proizvodnja toplinski obrađenih mesnih proizvoda jedan vid konzerviranja mesa i produživanja njegove trajnosti. Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (NN 62 2018.) toplinski obrađeni mesni proizvodi su proizvodi od različitih vrsta mesa sa ili bez pripadajućih kostiju, potkožnog masnog tkiva i kože sa dodanim drugim sastojcima. Proizvodnja toplinski obrađenih mesnih proizvoda se odvija primjenom postupaka soljenja ili salamurenja, te primjenom određene metode toplinske obrade, pri čemu se može primijeniti postupak pasterizacije ili sterilizacije. Također ovi proizvodi mogu biti podvrgnuti postupku dimljenja. Nadalje se toplinski obrađeni proizvodi dijele u 4 skupine, od kojih svaka od ovih skupina ima svoje specifičnosti, a to su:

1. polutrajni suhomesnati proizvodi od jednog komada mesa,
2. polutrajni proizvodi od komada mesa,
3. proizvodi od usitnjenog mesa i
4. polutrajne kobasice.

Pri tome su polutrajne kobasice proizvodi od različitih vrsta mesa, strojno otkoštenog mesa, masnog i vezivnog tkiva i iznutrica, različitog stupnja usitnjenosti i drugih sastojaka, te koji su podvrgnuti postupku pasterizacije. Ovi proizvodi moraju sadržavati minimalno 8% bjelancevina, pune se u ovitke i mogu se podvrgnuti postupku dimljenja.

Uvjeti koji moraju biti zadovoljeni su sljedeći: ovitak mora dobro prianjati uz nadjev, površina proizvoda ne smije biti deformirana, sastojci nadjeva trebaju biti ravnomjerno raspoređeni i međusobno čvrsto povezani te na presjeku ne smije biti šupljina i pukotina.

Proizvodnja toplinski obrađenih mesnih proizvoda je nezamisliva bez upotrebe aditiva. Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN 62 2010.), aditiv se može definirati kao tvar koja sama po sebi se ne konzumira kao hrana, niti je prepoznatljiv sastojak određene hrane bez obzira na hranjivu vrijednost, a čije je dodavanje hrani namjerno zbog tehnoloških razloga u proizvodnji, preradi, pripremi, obradi, pakiranju, prijevozu ili skladištenju i ima za posljedicu, ili se može očekivati da će imati za posljedicu, da će aditiv ili njegov derivat postati izravno ili neizravno sastojak hrane. Koristi se kao pomoćna tvar u procesu proizvodnje, a dodaju se tijekom pripreme, obrade, prerade, oblikovanja, pakiranja, transporta, čuvanja. Osnovna uloga im je očuvanje senzorskih svojstava osobito tijekom perioda čuvanja, te poboljšanje različitih tehnoloških svojstava, tako primjerice mogu imati utjecaj na boju, aromu, mikrobiološku

stabilnost i brojne druge učinke. Ovisno o osnovnom funkcionalnom svojstvu, aditivi se mogu podijeliti u sljedeće skupine: bojila, konzervansi, emulgatori, antioksidansi, stabilizatori, regulatori kiselosti, kiseline, zgušnjivači, tvari za želiranje, tvari za sprječavanje zgrudnjavanja, pojačivači okusa, tvari za zaslađivanje ili sladila, modificirani škrob, tvari za poliranje, tvari za zadržavanje vlage, tvari za tretiranje brašna, učvršćivači, tvari za povećanje volumena, potisnih plinova, emulgatorske soli, tvari protiv pjenjenja i tvari za rahljenje. Količine aditiva koje se dodaju hrani prilikom proizvodnje određenog proizvoda se mjere i dodaju u miligramima, to su izrazito male količine po kilogramu sirovine, pa za brojne aditive postoji najveća dopuštena količina (NKD) u kojoj se smije dodati u određeni proizvod. Aditivi se označuju E bojevima, a taj broj potvrđuje da je provedena toksikološka evaluacija aditiva i klasifikaciju istoga (Katalenić 2008.).

Kao što je već rečeno proizvodnja toplinski obrađenih mesnih proizvoda u današnjem vremenu je nezamisliva bez dodatka aditiva. Kao najčešće korišteni aditivi u ovim proizvodima mogu se navesti nitrati i nitriti te polifosfati, ali zbog istraživanja koja navode da ovi aditivi mogu biti toksični, njihova upotreba je ograničena u svim proizvodima od mesa. Nitrati i nitriti pripadaju skupini konzervansa, čija je primarna uloga sprječavanje kvarenja, infekcije i intoksikacije mesnih proizvoda, a osim tih uloga imaju i druge funkcije, poput očuvanja arome, umanjivanja oksidacijskih procesa i poboljšanja boje. U proizvodnji toplinski obrađenih kobasica, ali i u proizvodnji drugih proizvoda od mesa, najčešće se koriste u obliku natrijevog nitrata (E251), kalijevog nitrata (E252), natrijevog nitrita (E250) i kalijevog nitrita (E249) (Peladin i sur. 2009.; Kovačević i sur. 2016., preme Cammack i sur. 1999.; Toldrá 2010.).

Potencijalni problem upotrebe nitrita u mesnim proizvodima jest njegova moguća kancerogenost, ukoliko se u proizvod doda u velikoj količini koja se ne može u potpunosti iskoristiti za ciljano djelovanje na proizvod. Nitrati ne predstavljaju izravnu opasnost, jer su manje reaktivni, a u proizvodu predstavljaju zalihu nitrita. Nitriti su vrlo reaktivni, a negativno djelovanje ispoljavaju na način da tijekom prerade mesa i mesnih proizvoda dolazi do reakcije između nitrita i sekundarnih amina iz bjelanjčevina mesa, pri čemu nastaju N-nitrozoamini, čija je toksičnost i kancerogenost dokazana u velikom broju istraživanja. Upravo iz tih razloga na mesnu industriju se vrši veliki pritisak u vidu smanjenja količine nitrita u mesu i proizvodima od mesa ili njihova potpuna zamjena nekim alternativnim izvorima koji imaju iste pozitivne učinke na proizvod, ali nisu toksični i kancerogeni (Pavlinić Prokurica i sur. 2010., preme Hui, 1992.; Pearson i Dutson, 1990.; Bošnjir i sur., 2003.).

Krajem 20. stoljeća izražen je interes za pronalazak zamjena sintetičkim nitratima i nitritima, a jedna od mogućnosti je upotreba zelenih alternativa, odnosno biljnih preparata. Upotreba povrća u mesnim proizvodima ne predstavlja samo izvor nitrata i nitrita, nego ima i važnu ulogu u privlačenju potrošača jer se takvi proizvodi uglavnom mogu klasificirati kao organski mesni proizvodi, a upravo oni pobuđuju sve veći interes javnosti (Flores i Toldrá 2021.).

Poriluk (*lat. Allium porrum*) je biljka koja ima visok udio nitrata, stoga čini idealnu alternativu sintetičkim nitratima i nitritima. Karakterističan i intenzivan miris ove biljke potječe od hlapivih sumpornih spojeva. U poriluku su zastupljeni i brojni spojevi koji imaju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje, poput glikozid flavonoida koji djeluje kao inhibitor nastanka

ateroskleroze, sve češće i izrazito ozbiljne bolesti koja vlada u današnjem svijetu. Smatra se da ima i antikancerogeno djelovanje, na način da putem raznih spojeva djeluje antioksidativno i tako sprječava nastanak nitrozoamina u probavnom sustavu ljudi (Tsoukalas i sur. 2010.). Cikla (*lat. Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) također predstavlja izvor nitrata, stoga je još jedna moguća alternativna zamjena, a osim toga zbog svoje intenzivne boje, može predstavljati prirodno bojilo te je bogata spojevima koji djeluju kao antioksidansi (Ozaki i sur. 2021.a).

## **1.1. Cilj istraživanja**

Budući da je posljednjih nekoliko desetljeća došlo do spoznaje različitih činjenica o negativnim utjecajima procesirane hrane na zdravlje, potrošači imaju nove zahtjeve vezane uz proizvodnju prehrambenih proizvoda sa što „čišćom“ deklaracijom. Zbog toga se ulažu brojni naponi u istraživanja čiji je glavni cilj smanjiti količinu aditiva u mesnim proizvodima, uključujući i nitrate i nitrite. Dosadašnja istraživanja pokazuju da bi dodatak materijala biljnog porijekla bogatom u sadržaju nitrata uz upotrebu mikroorganizama koji reduciraju nitrate u nitrite moglo predstavljati alternativni izvor nitrita u proizvodnji polutrajnih kobasica.

Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi utjecaj dodataka biljnih prahova cikle i poriluka kao prirodnih izvora nitrata na senzorna i fizikalno-kemijska svojstva polutrajnih kobasica pri različitom trajanju i temperaturama inkubacije.

## 2. Pregled literature

### 2.1. Nitrati i nitriti u mesnim proizvodima

Nitrati i nitriti unutar podjele aditiva pripadaju skupini konzervansa. Budući da hrana ima primarnu ulogu u preživljavanju ljudi, a živimo u svijetu gdje se hrana sve duže skladišti i transportira, njezino očuvanje ne bi bilo moguće bez konzervansa, čija je primarna uloga produživanje roka trajanja proizvoda i sprečavanje kvarenja. Osim što je uloga konzervansa sprječavanje kvarenja od strane mikroorganizama, konzervansi imaju i druge važne uloge kao što su očuvanje karakterističnog početnog izgleda proizvoda, očuvanje boje, okusa, mirisa, nutritivne vrijednosti i slično (Seetaramaiah i sur. 2011.).

Nitrati i nitriti su prirodni kemijski spojevi koji nastaju oksidacijom dušika, a za tu oksidaciju su odgovorni mikroorganizmi. Prisutni su svuda u okolišu, uključujući vodu, tlo, zrak, biljke i hranu, također imaju i široku primjenu pri čemu se koriste kao gnojiva, eksplozivi, konzervansi i slično (Gassara i sur. 2016.). Gledano sa stajališta kemije, nitrati i nitriti su spojevi koji se sastoje od dušika i kisika, pri čemu imaju različitu kemijsku strukturu i različiti broj atoma kisika. Nitrati ( $\text{NO}_3^-$ ) sadrže jedan atom dušika i tri atoma kisika, dok molekula nitrita ( $\text{NO}_2^-$ ) ima jedan atom kisika manje (Gassara i sur. 2016.).

#### 2.1.1. Upotreba nitrata i nitrita kao konzervansa kroz povijest

Korištenje nitrata i nitrita u svrhu konzerviranja mesa seže u daleku prošlost, no brojni pisani tragovi korištenja njih u svrhu konzerviranja su izgubljeni. Sa sigurnošću se može potvrditi da u svrhu konzerviranja mesa prvenstveno korištena sol, a nju kasnije nadopunjava upotreba nitrata i nitrita. Sol u svrhu konzerviranja koristili su drevni narodi Mezopotamije i Babilona, a tehnologija proizvodnje morske soli zabilježena je u Kini, gdje se 1600. godina prije Krista ona crpila iz bušenih bunara. Tako se primjerice u pustinjama Azije prakticiralo konzerviranje mesa uz pomoć pustinjske soli, koja je kao nečistoće u sebi sadržavala nitrate i boraks. No, djelovanje nitrata na boju mesa nije zabilježeno sve do doba Rimljana. U obliku izbočina na zidovima pećina se nalazila salitra ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ), oblik nitrata koji je nastao djelovanjem nitrificirajućih bakterija, pri čemu su ljudi salitru koristili jer su uvidjeli da ima utjecaj na okus i boju mesa, bez da su znali da je glavni razlog tomu upravo nitrat. Također su i brojni drugi narodi bez znanja na koji način i koji spoj utječe na meso u vidu konzerviranja i poboljšanja organoleptičkih karakteristika koristili sol i razne materijale koji su sadržavali nitrate i nitrite (Binkerd i Kolari 1975.).

Godine 1873. Edward Smith je rekao: „Najstarije i najbolje sredstvo za konzerviranje je sol, sa ili bez dodatka salitre“. On je ukazivao da sol djeluje kao konzervans na način da ima snagu privući vlagu iz mesa, odnosno da veže vodu i tako omogućava sušenje proizvoda. Također je

uputio da meso koje se konzervira isključivo sa solju gubi boju, dok kombinacijom soli i salitre se osigurava crvenkasta boja mesa (Binkerd i Kolari 1975. preme National Provisioner, 1952.).

Polenske je 1891. godine zaključio da je nitrit nastao bakterijskom redukcijom nitrata do nitrita, dok su Lehman i Kisskalt 1899. godine ukazali na to da tipična boja salamurenog mesa nije posljedica djelovanja nitrata, nego isključivo nitrita. Krajem 19-og i početkom 20-og stoljeća došlo je do brojnih otkrića vezanih uz način djelovanja nitrita, prvenstveno na boju pa se njihovo korištenje u proizvodnji od tada masovno širilo (Binkerd i Kolari 1975.).

Tijekom 20. stoljeća Ministarstvo poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država zbog brojnih istraživanja vezanih uz upotrebu nitrata i nitrita i spoznaje o mogućem toksičnom i kancerogenom učinku rezidualnih nitrita, donosi odluku o smanjenju ili potpunom ukidanju korištenja nitrita u prerađenoj hrani (Cassens i sur. 1978.).

### 2.1.2. Nitrati

Prethodno je spomenuto kako nitrati, kao i nitriti u sastav salamure najčešće ulaze u obliku natrijevog ili kalijevog nitrata, odnosno nitrita. Nitrat je spoj koji može imati konzervirajući učinak, ali njegovo konzervirajuće djelovanje će se ostvariti samo ukoliko dođe do redukcije nitrata u nitrite. Ova redukcija se događa posredstvom prirodno prisutnih ili dodanih denitrificirajućih bakterija koje su sposobne proizvesti enzim nitrat reduktazu, koji je biološki katalizator pri nastanku nitrita (Sebranek i Bacus 2007.a). Nitrati se danas uglavnom dodaju u trajne suhomesnate proizvode i trajne kobasice gdje je period konzerviranja produžen, odnosno vremenski traje duže u odnosu na polutrajne proizvode. Pri tome nitrati kroz duži vremenski period predstavljaju izvor, tj. rezervu nitrita (Sindelar i Milkowski 2011.).

Jedan od prirodnih izvora nitrata je tlo, pri čemu je nitrat u tlu neophodan za normalan rast biljnih vrsta. Biljke više od 90% dušika iz tla uzimaju u obliku nitrata, a dušična gnojiva mogu biti i u obliku amonijaka ili amonija (Gassara i sur. 2016, preme Brown i sur., 2007.). Nadalje u atmosferi je dušik inertna molekula pri sobnoj temperaturi. Iznimno je važan za život na Zemlji, jer se javlja kao sastavni dio aminokiselina i bjelančevina te nukleinskih kiselina DNA i RNA bez kojih ne bi bilo ni života. Treba naglasiti da dušik ima sposobnost mijenjati svoje oksidacijsko stanje te se zbog toga pojavljuje u mnogo oblika. Kao posljedicu dušikovog ciklusa podrazumijevamo prisutnost nitrata i nitrita u povrću, pri čemu su za fiksaciju dušika u biljke odgovorne bakterije prisutne u tlu. Veću koncentraciju nitrata imaju cikla, celer, rotkvica, špinat, zelena salata, brokula i kupus (više od 1000 mg/kg). Nitrati su prirodno prisutni i u pitkim i otpadnim vodama (Gassara i sur. 2016.). Većina nitrata koja se unosi u organizam potječe od biljne hrane, tako se oko 98% nitrata unesenih u organizam pripisuje voću i povrću, a samo 2% potječe od mesnih proizvoda. Dok unos nitrata iz povrća čini 59% ako se gleda unos iz voća i povrća (Larsson i sur. 2011.).

Nitrati su inertni spojevi koji moraju biti reducirani do nitrita kako bi ostvarili svoj učinak aditiva na meso. Ta redukcija se odvija djelovanjem bakterija koje mogu biti prirodno prisutne ili dodane u meso, a sposobne su proizvoditi nitrat reduktazu koja dovodi do redukcije nitrata

u nitrite. Bakterije roda *Staphylococcus* (*Staphylococcus xylosus* i *Staphylococcus carnosus*) i *Micrococcus* su najčešće korištene za ovu pretvorbu, ujedno su i najučinkovitije, a redukcija je moguća i uz pomoć bakterija mliječno kiselog vrenja (Sebranek i Bacus 2007.; Hammes 2012.; Gøtterup i sur. 2008.; Honikel 2008.). Reakcija redukcije se odvija u dosta širokom temperaturnom području, pri čemu se redukcija može odvijati i na temperaturama od 15 °C do 20 °C, a najučinkovitija je na temperaturama višim od 30 °C. Temperature koje se savjetuju za komercijalno dostupne bakterije su od 38 °C do 40 °C, kako bi se reakcija redukcije odvila u što kraćem vremenskom periodu (Sebranek i Bacus 2007.a).

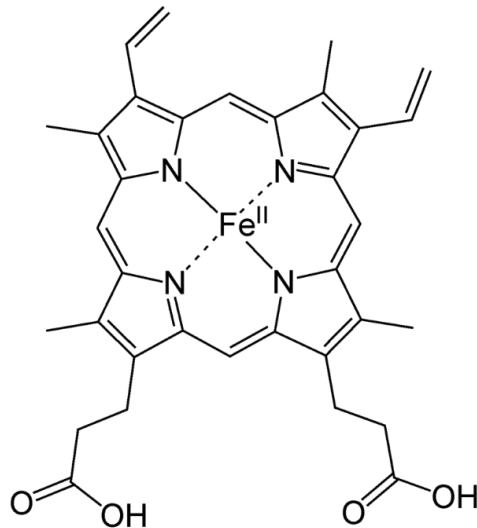
### 2.1.3. Nitriti

Brojne pozitivne biološke i funkcionalne uloge nitritu su osigurale uporabu u prehrambenoj industriji, osobito mesnoj industriji. Njegova uloga se u najvećoj mjeri ogleda kroz konzervirajuće djelovanje, jer utječe na mikrobiološku stabilnost proizvoda i to sprječavajući rast spora bakterije *Clostridium botulinum* koja je izrazito patogena bakterija i produkciju njezinog neurotoksina botulinuma (Yong i sur. 2021.; Kovačević i sur. 2016.). Osim što nitriti imaju ulogu u održavanju mikrobiološke stabilnosti, važni su i za razvoj karakteristične boje trajnih i polutrajnih proizvoda, sprječavanje oksidacijskih promjena i razvitak okusa (Alahakoon i sur. 2015.).

Premda su brojni pozitivni utjecaji nitrita na proizvode od mesa, u 20. stoljeću znanstvenici dolaze do spoznaja o njihovoj štetnosti za ljudski organizam. Znanstvenike je zanimala sudbina nitrita iz mesnih proizvoda te su otkriveni kancerogeni i toksični spojevi N-nitrozoamini. Nastanak N-nitrozoamina je direktno vezan uz količinu amina i količinu dodanih nitrita, ali je i pod utjecajem temperature, pH vrijednosti, prisutnosti drugih kemijskih spojeva i redoks potencijala (Pavlinić Prokurica i sur. 2010.). Kao posljedica otkrića N-nitrozoamina u brojnim državama dolazi do donošenja propisa koji reguliraju upotrebu nitrita, odnosno zakonom se određuju najviše dopuštene količine nitrita koje se smiju dodati u proizvod.

### 2.1.4. Utjecaj nitrita na boju proizvoda od mesa

Boja svježeg mesa potječe od prirodnih pigmenata mesa, od kojih je najvažniji mioglobin, crveni mišićni pigment, a u manjoj mjeri je pod utjecajem hemoglobina, citokroma, kobalamina, flavina i drugih spojeva. Mioglobin (Slika 2.1.4.1.) predstavlja monomerni globularni protein, koji se sastoji od bezbojnog globina i prostetske grupe hem. Upravo prostetska grupa hem je odgovorna za boju mesa, a njezina uloga je reverzibilno vezanje kisika (Faustman i Cassens 1990.; Kaić i sur. 2012.).



Slika 2.1.4.1. Struktura hema

Izvor: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/6c/Heme\\_b.png/800px-Heme\\_b.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/6c/Heme_b.png/800px-Heme_b.png) - 22.07.2021.

Zbog oksidativnog statusa razlikujemo tri oblika mioglobina u mesu, a to ima utjecaj na boju mesa. Tako razlikujemo:

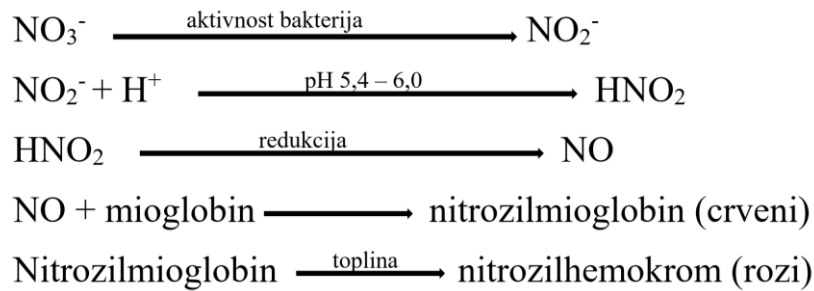
1. mioglobin (Mb) koji je ljubičasto crvene boje, javlja se u svježe prerezanom mesu zbog odsutnosti kisika,
2. oksimioglobin (MbO<sub>2</sub>) koji je svijetlo crvene boje, javlja se uslijed izlaganja mesa zraku zbog vezanja kisika i
3. metmioglobin (MMb) koji je smeđe boje, a javlja se zbog oksidacije željeza u mioglobinu.

Željezo koje se nalazi unutar hem grupe može postojati u dva oblika, kao reducirani oblik (Fe<sup>2+</sup>, fero stanje) i kao oksidirani oblik (Fe<sup>3+</sup>, feri stanje). Željezo iz hem grupe unutar mioglobina i oksimioglobina se nalazi u reduciranom fero stanju, dok je kod metmioglobina u oksidiranom feri stanju (Faustman i Cassens 1990.; Kovačević 2001.).

Nastanak crvene i ružičaste boje konzerviranog mesa i mesnih proizvoda predstavlja najvažniji učinak nitrita na meso, pri čemu se ta boja razvija postepeno. Odvija se veliki broj reakcija, sve dok ne nastane nitrozilmioglobin koji je karakterističan pigment crvene boje salamurenih proizvoda, a termičkom obradom nitrozilmioglobin prelazi u pigment ružičaste boje nitrozilhemokrom koji je karakterističan za toplinski obrađene mesne proizvode (Honikel 2008.). Kada se nitrit doda u mesnu sirovinu čija je pH vrijednost u intervalu od 5,5 do 6,5, dolazi do postepene redukcije nitrita do dušikaste kiseline (HNO<sub>2</sub>) i dušikovog (II) oksida (NO). Pri nižem pH vrijednostima od 5,2 do 5,3 se ubrzava proces stvaranja karakteristične boje salamurenih proizvoda, jer je tada prisutno više nedisocirane dušikaste kiseline i stvara se posljedično i veća količina dušikovog (II) oksida (Yong i sur. 2021.; Feiner 2006.). Osim izravno iz dušikaste kiseline, dušikov (II) oksid može nastati i iz dušikaste kiseline preko didušikovog trioksida (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), koju u prisustvu reducirajućih spojeva poput askorbinske kiseline



prelazi u dušikov (II) oksid. Dušikov (II) oksid ima sposobnost vezanja na mioglobin, odnosno na atom željeza u hem grupi. Upravo ta reakcija kod koje se dušikov (II) oksid veže na hem dovodi do nastanka nitrozilmioglobina, a termičkom obradom nitrozilmioglobin prelazi u ružičasti pigment nitrozilhemokrom. Upravo je to pigment koji je karakterističan za sve toplinski obrađene mesne proizvode, kao što su i polutrajne kobasice (Yong i sur. 2021.; Gassara i sur. 2016.).



Slika 2.1.4.2. Utjecaj na boju

Izvor: prilagođeno prema Froning i sur. 1986.

Prema tvrdnjama znanstvenika ružičasti pigment nitrozilhemokrom može nastati kod dodatka nitrita minimalno u količini od 2 ppm do 14 ppm, ali potrebne su znatno veće količine kako bi se ta boja održala tijekom dužeg vremena (Sebranek i Bacus 2007.b).

### 2.1.5. Utjecaj nitrita na mikrobiološku stabilnost proizvoda od mesa

Meso i proizvodi od mesa su vrlo kvarljive namirnice, te predstavljaju idealan medij za rast mikroorganizama i aktivnost različitih enzima. Zbog toga je cilj svakog proizvođača spriječiti kvarenje, odnosno rast mikroorganizama i nepovoljno djelovanje enzima, kako bi proizvod kroz što duži period očuvao svoju mikrobiološku stabilnost, odnosno kako bi ispunio najvažniji zahtjev tržišta, a to je zdravstvena ispravnost prehrambenog proizvoda. Upravo iz tih razloga industrija koristi konzervanse čija je uloga stvoriti nepovoljne uvjete kako bi se spriječio rast i razmnožavanje mikroorganizama, posebice patogenih bakterija, stvaranje toksina i kako bi se u što većoj mjeri uništili svi vegetativni i sporogeni oblici mikroorganizama (Ačkar i Rot 2019.).

Dušikov (II) oksid je spoj koji predstavlja glavnu antimikrobnu komponentu dodanog nitrita, jer ima sposobnost oštećenja mikrobne DNA, proteina i lipida (Fang 1997.). Nitriti pokazuju snažno baktericidno i bakteriostatsko djelovanje posebice prema anaerobnim bakterijama kao što je *Clostridium botulinum*, ali mogu djelovanje iskazati i na bakteriji *Listeria monocytogenes*. Svoje djelovanje općenito ne pokazuju prema gram negativnim bakterijama poput *Salmonella spp.* i *Escherichia coli* (Sebranek i Bacus 2007.b). Ipak, neki su znanstvenici u istraživanjima utvrdili veći rast i razvoj bakterija roda *Escherichia* u salami bez dodataka

nitrata i nitrita, nego u salami koja je sadržavala nitrate i nitrite kao aditive (Sebranek i Bacus 2007.b, preme Tompkin, 2005.).

Izrazito je važno antimikrobno djelovanje prema bakteriji *Clostridium botulinum*, koja uzrokuje bolest zvanu botulizam. Botulizam je sindrom koji nastaje kao posljedica aktivnosti bakterije *Clostridium botulinum* zbog proizvodnje neurotoksina botulina. Bakterija *Clostridium botulinum* se razmnožava u hrani i proizvodi toksin, koji se zajedno s hranom unosi u ljudski organizam. U organizmu toksin dopijeva do probavnog trakta i tamo se apsorbira te se ireverzibilno veže na periferni živac i inhibira otpuštanje neurotransmitora. Zbog toga dolazi do oštećenja funkcije perifernih živaca, moguća je pojava paralize. Simptomi se javljaju nakon 12 do 72 sata od unosa hrane, započinju u vidu mučnine, povraćanja, dijareje i umora, ukoliko se sindrom ne prepozna simptomi će se pojačavati. Javljaju se nesvjestica, paraliza mišića i poteškoće u disanju, moguć je i nastup smrti (Sugiyama 1980.). Europska agencija za sigurnost hrane 2010. je izvijestila da je za antimikrobno djelovanje prema bakteriji *Clostridium botulinum* u proizvodima s kraćim rokom trajanja dovoljna količina nitrita u intervalu od 50 do 100 mg/kg, odnosno za proizvode s dužim rokom trajanja od 50 do 150 mg/kg (EFSA 2010.).

#### 2.1.6. Antioksidativni učinak nitrita

Lipidi su spojevi koji upotpunjuju okus hrane, imaju utjecaj i na miris, ali uz naglasak da taj utjecaj koliko može biti poželjan u jednakoj mjeri može biti i nepoželjan. No, oni su i spojevi koji su podložni procesima oksidacije, a upravo taj proces ima značajan utjecaj na kvalitetu mesa. Oksidacija lipida može dovesti do nepoželjnog okusa i mirisa, gubitka karakteristične boje proizvoda, a moguć je i nastanak spojeva koji su štetni za ljudsko zdravlje (Gray i sur. 1981.; Morrissey i sur. 1998.).

Antioksidativni učinak nitrita prvenstveno se veže uz sposobnost uklanjanja atoma kisika, jer dušikov oksid (NO) lako oksidira u dušikov dioksid (NO<sub>2</sub>), na taj način se veže kisik, a zbog nedostatka kisika je proces oksidacije i razvoj užeglosti usporen (Govari i Pexara 2015.). Antioksidativne reakcije uključuju i reakcije iona željeza iz hema i proteina te nastanak nitrozo i nitrozil spojeva koji djeluju kao antioksidansi. Ioni željeza predstavljaju katalizatore oksidacijskih reakcija, a dušikovi oksidi imaju mogućnost vezanja iona željeza kako slobodnih tako i onih iz hema, pri čemu je njihova katalitička aktivnost oslabljena te se tako usporava proces oksidacije. Dokazano je da su dovoljne relativno niske koncentracije nitrita od 20 do 50 ppm, odnosno oko 40 ppm kako bi se ostvario antioksidativni učinak nitrita (Govari i Pexara 2015.; Sebranek i Bacus 2007.a, b). Smanjivanjem i sprječavanjem procesa oksidacije lipida, utječe se i na okus mesa i mesnih proizvoda, jer se kao posljedica pretjerane oksidacije lipida javlja ranketljiv okus (Sebranek i Bacus 2007.a, b).

## 2.2. Zakonodavstvo pri upotrebi nitrata i nitrita

Nujić i Habuda-Stanić 2017. (preme WHO, 2011.; Hord i sur., 2009.) navode da se količina nitrata sadržana u mesnim proizvodima kreće u intervalu od 2,7 mg nitrata/kg do 945 mg nitrata/kg, a nitrita u intervalu od 0,2 mg nitrita/kg do 6,4 mg nitrita/kg. Također navode i količine unesenih nitrata u danu u Europi i Sjedinjenim Američkim Državama, pri čemu se u Europi dnevno iz hrane unese između 31 mg i 185 mg nitrata, a u Sjedinjenim Američkim državama između 40 mg i 100 mg nitrata.

Honikel (2008.) navodi kako su 30.-ih godina 20. stoljeća u Njemačkoj zabilježeni slučajevi smrtnih slučajeva u ljudi zbog previsokog unosa nitrita putem mesnih proizvoda, jer se u to vrijeme nitriti u proizvode dodavali u velikim količinama, bez ikakve zakonske regulacije o najvećoj dopuštenoj količini. Upravo iz tog razloga, 1934. godine u Njemačkoj donosi se zakon o upotrebi nitrita. Pri čemu je određeno da se nitrit u mesno tijesto smije dodavati samo u kombinaciji sa kuhinjskom soli i to u količini do 0,5%, a nikako više od 0,6%, dok se nitrati mogu izravno dodati u mesno tijesto u količini do 0,5%. 50-ih godina je donesen i zakon o maksimalnoj količini rezidualnih nitrita u proizvodima od mesa, pri čemu je najveća količina rezidua nitrita u gotovim mesnim proizvodima iznosila 100 mg natrijevog nitrita/kg proizvoda. Donesene su i odluke vezane uz količine nitrata u mesnim proizvodima, pri čemu se ovisno o vrsti mesnog proizvoda u sirovinu smjelo dodati od 300 mg nitrata/kg, a količina rezidualnih nitrata se smjela kretati od 100 do 600 mg nitrata/ kg gotovog proizvoda.

Godine 1995. Direktiva Europskog parlamenta i Vijeće 95/2/EC o prehrambenim aditivima osim bojila i sladila donosi uredbu i zakonske propise o korištenju nitrata i nitrita u mesnim proizvodima. Količine dodanih nitrata i nitrita u većini mesnih proizvoda su mogle biti do 300 mg nitrata/kg i do 150 mg nitrita/kg. Količina rezidualnih nitrita je mogla biti do 50 mg nitrita/kg termički neobrađenog proizvoda, dok je u svim drugim mesnim proizvodima, osim Wiltshire slanine mogla biti u intervalu od 100 mg nitrita/kg do 175 mg nitrita/kg. Količina rezidua nitrata je u svim proizvodima od mesa mogla biti do 250 mg nitrata/kg (Honikel 2008.).

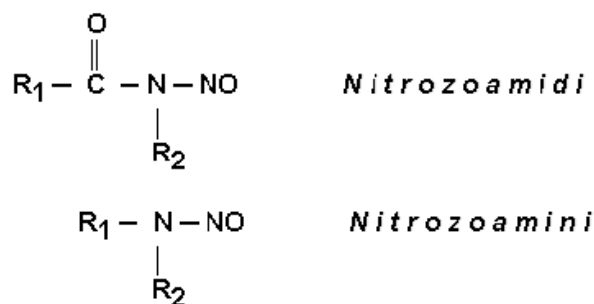
2011. godine na području Europske Unije doneseni su novi zakoni vezani uz upotrebu nitrata i nitrita u proizvodima od mesa, tako je Uredbom (EU) 1129/2011 Europskog parlamenta i Vijeća o izmjeni Priloga II. Uredbi (EZ) br. 1333/2008 Europskog parlamenta i Vijeća o popisu Unije prehrambenih aditiva propisano da je najveća količina nitrata koja se smije dodati u toplinski neobrađeno mesa 150 mg/kg, dok je za tradicionalne proizvode od mesa 250 mg/kg. Najviša dopuštena količina nitrita je sljedeća:

1. toplinski neobrađeno prerađeno meso do 150 mg nitrita/kg,
2. toplinski obrađeno prerađeno meso, osim steriliziranih mesnih proizvoda do 150 mg nitrita/kg,
3. toplinski obrađeno prerađeno meso, samo sterilizirani mesni proizvodi do 100 mg nitrita/kg
4. tradicionalni mesni proizvodi obrađeni postupkom mokrog ili suhog soljenja ovisno o vrsti proizvoda od 100 mg nitrita/kg do 175 mg nitrita/kg (EFSA 2011. i 2017.).

### 2.3. Štetni utjecaji nitrita na zdravlje ljudi

Iako imaju brojne pozitivne učinke na proizvode od mesa, nitriti mogu predstavljati opasnost po ljudsko zdravlje ukoliko dođe do formiranja N-nitrozoamina. Nitriti se smatraju nestabilnim aditivima jer dolazi do gubitaka nitrita tijekom procesiranja i skladištenja mesa i proizvoda od mesa. Tako se prilikom procesiranja oko 1% do 5% nitrita izgubi zbog stvaranja dušikovog oksida ili vezanja na lipide, 1% do 10% se oksidira do nitrata, 5% do 15% reagira s mioglobinom ili sa sulfhidridnim spojevima, a za proteine ostaje vezano 20% do 30% nitrita (Pavlinić Prokurica i sur. 2010., preme Hui, 1992.). Kada je djelomično otkriveno na koji način nitrati i nitriti djeluju na proizvode od mesa, sve više pažnje se pridavalo istraživanjima koja bi otkrila moguće nedostatke ovih konzervansa. Tako su 1956. i 1967. Magee i Barnes bili jedni od znanstvenika koji su otkrili i obavijestili javnost o N-nitrozo spojevima, te njihovom toksičnom i kancerogenom učinku. Period od sredine pa sve do kraja 20. stoljeća izazvao je velika zanimanja vezano uz te spojeve, a 70-ih godina nekoliko skupina znanstvenika je otkrilo upravo te spojeve u mesnim proizvodima koji su tretirani nitritima i zaključili su da ti spojevi mogu uzrokovati tumore. Ukoliko dođe do reakcije amina i amida, koji su prirodno prisutni u mesu, ali su i metaboliti u ljudskom organizmu s nitritima, nastaju toksični i kancerogeni N-nitrozo spojevi (Karolyi 2003.; Pierson i sur. 1983.; Pavlinić Prokurica i sur. 2010.). Nastali N-nitrozo spojevi se mogu podijeliti u 2 skupine, ovisno je li s nitritima reagirao amin ili amid (Slika 2.3.1.):

1. nitrozoamidi koji nastaju u kiselom mediju, izrazito su nestabilni i zbog toga su podložni brzom raspadanju te oštećenju mjesta u kojemu nastaju, to je uglavnom želudac i
2. nitrozoamini koji da bi bili nestabilni i reaktivni moraju biti potaknuti metaboličkom aktivacijom, u tom slučaju oštećuju DNA, uzrokujući mutacije i tumore (Karolyi 2003.).



Slika 2.3.1. Kemijska struktura nitrozoamina i nitrozoamida

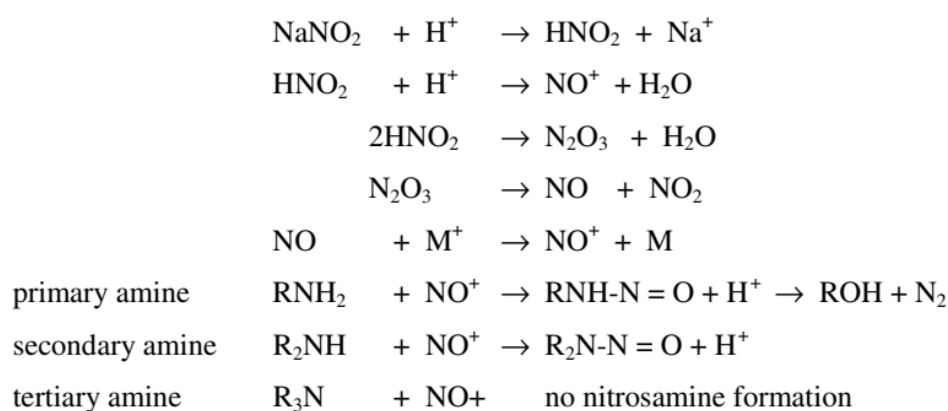
Izvor: <http://www.poslovniforum.hr/meso/slike/br5-formula.gif>

N-nitrozoamini nastaju reakcijom između sekundarnih amina i nitrozacijskog sredstva, koje može biti: dušikov oksid ili dušikov (II) oksid u oksidacijskom stanju dušika +3 ili +4 ili je to didušikov trioksid, znan pod nazivom nitratni anhidrid (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) kako je prikazano na slici 2.3.2. Na temelju fizikalnih svojstava N-nitrozoamini se mogu podijeliti u 2 skupine:

1. hlapivi N-nitrozoamini i
2. nehlapivi N-nitrozoamini.

Najčešće zabilježeni hlapivi N-nitrozoamini su N-nitrozodimetilamin (NDMA), nitrozodietilamin (NDEA), N-nitrozilpiperdin (NPIP), N-nitrozopiperidin (NPYR) i N-nitrozomorfolin (NMOR), s tim da su NDMA i NDEA u smislu genotoksičnosti i kancerogenosti najizraženiji (Pavlinić Prokulica i sur. 2010.; Flores i Toldrá 2021.).

Uvjeti koji pogoduju stvaranju N-nitrozoamina, odnosno kataliziraju reakciju nitrozacije su povišena temperatura, kiseli medij, pri čemu se pH vrijednost kreće u intervalu od 2,5 do 3, visoka količina rezidualnih nitrita i duže vrijeme skladištenja. Nasuprot tome, postoje inhibitori ove reakcije koji ju usporavaju ili sprječavaju, a to su: askorbinska kiselina, eritrobinska kiselina, vitamin E, selen te u manjoj mjeri inhibicijski mogu djelovati neki fenoli, tanin i sulfhidrilni spojevi (Flores i Toldrá 2021.; Pavlinić Prokulica 2010.).



Slika 2.3.2. Reakcije nastanka N-nitrozoamina (M/M<sup>+</sup> su prijelazni ioni metala kao što su Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>)

Izvor: prilagođeno prema Honikel (2008.)

\*Prijevod engleskih pojmova: primary amin – primarni amin, secondary amin – sekundarni amin, tertiary amine – terciarni amin, no nitrosamine formation – bez nastanka nitrozoamina.

U Sjedinjenim Američkim Državama, 1970-ih godina provodi se više istraživanja i rasprava o pojavi N-nitrozoamina u prerađenim i konzerviranim mesnim proizvodima, pri tome visoke koncentracije zabilježene su u slanini prilikom prženja (Honikel 2008., preme Fidler i sur., 1978). Prema Schuddeboomu (1993.) postoje smrtonosne doze nitrata i nitrita opasne za ljude, tako je utvrđeno da je smrtonosna doza za ljude količina nitrata od 80 mg do 800 mg/kg tjelesne mase i nitrita od 33 mg do 250 mg/kg tjelesne mase (Govari i Pexara 2015.). Navedena istraživanja i brojna druga navela su agencije za hranu i ministarstva brojnih država da odrede najviše dopuštene doze nitrata i nitrita koje se smiju dodati proizvodima od mesa. Tako je 2015. godine Svjetska zdravstvena organizacija na temelju istraživanja koje je provela Međunarodna agencija za istraživanje raka objavila vezu između tjelesnih tumora i crvenog mesa te prerađenih mesnih proizvoda. Upravo iz tih razloga istraživači i mesne industrije sve veću pažnju posvećuju „zdravijim“ mesnim proizvodima, u kojima je količina sintetičkih aditiva smanjena ili su oni potpuno uklonjeni (Yong i sur. 2021., preme Hur i sur., 2015.). Veliki dio

istraživanja navodi da prevelika konzumacija nitrita u hrani može biti povezana s kancerogenim oboljenjima, ali još uvijek se ne može sa stopostotnom sigurnošću potvrditi da nitriti imaju izravan utjecaj na pojavu kancerogenih oboljenja (García i sur. 2011.).

## 2.4. Alternativna zamjena sintetičkim nitratima i nitritima u hrani

Proizvodi načinjeni od mesa u velikoj mjeri sadržavaju brojne aditive, a neki od tih aditiva mogu imati štetne posljedice na zdravlje ljudi. Zbog toga meso-prerađivačka industrija traži načine kako smanjiti ili potpuno ukloniti aditive iz hrane i pokušava na tržište plasirati takozvane „*clean label*“ proizvode, odnosno proizvode s vrlo malo ili uopće bez aditiva. Jedan od najčešće korištenih sintetičkih aditiva u mesnoj industriji su nitratne i nitritne soli, a alternativa sintetičkom nitritu su pretvoreni nitriti iz prirodnih izvora nitrata kao što su voće i povrće, pri čemu su za redukciju nitrata u nitrit potrebni mikroorganizmi. Prema istraživanjima prirodno dodani nitrat, posljedično pretvoren u nitrit je bolje prihvaćen od strane potrošača, a utvrđena je i manja količina rezidualnih nitrata i nitrita u tim proizvodima (Yong i sur. 2021.). Prema Sebraneku i Bacusu (2007.), potrošači su spremni izdvojiti 10% do 40% više novaca za organsku i što prirodniju hranu. Zbog mogućnosti da uzrokuju karcinome pretvorbom u N-nitrozoamine, alternativne zamjene sintetskim nitritima u hrani mogu biti: djelomična ili potpuna zamjena nitrita prirodnim izvorima nitrata ili zamjena nekim drugim sredstvima, a moguće je i korištenje sredstava koji imaju sposobnost blokirati tvorbu nitrozoamina u proizvodima kojima su dodani sintetički nitriti (García i sur. 2011).

Prema Gassari i sur. (2016.) potpune ili djelomične alternativne zamjene nitritima se mogu podijeliti u sljedeće skupine:

1. kemijske alternative,
2. vitamini,
3. prirodni izvori nitrata i nitrita, kao što je voće i povrće,
4. začini te
5. sredstva koja sprječavaju stvaranje nitrozoamina.

Zamjena nitrata i nitrita drugim kemijskim spojevima je moguća, ali upotreba prirodnih proizvoda je poželjnija. Prema nekim istraživanjima antimikrobno i antioksidativno djelovanje može se ostvariti korištenjem kemijskih spojeva poput sumporovog dioksida, beta hidroksilne kiseline (BHA), etilen diamina, tetraoctene kiseline i brojnih drugih, no s vremenom je moguća pojava štetnih učinaka ovih spojeva na zdravlje ljudi. Zatim, moguće je korištenje vitamina, pri čemu je nekoliko studija pokazalo učinkovito djelovanje vitamina E, odnosno  $\alpha$ -tokoferola i to prema patogenim mikroorganizmima. U lipofilnom mediju, kao što je slanina imaju sposobnost smanjiti nastanak N-nitrozoamina, no problem korištenja vitamina kao zamjene za nitrate i nitrite je njihova visoka cijena. Povrće i voće prirodno sadrži nitrate, koji se djelovanjem mikroorganizama reduciraju do nitrita, no i ti nastali nitriti predstavljaju potencijalnu opasnost, jer se i oni transformiraju do nitrozoamina. Začini su poznati po svome antimikrobnom i antioksidativnom djelovanju. Neki od poznatijih začina koji se koriste i pokazuju dobro antimikrobno i antioksidativno djelovanje su: češnjak, origano, ružmarin, kadulja, papar, crvena

paprika, cimet, đumbir, mušklatni oraščić i brojni drugi. Askorbati, askorbinska kiselina i eritorbati predstavljaju sredstva koja sprječavaju stvaranje nitrozoamina, odnosno inhibicijska sredstva koja sprječavaju nastanak nitrozoamina i nitrozoamida. Potpuni mehanizam djelovanja ovih sredstava nije razjašnjen i pretpostavlja se da djeluju na više načina (Gassara i sur. 2016.).

Začini u hrani imaju svoju ulogu u od davnina, a od samih početaka su se upotrebljavali uglavnom kao konzervansi jer je uočeno da produžuju rok trajanja hrane. Kasnije je uočeno da ostvaruju baktericidno i fungicidno djelovanje, putem raznih spojeva koji su u njima prisutni. Sposobni su poboljšati okus i miris hrane, stoga djeluju na aromu hrane. Djeluju i antioksidativno, na način da štite hranu od oksidativnih reakcija povećavajući i na taj način rok trajanja hrane. Antioksidativno djelovanje se u najvećoj mjeri ostvaruje kroz fenolne i tiolne spojeve, koji imaju mogućnost reagirati sa slobodnim radikalima i na taj način ih učiniti bezopasnim. Također posjeduju ljekovite i farmakološke spojeve, koji imaju ulogu u obrani ljudskog organizma od kardiovaskularnih bolesti, određenih karcinoma i drugih oboljenja kao što su astma i artritis, te tako štite i unapređuju zdravlje ljudi. (Gassara i sur. 2016.).

Prema Santamaria (2005.) udio nitrata u povrću možemo razvrstati u nekoliko skupina (Tablica 2.4.1), ovisno o tome koliko količinu nitrata ono sadrži:

1. jako niski udio nitrata (manje od 200 mg nitrata/kg povrća),
2. niski udio nitrata (od 200 do 500 mg nitrata/kg povrća),
3. srednji udio nitrata (od 500 do 1000 mg nitrata/kg povrća),
4. visoki udio nitrata (od 1000 do 2500 mg nitrata/kg povrća),
5. jako visoki udio nitrata (više od 2500 mg nitrata/kg povrća).

Povrće osim što predstavlja izvor nitrata, sadrži u sebi velike količine vitamina, kao što je askorbinska kiselina i spojeva poput polifenola i karotenoida koji predstavljaju snažne antioksidanse. Svi ti sastojci povrća zajedno djeluju na više načina tako što produžuju rok trajanja, sprječavaju nastanak N-nitrozoamina i sprječavaju lipidnu oksidaciju, odnosno pojavu užeglosti proizvoda od mesa (Jeong i sur. 2020.).

Najčešće korišteno povrće kao izvor nitrata u mesnim proizvodima je zelena salata, špinat i celer, s tim da je korištenje celera nosi određene poteškoće, jer se celer smatra alergenom pa njegovo prisustvo u hrani mora biti navedeno na deklaraciji. Cikla i rotkvica bi mogle imati veliki potencijal u proizvodnji ovih proizvoda, ne samo zbog visokog sadržaja nitrata, nego i zbog brojnih drugih učinaka. Zbog visokog udjela flavonoida, antocijana i fenolnih spojeva rotkvica bi mogla ostvariti antioksidativno djelovanje, a uz to djeluje i pozitivno na ljudsko zdravlje jer se smatra da djeluje antidijabetički i antiaterosklerotski. Cikla je bogata flavanoidima i vitaminima, stoga također djeluje antioksidativno, ali ona može imati i ulogu prirodne boje. Prirodni pigmenti unutar cikla su betalaini koji su vodotopivi pigmenti, pa mogu djelovati na boju proizvoda (Ozaki i sur. 2021.a; Jeong i sur. 2020.).

Tablica 2.4.1. Podjela povrća ovisno o udjelu nitrata

| JAKO NISKI UDIO NITRATA (<200 mg/kg) | NISKI UDIO NITRATA (200-500 mg/kg) | SREDNJI UDIO NITRATA (500-1000 mg/kg) | VISOKI UDIO NITRATA (1000-2500 mg/kg) | JAKO VISOKI UDIO NITRATA (>2500 mg/kg) |
|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|
| Artičoka                             | Brokula                            | Kupus                                 | Celer korjenaš                        | Celer                                  |
| Šparoga                              | Mrkva                              | Kopar                                 | Kineski kupus                         | Prava krasuljica                       |
| Bob                                  | Karfiol                            | Radič                                 | Endivija                              | Kres salata                            |
| Prokulica                            | Krastavac                          | Kelj                                  | Salata kristal                        | Matovilac                              |
| Patlidžan                            | Bundeva                            | Repa                                  | Komorač                               | Zelena salata                          |
| Češnjak                              | Cikorija                           |                                       | Koraba                                | Rotkvica                               |
| Luk                                  |                                    |                                       | Poriluk                               | Cikla                                  |
| Zelena mahuna                        |                                    |                                       | Peršin                                | Riga (rikula)                          |
| Dinja                                |                                    |                                       |                                       | Špinat                                 |
| Gljive                               |                                    |                                       |                                       | Blitva                                 |
| Grašak                               |                                    |                                       |                                       |  |
| Papar                                |                                    |                                       |                                       |  |
| Krumpir                              |                                    |                                       |                                       |  |
| Tikvica                              |                                    |                                       |                                       |  |
| Slatki krumpir                       |                                    |                                       |                                       |  |
| Rajčica                              |                                    |                                       |                                       |  |
| Lubenica                             |                                    |                                       |                                       |  |

Izvor: prilagođeno prema Santamaria (2005.)



### 3. Materijali i metode

#### 3.1. Izrada polutrajnih kobasica

##### 3.1.1. Sirovine i dodaci

Za potrebe ovog istraživanja proizvedene su polutrajne kobasice od svinjskog mesa, masnog tkiva u vidu svinjskog mesa s područja potrbušine te drugih dodataka ovisno o tretmanu.

Polutrajne kobasice kontrolnog tretmana proizvedene su od sljedećih sirovina i dodataka:

1. svinjske lopatice (58,4%),
2. svinjske potrbušine (24,3%),
3. vode (14,6%),
4. kuhinjske soli (1,9%), u koju je dodano 0,01% NaNO<sub>2</sub> (100 mg/kg),
5. mljevenog papra (0,3%),
6. češnjaka u granulama (0,2%),
7. dekstroze (0,15%),
8. arome dima (0,1%) i
9. askorbinske kiseline (0,05%).

Polutrajne kobasice pokusnih tretmana proizvedene su od sljedećih sirovina i dodataka:

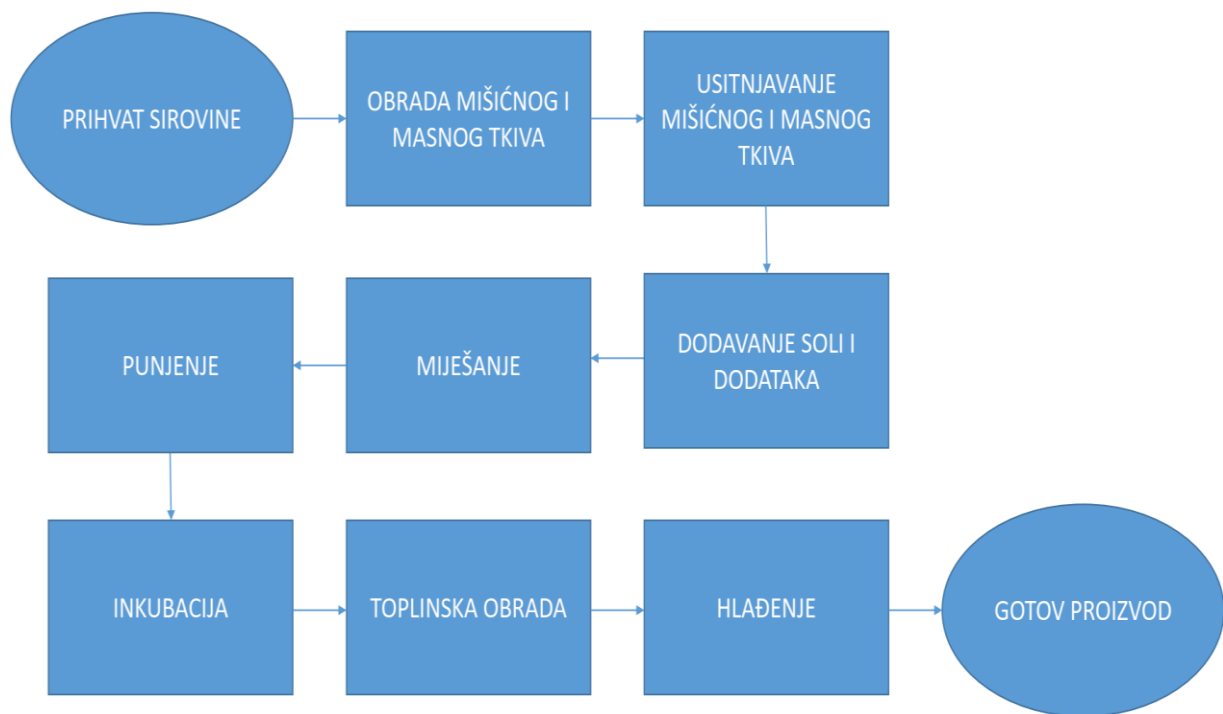
1. svinjske lopatice (54,4%),
2. svinjske potrbušine (20,4%),
3. vode (19,5%),
4. praha cikle (2%), sadržaj nitrata 3,513 mg/kg
5. kuhinjske soli (1,9%),
6. praha poriluka (1,0%); sadržaj nitrata 2,725 mg/kg
7. mljevenog papra (0,3%),
8. češnjaka u granulama (0,2%)
9. dekstroze (0,15%),
10. arome dima (0,1%) i
11. askorbinske kiseline (0,05%).

U kobasice pokusnog tretmana je dodana i starter kultura komercijalnog naziva BITEC S 10 proizvođača Frutarom Savory Solutions (Salzburg, Austrija) donirana od strane poduzeća TTR Kolovrat d.o.o. iz Zagreba koja sadrži  $8 \times 10^9$  bakterija *Staphylococcus carnosus* po gramu, a doziranje je iznosilo 0,5 g/kg nadjeva. Starter kulture su 12 sati prije dodavanja u nadjev razrijeđene u hladnoj vodi i čuvane na temperaturi 20 °C do upotrebe.

### 3.1.2. Tehnološki postupak proizvodnje

Proizvodnja polutrajnih kobasica provedena je prema dijagramu na slici 3.1.2.1., a započela je prihvatom sirovine. Nakon kontrole sirovina uslijedila je obrada mesa i masnog tkiva, uklanjali su se dijelovi koji se nisu koristili u proizvodnji, poput tetiva, krvnih žila, kože i sličnih dijelova, a zatim se meso i masno tkivo rezalo na manje komade (Slika 3.1.2.2.), kako bi bilo olakšano usitnjavanje. U vuku je meso i masno tkivo samljeveno na veličinu 8 mm (Slika 3.1.2.4.A) na električnom stroju Tre Spade (Facem, Italija, model TC-22 Elagant), a potom je tako usitnjena sirovina izvagana prema recepturi tretmana i prebačena u posudu gdje se provelo ručno miješanje i sjedinjavanje osnovne sirovine sa soli, vodom i dodacima (Slika 3.1.2.4.B).

Istraživanje je provedeno s 5 različitih tretmana, s tim da je jedan tretman bio kontrolni, a preostali 4 su bili pokusni tretmani koji su se razlikovali prema trajanju i temperaturi inkubacije. Ovisno o tretmanu, razlikovali su se korišteni dodatci. Tako je za kontrolni tretman (Slika 3.1.2.3. A) kao izvor nitrata korištena nitritna sol u obliku natrijevog nitrita, a za pokusne tretmane (Slika 3.1.2.3. B) su korišteni prahovi cikle i poriluka koji su dodani u količini kojom doprinose dodatku 100 mg/kg nitrata, uz upotrebu starter kulture BITEC S 10 koja je omogućila pretvorbu prirodno prisutnog nitrata iz biljnih prahova u nitrite. Nakon pripreme nadjeva (Slika 3.1.2.5.A), slijedilo je punjenje (Slika 3.1.2.5.B) uz pomoć ručne punilice Tre Spade (Facem, Italija, model MOD.7) u poliamidne ili faser ovitke, ovisno o tretmanu. Napunjene kobasice pokusnih tretmana podvrgnute su postupku inkubacije (Slika 3.1.2.6.) u konvektomatu UNOX (Italija, model Cheftop Mind.Maps ONE XEVC-0511), pri čemu su provedena 4 različita tretmana prema trajanju i temperaturi inkubacije prema tablici 3.1.2.1. Kobasice kontrolnog tretmana nisu podvrgnute postupku inkubacije, jer su u njih dodane direktno nitritne soli. Kontrolne kobasice te pokusne kobasice nakon provedene inkubacije su podvrgnute postupku toplinske obrade u konvektomatu. Toplinska obrada je trajala sve do postizanja temperature u središtu proizvoda od 72 °C te zadržavanje tijekom 15 minuta na toj temperaturi. Po završetku toplinske obrade, kobasice su hladene postupkom potapanja u posudama napunjenim vodom i ledom (Slika 3.1.2.7.A) do temperature 15 °C u središtu proizvoda nakon čega su skladištene u rashladnim uređajima na temperaturi 2 °C.



Slika 3.1.2.1. Dijagram tehnološke sheme proizvodnje polutrajnih kobasica



Slika 3.1.2.2. Sirovina za proizvodnju polutrajnih kobasica

Tablica 3.1.2.1. Razlike između tretmana istraživanja

| TRETMAN                        | IZVOR<br>NITRATA/NITRITA                | TEMPERATURA<br>INKUBACIJE<br>(°C) | VRIJEME<br>INKUBACIJE<br>(sati) | OVITAK                    |
|--------------------------------|---|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| KONTROLNI<br>TRETMAN<br>A      | Natrijev nitrit<br>(NaNO <sub>2</sub> ) | Bez inkubacije                    | Bez inkubacije                  | Poliamidni<br>ovitak      |
| POKUSNI<br>TRETMAN<br>C-30-1,5 | Cikla i poriluk<br>BITEC S 10           | 30                                | 1,5                             | Poliamidni<br>ovitak      |
| POKUSNI<br>TRETMAN<br>C-30-3   | Cikla i poriluk<br>BITEC S 10           | 30                                | 3                               | Poliamidni<br>ovitak      |
| POKUSNI<br>TRETMAN<br>C-40-1,5 | Cikla i poriluk<br>BITEC S 10           | 40                                | 1,5                             | Celulozni<br>Faser ovitak |
| POKUSNI<br>TRETMAN<br>C-40-3   | Cikla i poriluk<br>BITEC S 10           | 40                                | 3                               | Celulozni<br>Faser ovitak |



A

B

Slika 3.1.2.3. Dodaci i starter kulture za proizvodnju polutrajnih kobasica kontrolnog (A) i pokusnih tretmana (B)



A



B

Slika 3.1.2.4. Usitnjavanje sirovine (A) i miješanje nadjeva (B)

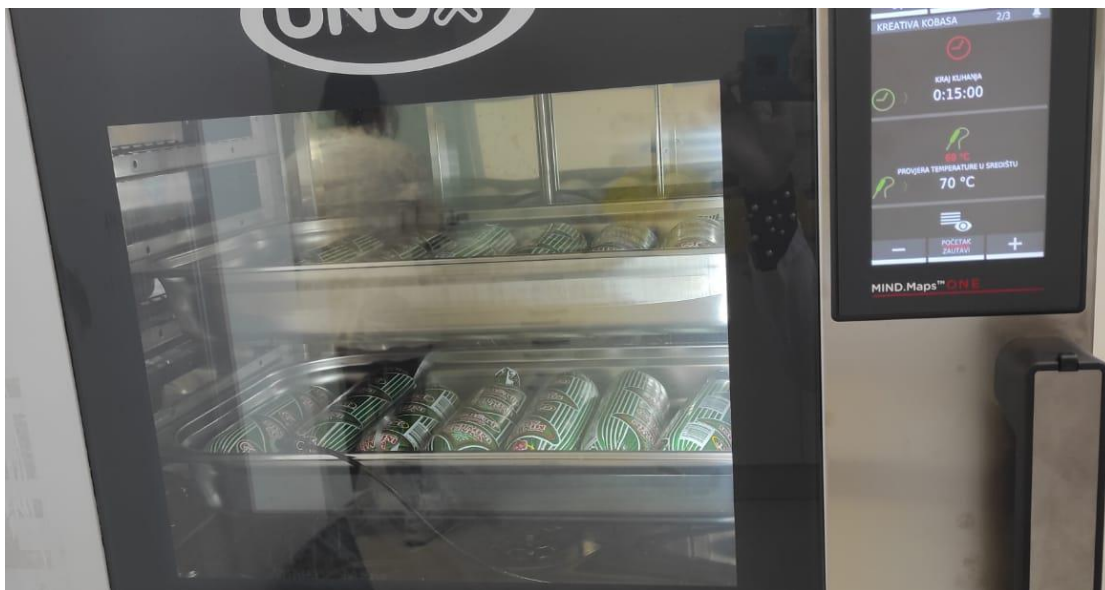


A



B

Slika 3.1.2.5. Nadjev za pokusne kobasice (A) i ručno punjenje kobasica (B)



Slika 3.1.2.6. Inkubacija i toplinska obrada u konvektomatu



A



B

Slika 3.1.2.7. Hlađenje polutrajnih kobasica (A) i gotovo proizvodi (B)

## **3.2. Uzimanje uzoraka za istraživanje**

Uzimanje uzoraka za analize provodilo se tijekom proizvodnje ovisno o kojoj se analizi radilo. Mjerenje stupnja oksidacije i senzorska analiza provedeni su 1. dana, a mjerenje pH vrijednosti i aktiviteta vode provedeno je 1. i 30. dana čuvanja na hladnom. Mjerenje instrumentalne boje i sadržaja rezidualnih nitrata i nitrita provodilo se 1., 15. i 30. dana čuvanja. Ovisno o metodi istraživanja uzimali su se uzorci mase od 50 do 200 g te vakumirani čuvani smrznuti na temperaturi  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  do analize. Uzorci namijenjeni za mjerenje pH vrijednosti i aktiviteta vode, rezani su na kockice veličine  $0,5 \times 0,5 \times 0,5\text{ cm}$  te su se analizirali istog dana prema uputama proizvođača opreme.

## **3.3. Metode korištene u istraživanju**

### **3.3.1. Laboratorijske metode**

Nakon izrade polutrajnih kobasica provedene su fizikalno-kemijske i senzorne analize gotovog proizvoda. Izvršena su mjerenja pH vrijednosti, aktiviteta vode, instrumentalne boje, stupnja oksidacije (TBARS vrijednost, od engl. Thiobarbituric acid reactive substances) te udjela rezidualnih nitrata i nitrita. Od senzornih analiza provedeno je senzorsko ocjenjivanje polutrajnih kobasica nakon toplinske obrade i hlađenja.

#### **3.3.1.1. Mjerenje pH vrijednosti**

Mjerenje pH vrijednosti je provedeno 1. i 30. dan čuvanja na hladnom. Mjerenje je provedeno na 2 uzorka po tretmanu, pomoću prijenosnog pH-metra HI98191 (Hanna Instruments, SAD) opremljenog s ubodnom elektrodom BlueLine 21pH (Schott AG, Njemačka). Uzorci polutrajne kobasice su narezani na kockice, nakon čega je uzorku dodana destilirana voda u odnosu (1:1) i izvršena je homogenizacija. Tako homogenizirani uzorak je ostavljen 30 minuta na sobnoj temperaturi te je provedeno mjerenje pH vrijednosti prema uputama proizvođača.

#### **3.3.1.2. Mjerenje aktiviteta vode**

Mjerenje aktiviteta vode je provedeno 1. i 30. dan čuvanja na hladnom na 2 uzorka po tretmanu. Mjerenje je provedeno pomoću prijenosnog analizatora HygroPalm HP23-AW-A opremljen s HC2-AW sondom (Rotronic AG, Švicarska). Uzorci su narezani na kockice te su

ostavljeni na sobnoj temperaturi u trajanju od 120 minuta radi spontanog zagrijavanja, nakon čega je izvršeno mjerenje koje je prosječno trajalo između 15 i 20 minuta.

### 3.3.1.3. Mjerenje instrumentalne boje

Mjerenje boje je provedeno pomoću uređaja Minolta Chroma metar CR-410 (Konica Minolta, Japan) s CIE L\*a\*b\* spektrom boja s D65 standardnim osvjetljenjem i otvorom 50 mm, pri čemu CIE L\*a\*b\* sustav predstavlja sljedeće vrijednosti: L\* lightness (svijetlostamno), a\* redness (mjerenje valnih dužina crveno-zelenog područja) i b\* yellowness (mjerenje valnih dužina žuto-plavog područja). Mjerenje boje je provedeno 1., 15. i 30. dan čuvanja polutrajnih kobasica, a po tretmanu je provedeno mjerenje na 3 uzorka. Mjerenje je provedeno na poprečnom presjeku polutrajne kobasice, odmah nakon rezanja kobasice.



Slika 3.3.1.3.1. Uređaj korišten za mjerenje instrumentalne boje

### 3.3.1.4. Mjerenje stupnja oksidacije

Analiza oksidativne stabilnosti izvršena je mjerenjem TBARS vrijednosti 1. dana čuvanja u dva replikata po tretmanu. Uzorci kobasica za analizu samljeveni su u mikseru do pastozne forme nakon čega je 2 g preneseno u polipropilenske epruvete od 50 ml. Potom je dodano 10 ml 5 %-tne trikloroetene kiseline (TCA) i 5 ml heksana sa 0,8 %-tnim butiliranim hidriksitoluenom (BHT). Ovako pripremljen uzorak je usitnjen (Ika T10 basic, UltraTurrax, Njemačka) tijekom 30 sek, a nakon toga dodatno homegeniziran vorteksiranjem (Ika Vortex 3, Njemačka) tijekom 10 sek te centrifugiran 5 minuta kod 4000 okretaja (Centric 322A, Tehtnica, Slovenija). Nakon centrifugiranja je izdvojen gornji sloj s heksanom, a donji tekući sloj je



profiltriran preko kvantitativnog filter papira (Munktell grade 391, Njemačka). Zatim je otpipetirano 2 ml alikvota te je dodano 1,5 ml 0,6 %-tne 2-tiobarbiturne kiseline (TBA) u PP epruvetice. Epruvetice su potom začepljene i stavljene u vodenu kupelj na temperaturu od 90 °C kroz 30 minuta. Nakon vađenja iz vodene kupelji epruvetice su ohlađene u hladnoj vodi kroz 20 min i izmjerena je apsorbancija na spektrofotometru na 532 nm (Helios y, Thermo Electron Corporation, Ujedinjeno Kraljevstvo) nasuprot slijepom uzorku koji je sadržavao 2 ml TCA i 1,5 ml 0,6 %-tne TBA. Rezultati TBARS vrijednosti izraženi su u mg/kg malonodialdehida (MDA), a preračunati su iz standardne krivulje koristeći 1,1,3,3-tetrametoksipropan (TMP).

#### 3.3.1.5. Mjerenje sadržaja rezidualnih nitrata i nitrita

Određivanje rezidualnih nitrita provedeno je po standardnoj metodi HRN EN 12014-3:2007. Odvagano je 5 g uzorka, dodano 50 mL vruće vode i ostavljeno 15 min na tresilici. Podešena je pH vrijednost na 8,0 – 8,5 sa 1M natrijevim hidroksidom. Sadržaj tikvice je zagrijavan u vodenoj kupelji na 100 °C tijekom 15 min uz protresanje. Potom, sadržaj je ohlađen na sobnu temperaturu i kvantitativno prebačen u odmjernu tikvicu od 100 mL. Dodano je po 2 mL otopina Carrez br. 1 i Carrez br. 2 uz miješanje nakon svakog dodavanja. Sadržaj tikvice je dopunjen vodom do oznake, izmućkan i filtriran preko nabranog filter papira (crna vrpca). Bistri filtrat korišten je za određivanje nitrita. Princip metode temelji se na tome da se nitriti u vodenom ekstraktu analiziranog uzorka tretiraju sa sulfanilamidom i N-(1-naftil)-etilendiaminom dihidrokloridom. Nakon izrade baždarne krivulje i provedbe svih analitičkih koraka opisanih u normi, apsorbancija crveno obojanog spoja izmjerena je spektrofotometrijski na 540 nm (DR/4000U, Hach, Njemačka), a sadržaj izražen kao mg/kg.

Određivanje rezidualnih nitrata provedeno je pomoću validirane metode uz korištenje enzimatskog kita (Nitrate, Enzymatic BioAnalysis, UV-Test, R-Biopharm-Roche). U 5 g uzorka dodano je 50 mL kipuće vode te kuhano 15 min u vodenoj kupelji. Sadržaj tikvice je ohlađen te je dodano po 3 mL otopina Carrez 1 i Carrez 2, uz podešavanje pH vrijednosti na 8,0 sa 1 M natrijevim hidroksidom. Sadržaj je kvantitativno prebačen u odmjernu tikvicu od 100 mL, dopunjen redestiliranom vodom do oznake te ostavljen u hladnjaku zbog odjeljivanja masti tijekom 20 min. Nakon filtracije bistri filtrat se koristio za određivanje nitrata. Priprema slijepe probe i otopine uzoraka te razvijanje boje provedeno je potpuno u skladu s uputama proizvođača kita. Apsorbancije su očitane pri valnoj duljini od 340 nm (DR/4000U, Hach, Njemačka), a sadržaj izražen kao mg/kg.

#### 3.3.2. Senzorska analiza

Senzorna analiza provedena je primjenom modificirane deskriptivne kvantitativne analize pomoću Compusense20 softvera (Compusense, Ontario, Kanada) i tableta Samsung Galaxy Tab A uz sudjelovanje 8 educiranih ocjenjivača. Pri provedbi testa svaki ocjenjivač je dobio 10 uzoraka, po dva iz svakog tretmana koji su prezentirani slučajnim redoslijedom. Panelisti su

morali iskazati intenzitet/izražajnost objektivnih i subjektivnih svojstava uzorka na skali od 0 do 100 (0 je označavalo potpuno odsustvo intenziteta/izražajnosti svojstva, dok je 100 označavalo najveći intenzitet/izražajnost svojstva). Učinkovitost rada ocjenjivača izračunata je prema ponovljivosti, podudarnosti i razlikovanju uzoraka. Ocjenjivači su bili zamoljeni da nakon kušanja svakog uzorka konzumiraju kruh i vodu, kako bi neutralizirali usta.

### 3.3.3. Statističke metode

Statistička obrada podataka provedena je pomoću programa SAS Studio (SAS Institute Inc., SAD; verzija 3.8) primjenom procedura PROC MEANS za izračun opisne statistike i PROC GLM s Tukey post-hoc testom za usporedbu pH, aktiviteta vode, boje, sadržaja rezidualnih nitrata i nitrita te TBARS vrijednosti između tretmana pri razini značajnosti  $p=0,05$ . U analizi podataka senzorske analize primijenjena je procedura PROC MIXED s Tukey post-hoc testom za usporedbu senzorskih svojstava kobasica s tretmanom kao sistemskim i ocjenjivačem kao slučajnim utjecajem pri razini značajnosti  $p=0,05$ .

## 4. Rezultati i rasprava

### 4.1. pH vrijednost

U tablici 4.1.1. prikazane su pH vrijednosti polutrajnih kobasica po tretmanima te danima uzorkovanja, odnosno vrijednosti izmjerene 1. i 30. dana čuvanja na hladnom. Predmetnim istraživanjem je utvrđena pH vrijednost polutrajnih kobasica nakon toplinske obrade i hlađenja u rasponu od 6,34 do 6,37, to je u skladu s pH vrijednostima raspona od 6,08 do 6,31 dobivenih u istraživanju Riel i sur. (2017.) i rasponom od 5,68 do 6,34 dobivenih u istraživanju Hwang i sur. (2017). Za razliku od tog, Ozaki i sur. (2021.a) navode da je pH vrijednost u rasponu od 4,58 do 4,82, ali rezultati njihovih istraživanja navode da su kobasice pokusnog tretmana s ciklom pokazivale niže pH vrijednosti tijekom skladištenja u odnosu na kobasice kontrolnog tretmana i pokusnog tretmana s rotkvicom.

Tablica 4.1.1. pH vrijednosti po tretmanima i danima uzorkovanja

| Svojstvo | Tretman  | Dan uzorkovanja          |                             |
|----------|----------|--------------------------|-----------------------------|
|          |          | 1.                       | 30.                         |
| pH       | A        | 6,36 ± 0,02              | 6,34 <sup>a</sup> ± 0,07    |
|          | C-30-1,5 | 6,37 ± 0,03              | 6,34 <sup>a</sup> ± 0,03    |
|          | C-30-3   | 6,35 ± 0,02              | 6,35 <sup>a</sup> ± 0,02    |
|          | C-40-1,5 | 6,34 <sup>A</sup> ± 0,04 | 6,10 <sup>b; B</sup> ± 0,02 |
|          | C-40-3   | 6,36 <sup>A</sup> ± 0,01 | 6,15 <sup>b; B</sup> ± 0,04 |

<sup>a, b</sup>: vrijednosti unutar stupca označene različitim slovima značajno se razlikuju po tretmanima pri istom danu uzorkovanja

<sup>A, B</sup>: vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju pri različitim danima uzorkovanja kod istog tretmana

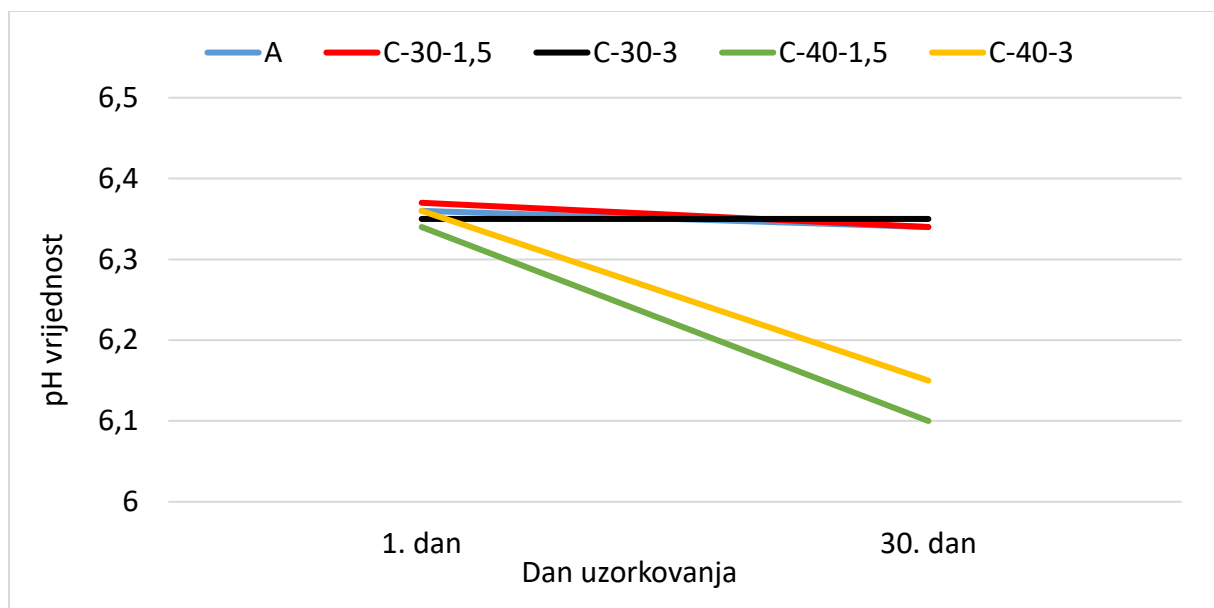
A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

Istraživanjem je utvrđeno da se pH vrijednosti kobasica nakon toplinske obrade i hlađenja pri 1. danu čuvanja nisu razlikovale s obzirom na temperaturu i trajanje inkubacije. Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjima Terns i sur. (2011.) koji su proveli istraživanje na neizravno sušenim i toplinski obrađenim kobasicama, pri čemu su utvrđivali utječe li vrijeme inkubacije i količina početno dodanih starter kultura na kvalitetu gotovog proizvoda, a jedan od parametara kojeg su određivali bila je pH vrijednost. Istraživanjem

je utvrđeno da vrijeme inkubacije nije imalo značajan utjecaj na pH vrijednost kobasica. Za razliku od toga Sindelar i sur. (2007.) navode da je produženo vrijeme inkubacije imalo utjecaj na pH vrijednosti kuhanih kobasica, odnosno kobasice koje su vremenski duže inkubirane pokazivale su niže pH vrijednosti u odnosu na kobasice koje prije termičke obrade nisu inkubirane.

Nadalje, utvrđena je značajna razlika u pH vrijednosti između tretmana pri 30. danu uzorkovanja, pri čemu su tretmani A, C-30-1,5 i C-30-3 imali značajno veću pH vrijednost u odnosu na tretmane C-40-1,5 i C-40-3. Slično tome, utvrđene su značajno veće pH vrijednosti kod tretmana C-40-1,5 i C-40-3 pri 1. danu uzorkovanja u odnosu na pH vrijednosti pri 30. danu uzorkovanja, odnosno utvrđen je statistički značajan naknadni pad pH vrijednosti. Kobasice tretmana C-40-1,5 i C-40-3 bile su punjene u polupropusne celulozne ovitke za razliku od tretmana A, C-30-1,5 i C-30-3 koji su bili punjeni u poliamidne ovitke, a navedeno bi moglo biti razlog promjeni pH vrijednosti zbog mogućeg razvoja fakultativnih anaerobnih mliječno-kiselih bakterija u vanjskim slojevima kobasica (Feiner 2006.). Za razliku od tog, značajna razlika u pH vrijednosti između 1. i 30. dana čuvanja kobasica tretmana A, C-30-1,5 i C-30-3 nije utvrđena.

Na grafu 4.1.1. je vidljiv pad pH vrijednosti kod tretmana C-40-1,5 i C-40-3 kod 30. dana u odnosu na prvi dan, dok su kontrolni tretman i tretmani C-30-1,5 i C-30-3 imali gotovo konstantne pH vrijednosti 1. i 30. dana čuvanja na hladnom.



Graf 4.1.1. Grafički prikaz promjene pH vrijednosti različitih tretmana tijekom 1. i 30. dana čuvanja na hladnom

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

## 4.2. Aktivitet vode

U tablici 4.2.1. su prikazane vrijednosti aktiviteta vode izmjerene 1. i 30. dan uzorkovanja kobasica za 5 različitih tretmana. Istraživanjem je utvrđeno da se vrijednost aktiviteta vode nije značajno razlikovala između pokusnih i kontrolnih tretmana pri istom danu uzorkovanja što je u skladu s istraživanjem Riel i sur. (2017.) koji su također utvrdili da nije postojala značajna razlika između kontrolnih i pokusnih tretmana pri istom danu uzorkovanja pri dodavanju praha peršina. Međutim, utvrđene su značajno veće vrijednosti aktiviteta vode kod tretmana A, C-30-1,5 i C-40-3 pri 1. danu uzorkovanja u odnosu na vrijednosti aktiviteta vode pri 30. danu uzorkovanja.

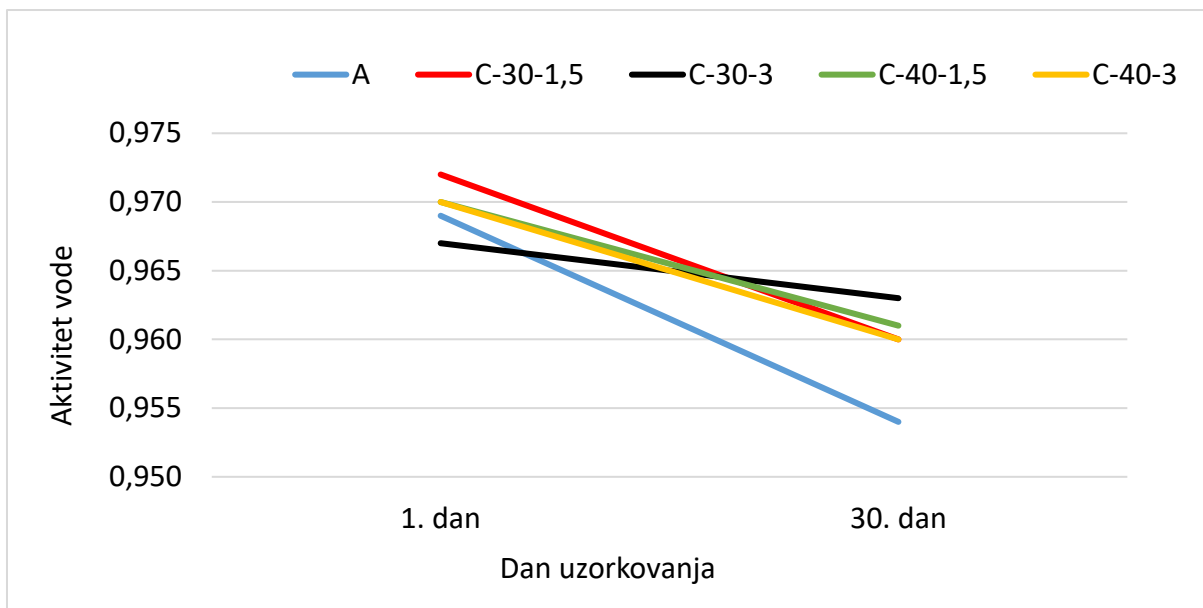
Tablica 4.2.1. Vrijednosti aktiviteta vode po tretmanima i danima uzorkovanja

| Svojstvo       | Tretman  | Dan uzorkovanja            |                            |
|----------------|----------|----------------------------|----------------------------|
|                |          | 1.                         | 30.                        |
| Aktivitet vode | A        | 0,969 <sup>A</sup> ± 0,005 | 0,954 <sup>B</sup> ± 0,002 |
|                | C-30-1,5 | 0,972 <sup>A</sup> ± 0,002 | 0,960 <sup>B</sup> ± 0,002 |
|                | C-30-3   | 0,967 ± 0,003              | 0,963 ± 0,002              |
|                | C-40-1,5 | 0,970 ± 0,004              | 0,961 ± 0,003              |
|                | C-40-3   | 0,970 <sup>A</sup> ± 0,003 | 0,960 <sup>B</sup> ± 0,004 |

<sup>A, B</sup>: vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju pri različitim danima uzorkovanja kod istog tretmana

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

Na grafu 4.2.1. jasno je vidljivo smanjenje aktiviteta vode kod kobasica svih tretmana nakon 30. dana čuvanja na hladnom, pri čemu su 30. dan najnižu vrijednost aktiviteta vode imale kobasice kontrolnog tretmana. Više vrijednosti aktiviteta vode izmjerene 30. dan kod pokusnih kobasica mogu biti posljedica toga što povrće, u ovom slučaju cikla i poriluk sadrže prehrambena vlakna, koja imaju sposobnost vezanja većih količina vode (Bošnjak 2019.) i kasnije otežavaju izdvajanje vode tijekom čuvanja na hladnom. Drugi razlog je dodavanje 4,9% vode više u nadjev kobasica pokusnih tretmana zbog tehnoloških potreba umješavanja 3% praha cikla i poriluka.



Graf 4.2.1. Grafički prikaz promjene vrijednosti aktiviteta vode različitih tretmana tijekom 1. i 30. dana čuvanja na hladnom

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

### 4.3. Instrumentalna boja

Instrumentalna boja se određivala na temelju mjerenja vrijednosti parametara boje: L\* vrijednost (svjetlina) koja označava svijetlu boju proizvoda (vrijednosti bliže 100) ili tamnu boju proizvoda (vrijednosti bliže 0), a\* vrijednost koja označava raspon boje od crvene (pozitivne vrijednosti bliže 60) prema zelenoj (negativne vrijednosti bliže -60) te b\* vrijednost koja označava raspon boje od žute (pozitivne vrijednosti bliže 60) prema plavoj (negativne vrijednosti bliže -60). Stabilna crvena boja konzerviranog mesa i mesnih proizvoda posljedica je dodatka nitrita (Andrée i sur. 2010.) koji sudjeluju u nizu reakcija sve do nastanka crvenog pigmenta nitrozilmioglobina.

Rezultati prikazani u tablici 4.3.1. opisuju L\* vrijednosti kontrolnog i pokusnih tretmana tijekom 1., 15. i 30. dana čuvanja kobasica na hladnom. Istraživanjem je utvrđena značajna razlika L\* vrijednosti između tretmana pri 1., 15. i 30. danu uzorkovanja, pri čemu je tretman A sve dane uzorkovanja imao znatno veće L\* vrijednosti u odnosu na pokusne tretmane, odnosno površina kobasica kontrolnog tretmana A bila je značajno svjetlija nego kod ostalih tretmana. Dodatno su 1. dana uzorkovanja utvrđene veće L\* vrijednosti kod tretmana C-30-1,5 u odnosu na L\* vrijednosti tretmana C-40-1,5 i C-40-3. Jedino je razlika između L\* vrijednosti

kod tretmana C-30-1,5 uočena pri različitim danima uzorkovanja, pri čemu je zabilježena veća L\* vrijednost kod 1. dana uzorkovanja u odnosu na 30. dan uzorkovanja kod istog tretmana.

Tablica 4.3.1. L\* vrijednosti po tretmanima i danima uzorkovanja

| Svojstvo | Tretman  | Dan uzorkovanja                          |                           |  |
|----------|----------|--|---------------------------|--|
|          |          | 1.                                       | 15.                       | 30.                                      |
| L*       | A        | 61,78 <sup>a</sup> ± 0,10                | 62,50 <sup>a</sup> ± 0,78 | 62,94 <sup>a</sup> ± 0,33                |
|          | C-30-1,5 | 47,65 <sup>b</sup> ; <sup>A</sup> ± 0,64 | 46,37 <sup>b</sup> ± 0,25 | 45,25 <sup>b</sup> ; <sup>B</sup> ± 0,32 |
|          | C-30-3   | 45,81 <sup>bc</sup> ± 0,47               | 45,57 <sup>b</sup> ± 0,31 | 45,40 <sup>b</sup> ± 0,49                |
|          | C-40-1,5 | 45,48 <sup>c</sup> ± 0,55                | 46,31 <sup>b</sup> ± 0,85 | 44,77 <sup>b</sup> ± 0,27                |
|          | C-40-3   | 43,92 <sup>c</sup> ± 0,74                | 44,35 <sup>b</sup> ± 0,38 | 43,98 <sup>b</sup> ± 0,28                |

<sup>a, b</sup>: vrijednosti unutar stupca označene različitim slovima značajno se razlikuju po tretmanima pri istom danu uzorkovanja

<sup>A, B</sup>: vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju pri različitim danima uzorkovanja kod istog tretmana

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

U tablici 4.3.2. prikazani su rezultati dobiveni mjerenjem a\* vrijednosti boje, pri čemu je vidljivo da su se a\* vrijednosti značajno razlikovale po tretmanima pri istom danu uzorkovanja. Tretman A je kod svih uzorkovanja pokazao najmanje a\* vrijednosti u odnosu na pokusne tretmane, odnosno utvrđeno je povećanje crvene nijanse boje na površini pokusnih kobasica što se može pripisati dodatku cikle. Unutar pokusnih tretmana, kobasice tretmana C-40-1,5 imale su najveće a\* vrijednosti u odnosu na druge pokusne tretmane. Nadalje, tijekom čuvanja utvrđene su značajno veće a\* vrijednosti kod tretmana C-30-3 pri 15. i 30. danu uzorkovanja u odnosu na 1. danu uzorkovanja, dok su a\* vrijednosti bile značajno veće kod tretmana C-40-1,5 pri 30. danu uzorkovanja u odnosu na 1. dan uzorkovanja.

Tablica 4.3.2. a\* vrijednosti po tretmanima i danima uzorkovanja

| Svojestvo | Tretman  | Dan uzorkovanja               |                               |                              |
|-----------|----------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|           |          | 1.                            | 15.                           | 30.                          |
| a*        | A        | 15,44 <sup>d</sup> ± 0,06     | 15,87 <sup>d</sup> ± 0,53     | 15,49 <sup>c</sup> ± 0,14    |
|           | C-30-1,5 | 22,24 <sup>c</sup> ± 0,51     | 23,25 <sup>c</sup> ± 0,15     | 23,25 <sup>b</sup> ± 0,33    |
|           | C-30-3   | 22,71 <sup>bc; B</sup> ± 0,47 | 24,87 <sup>ab; A</sup> ± 0,29 | 25,38 <sup>a, A</sup> ± 0,28 |
|           | C-40-1,5 | 24,84 <sup>a; B</sup> ± 0,27  | 26,08 <sup>a; AB</sup> ± 0,20 | 26,21 <sup>a; A</sup> ± 0,19 |
|           | C-40-3   | 23,74 <sup>ab</sup> ± 0,06    | 23,67 <sup>bc</sup> ± 0,58    | 23,31 <sup>b</sup> ± 0,13    |

<sup>a, b</sup>: vrijednosti unutar stupca označene različitim slovima značajno se razlikuju po tretmanima pri istom danu uzorkovanja

<sup>A, B</sup>: vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju pri različitim danima uzorkovanja kod istog tretmana

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

Iz rezultata prikazanih u tablici 4.3.3. je vidljivo da se b\* vrijednosti značajno razlikuju po tretmanima pri istom danu uzorkovanja, pri čemu je tretman A imao značajno najmanje b\* vrijednosti 1., 15. i 30. dana uzorkovanja u odnosu na pokusne tretmane istog dana uzorkovanja. Utvrđene su i razlike u b\* vrijednosti unutar pokusnih skupina i one su bile naglašenije nego kod L\* i a\* pokazatelja boje. Tako je 1. dana uzorkovanja tretman C-30-1,5 ima značajno veće vrijednosti u odnosu na ostale tretmane, dok su tretmani C-30-3 i C-40-1,5 pri 1. danu uzorkovanja imali veće vrijednosti od pokusnog tretmana C-40-3. Slična pojava je uočena kod 15. i 30. dana uzorkovanja, pri čemu su tretmani C-30-1,5 i C-30-3 imali značajno veće vrijednosti od ostalih tretmana. Prema tome možemo uočiti da su pokusni tretmani provedeni pri temperaturi inkubacije 30 °C bili značajno veće vrijednosti žutih nijansa boje u odnosu na ostale tretmane.

Prema podacima u Tablici 4.3.3. vidljivo je da je kod svih pokusnih tretmana tijekom čuvanja došlo do značajnog smanjivanja b\* vrijednosti, dok takva pravilnost nije utvrđena kod kobasica kontrolnog tretmana A.



Tablica 4.3.3. b\* vrijednosti po tretmanima i danima uzorkovanja

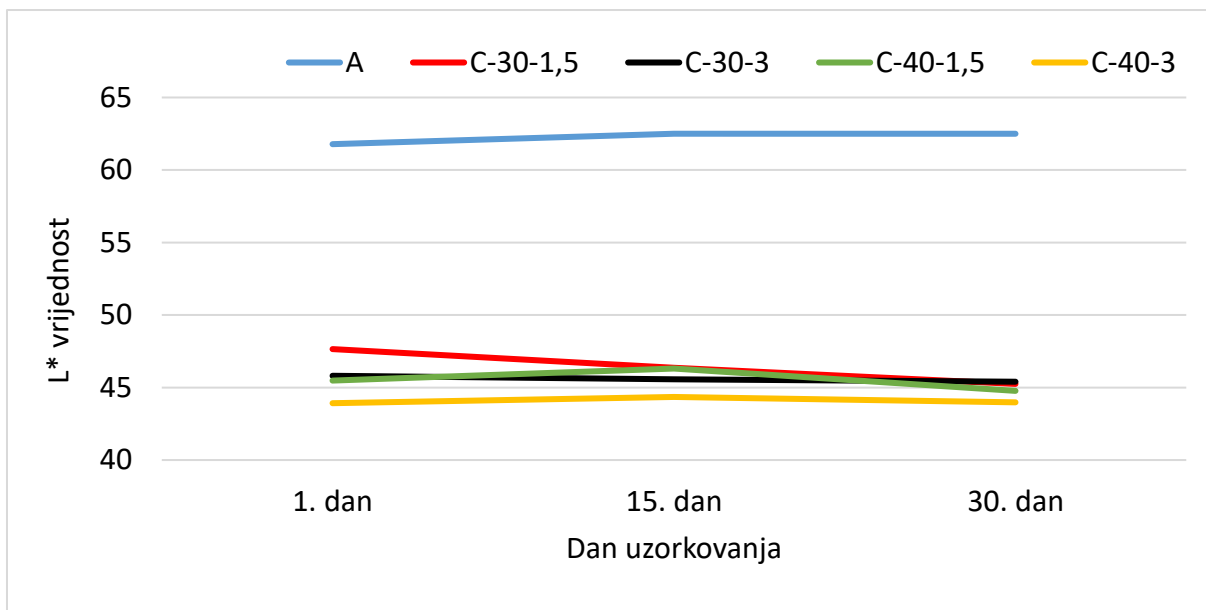
| Svojstvo | Tretman  | Dan uzorkovanja              |                               |                              |
|----------|----------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|          |          | 1.                           | 15.                           | 30.                          |
| b*       | A        | 7,01 <sup>d</sup> ± 0,03     | 7,46 <sup>c</sup> ± 0,13      | 7,26 <sup>c</sup> ± 0,09     |
|          | C-30-1,5 | 13,89 <sup>a; A</sup> ± 0,51 | 11,77 <sup>a; B</sup> ± 0,21  | 10,89 <sup>a; B</sup> ± 0,17 |
|          | C-30-3   | 12,76 <sup>b; A</sup> ± 0,43 | 11,75 <sup>a; AB</sup> ± 0,22 | 11,34 <sup>a; B</sup> ± 0,15 |
|          | C-40-1,5 | 11,92 <sup>b; A</sup> ± 0,44 | 10,35 <sup>b; B</sup> ± 0,27  | 9,30 <sup>b; C</sup> ± 0,16  |
|          | C-40-3   | 10,58 <sup>c; A</sup> ± 0,18 | 9,68 <sup>b; AB</sup> ± 0,05  | 8,98 <sup>b; B</sup> ± 0,11  |

<sup>a, b</sup>: vrijednosti unutar stupca označene različitim slovima značajno se razlikuju po tretmanima pri istom danu uzorkovanja

<sup>A, B</sup>: vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju pri različitim danima uzorkovanja kod istog tretmana

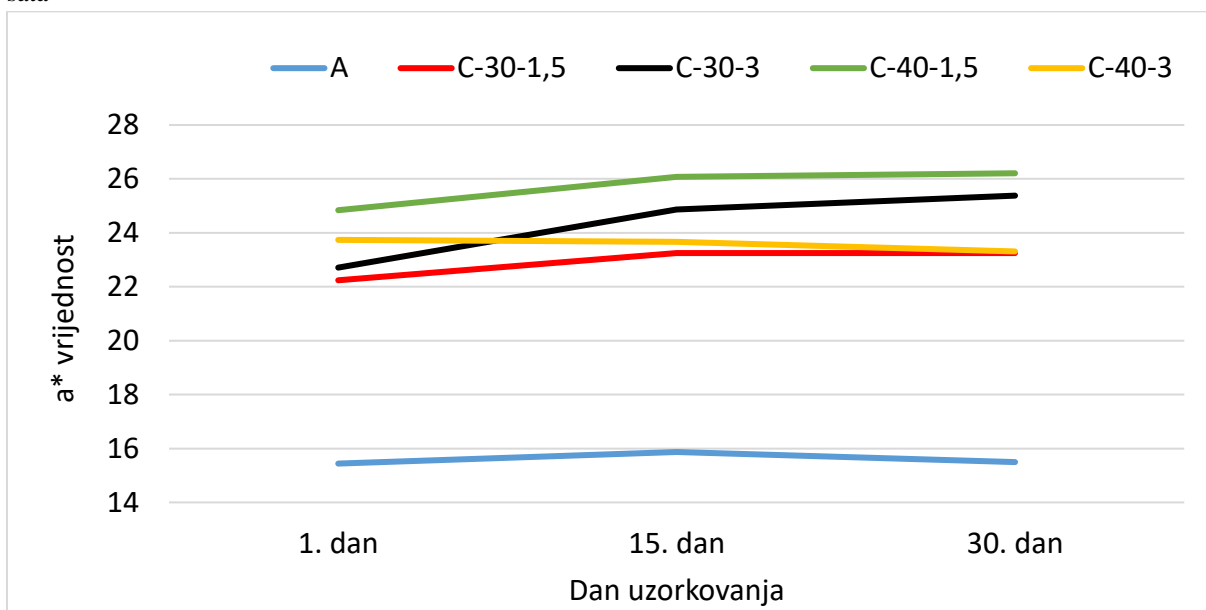
A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

Graf 4.3.1. prikazuje promjenu L\* vrijednosti tijekom čuvanja kobasica na hladnom, a vrijednosti su mjerene 1., 15. i 30. dan proizvodnje. Na grafu je upravo vidljiva razlika između pokusnog i kontrolnih tretmana koji su po dobivenim vrijednostima bili međusobno sličniji, što se može pripisati utjecaju dodatka cikla i poriluka, a ne utjecaju različite temperature i trajanja inkubacije. Isti zaključak se može izvesti i za graf 4.3.2. te graf 4.3.3. Na grafu 4.3.3. je vidljivo smanjenje b\* vrijednosti za kobasice pokusnih tretmana 30. dan u odnosu na vrijednosti izmjerene prvi dan, dok je kod kontrolnog tretmana zabilježen blagi porast b\* vrijednosti 30. dan u odnosu na vrijednosti izmjerene 1. dan. Iako nije utvrđena statistički značajna razlika pokazatelja boje b\* između pokusnih tretmana, na grafu 4.3.3. je vidljivo razlikovanje po tretmanima. Tako su najveće vrijednosti imali tretmani s nižom temperaturom inkubacije i kraćim trajanjem, dok su vrijednosti najbliže kontrolnom tretmanu utvrđene u tretmanu s najdužim trajanjem i najvećom temperaturom inkubacije.



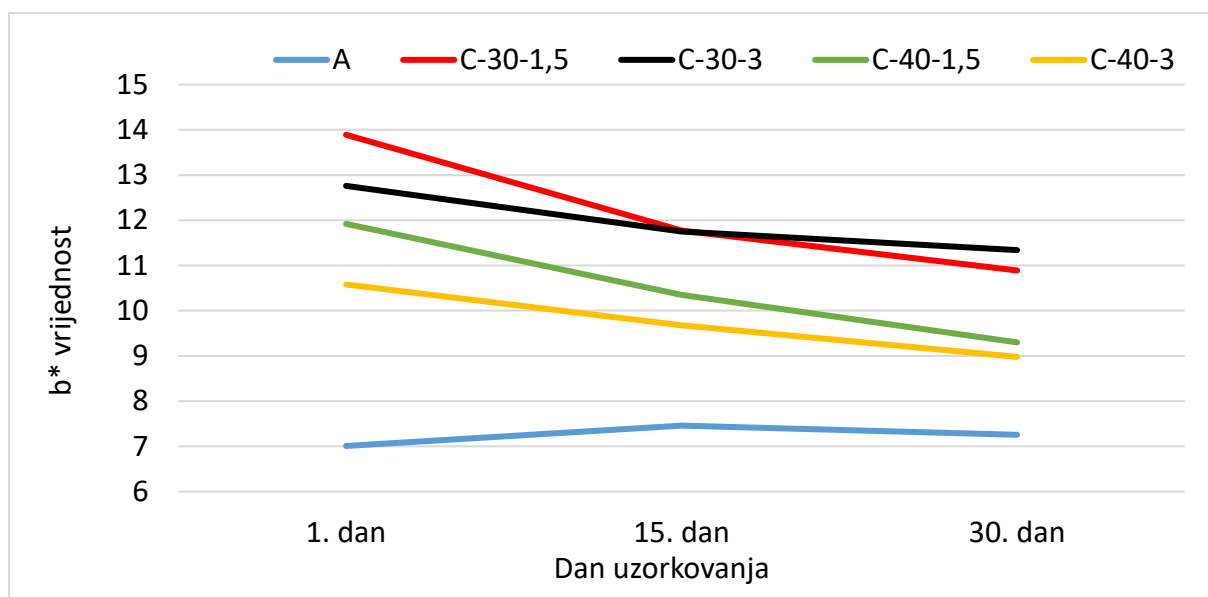
Graf 4.3.1. Grafički prikaz promjene L\* vrijednosti različitih tretmana tijekom 1., 15. i 30. dana čuvanja na hladnom

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata



Graf 4.3.2. Grafički prikaz promjene a\* vrijednosti različitih tretmana tijekom 1., 15. i 30. dana čuvanja na hladnom

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata



Graf 4.3.3. Grafički prikaz promjene  $b^*$  vrijednosti različitih tretmana tijekom 1., 15. i 30. dana čuvanja na hladnom

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

Ozaki i sur. (2021.a) su proveli istraživanje u kojemu su kao zamjenu nitritima u fermentiranim kobasicama koristili prahove rotkvice i cikle. Tijekom skladištenja fermentiranih kobasica zabilježene su značajno niže  $L^*$  vrijednosti pokusnih kobasica u koje je dodan prah cikle u odnosu na kobasice u koje je dodan sintetički nitrat i prah rotkvice, što je u skladu s rezultatima za  $L^*$  vrijednost izmjerenim u predmetnom istraživanju za pokusne skupine u koje je dodan prah cikle i poriluka. Istraživanjem je utvrđeno da se  $a^*$  vrijednost značajno razlikuje pri dodavanju cikle i poriluka što je u skladu s istraživanjima Ozaki i sur. (2021.a), Riyad i sur. (2018.) koji su također utvrdili značajno povećavanje  $a^*$  vrijednosti pri dodavanju praha cikle u odnosu na  $a^*$  vrijednosti kontrolnog tretmana i pokusnih tretmana u koje su dodani drugi biljni prahovi. Kako Riyad i sur. (2018.) navode, a njihovi rezultati su bili u skladu s rezultatima istraživanja Sucu i Turp (2018.), Jin i sur. (2014.) da je vrlo učinkovito djelovanje cikle u vidu jače i intenzivnije crvene boje kroz duži vremenski period, a ta boja se može pripisati visokom sadržaju pigmenta betalanina koji je prisutan u cikli. Predmetnim istraživanjem utvrđene su značajno veće  $b^*$  vrijednosti pokusnih tretmana u odnosu na kontrolni tretman, što nije u skladu s istraživanjima Ozaki i sur. (2021.a), Jin i sur. (2014.) i Riyad i sur. (2018.), koji navode da je dodatak praha cikle za posljedicu imao niže  $b^*$  vrijednosti u odnosu na druge tretmane. Tsoukalas i sur. (2011.) su istraživanjem utvrdili značajno veće  $b^*$  vrijednosti kobasica tretiranih porilukom u odnosu na kontrolne kobasice tretirane nitritnim solima, što je u skladu s rezultatima dobivenim za  $b^*$  vrijednost u predmetnom istraživanju.

#### 4.4. Stupanj oksidacije

Tablica 4.4.1. prikazuje TBARS vrijednosti pokusnog i kontrolnih tretmana 1. dana čuvanja na hladnom, pri čemu je vidljivo da postoji statistički značajna razlika između kontrolnog tretmana A i svih pokusnih tretmana C-30-1,5, C-30-3, C-40-1,5 i C-40-3, dok se pokusni tretmani međusobno nisu značajno razlikovali. Najniže TBARS vrijednosti utvrđene su uzorcima kontrolnog tretmana A (0,033 mg MDA/kg), a najviše u uzorcima tretmana C-40-3 (0,430 mg MDA/kg). Kos i sur. 2017. (prema Wu i sur., 1991.) navode da TBARS vrijednosti veće od 1 mg MDA/kg mogu dovesti do razvoja užeglosti, odnosno neželjene arome proizvoda, pri čemu su TBARS vrijednosti svih tretmana ovog predmetnog istraživanja bile manje od 1 mg MDA/kg. Navedeno znači da bez obzira na razlike između kontrolnog i pokusnih tretmana, užeglost i posljedično promjena arome ne bi trebala biti izražena niti u jednom tretmanu.

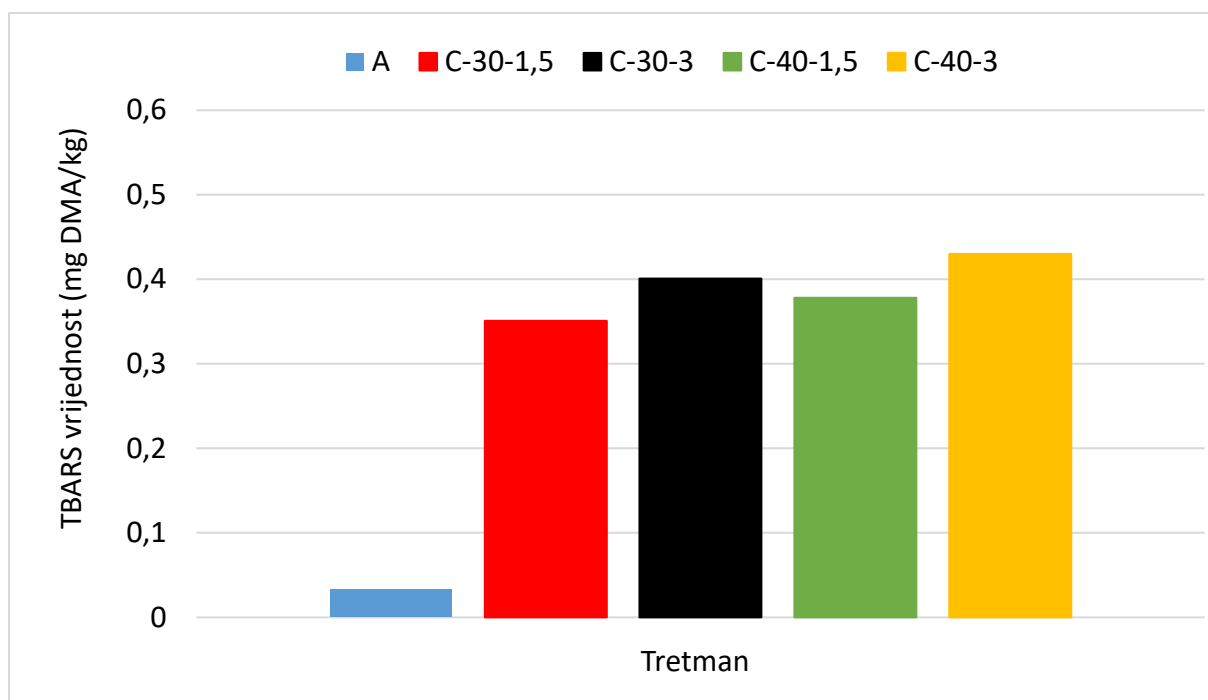
Tablica 4.4.1. TBARS vrijednosti (mg MDA/kg) po tretmanima prvi dan uzorkovanja

| Tretman  | TBARS vrijednost           |
|----------|----------------------------|
| A        | 0,033 <sup>b</sup> ± 0,005 |
| C-30-1,5 | 0,351 <sup>a</sup> ± 0,088 |
| C-30-3   | 0,401 <sup>a</sup> ± 0,009 |
| C-40-1,5 | 0,378 <sup>a</sup> ± 0,028 |
| C-40-3   | 0,430 <sup>a</sup> ± 0,012 |

<sup>a, b</sup>: vrijednosti unutar stupca označene različitim slovima značajno se razlikuju između tretmana

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

Na grafu 4.4.1. je vidljiva razlika TBARS vrijednosti između kontrolnog tretmana i pokusnih tretmana, pri čemu je tretman A imao značajno manje TBARS vrijednosti prvog dana uzorkovanja u odnosu na pokusne tretmane, koji su međusobno imali sličnije vrijednosti.



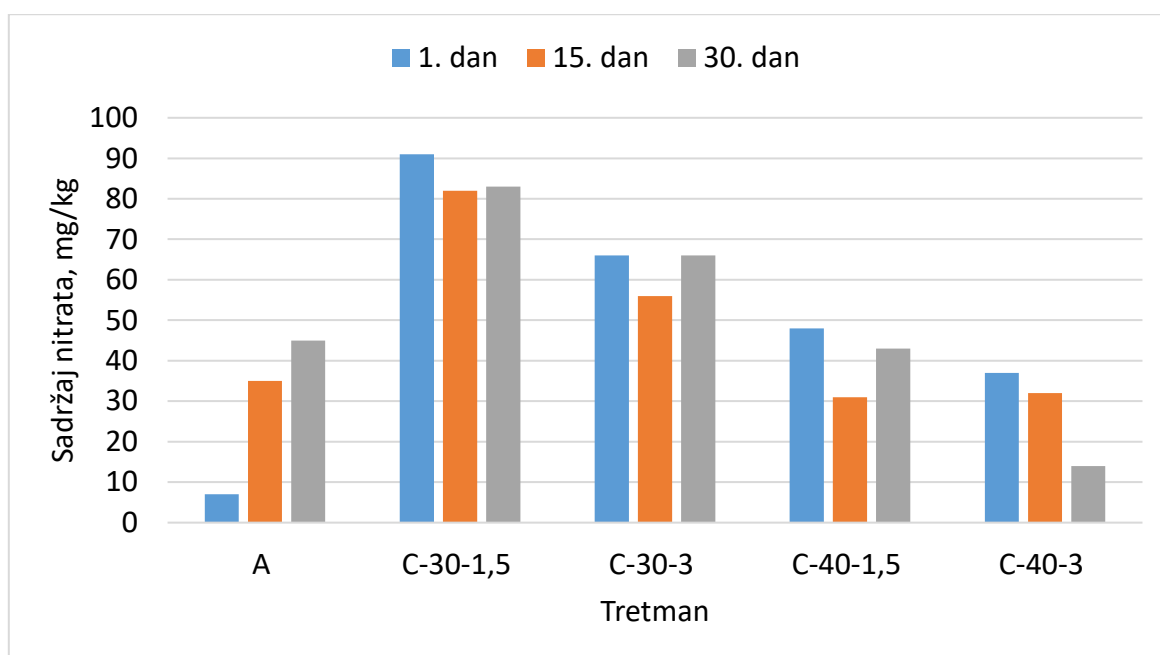
Graf 4.4.1. Grafički prikaz TBARS vrijednosti različitih tretmana tijekom 1. dana čuvanja na hladnom

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

Ozaki i sur. (2021.a) navode slične TBARS vrijednosti između kontrolnog tretmana i pokusnih tretmana s prahom rotkvice, u odnosu na pokusni tretman s prahom cikle koji je pokazivao veće TBARS vrijednosti u odnosu na ova dva prethodno navedena tretmana. Tako dobiveni rezultati su u skladu s rezultatima dobivenim u ovom predmetnom istraživanju, jer su pokusni tretmani s prahom cikle i poriluka imali značajno više TBARS vrijednosti u odnosu na kontrolni tretman s nitritima. Ovako dobiveni rezultati ukazuju na to da bi prah rotkvice mogao biti potencijalna zamjena nitritima sa stajališta sprječavanja i usporavanja oksidacijskih procesa. U skladu s ovim istraživanjem, Jin i sur. (2014.) navode slične podatke pa su tijekom prvih dana skladištenja najniže TBARS vrijednosti zabilježene u uzorcima kontrolnog tretmana s dodatkom nitrita, dok su pokusni tretmani s dodatkom praha cikle imali više TBARS vrijednosti, iako su u uzorcima svih tretmana zabilježene vrijednosti vrlo slične rezultatima predmetnog istraživanja. Sucu i Turp (2018.) su također utvrdili niže TBARS vrijednosti kontrolnog tretmana s nitritima u odnosu na pokusne tretmane s dodatkom praha cikle, a tijekom perioda skladištenja došlo je do povećanja TBARS vrijednosti svih tretmana, uključujući i kontrolne i pokusne, a iste zaključke prezentirali su Jin i sur. (2014.).

## 4.5. Sadržaj rezidualnih nitrata i nitrita

Na grafu 4.5.1. je prikazana promjena sadržaja rezidualnih nitrata po tretmanima 1., 15. i 30. dana čuvanja na hladnom. Istraživanjem je utvrđena statistički značajna razlika u sadržaju rezidualnih nitrata 1. dana čuvanja, pri čemu je u kobasicama kontrolnog tretmana A sadržaj nitrata bio najmanji (< 10 mg/kg) što je očekivano s obzirom da nitrati nisu bili dodani prilikom izrade. Međutim, Sebranek i sur. (1973.) navode da od 1 do 10 % od količine dodanih nitrita oksidira u nitrate, što može biti objašnjenje zašto su prisutni nitrati u kontrolnoj skupini. Drugi razlog je prisustvo nitrata u začinima koji su bili dodani u ukupnom udjelu od 0,5 % te su mogli doprinijeti unosu nitrata u nadjev. Nasuprot kontrolnom tretmanu A, najveći sadržaj rezidualnih nitrata utvrđen je u kobasicama tretmana C-30-1,5 i C-30-3 (> 60 mg/kg), dok je sadržaj u kobasicama tretmana C-40-1,5 i C-40-3 bio od 37 do 48 mg/kg. Veći sadržaj nitrata u kobasicama tretmana C-30-1,5 i C-30-3 ukazuje na to da se pri temperaturama inkubacije od 30 °C odvija značajno manja redukcija nitrata u nitrite djelovanjem dodane starter kulture (*Staphylococcus carnosus*). Navedeno je očekivano s obzirom da je optimalna temperatura djelovanja starter kultura u mezofilnom području od 38 do 40 °C (Sebranek i Bacus 2007.).



Graf 4.5.1. Grafički prikaz promjene sadržaja rezidualnih nitrata po tretmanima pri 1., 15. i 30. danu čuvanja

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

Nitrati se ne dodaju u toplinski obrađene mesne proizvode zbog nepovoljnih uvjeta za redukciju u nitrite (preniska temperatura i premalo vremena u standardnoj industrijskoj obradi).

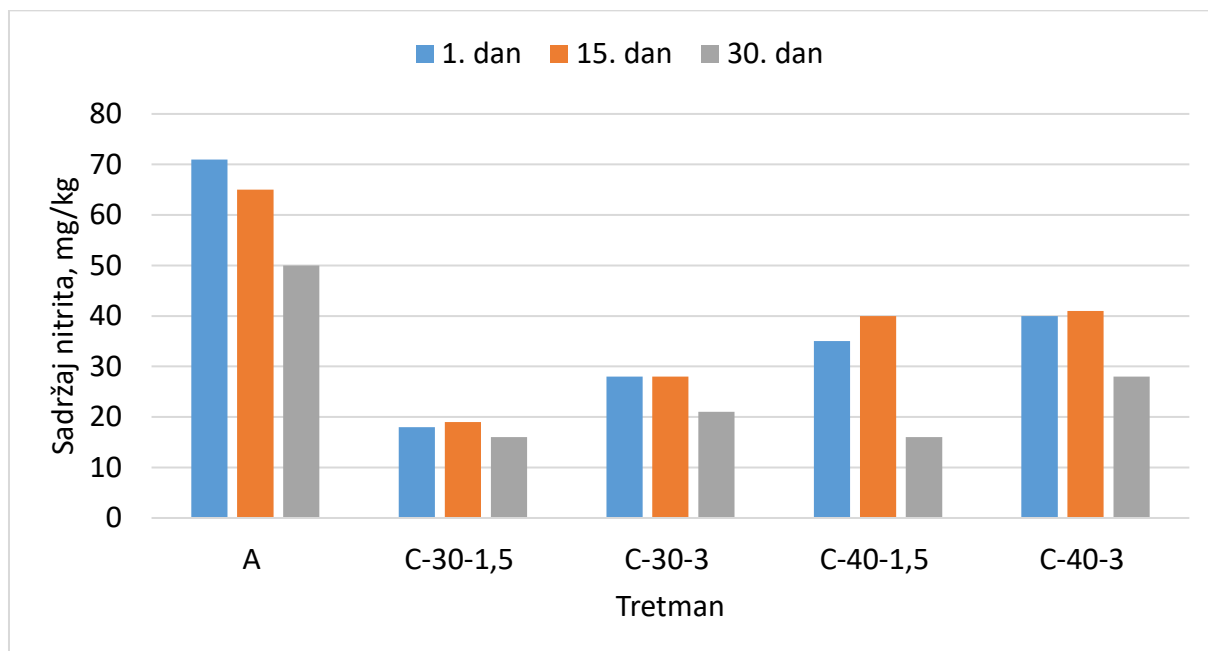
Međutim, dodatak nitrata je čest u proizvodnji za trajne kobasice i trajne suhomesnate proizvode. U jednom istraživanju, Kovačević i sur. (2016.) navode da su najveće koncentracije Na-nitrata na hrvatskom tržištu zabilježene u skupini trajnih kobasica, pri čemu je srednja vrijednost iznosila oko 130 mg/kg, a niže koncentracije Na-nitrata su zabilježene u skupini trajnih suhomesnatih proizvoda sa srednjom vrijednosti 64 mg/kg. Odskaču najveće utvrđene koncentracije Na-nitrata u skupini trajnih kobasica u koncentraciji 315 mg/kg što je više od najviše dopuštene količine propisane pravilnikom (250 mg/kg). Autori navode da najveći utjecaj na ove razlike u koncentracijama nitrata imaju upotreba različitih receptura i različiti načini proizvodnje, odnosno primjena različitih tehnoloških postupaka.

Nadalje, vidljiva je promjena sadržaja rezidualnih nitrata u toplinski obrađenim kobasicama tijekom perioda čuvanja na hladnom. Tretman A pokazuje najizraženiju promjenu sadržaja rezidualnih nitrata te je povećanje iznosilo 28 mg/kg pri 15. danu, a pri 30. danu uzorkovanja 38 mg/kg u odnosu na 1. dan. Kada se te vrijednosti iskažu u relativnim odnosima, tada je sadržaj rezidualnih nitrata pri 15. danu bio za 400%, a pri 30. danu za 542% veći nego pri 1. danu. Za razliku od tog, utvrđeno je smanjenje sadržaja rezidualnih nitrata u varijabilnom iznosu kod kobasica pokusnih tretmana pri 15. i 30. danu uzorkovanja u odnosu na 1. dan. Gledajući konačne vrijednosti pri 30. danu, smanjenje sadržaja rezidualnih nitrata iznosilo je od 0 mg/kg kod tretmana C-30-3 do 23 mg/kg kod tretmana C-40-3 u odnosu na sadržaj u 1. danu. Gledajući ukupno, možemo uočiti da je u kobasica kontrolnog tretmana A došlo do porasta sadržaja rezidualnih nitrata tijekom čuvanja, a kod pokusnih tretmana u koje su bili dodani nitrati je došlo do pada sadržaja. Pritom je vidljivo da je s većim trajanjem, kao i većom temperaturom inkubacije ustanovljen manji sadržaja rezidualnih nitrata, što može upućivati na veću redukciju u nitrite.

Prethodno navedeni rezultati su u skladu s podacima koje navode Sindelar i sur. (2007.), koji su utvrdili da se s vremenom čuvanja sadržaj rezidualnih nitrata u kobasicama postepeno smanjuje te naglašavaju da veći utjecaj na količinu rezidualnih nitrata ima količina dodanih biljnih prahova, nego vrijeme inkubacije. Ozaki i sur (2021.b) su u istraživanju koristili prah rotkvice i esencijalno ulje origana kao zamjenu za sintetičke nitrata i nitrite, pri čemu su došli do istih zaključaka kao Sindelar i sur. (2007.). Zaključili su da najveći utjecaj na količinu rezidualnih nitrata u kobasicama ima upravo količina dodanih biljnih prahova, pri čemu kobasice u koje je dodana veća količina biljnih prahova, posljedično imaju i veću količinu rezidualnih nitrata. Do jednakog zaključka su u istraživanju došli i Riel i sur. (2017.), pri čemu su utvrdili da povećanjem količine peršina u početnom nadjevu se povećava i količina rezidualnih nitrata u gotovom proizvodu.

Graf 4.5.2. prikazuje promjenu sadržaja rezidualnih nitrata po tretmanima tijekom čuvanja na hladnom. Iz priloženog grafičkog prikaza je vidljivo da je 1. dana uzorkovanja najviši sadržaj rezidualnih nitrata bio u kobasicama kontrolnog tretmana A, dok je u kobasicama pokusnih tretmana bio značajno niži u odnosu na tretman A. Slične vrijednosti sadržaja Na-nitrata navode Kovačević i sur. (2016.), pri čemu je srednja vrijednost koncentracije Na-nitrata na 300 toplinski obrađenih kobasica iznosila 42 mg/kg. Najmanja vrijednost koncentracije Na-nitrata iznosila je svega 8 mg/kg, a najveća 115 mg/kg. Propisana zakonski najviša dopuštena količina nitrata u toplinski obrađenim kobasicama iznosi 100 mg/kg, a Kovačević i sur. (2016.)

navode da su svega 2 uzorka od 300 analiziranih toplinski obrađenih kobasica imala prekomjernu količinu nitrita. Autori ističu da su značajno niže vrijednosti Na-nitrita izmjerene u trajnim kobasicama, a nešto više u polutrajnim i trajnim suhomesnatim proizvodima, pri čemu su srednje vrijednosti koncentracije Na-nitrita iznosile: 7 mg/kg, 24 mg/kg i 37 mg/kg.



Graf 4.5.2. Grafički prikaz promjene sadržaja rezidualnih nitrita po tretmanima pri 1., 15. i 30. danu čuvanja

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

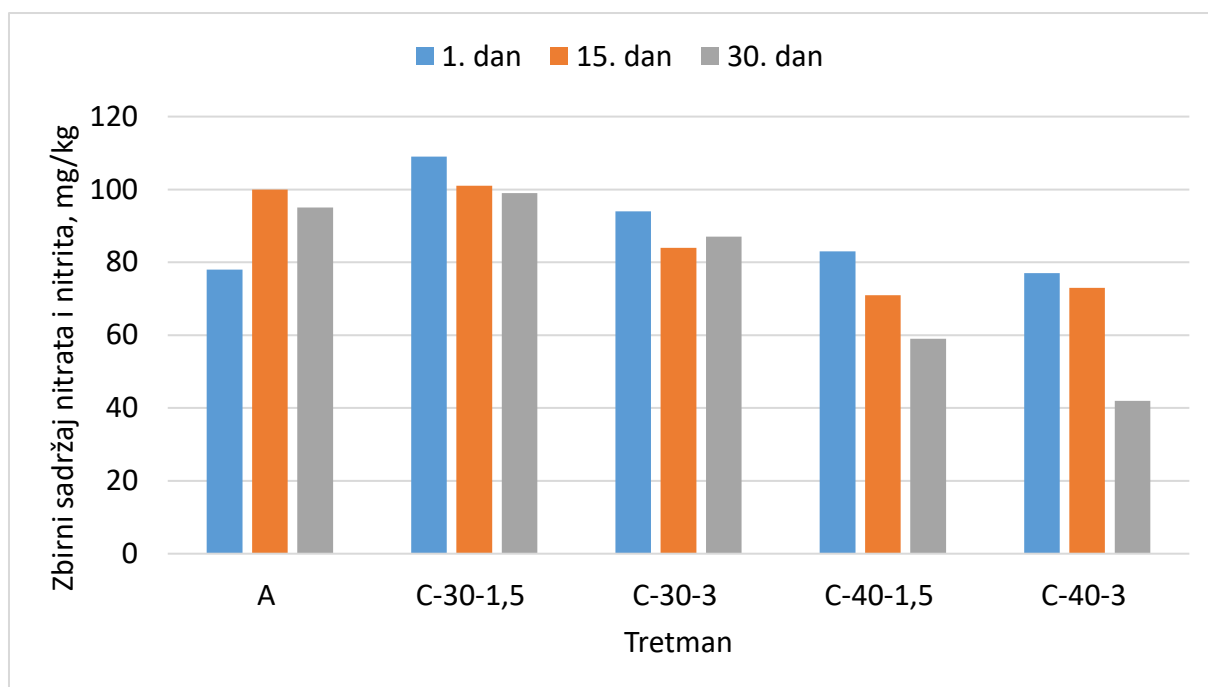
Istraživanjem je utvrđena promjena sadržaja rezidualnih nitrita kod pojedinih tretmana pri različitim danima uzorkovanja, odnosno tijekom čuvanja. Tako je kod tretmana A zabilježeno značajno smanjenje sadržaja rezidualnih nitrita 30. dana uzorkovanja u odnosu na 1. dan u iznosu 21 mg/kg, odnosno smanjenje je iznosilo 29,6 %. Kod pokusnih tretmana promjene sadržaja su imale drukčiji karakter, a čak je zabilježen porast sadržaja rezidualnih nitrita pri 15. danu u odnosu na 1. dan kod svih tretmana, osim C-30-3 kad nije došlo do nikakve promjene. Međutim, pri 30. danu uzorkovanja ustanovljeno je smanjenje sadržaja rezidualnih nitrita u odnosu na 1. dan uzorkovanja za 2 do 19 mg/kg. Takvo smanjenje sadržaja rezidualnih nitrita izraženo relativno iznosilo je od 11,1 do 54,3 %, a u prosjeku 27,8 % što je vrlo slična vrijednost smanjenja utvrđena kod kontrolnog tretmana A. Dobiveni rezultati sukladni su zaključcima koje iznose Riyad i sur. (2018.) da se tijekom perioda čuvanja sadržaj rezidualnih nitrita u svim uzorcima smanjivao, pri čemu je najveće smanjenje zabilježeno kod tretmana s nitritima u odnosu na tretmane gdje su se koristili biljni prahovi. Autori navode da usprkos tome što je smanjenje unutar pojedinog tretmana pri različitim danima uzorkovanja bilo najveće kod



tretmana s nitritima, taj tretman je nakon 4. tjedna čuvanja i dalje pokazivao najveće vrijednosti rezidualnih nitrita u odnosu na tretmane u kojima su se koristili biljni prahovi kao izvor nitrita. Do istih zaključaka došli su Riel i sur.(2017.) u istraživanju u kojemu su kao alternativnu zamjenu za nitrite koristili prah peršina, pri čemu je tijekom perioda čuvanja najveći sadržaj rezidualnih nitrita zabilježen u kobasicama u koje su izravno dodani nitriti u odnosu na pokusne kobasice u kojima se koristio prah peršina. Također su potvrdili i činjenicu da se količina rezidualnih nitrita smanjivala tijekom perioda skladištenja i kod kontrolnih i kod pokusnih kobasica, ali tijekom svakog uzorkovanja sadržaj rezidualnih nitrita uvijek je bio najveći kod tretmana s nitritima. U ovom istraživanju se i došlo do zaključka da je na količinu rezidualnih nitrita u pokusnim kobasicama najveći utjecaj imala količina dodanih biljnih prahova, pri čemu su kobasice u koje su dodane veće količine biljnih prahova tijekom perioda skladištenja posljedično bilježile i veću količinu rezidualnih nitrita. Za razliku od tog, Sucu i Turp (2018.) navode da je količina rezidualnih nitrita bila značajno veća kod kobasica pokusnog tretmana s dodatkom cikle u odnosu na kontrolni tretman s nitritima tijekom perioda čuvanja proizvoda, a slične zaključke i vrijednosti navode Bertol i sur. (2012.), koji su u pokusnim tretmanima koristili prah celera i ekstrakt ružmarina, te su utvrdili veći udio rezidualnih nitrita u kobasicama pokusnih tretmana nego u kobasicama kontrolnih tretmana s nitritima.

Temeljem tih rezultata možemo navesti da je sadržaj rezidualnih nitrita bio najveći u kobasicama u koje su nitriti bili dodani kao dodatak, dok je sadržaj značajno manji kod kobasica u koje su dodani nitrati i starter kulture za redukciju nitrata. Nadalje, možemo navesti da tijekom čuvanja na hladnom nakon 30 dana kod svih kobasica dolazi do gubitka odnosno potrošnje rezidualnih nitrita u iznosu od 27,8 do 29,6 %.

Zbirni sadržaj rezidualnih nitrata i nitrita je grafički prikazan na grafu 4.5.3., iz čega je vidljivo da je 1., 15. i 30. dana uzorkovanja najveći zbirni sadržaj rezidualnih nitrata i nitrita bio u kobasicama tretmana C-30-1,5. Nasuprot tome, najmanji zbirni sadržaj rezidualnih nitrata i nitrita utvrđen je 1. dana uzorkovanja u kobasicama kontrolnog tretmana, a kod 15. i 30. uzorkovanja u kobasicama pokusnih tretmana C-40-1,5 i C-40-3. Međutim, tijekom čuvanja kobasica na hladnom kod tretmana A je zabilježen porast zbirnog sadržaja u 30. danu uzorkovanja za 17,9 % u odnosu na 1. dan. Suprotno od tog, u kobasicama pokusnih tretmana uslijedilo je smanjenje zbirnog sadržaja za prosječno 22,8 % od 1. do 30. dana uzorkovanja. Nadalje, utvrđeno je da je zbirni sadržaj rezidualnih nitrata i nitrita bio manji kako se povećavalo trajanje i temperatura inkubacije, a najveće je smanjenje ustanovljeno kod tretmana C-40-3 u iznosu 45,5 %.



Graf 4.5.3. Grafički prikaz promjene zbirnog sadržaja rezidualnih nitrata i nitrita po tretmanima pri 1., 15. i 30. danu čuvanja

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

## 4.6. Senzorska analiza

U tablici 4.6.1. su prikazana senzorska opisna svojstva polutrajnih kobasica po tretmanima te je predmetnim istraživanjem utvrđeno nekoliko statistički značajnih razlika opisnih svojstava između tretmana. Istraživanjem je utvrđena statistički značajna razlika za intenzitet crvene i smeđe boje nareska između kontrolnog i pokusnih tretmana, pri čemu su tretmani C-30-1,5, C-30-3, C-40-1,5 i C-40-3 imali znatno veću ocjenu za intenzitet crvene i smeđe boje nareska u odnosu na kontrolni tretman A. Statistički značajna razlika je utvrđena i za svojstvo povezanost nareska, pri čemu je povezanost nareska bila najveća kod tretmana A, a značajno manja je ustanovljena kod tretmana C-30-1,5, C-30-3 i C-40-3 u odnosu na tretman A. Nadalje kod pokusnih tretmana utvrđena je značajno veća zastupljenost mirisa cikle i mirisa poriluka u odnosu na kontrolni tretman A, što je bilo očekivano. Pri tom vrijedi spomenuti da su veće vrijednosti pokusne kobasice dobile za zastupljenost mirisa poriluka u odnosu na zastupljenost mirisa cikle. Nadalje, tretman A se statistički značajno razlikovao u čvrstoći i mrvičavosti nareska u odnosu na pokusne tretmane, pri čemu su naresci kontrolnog tretmana A ocjenjeni kao značajno čvršći u odnosu na pokusne tretmane, a pokusni tretmani kao značajno mrvičastiji u odnosu na kontrolni tretman A. Statistički značajna razlika je utvrđena i kod

sočnosti, pri čemu je tretman A ocjenjen sa značajno većom sočnom u odnosu na tretmane C-40-1,5 i C-40-30.

Sve pokusne kobasice su imale veće vrijednosti svojstva slatko, što je opravdano zbog velikog udjela šećera u cikli (Wruss i sur. 2015.), ali je statistički značajna razlika utvrđena samo između kontrolnog tretmana A i tretmana C-30-3. Za svojstva arome, više svojstava je pokazalo statistički značajnu razliku, tako se svojstvo arome cikle i svojstvo arome poriluka značajno razlikovalo između kontrolnog i pokusnih tretmana, pri čemu su te arome bile značajno izraženije kod svih pokusnih tretmana u odnosu na tretman A. Značajna razlika je zabilježena i za svojstvo arome toplinski obrađenog mesa, koja je izraženija bila za tretman A u odnosu na tretman C-40-3. Svojstvo strane ili nesvojstvene arome se razlikovalo između tretmana, pri čemu je bilo najizraženije kod tretmana C-40-1,5, a najmanje kod tretmana A, dok se tretmani C-30-1,5, C-30-3 i C-40-3 nisu razlikovali od tretmana A i C-40-1,5.

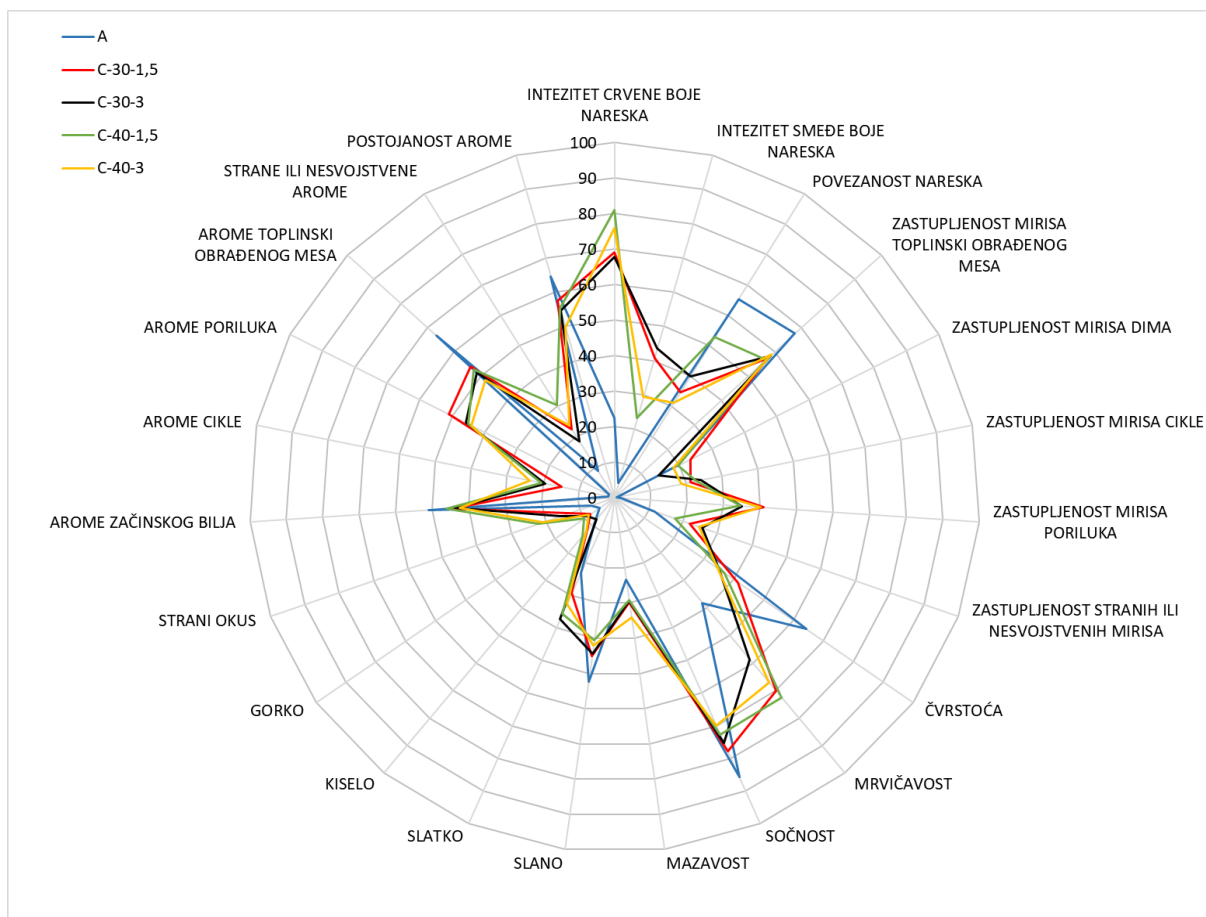
Grafički prikaz senzornih opisnih svojstava na grafu 4.6.1. pokazuje kako se linije tretmana A u mnogim dijelovima ne poklapaju s linijama pokusnih tretmana, što ukazuje na to da se tretman A za brojna svojstva statistički značajno razlikovao od većine pokusnih tretmana. S druge strane, linije pokusnih tretmana su se u mnogim svojstvima potpuno preklapale, što upućuje na zaključak da se senzorska opisna svojstva kobasica pokusnih tretmana nisu značajno međusobno razlikovala i da nisu bila pod utjecajem trajanja ni temperature inkubacije. U skladu s tim Tsoukalas i sur. (2010.) navode da su kontrolne kobasice s nitritima postigle bolje ocjene vanjskog izgleda, odsutnosti mirisa poriluka i boje u odnosu na pokusne kobasice s dodatkom poriluka. Za razliku od toga Jin i sur. (2014.) navode da nije postojala značajna razlika u boji, okusu, nježnosti, sočnosti i općoj prihvatljivosti između tretmana u koje je dodavan prah cikle i tretmana s nitritima, ali značajna razlika je zabilježena u boji između tretmana s prahom cikle i nitritima, u odnosu na tretman u koji nije dodavan nikakav izvor nitrata i nitrita, pri čemu su te kobasice dobile značajno nižu ocjenu boje.

Tablica 4.6.1. Senzorska opisna svojstva polutrajnih kobasica po tretmanima nakon toplinske obrade i hlađenja

| Svojstvo                                       | Tretman                   |                             |                            |                            |                            |
|--|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|  | A                         | C-30-1,5                    | C-30-3                     | C-40-1,5                   | C-40-3                     |
| Intenzitet crvene boje nareska                 | 22,40 <sup>b</sup> ± 8,70 | 69,00 <sup>a</sup> ± 4,57   | 67,80 <sup>a</sup> ± 5,98  | 81,00 <sup>a</sup> ± 4,60  | 75,80 <sup>a</sup> ± 4,50  |
| Intenzitet smeđe boje nareska                  | 4,20 <sup>b</sup> ± 1,83  | 40,80 <sup>a</sup> ± 5,67   | 43,60 <sup>a</sup> ± 5,83  | 23,20 <sup>a</sup> ± 5,51  | 29,50 <sup>a</sup> ± 7,06  |
| Povezanost nareska                             | 65,40 <sup>a</sup> ± 6,20 | 34,60 <sup>b</sup> ± 7,16   | 40,00 <sup>b</sup> ± 9,99  | 52,80 <sup>ab</sup> ± 6,54 | 31,20 <sup>b</sup> ± 4,31  |
| Zastupljenost mirisa toplinski obrađenog mesa  | 67,60 ± 6,53              | 57,40 ± 7,52                | 58,40 ± 7,18               | 56,80 ± 6,77               | 58,90 ± 4,71               |
| Zastupljenost mirisa dima                      | 19,40 ± 11,59             | 23,40 ± 11,30               | 13,60 ± 4,55               | 19,60 ± 9,34               | 18,30 ± 6,04               |
| Zastupljenost mirisa cikla                     | 0,60 <sup>b</sup> ± 0,40  | 21,20 <sup>a</sup> ± 10,53  | 24,20 <sup>a</sup> ± 11,52 | 22,80 <sup>a</sup> ± 9,99  | 18,70 <sup>a</sup> ± 3,62  |
| Zastupljenost mirisa poriluka                  | 1,80 <sup>b</sup> ± 1,56  | 41,00 <sup>a</sup> ± 11,42  | 35,00 <sup>a</sup> ± 9,99  | 34,60 <sup>a</sup> ± 11,66 | 40,00 <sup>a</sup> ± 9,23  |
| Zastupljenost stranih ili nesvojstvenih mirisa | 11,80 ± 4,54              | 21,80 ± 8,42                | 25,40 ± 12,04              | 17,60 ± 5,30               | 24,60 ± 5,41               |
| Čvrstoća                                       | 64,20 <sup>a</sup> ± 5,07 | 41,40 <sup>b</sup> ± 6,42   | 35,20 <sup>b</sup> ± 8,24  | 37,00 <sup>b</sup> ± 6,60  | 34,60 <sup>b</sup> ± 3,91  |
| Mrvičavost                                     | 38,20 <sup>b</sup> ± 7,70 | 70,20 <sup>a</sup> ± 6,76   | 58,80 <sup>a</sup> ± 8,29  | 72,60 <sup>a</sup> ± 3,60  | 67,20 <sup>a</sup> ± 4,01  |
| Sočnost  | 85,80 <sup>a</sup> ± 3,47 | 77,80 <sup>ab</sup> ± 4,52  | 75,40 <sup>ab</sup> ± 2,77 | 72,80 <sup>b</sup> ± 2,71  | 70,00 <sup>b</sup> ± 2,57  |
| Mazavost                                       | 23,40 ± 5,55              | 29,80 ± 9,21                | 29,40 ± 10,87              | 29,20 ± 6,08               | 34,00 ± 5,50               |
| Slano  | 52,40 ± 3,71              | 45,00 ± 8,17                | 44,40 ± 8,68               | 40,60 ± 5,46               | 42,10 ± 3,76               |
| Slatko   | 23,20 <sup>b</sup> ± 3,54 | 29,20 <sup>ab</sup> ± 6,84  | 37,20 <sup>a</sup> ± 4,09  | 35,60 <sup>ab</sup> ± 8,08 | 32,60 <sup>ab</sup> ± 4,39 |
| Kiselo   | 8,00 ± 4,30               | 11,80 ± 5,40                | 7,80 ± 4,39                | 14,00 ± 4,81               | 12,00 ± 3,27               |
| Gorko  | 5,00 ± 3,35               | 8,00 ± 3,70                 | 9,20 ± 3,71                | 10,20 ± 5,83               | 8,50 ± 2,69                |
| Strani okus                                    | 6,80 ± 3,71               | 13,00 ± 6,02                | 15,40 ± 6,19               | 22,20 ± 8,62               | 20,80 ± 5,57               |
| Arome začinskog bilja                          | 51,00 ± 8,52              | 44,40 ± 8,73                | 43,80 ± 5,55               | 46,00 ± 6,54               | 42,40 ± 5,60               |
| Arome cikla                                    | 1,80 <sup>b</sup> ± 1,80  | 14,80 <sup>a</sup> ± 1,72   | 19,40 <sup>a</sup> ± 6,74  | 20,40 <sup>a</sup> ± 7,30  | 23,70 <sup>a</sup> ± 4,85  |
| Arome poriluka                                 | 1,80 <sup>b</sup> ± 1,80  | 51,00 <sup>a</sup> ± 12,95  | 45,80 <sup>a</sup> ± 8,12  | 45,00 <sup>a</sup> ± 13,23 | 44,00 <sup>a</sup> ± 8,22  |
| Arome toplinski obrađenog mesa                 | 66,80 <sup>a</sup> ± 4,13 | 54,00 <sup>ab</sup> ± 8,09  | 51,60 <sup>ab</sup> ± 7,97 | 52,80 <sup>ab</sup> ± 8,45 | 48,30 <sup>b</sup> ± 5,68  |
| Strane ili nesvojstvene arome                  | 8,80 <sup>b</sup> ± 3,26  | 22,40 <sup>ab</sup> ± 10,68 | 18,40 <sup>ab</sup> ± 7,99 | 30,40 <sup>b</sup> ± 9,60  | 23,70 <sup>ab</sup> ± 6,13 |
| Postojanost arome                              | 64,60 ± 7,90              | 57,40 ± 7,45                | 54,60 ± 6,70               | 55,40 ± 6,53               | 49,80 ± 4,86               |

<sup>ab</sup>: vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju između tretmana (P<0,05)

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikla i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata



Graf 4.6.1. Opisna svojstva polutrajnih kobasica po tretmanima pri 1. danu čuvanja

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata

U tablici 4.6.2. prikazana su senzorska subjektivna svojstva polutrajnih kobasica koja su bazirana na dopadljivosti i subjektivnom dojmu ocjenjivača. Istraživanjem je utvrđeno da se subjektivna svojstva kobasice pokusnih tretmana nisu međusobno značajno razlikovala ( $P>0,05$ ), odnosno trajanje i temperatura inkubacije nisu imali utjecaj na subjektivna senzorska svojstva. Suprotno od tog, dodatak praha cikle i poriluka imao je značajan utjecaj na sva subjektivna svojstva jer su sva bila ocjenjena značajno različito u odnosu na kobasice kontrolnog tretmana. Pritom se ističu svojstva karakterističnost izgleda presjeka, karakterističnost mirisa, dopadljivost okusa, skladnost arome, dopadljivost aroma i karakterističnost aroma koja su bila ocjenjena sa statistički značajno većim vrijednosti ( $P<0,05$ ) kod kobasica kontrolnog tretmana u odnosu na sve pokusne tretmane. Ostala subjektivna svojstva (dopadljivost presjeka, dopadljivost mirisa, dopadljivost teksture i cjelokupna dopadljivost) su također imala veće vrijednosti kod kobasica kontrolnog tretmana A, ali je značajna razlika utvrđena samo između kontrolnog i nekih pokusnih tretmana. U skladu s tim, Tsoukalas i sur. (2010.) navode da su kontrolne kobasice s nitritima postigle značajno veću ocjenu opće prihvatljivosti u odnosu na pokusne kobasice s prahom poriluka i navode da nije postojala značajna razlika u općoj prihvatljivosti između pokusnih kobasica s različitim količinama dodanog praha poriluka. Za razliku od rezultata dobivenih u predmetnom istraživanju i istraživanju koje su proveli Tsoukalas i sur. (2010.), Sucu i Turp (2018.) navode da upotreba praha cikle povećava opću prihvatljivost fermentiranih kobasica, te da su tretmani s većom količinom praha cikle na početku skladištenja postigli veće ocjene prihvatljivosti u odnosu na kobasice kontrolnog tretmana s nitritima.

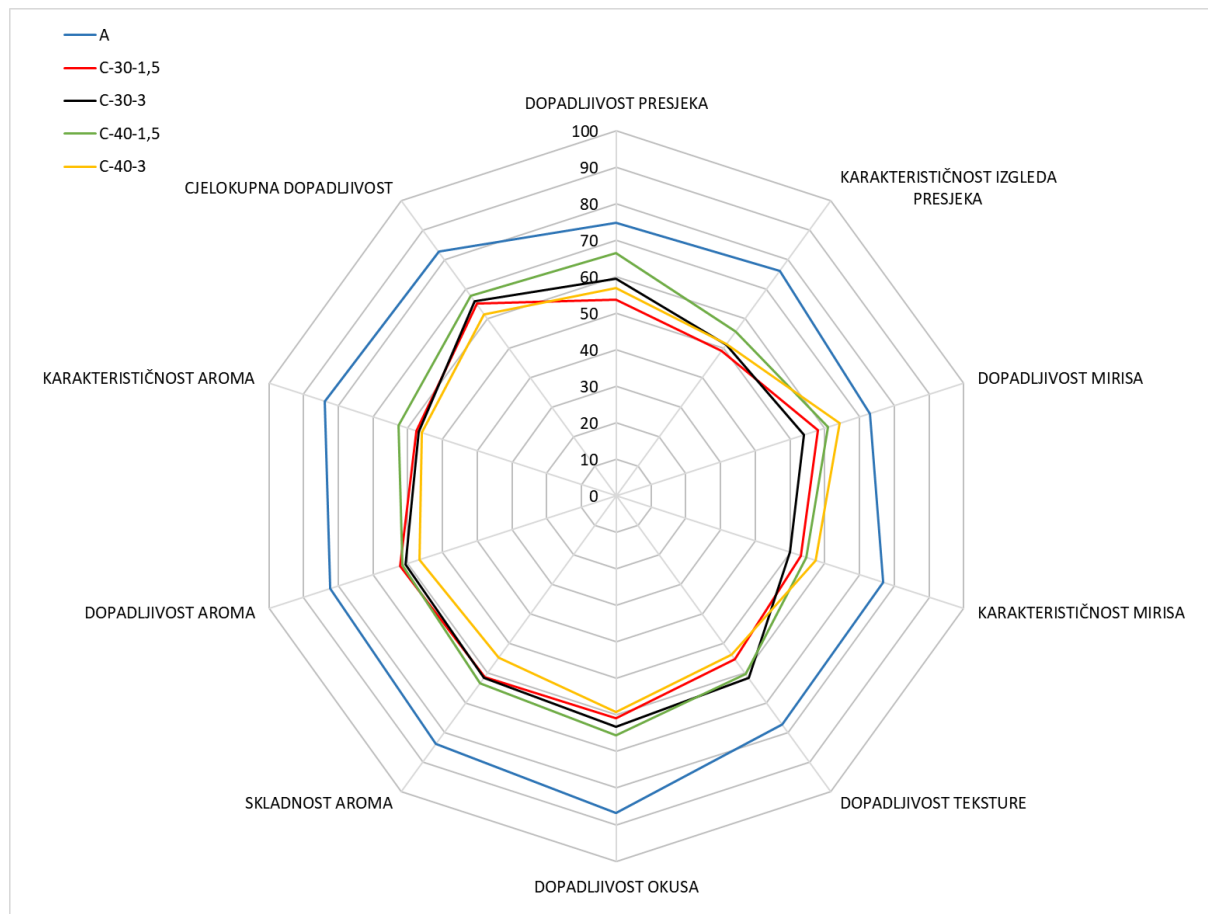
Tablica 4.6.2. Senzorska subjektivna svojstva polutrajnih kobasica po tretmanima nakon toplinske obrade i hlađenja

| Svojstvo                           | Tretman                   |                            |                            |                            |                            |
|------------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                    | A                         | C-30-1,5                   | C-30-3                     | C-40-1,5                   | C-40-3                     |
| Dopadljivost presjeka              | 74,80 <sup>a</sup> ± 6,08 | 53,80 <sup>b</sup> ± 6,45  | 59,40 <sup>ab</sup> ± 4,26 | 66,40 <sup>ab</sup> ± 8,19 | 56,90 <sup>b</sup> ± 4,69  |
| Karakterističnost izgleda presjeka | 76,00 <sup>a</sup> ± 3,96 | 49,00 <sup>b</sup> ± 7,55  | 51,20 <sup>b</sup> ± 4,32  | 55,60 <sup>b</sup> ± 9,29  | 51,30 <sup>b</sup> ± 3,33  |
| Dopadljivost mirisa                | 73,00 <sup>a</sup> ± 7,79 | 58,00 <sup>ab</sup> ± 7,68 | 54,00 <sup>b</sup> ± 7,57  | 61,00 <sup>ab</sup> ± 7,72 | 64,30 <sup>ab</sup> ± 2,55 |
| Karakterističnost mirisa           | 76,80 <sup>a</sup> ± 7,03 | 53,00 <sup>b</sup> ± 6,57  | 50,00 <sup>b</sup> ± 8,43  | 54,60 <sup>b</sup> ± 8,18  | 57,40 <sup>b</sup> ± 3,57  |
| Dopadljivost teksture              | 77,40 <sup>a</sup> ± 6,34 | 55,20 <sup>b</sup> ± 6,22  | 61,60 <sup>ab</sup> ± 7,53 | 60,40 <sup>ab</sup> ± 8,78 | 53,80 <sup>b</sup> ± 4,76  |
| Dopadljivost okusa                 | 86,80 <sup>a</sup> ± 5,23 | 60,80 <sup>b</sup> ± 4,16  | 63,20 <sup>b</sup> ± 7,61  | 65,60 <sup>b</sup> ± 6,74  | 59,10 <sup>b</sup> ± 5,66  |
| Skladnost aroma                    | 84,00 <sup>a</sup> ± 5,13 | 61,20 <sup>b</sup> ± 7,60  | 61,60 <sup>b</sup> ± 6,49  | 63,40 <sup>b</sup> ± 8,64  | 54,80 <sup>b</sup> ± 6,25  |
| Dopadljivost aroma                 | 82,40 <sup>a</sup> ± 5,56 | 62,20 <sup>b</sup> ± 5,75  | 60,60 <sup>b</sup> ± 8,26  | 61,60 <sup>b</sup> ± 8,06  | 56,70 <sup>b</sup> ± 6,40  |
| Karakterističnost aroma            | 83,80 <sup>a</sup> ± 5,50 | 57,60 <sup>b</sup> ± 4,86  | 56,80 <sup>b</sup> ± 9,02  | 62,60 <sup>b</sup> ± 6,77  | 55,90 <sup>b</sup> ± 4,65  |
| Cjelokupna dopadljivost            | 82,60 <sup>a</sup> ± 5,84 | 65,00 <sup>ab</sup> ± 5,13 | 65,80 <sup>ab</sup> ± 7,64 | 67,80 <sup>ab</sup> ± 8,86 | 61,50 <sup>b</sup> ± 5,40  |

<sup>ab</sup>: vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju između tretmana ( $P < 0,05$ )

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 s

Na grafu 4.6.2. prikazana su subjektivna svojstva polutrajnih kobasica, a iz grafičkog prikaza je jasno vidljivo da su kobasice kontrolnog tretmana A ocjenjene s većim ocjenama od kobasica svih pokusnih tretmana koje su imale međusobno sličnije vrijednosti.



Graf 4.6.2. Subjektivna svojstva polutrajnih kobasica po tretmanima pri 1. danu čuvanja

A: tretman s dodatkom sintetskog nitrita; C-30-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 1,5 sat; C-30-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 30 °C i trajanje 3 sata; C-40-1,5: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 1,5 sat; C-40-3: tretman s dodatkom praha cikle i poriluka uz temperaturu inkubacije 40 °C i trajanje 3 sata



## 5. Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata mogu se istaknuti sljedeći zaključci:

- 1) Značajna razlika pH vrijednosti je utvrđena 30. dana, pri čemu su tretmani A, C-30-1,5 i C-30-3 imali veću pH vrijednost u odnosu na tretmane C-40-1,5 i C-40-3, također kod tretmana C-40-1,5 i C-40-3 je došlo do značajnog smanjenja pH vrijednosti 30. dan u odnosu na 1. dan čuvanja gotovog proizvoda na hladnom.
- 2) Razlike u aktivitetu vode između različitih tretmana nisu utvrđene, ali je došlo do smanjena aktiviteta vode kod svih tretmana 30. dan u odnosu na 1. dan.
- 3) Uočene su značajne razlike u boji vezane za  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti između tretmana. Utvrđene  $L^*$  vrijednosti pokusnih tretmana bile su značajno manje, a  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti značajno veće u odnosu na kontrolni tretman, što je očekivano s obzirom na pigmentacijski učinak praha cikla.
- 4) Značajno više TBARS vrijednosti utvrđene su kod pokusnih kobasica u odnosu na kobasice kontrolnog tretmana, ali su sve vrijednosti bile manje od 0,5 mg MDA/kg što upućuje na vrlo mali razvoj oksidacijskih produkata.
- 5) Utvrđen je značajno veći sadržaj rezidualnih nitrata i značajno manji sadržaj nitrita 1. dana čuvanja kod pokusnih kobasica u odnosu na kontrolni tretman. Kod svih pokusnih tretmana 30. dan čuvanja je uočeno smanjenje sadržaja nitrata, dok je kod tretmana A došlo je do povećanja sadržaja nitrata. Sadržaj nitrita se kod svih tretmana smanjio, ali je i dalje ostao najveći u kobasicama kontrolnog tretmana A.
- 6) Utvrđeno je nekoliko značajnih razlika između senzorskih opisnih svojstava. Kontrolni tretman A se značajno razlikovao od pokusnih tretmana u intenzitetu crvene i smeđe boje nareška, zastupljenosti mirisa cikla i poriluka, slatkoći i mrvičavosti nareška, pri čemu su pokusni tretmani imali znatno veću ocjenu za ova svojstva. Tretman A je imao značajno veću ocjenu za svojstva povezanosti nareška, čvrstoći nareška i sočnosti. Značajna razlika je utvrđena i kod subjektivnih svojstava, pri čemu su kobasice kontrolnog tretmana A ocjenjene značajno većim ocjenama u odnosu na kobasice pokusnih tretmana te se može zaključiti da su cjelokupno senzorski bile prihvatljivije.
- 7) Temeljem navedenog možemo zaključiti da je zamjena sintetičkih nitrita s prahovima cikla i poriluka uz dodatak starter kultura potencijalan način za smanjenje sadržaja rezidualnih nitrita. Međutim, upitno je njihovo korištenje zbog utjecaja na dopadljivost kobasica te su potrebna dodatna istraživanja o alternativnim zamjenama i upotrebi ekstrakata koji bi imali manji utjecaj na senzorska svojstva.

## 6. Literatura

1. Ačkar Đ., Rot T. (2019). Antimikrobno djelovanje aditiva u mesnoj industriji. *Meso*. 19(1): 26-30.
2. Alahakoon A.U., Jayasena D.D., Ramachandra S., Jo C. (2015). Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. *Trends in Food Science & Technology*. 45(1): 37-49.
3. Andrée S., Jira W., Schwind K.H., Wagner H., Schwägele F. (2010). Chemical safety of meat and meat products. *Meat Science*. 86(1).
4. Bertol T.M., Fiorentini A.M., Honorato dos Santos M.J., Sawitzki M.C., Kawski V.L., Agnes I.B.L., Costa C.D., Coldebella A., Lopes L.S. (2012). Rosemary extract and celery-based products used as natural quality enhancers for colonial type salami with different ripening times. *Food Science and Technology*. 32(4): 783-792.
5. Binkerd E.F., Kolari O.E. (1975). The history and use of nitrate and nitrite in the curing of meat. *Food Cosmet Toxicol*. 13(6):655-661.
6. Bošnjak S. (2019). Uloga prehrambenih vlakana u očuvanju zdravlja probavnog sustava (Diplomski rad, Sveučilište u Splitu. Kemijsko-tehnološki fakultet. Odsjek za kemiju).
7. Cassens R.G., Ito T., Lee M., Buege D.(1978). The Use of Nitrite in Meat. *BioScience*. 28(10): 633-637.
8. EFSA (European Food Safety Authority) (2010). EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS); Statement on nitrites in meat products. *EFSA Journal*. 8(5):1538.
9. European Food Safety Authority (2017). EFSA confirms safe levels for nitrites and nitrates added to food. < <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/170615> >
10. Fang F.C. (1997). Perspectives series: host/pathogen interactions. Mechanisms of nitric oxide-related antimicrobial activity. *The Journal of clinical investigation*. 99(12): 2818-2825.
11. Faustman C., Cassens R.G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *Journal of Muscle Foods*. 1(3): 217-243.
12. Feiner G. (2006). *Meat products handbook – Practical science and technology*. Woodhead Publishing Limited, Engleska.
13. Flores M., Toldrá F. (2021). Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products - Invited review. *Meat Science*. 171.
14. García M.A., Beldarraín T., Fornaris L., Díaz R. (2011). Partial substitution of nitrite by chitosan and the effect on the quality properties of pork sausages. *Food Science and Technology International*. 31(2): 481-487.
15. Gassara F., Kouassi A. P., Brar S. K., Belkacemi K. (2016). Green Alternatives to Nitrates and Nitrites in Meat-based Products- A Review. *Food Science and Nutrition*. 56:13, 2133-2148
16. Gøtterup J., Olsen K., Knøchel S., Tjener K., Stahnke L.H., Møller J.K.S. (2008). Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities. *Meat Sci*. 78(4): 492-501.

17. Govari M., Pexara A. (2015). Nitrates and Nitrites in meat products. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 66(3): 127-140.
18. Gray J.I., Macdonald B., Pearson A.M., Morton I.D. (1981). Role of Nitrite in Cured Meat Flavor: A Review. *Journal of Food Protection*. 44(4):302-312.
19. Hammes P.W. (2012). Metabolism of nitrate in fermented meats: The characteristic feature of a specific group of fermented foods. *Food Microbiology* 29(2): 151-156.
20. Honikel K. -O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*. 78: 68-76.
21. Hwang K. E., Kim T. K., Kim H. W., Oh N. S., Kim Y. B., Jeon K. H., Choi Y. S. (2017). Effect of fermented red beet extracts on the shelf stability of low-salt frankfurters. *Food science and biotechnology*. 26(4): 929–936.
22. Jeong J.Y., Bae S.M., Yoon J., Jeong D.H., Gwak S.H. (2020). Effect of Using Vegetable Powders as Nitrite/Nitrate Sources on the Physicochemical Characteristics of Cooked Pork Products. *Food Science of Animal Resources*. 40(5): 831-843.
23. Jin S.K., Choi J.S., Moon S.S., Jeong J.Y., Kim G.D. (2014). The Assessment of Red Beet as a Natural Colorant, and Evaluation of Quality Properties of Emulsified Pork Sausage Containing Red Beet Powder during Cold Storage. *Korean Journal Food Science Animal Resources*. 34(4): 472-481.
24. Kaić A., Mioč B., Kasap A. (2012). Boja kao čimbenik kakvoće janjećeg mesa. *Meso*. 14(5): 426-432.
25. Karolyi D. (2003). Salamureno meso i zdravlje ljudi. *Meso*. 5(5): 16-18.
26. Katalenić M. (2008). Aditivi i hrana. *Medicus*. 17(1): 57-64.
27. Kos I., Bedeković D., Širić I., Vnučec I., Pećina M., Glumpak A., Carović S.K. (2017). Technological characterization and consumer perception of dry fermented game sausages with bay leaf (*Laurus nobilis* L.) essential oil. *Journal of Central European Agriculture*. 18 (4): 794-805.
28. Kovačević D. (2001). *Kemija i tehnologija mesa i ribe*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek.
29. Kovačević D., Mastanjević K., Čosić K., Pleadin J. (2016). Količina nitrita i nitrata u mesnim proizvodima s hrvatskog tržišta. *Meso*. 18(2): 40-46.
30. Larsson K., Darnerud P.O., Ilbäck N.-G., Merino L. (2011). Estimated Dietary Intake of Nitrite and Nitrate in Swedish Children. 28(5):659-665.
31. Lawrie R. A, Ledward D. A. (2006). *Lawrie's Meat Science - 7th Edition*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
32. Morrissey P.A., Sheehy P.J.A., Galvin K., Kerry J.P., Buckley D.J. (1998). Lipid Stability in Meat and Meat Products. *Meat Science*. 49:73-86.
33. Narodne novine (2010): Pravilnik o prehranbenim aditivima<sup>1</sup> (NN 62/2010)
34. Narodne Novine (2018): Pravilnik o mesnim proizvodima (NN 62/2018)
35. Nujić M., Habuda-Stanić M. (2017). NITRATES AND NITRITES, METABOLISM AND TOXICITY. *Hrana u zdravlju i bolesti*. 6 (2): 63-72.
36. Ozaki M.M., Munekata P.E.S., Jacinto-Valderrama R.A., Efraim P., Pateiro M., Lorenzo J.M., Pollonio M.A.R. (2021a). Beetroot and radish powders as natural nitrite source for fermented dry sausages. *Meat Science*. 171.

37. Ozaki M.M., Santos M.D., Ribeiro W.O., Azambuja Ferreira N.C., Picone C.S.F., Domínguez R., Lorenzo J.M., Pollonio M.A.R. (2021b). Radish powder and oregano essential oil as nitrite substitutes in fermented cooked sausages. *Food Research International*. 140.
38. Pavlinić Prokurica I., Bevardi M., Marušić N., Vidaček S., Kolarić Kravar S., Medić H. (2010). Nitriti i nitrati kao prekursori N-nitrozamina u paštetama u konzervi. *Meso*. 12(6): 322-330.
39. Pierson M.D., Smoot L.A., Robach M.C. (1983). Nitrite, nitrite alternatives, and the control of clostridium botulinum in cured meats. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 17(2): 141-187.
40. Pleadin, J., Perši, N., Vulić, A. i Đugum, J. (2009). Kakvoća trajnih, polutrajnih i obarenih kobasica na hrvatskom tržištu. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*. 4 (3-4): 104-108.
41. Riel G., Boulaaba A., Popp J., Klein G. (2017). Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages - Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. *Meat Science*. 131:166-175.
42. Riyad Y.M., Ismail I.M.M., Abdel-Aziz M.E. (2018). Effect of vegetable powders as nitrite sources on the quality characteristics of cooked sausages. *Bioscience research*. 15(3): 2693-2701.
43. Santamaria P. (2005). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86(1): 10-17.
44. Sebranek, J.G., Cassens, R.G., Hoekstra, W.G., Winder, W.C., Podebradsky, E.V. And Kielsmeier, E.W. (1973). <sup>15</sup>N Tracer Studies Of Nitrite Added To A Comminuted Meat Product. *Journal of Food Science*, 38: 1220-1223. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1973.tb07242.x>.
45. Sebranek J. G., Bacus J. N. (2007a). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues?. *Meat Science*. 77(1): 136-147.
46. Sebranek J., Bacus J. (2007b). Natural and Organic Cured Meat Products: Regulatory, Manufacturing, Marketing, Quality and Safety Issues. *American Meat Science Association*. 1: 1-15.
47. Seetaramaiah K., Smith A.A., Murali R., Manavalan R. (2011). Preservatives in Food Products – Review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 2(2): 583-599.
48. Sindelar J. J., Milkowski A. L. (2011). Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats: A Review of Curing and Examining the Risk/Benefit of Its Use. *American Meat Science Association*. 3: 1-14.
49. Sindelar J.J., Cordray J.C., Sebranek J.G., Love J.A., Ahn D.U. (2007). Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. *Journal of Food Science*. 72(6): 388-395.
50. Službeni list Europske unije (2011): Uredba Komisije (EU) br. 1129/2011 od 11. studenoga 2011. o izmjeni Priloga II. Uredbi (EZ) br. 1333/2008 Europskog parlamenta i Vijeća o popisu Unije prehrambenih aditiva.

51. Sucu C., Turp G.Y. (2018). The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. *Meat Science*. 140:158-166.
52. Sugiyama H. (1980). Clostridium botulinum neurotoxin. *Microbiological Reviews*. 44(3): 419-448.
53. Terns M.J., Milkowski A.L., Claus J.R., Sindelar J.J. (2011). Investigating the effect of incubation time and starter culture addition level on quality attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Science*. 88(3): 454-461.
54. Toldrá F. (2010). *Handbook of Meat Processing*. Blackwell Publishing. Ames.
55. Tsoukalas D.S., Katsanidis E., Marantidou S., Bloukas J.G. (2011). Effect of freeze-dried leek powder (FDLP) and nitrite level on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*. 87(2): 140-145.
56. Wruss J., Waldenberger G., Huemer S., Uygun P., Lanzerstorfer P., Müller U., Höglinger O., Weghuber J. (2015). Compositional characteristics of commercial beetroot products and beetroot juice prepared from seven beetroot varieties grown in Upper Austria. *Journal of Food Composition and Analysis*. 42: 46-55.
57. Yong H.I., Kim T.K., Choi H.D., Jang H.W., Jung S., Choi Y.S. (2021). Clean Label Meat Technology: Pre-Converted Nitrite as a Natural Curing. *Food Sci Anim Resour*. 41(2):173-184.

## Životopis

Martina Stvorić rođena je 18.02.1997.godine u Slavanskom Brodu. Osnovnu školu je pohađala i završila u gradu Slavanskom Brodu te po završetku osnovne škole 2011. upisuje Srednju medicinsku školu, smjer medicinska sestra opće njege/medicinski tehničar opće njege koju završava 2016. godine i stječe zvanje medicinske sestre opće njege. Potom 2016. godine upisuje Kemijsko-tehnološki fakultet na Sveučilištu u Splitu, smjer Prehrambena tehnologija te 2019. godine stječe titulu sveučilišni prvostupnik/prvostupnica inženjer/inženjerka prehrambene tehnologije i iste godine upisuje diplomski studij na Agronomskom fakultetu, Sveučilište u Zagrebu, smjer Proizvodnja i prerada mesa. Stručnu praksu tijekom preddiplomskog studija obavlja u Vindon d.o.o, a tijekom diplomskog studija na OPG Barac, pri čemu stječe različita potrebna znanja, vještine i iskustvo korisno za obavljanje poslova u budućnosti. Tijekom cjelokupnog školovanja stječe dobre komunikacijske i organizacijske vještine, sposobnost rada u timu te je otvorena ka svim oblicima usavršavanja i sjecanja novih znanja i vještina. Dobro se služi engleskim jezikom u govoru i pismu te se služi računalnim operativnim sustavom „Microsoft Windows“, programskim paketom „Microsoft Office“, Internetom i komunikacijskim programima (Skype i Zoom). Posjeduje vozačku dozvolu B kategorije, a u slobodno vrijeme se bavi trčanjem i planinarenjem te uživa u vremenu provedenom u prirodi.