

Istraživanje kvalitete smrznutih lignji na hrvatskom tržištu

Pleša Šoštaric, Jelena

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:562442>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-11**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Jelena Pleša Šoštarić

6776/PT

**ISTRAŽIVANJE KVALITETE SMRZNUTIH LIGNJI NA
HRVATSKOM TRŽIŠTU**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Kemija i tehnologija mesa i ribe

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Sanja Vidaček

Zagreb, 2017

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Istraživanje kvalitete smrznutih lignji na hrvatskom tržištu

Jelena Pleša Šoštarić, 0058038696

Sažetak: Cilj ovog rada bio je odrediti kemijski sastav i fizikalne osobine koje utječu na kvalitetu i organoleptička svojstva uzoraka smrznutih lignji (*Loligo gahi*) nekoliko proizvođača prikupljenih u hrvatskim trgovinama. Tijekom ispitivanja, određen je kemijski sastav uzoraka (udio vode, udio proteina, udio masti) te je provedeno ispitivanje pH vrijednosti, koncentracije malondialdehida, sposobnosti vezanja vode i gubitka na masi tijekom kuhanja kao pokazatelja promjena tijekom smrzavanja i skladištenja namirnice. Rezultati analize su pokazali niži udio proteina i viši udio masti i vode od rezultata navedenih u literaturi. Usporedba rezultata dobivenih ispitivanjem fizikalno kemijskih promatranih uzoraka može upućivati na postojanje razlike u kvaliteti smrznutih lignji na hrvatskom tržištu. Uzrok razlike u kvaliteti može biti razlika provedbi smrzavanja, periodu skladištenja i uvjetima skladištenja.

Ključne riječi: kemijski sastav, lignja, smrzavanje

Rad sadrži: 22 stranice, 3 slike, 7 tablica, 29 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Izv. prof. dr.sc. Sanja Vidaček

Pomoć pri izradi: dr.sc. Nives Marušić Radovčić

Datum obrane: 19. rujna 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate studies Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Meat and Fish Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology or Biotechnology or Nutrition

Quality research of frozen squids on Croatian market

Jelena Pleša Šoštarić, 0058038696

Abstract: The aim of this study was to investigate the physico-chemical properties that effect the quality of frozen squids (*Loligo gahi*) sampled from Croatian supermarkets . Analysis of chemical composition was carried out by determination of moisture, fat, and protein. Physical properties were evaluated by analysis of water holding capacity, pH measurement, TBA test and measurment of cooking loss as indicators of changes of meat quality during freezing process and storage. The resultes showed lower protein content and higher fat content than those represented in references. The difference in obtained results of physico-chemical properties can be related to different freezing process conduction, storage condition and duration

Keywords: chemical composition, freezing, squid

Thesis contains: 22 pages, 3 figures, 7 tables, 29 references**Original in:** Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD. Sanja Vidaček, Associate professor

Technical support and assistance: PhD. Nives Marušić Radovčić

Defence date: September 19th 2017

Sadržaj

1	Uvod	1
2	Teorijski dio	2
2.1	Glavonošci	2
2.1.1	Građa i kemijski sastav lignje.....	3
2.1.2	Ulov, skladištenje i prerada	6
2.2	Smrzavanje	6
2.2.1	Brzina smrzavanja.....	7
2.2.2	Promjene tijekom skladištenja smrznutih proizvoda	8
2.2.3	Promjene tijekom odmrzavanja	9
3	Eksperimentalni dio.....	9
3.1	Uzorci.....	9
3.2	Metode rada.....	10
3.2.1	Određivanje udjela vode	10
3.2.2	Određivanje sposobnosti vezanja vode.....	11
3.2.3	Određivanje pH vrijednosti	11
3.2.4	Određivanje udjela proteina	12
3.2.5	Određivanje udjela masti	14
3.2.6	Određivanje koncentracije malondialdehida – TBA metoda	15
3.2.7	Određivanje gubitka na masi (drip loss).....	16
4	Rezultati i rasprava.....	17
5	Zaključak.....	19
6	Literatura.....	20

1 Uvod

Morski plodovi su dobar izvor omega 3 masnih kiselina, bogati su određenim mineralima i vitaminima, a siromašni zasićenim mastima i kolesterolom (Sioen i sur., 2008). Osim navedenog, morski plodovi sadrže visokovrijedne proteine čiji je aminokiselinski sastav sličan proteinima jaja, samo s znatno manjim udjelom sumpora.

Brojna istraživanja su potvrdila kako konzumacija morskih plodova ima pozitivan utjecaj na zdravlje pojedinca: povoljan utjecaj na kognitivni razvoj i vid (Daniels i sur., 2004), smanjenje koronarne bolesti srca (He i sur., 2004).

Potrošnja morskih plodova je u kontinuiranom porastu. 60-tih godina prošlog stoljeća potrošnja morskih plodova na globalnoj razini iznosila je 9,9 kg po stanovniku, a 2016. godine je porasla iznad 20 kg po stanovniku (FAO, 2016).

Značajan dio konzumacije morskih plodova se odnosi na glavonošce.

U ovom radu su ispitani kemijski sastav i svojstva smrznutih lignji od četiri proizvođača (Ledo, Frozy, Nautica, Pedro) koji se nalaze na hrvatskom tržištu. Cilj rada je bio ispitati kvalitetu smrznutih lignji na hrvatskom tržištu.

Na kvalitetu smrznutih proizvoda utječu slijedeći parametri: Kvaliteta namirnice koja se smrzava, brzina smrzavanja, uvjeti skladištenja i brzina odmrzavanja.

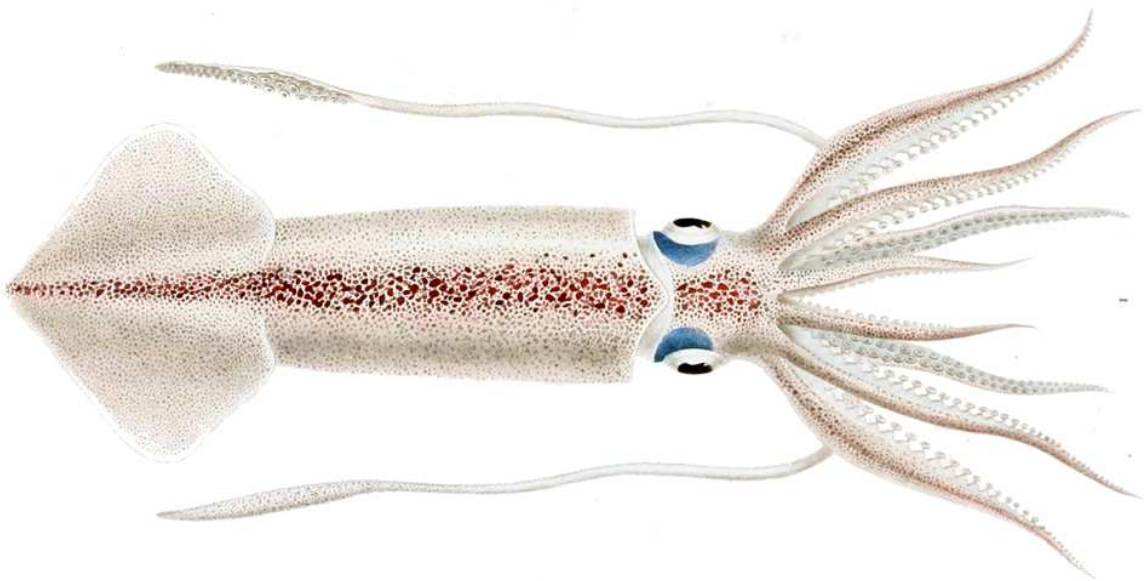
2 Teorijski dio

2.1 Glavonošci

Lignje spadaju u mekušce (*Mollusca*), razred glavonošci (*Cephalopoda*). Glavonošci predstavljaju važan dio morskih plodova i čine 15% svjetske riblje industrije.

Do danas je identificirano oko 600 vrsta glavonožaca, no postoje fosilni ostaci više od 7000 vrsta koje su tijekom evolucije izumrle. Glavonošci su najveći beskralježnjaci, neke vrste lignji (rod *Architeuthis*) mogu doseći dužinu veću od 15 m.

Tijelo glavonožaca je prilagođeno grabežljivom načinu prehrane te su na glavi razvili krakove s prijanjaljkama i kemoreceptorima. Dva središnja kraka su znatno duža i namijenjena su hvatanju plijena. U usnoj šupljini se nalazi kljun sličan papagajskom.



Slika 1. Tijelo glavonošca (lignja)

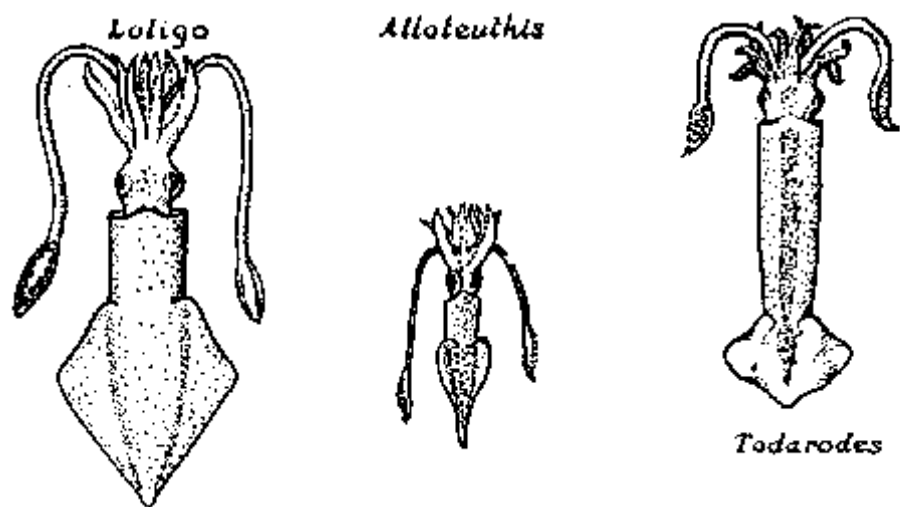
Kreću se kontrakcijom stopala i istiskivanjem vode, a krakovi su pri tom okrenuti prema naprijed, u smjeru kretanja. Lignje se mogu kretati i unatrag i to vrlo brzo.

Glavonošci imaju najnapredniji živčani sustav i osjetilne organe među beskralježnjacima. Imaju vrećicu s pigmentom koji se ispušta iz analnog otvora. Smatra se da taj mehanizam služi za obranu te da alkaloidi koje sadrži vrećica onesposobljavaju

kemoreceptore grabežljivaca poput riba. Osim toga, glavonošci imaju iznimnu sposobnost mijenjanja boje i teksture kože što im, osim za prikrivanje, služi i kao sredstvo međusobne komunikacije.

Za komercijalnu su upotrebu najvažnije vrste dviju velikih porodica lignji: *Ommastrephidae* i *Loliginidae*.

U Jadranu je opisano oko 40 vrsta glavonožaca. Najrasprostranjenije su tri vrste: lignja (*Loligo vulgaris*), lignjun veliki (*Todarodes sagittatus*) i lignjica (*Alloteuthis media*). No, na našem tržištu, u ponudi zamrznutih proizvoda, najviše je zastupljena lignja patagonica (*Loligo gahi*).



Slika 2. Tijela lignje iz porodica *Loligo*, *Alloteuthis* i *Todarodes*

2.1.1 Građa i kemijski sastav lignje

Jestivi dio lignje čini 60 do 80% ukupne mase što je više nego kod bijele ribe. Kemijski sastav je sličan sastavu riba s niskim udjelom masnoća, no od navedenih se razlikuju po mišićnoj strukturi.

Mišić lignje se sastoji od nekoliko slojeva transverzalnih vlakana koji su pokriveni vezivnim tkivom.

Neposredno ispod kože nalaze se stanice koje sadržavaju tamno crveni i smeđi pigment. Kod svježje lignje, taj sloj je vrlo lako uklonjiv zajedno s kožom. Meso svježje oguljene lignje je mliječno bijele boje. Nakon nekoliko dana pohrane u ledu, autolitički

procesu uzrokuju pucanje membrana stanica koje nose pigment što rezultira crvenkastom bojom mesa.

Meso lignji (tijelo i krakovi) sadrži 75 – 84% vode, 13 – 22% sirovih proteina, 0,1 – 2,7% masti i 0,9 – 1,9% mineralnog ostatka (Tablica 1).

Tablica 1. Kemijski sastav lignje

Vrsta	SASTAV (%)			Reference
	Voda	Proteini	Lipidi	
<i>Gonatoidae</i>				
<i>Gonatopsis borealis</i>	81,4	16,8	0,29	Sasaki, 1975
<i>Loliginidae</i>				
<i>Loligo gahi</i>	80,9	15,7	0,86	Pandit and Madag, 1972
<i>Loligo reynaudi</i>	76,3	-	-	Cooper, 1979
<i>Loligo vulgaris</i>	79,7	16,5	0,81	Pandit and Magar, 1972
<i>Sepioteuthis lessoniana</i>	78	19,1	1,32	Sato, 1975
<i>Ommastrephidae</i>				
<i>Ommastrephes bartrami</i>	79,8	17,6	0,34	Sasaki, 1975
<i>Todarodes pacificus</i>	79,6	20,6	0,96	Sato, 1975

Lipidi su uglavnom fosfolipidi i sadrže oko 4% kolesterola. Promatrano na uzorcima četiriju vrsti lignji (Hayashi i Takagi, 1979), dobiveni rezultati su pokazali da 21 – 33% lipida čine zasićene masne kiseline, 8 – 12% čine jednostruko nezasićene, a 57,8 – 70,7% višestruko nezasićene masne kiseline. Zbog visokog sadržaja višestruko nezasićenih masnih kiselina meso lignje je osjetljivo na oksidaciju masti tijekom manipulacije, obrade i skladištenja.

Glavonošci sadrže visoko vrijedne, lako probavljive proteine s visokim udjelom esencijalnih aminokiselina, i to metionin, lizin, triptofan, arginin i histidin. Proteine dijelimo na tri skupine: strukturalni ili miofibrilarni (aktin, miozin, paramiozin), sarkoplazmatske (mioalbumin, globulini, enzimi) te kolagen. Sarkoplazmatski proteini čine oko 15% od

ukupnog udjela proteina, dok udio kolagena varira, ovisno o vrsti i dijelu lignje (tijelo, ili krakovi) od 3% do 16% (Kolodziejaska, 1985). Strukturalni proteini lignje su znatno više topivi u vodi, od strukturalnih proteina riba i sisavaca. Višestrukum ekstrakcijom s destiliranom vodom, moguće je izdvojiti i do 85% ukupnih proteina mišića lignje.

Paramiozin je strukturalni protein kojeg pronalazimo u beskralježnjacima, a čini oko 14% strukturalnih proteina lignje (Horie i sur., 1975). Smatra se da on ima povoljan utjecaj na smanjenje denaturacije proteina u smrznutim lignjama (Iguchi i sur., 1981)

Mineralni i vitaminski sastav je ovisan o nekoliko faktora (vrijeme ulova, hranidba, uvjeti skladištenja od ulova do potrošača) stoga se najčešće iskazuje kao gruba procjena (Tablica 2 i Tablica 3). Podaci o mineralnom i vitaminskom sastavu u literaturi su vrlo oskudni.

Tablica 2. Mineralni sastav mesa lignje (Sidwell i sur., 1977)

	mg/100g		mg/100g		mg/100g
P	153 - 420	Fe	0,5 - 18,8	Mn	20 - 80
K	246 - 313	Zn	0,8 - 8,4	Hg	1 - 30
Na	176	Cu	0,2 - 1,6	I	20
Ca	10 - 109	Cd	0,01 - 0.5	Pb	0,7 - 16
MG	20				

Tablica 3 Vitaminski sastav lignje (Sidwell i sur., 1978)

	µg/100g		µg/100g
Askorbinska kiselina	4900	Piridoksin	70 - 1300
Tiamin	8 - 201	Folna kiselina	12
Riboflavin	50 - 836	Vitamin B₁₂	1,3 - 13
Niacin	1,2 - 5,6	Pantotenska kiselina	680

2.1.2 Ulov, skladištenje i prerada

Lignja patagonica je rasprostranjena duž pacifičke obale Južne Amerike te na području Patagonije.

Nakon ulova, lignje se ispiru vodom i pohranjuju u led neočišćene. Omjer težine lignje i leda mora biti najmanje 1 : 3.

Neočišćene lignje mogu biti pohranjene u ledu do 8 dana bez promjene organoleptičkih svojstava. Nakon 8 dana dolazi do promjene boje mesa i okusa, a nakon 13 do 14 dana, lignja postaje nejestiva.

Prije smrzavanja, lignje se ispiru vodom. Odsijecaju se krakovi, uklanja se glava te se trup čisti od iznutrica i rožnatog streličastog listića (*proostracum*) koji podupire tijelo. Tijelo lignje može ostati cijelo ili se reže na kolutiće. Kožu je moguće odstraniti s tijela uz prethodno blanširanje (15 sekundi na 25 – 30 °C).

2.2 Smrzavanje

Produljenje trajnosti hrane procesom smrzavanja se temelji na kombiniranom efektu sniženja temperature hrane te kristalizaciji i izdvajanju kemijski čiste vode, što rezultira koncentriranjem unutarstanične i izvanstanične tekućine, smanjenjem a_w hrane, blagim sniženjem pH vrijednosti, inhibicijom enzimskih reakcija i inhibicijom razvitka mikroorganizama (Kovačević, 2001).

Tijekom transporta od mjesta ulova do mjesta prerade ili prodaje lignje su pohranjene između slojeva leda. Zbog stalnog procesa otapanja vode i kontakta iste s lignjama, dolazi do "ispiranja" u vodi topivih komponenti, stoga pohrana u ledu mora trajati što kraće. Lignje za zamrzavanje moraju biti visoke kvalitete bez oštećenja, najviše do 6 dana pohranjene u ledu.

Smrzavanje uzrokuje određene veće ili manje ireverzibilne promjene u namirnici. Te promjene su posljedice, direktne i indirektno, tvorbe leda, a u funkciji su brzine smrzavanja: što je smrzavanje brže, to su promjene manje i obrnuto. Naime, kod većih brzina smrzavanja dolazi do tvorbe manjih kristala leda koji u manjoj mjeri oštećuju tkivo, dok kod sporijeg smrzavanja dolazi do tvorbe većih kristala leda. Nadalje, do promjena u namirnici dolazi i

zbog narušavanja ravnoteže u polidisperznom sustavu stanice zbog izlaženja vode iz sustava što se odražava u povećanoj koncentraciji elektrolita, dehidraciji i percipitaciji koloida.

Za potpuni prestanak i mikrobiološke i fermentativne aktivnosti lignje bi trebalo zamrznuti pri temperaturi od $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ što bi rezultiralo neograničenom trajnošću namirnice, no kako to nije ekonomski isplativo, smrzavanje se vrši tako da se postigne temperatura od $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tablica 4. Ovisnost trajnosti smrznute ribe s niskim udjelom masnoće o temperaturi skladištenja (FAO, 1994)

Trajnost (mjeseci)		
$-18\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-24\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-30\text{ }^{\circ}\text{C}$
9	12	24

Kod postupka smrzavanja namirnica lignje prolaze kroz tri faze pada temperature:

- Brzi pad temperature do krioskopske točke (od $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- Spori pad temperature u zoni maksimalne kristalizacije
- Brzi pad temperature do zadane temperature ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Za optimalnu kvalitetu proizvoda potrebno je skratiti vrijeme koje namirnica provede u zoni maksimalne kristalizacije kada se događa najsporiji pad temperature (Šoša, 1989).

2.2.1 Brzina smrzavanja

Brzina smrzavanja se, definira kao brzina kretanja fronte leda ili kao vrijeme potrebno da temperatura namirnice padne s $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ na zadanu temperaturu (FAO, 1994; Lawrie, 1998).

Postupci zamrzavanja hrane svrstavaju se prema brzini smrzavanja (Lovrić, 2003):

- spore, kod kojih je brzina kretanja fronte leda 0.1 do 0.2 cm/sat ;
- brze, sa kretanjem fronte 0.5 do 3 cm/sat ;
- vrlo brze, sa brzinom kretanja fronte leda u hrani od 5 do 10 (i više) cm/sat .

Sporiji proces smrzavanja uzrokovat će veći stupanj oštećenja tkiva što će se manifestirati kroz stvaranje iscjetka (drip loss-a) odmrznutog tkiva te smanjenom sposobnošću vezanja vode. Što je brzina smrzavanja brža stvara se veliki broj manjih kristala leda koji ne oštećuju stanične membrane i zadržavaju stanični sok. Kristali se raspodjeljuju podjednako intra i ekstracelularno. Za razliku od sporog smrzavanja kod kojeg nastaju veliki kristali, uglavnom ekstracelularno koji oštećuju stanične membrane. Kod sporog smrzavanja, izražen je veći stupanj denaturacije proteina i to u najvećoj mjeri u zoni maksimalne kristalizacije.

2.2.2 Promjene tijekom skladištenja smrznutih proizvoda

Promjene u namirnicama koje se događaju tijekom procesa smrzavanja, nastavljaju se i za vrijeme skladištenja, samo su znatno smanjenog intenziteta. One se mogu podijeliti u tri grupe, a ovisne su o temperaturi skladištenja te fluktuaciji temperature:

- promjene kemijske i biokemijske prirode (oksidacija masti, denaturacija proteina);
- rekristalizacija leda;
- dehidratacija.

Oksidacija masti je neizbježna posljedica dugotrajnog skladištenja u smrznutom stanju, jer se lipolitički enzimi ne uništavaju pri temperaturama smrzavanja, tako da njihova aktivnost uvjetuje oksidaciju masti.

Promjene na proteinima tijekom smrzavanja i skladištenja u smrznutom stanju prvenstveno se javljaju na miofibrilarnim proteinima koji su ujedno i najznačajniji proteini s tehnološkog aspekta (Tejada, 2001).

U mišićnom vlaknu prije smrzavanja, glave miozina su raspoređene tako da sa filamentima aktina čine tipični heksagonalni sustav, tako da je svaki miozinski filament okružen sa 6 filamenata aktina, a svaki aktinski filament sa 3 miozinska. Miofibrilarni proteini tim rasporedom čine trodimenzionalnu strukturu koja je od osnovne važnosti za sposobnost vezanja vode. Tijekom skladištenja u smrznutom stanju, heksagonalna struktura postaje zbijenija i nepravilnija. Dolazi do smanjenja udjela α -uzvojnica u miozinskoj molekuli, povećava se udio β -strukture, hidrofobne veze postaju izložene, što dovodi do hidrofobnih interakcija između proteina, njihove denaturacije i agregacije (Vidaček, 2006). Navedene promjene imaju negativan utjecaj na organoleptička svojstva mesa.

Rekristalizacija je značajan problem u tehnologiji smrzavanja, a posljedica je fluktuacije temperature tijekom skladištenja. Uslijed neodgovarajućih uvjeta skladištenja u smrznutom

stanju (temperatura i trajanje), te fluktuacije dolazi do denaturacije mišićnih proteina što dovodi do smanjenja sposobnosti vezanja vode te stvaranja suhe i tvrde teksture.

2.2.3 Promjene tijekom odmrzavanja

Odmrzavanje je postupak kojim se smrznutoj lignji podiže temperatura na $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, odnosno iznad krioskopske točke.

Glavne promjene na proteinima mesa lignje tijekom odmrzavanja zbivaju se, kao i prilikom smrzavanja te je postupak odmrzavanja potrebno provesti u što kraćem vremenu (Šoša, 1989).

Potrebno je osigurati brzinu odmrzavanja koja će osigurati minimalan stupanj dehidracije, pojave drip loss-a i mikrobiološke aktivnosti (Garthwaite, 1997).

3 Eksperimentalni dio

3.1 Uzorci

Ispitivanje fizikalnih i kemijskih parametara je provedeno na uzorcima očišćenih smrznutih lignji od 4 različita proizvođača (Frozy - 1, Ledo - 2, Nautica - 3, Pedro - 4). Uzorci su pripremljeni usitnjavanjem u blenderu (zajedno tijelo i krakovi).

3.2 Metode rada

3.2.1 Određivanje udjela vode

Pod pojmom količina vode u namirnici, podrazumijeva se gubitak na težini uzrokovan sušenjem do konstantne mase.

Određivanje udjela vode provedeno je AOAC (Association of Official Analytical Chemists) metodom broj 950.46 (Moisture in meat, 1984). Izvaže se oko 3 g uzorka koji se homogenizira gnječenjem u Al-zdjelicama označenim brojevima od 1-8. Za određivanje udjela vode uzorci su sušeni na 103 ± 2 °C do postizanja konstantne mase.

U niske Al-posudice napuni se kvarcni pijesak (oko 5 grama) i postavi stakleni štapić, te se sve zajedno postavlja u sušionik na zadanu temperaturu. Posudice se suše oko 30 minuta (nakon što se postigne temperatura), bez poklopca (poklopac se nasloni za zdjelicu). Zatim se posudice poklope dok su još u sušioniku, hlade u eksikatoru do sobne temperature (30 min), nakon čega se važu na vazi (m_0) te se ta masa upiše u tablicu (moguće je osušiti ih dan prije i čuvati u eksikatoru do upotrebe).

U izvagane i osušene Al-posudice doda se oko 3 g homogeniziranog uzorka, lagano pomiješa s kvarcnim pijeskom pomoću staklenog štapića, te se posudice poklope i izvažu (m_1).

Posudice s uzorkom se otklope i postave u sušionik na 2.5 h na zadanu temperaturu (vrijeme se mjeri nakon što se postigne željena temperatura), nakon čega se opet poklapaju, hlade u eksikatoru do sobne temperature (30 min), te važu (m_2). Postupak se ponavlja sve dok se dva uzastopna mjerenja (nakon 1 sat sušenja) ne razlikuju više od 0,1%. Obično su dovoljna 2 ciklusa.

Udio vode (%) računa se prema formuli:

$$w(H_2O) = (m_1 - m_2) / (m_1 - m_0) \times 100$$

gdje je

m_0 - masa Al-posude sa kvarcnim pijeskom i poklopcem (g)

m_1 – masa Al-posude sa pijeskom i neosušenim uzorkom i poklopcem (g)

m_2 – masa Al-posude sa osušanim uzorkom i poklopcem (g)

3.2.2 Određivanje sposobnosti vezanja vode

Sposobnost vezanja vode je određena metodom po Grau i Hammu (1953).

Odvagne se oko 2g usitnjenog uzorka mesa lignje te se stavi između dva, prethodno izvagana filter papira. Zatim se filter papiri s uzorkom polože između dvije staklene ploče, a kompresija se vrši opterećivanjem ploče utegom od 200g u trajanju od 15 min.

Nakon završetka kompresije zaostalo meso se odvoji od filter papira koji se važe. Količina istisnute tekućine dobije se iz razlike mase filter papira prije i poslije kompresije, a izražava se u postocima na masu uzorka koji se ispituje. Mjerenje je provedeno na 9 uzoraka, po tri paralelne probe za svakog proizvođača.

Masa istisnute tekućine:

$$m = m_2 - m_1$$

Količina istisnute tekućine : (%) = $m_3 \times 100 / m_0$

gdje je :

m_3 = masa istisnute tekućine (g)

m_2 = masa filter papira nakon kompresije (g)

m_1 = masa filter papira (g)

m_0 = masa ispitivanog uzorka (g)

3.2.3 Određivanje pH vrijednosti

Oko 10g usitnjenog i homogeniziranog fileta se stavi u laboratorijsku čašu u koju se doda 40ml destilirane vode, te se promiješa sa staklenim štapićem. Mjerenje započinje uranjanjem elektrode u otopinu, a završava kada se pH vrijednost ustali nakon određenog vremena.

Mjerenje je provedeno na 4 uzorka.

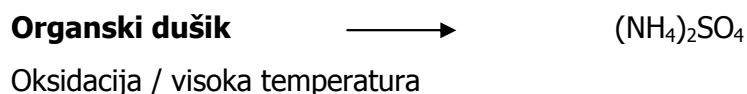
3.2.4 Određivanje udjela proteina

Određivanje je provedeno prema 981.10 AOAC metodi (Crude protein in meat, 1999) koja se zasniva na Kjeldahl-ovom principu određivanja količine dušika prisutnog u uzorku. Metoda se još naziva i „blok“ metodom, a sastoji se od zagrijavanja uzorka sa koncentriranom sumpornom kiselinom, destilacije i titracije. Destilacija se provodi u Kjeltec 2100 uređaji. Zagrijavanjem uzorka dolazi do potpune oksidacije organske tvari na CO₂ i H₂O, dok se dušik oslobađa u obliku NH₃ i sa sumpornom kiselinom daje amonijev sulfat ((NH₄)₂SO₄).

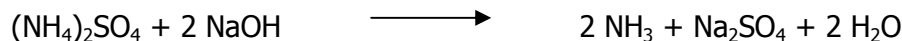
U drugoj fazi određivanja (destilacija) djelovanjem lužine na amonijev sulfat oslobađa se amonijak koji se predestilira vodenom parom u tikvicu s kiselinom poznate koncentracije. Višak kiseline odredi se titracijom. Iz dobivenog postotka dušika izračuna se količina proteina u uzorku.

Mineralizacija

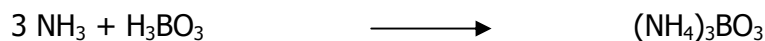
H₂SO₄ + Kjeldahl katalizator



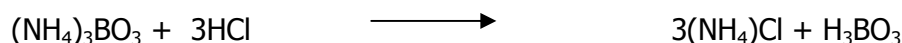
Alkalizacija s NaOH u suvišku



Destilacija u bornu kiselinu u suvišku



Titracija amonijevog borata solnom kiselinom



Mjerenje je provedeno na 2 paralelna uzorka.

Postupak:

Na listiću aluminijske folije odvaži se 2 grama uzorka s točnošću $\pm 0,1$ mg, uzorak se umota u foliju, te se prebaci u Kjeldahl-ovu epruvetu za spaljivanje od 250 ml. U epruvetu se dodaju redom: 2-3 kamenčića za vrenje, 2 tablete Kjeldahl katalizatora (ili 7 g K_2SO_4 + 0,8 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$), 14 ml koncentrirane H_2SO_4 i 5 ml 30-35%-tnog vodikovog peroksida (H_2O_2). Sadržaj epruvete lagano se promiješa kako bi se uzorak u potpunosti navlažio. Po završetku reakcije, stalak sa epruvetama postavi se u digestijsku jedinicu za mineralizaciju, postavi se poklopac i uključi se sistem za odvod para. Prvih 10 minuta spaljivanje ide uz maksimalan protok vode (10 minuta) nakon čega se protok vode mora smanjiti na 50%. Mineralizacija uzorka provodi se 60 minuta. Na kraju postupka tekućina u epruvetama treba biti bistra i svijetlo zelene boje. Epruvete se zajedno sa stalkom izvade iz digestijske jedinice i ostave hladiti zajedno s poklopcem do sobne temperature. Ohlađeni uzorak razrijedi se sa 80 ml H_2O .

Na postolje u destilacijskoj jedinici postavi se Erlanmayer-ova tikvica u kojoj se nalazi 25 ml borne kiseline, i podigne u gornji položaj tako da je destilacijska cjevčica uronjena u otopinu. U Kjeldahl-ovu epruvetu doda se 50 ml 40 % NaOH, te se ona postavi na slobodno mjesto u uređaju. Destilacija se odvija 4 minute. Destilat je zelene boje što ukazuje na prisustvo amonijaka. Destilat mora biti hladan jer će u protivnom (što je destilat topliji) doći do gubitka amonijaka.

Dobiveni destilati i slijepe probe titriraju se sa standardom HCl-a (0.2 N) do promjene boje u blijedo ljubičastu, te se zabilježi potrošeni volumen kiseline potreban za neutralizaciju.

Udio dušika računa se prema formuli:

$$\% N = \frac{(T - B) * c(HCl) * 14,007 * 100}{m(uzorak) [mg]}$$

gdje je:

T – utrošeni mL 0,2 M otopine HCl za titraciju uzorka

B -utrošeni mL 0,2 M otopine HCl slijepe probe

$c(HCl) = 0,2$ mol/L

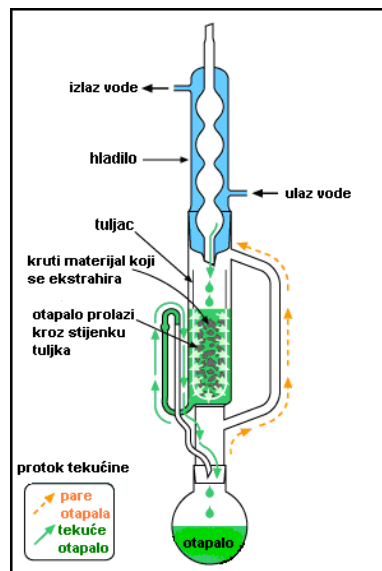
Iz dobivenog %-tka dušika množenjem sa faktorom za meso dobije se ukupni postotak proteina u uzorku

$$\% proteina = \% N \times 6,25$$

3.2.5 Određivanje udjela masti

Određivanje udjela masti provedeno je AOAC metodom broj 991.36 (Fat (crude) in meat and meat products, 1999). Metoda se još naziva metodom po Soxhlet-u, a zasniva se na ekstrakciji lipida iz krutog uzorka pomoću organskog otapala. Ekstrakcijom masti po Soxhlet-u određuju se slobodna mast. Aparatura se sastoji od tikvice, ekstraktora, i hladila i prikazana je na slici 3.

Mjerenje je provedeno na dva paralelna uzorka.



Slika 3. Shematski prikaz aparature po Soxhlet-u

Postupak:

U odmašćeni tuljac za ekstrakciju izvaže se oko 10 g usitnjenog uzorka. Izvagani uzorak u tuljcu zatvori se vatom. Tuljac se postavi u ekstraktor aparata po Soxhlet-u, spoji se tikvica u koju su stavljene 1-2 staklene kuglice za vrenje i doda potrební volumen otapala etera ili petrol-etera. Otapalo se predestilira, a ekstrakt se skuplja u izvaganu tikvicu. Ekstrakcija se provodi 8 sati. Nakon završene ekstrakcije, otpari se otapalo, a ostatak u tikvici suši 60 minuta pri 103 ± 2 °C, ohladi i važe. Sušenje se ponavlja po 30 minuta do konstantne mase.

Udio masti računa se prema formuli:

$$\% \text{ masti} = \frac{m_1}{m_0} \cdot 100$$

gdje je:

m_0 - masa uzorka fileta (g)

m_1 - ukupna masa ekstrahirane masti (g)

3.2.6 Određivanje koncentracije malondialdehida – TBA metoda

TBA metoda (Vyncke, 1970) je metoda za određivanje sekundarnih produkata oksidacije lipida kao indikator smanjene kvalitete ili kvarenja mesa ili mesnih proizvoda.

Metoda s tiobarbiturnom kiselinom (TBA metoda) se temelji na kolorimetrijskoj reakciji između tiobarbiturne kiseline (TBA) i malondialdehida (MDA), te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja na 538 nm.

Odvaže se se 20g usitnjenog uzorka i stavi u čašu od 100ml u koju se doda 40ml 7.5%-tne trikloroetene kiseline. Uzorak i trikloroetena kiselina se dobro homogeniziraju na Ultraturaxu te se ostave 30 minuta da odstoje. Nakon 30 minuta svi uzorci se filtriraju u Erlenmayerove tikvice te se iz svake tikvice prenese 5ml filtrata u shottice. U shotticu namijenjenu za slijepu probu umjesto 5ml uzorka stavi se 5ml vode.

Nakon toga, u svaku se shotticu doda po 5ml otopine tiobarbiturne kiseline. Tube se zatvore te se stave u parnu kupelj na 100 °C točno 40 minuta.

Nakon 40 minuta zatvorene se tube brzo se ohlade pod vodom te im se na spektrofotometru odredi valna duljina na 538nm.

Nakon određivanja valne duljine, koncentraciju malondialdehida odredimo pomoću baždarnog pravca.

Mjerenje je provedeno na 8 uzoraka, po dvije paralelne probe za svakog proizvođača.

3.2.7 Određivanje gubitka na masi (drip loss)

Uzorci su izvagani (oko 20 grama) i stavljeni u vrećice te podvrgnuti toplinskoj obradi. Nakon kuhanja se iz vrećice istisne tekućina otpuštena tijekom kuhanja te se uzorak ponovno važe.

Gubitak na masi računa se prema sljedećoj formuli:

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

gdje je

m_0 - masa vrećice (g)

m_1 – masa vrećice s uzorkom (g)

m_2 – masa vrećice s uzorkom nakon kuhanja (g)

4 Rezultati i rasprava

U ovom poglavlju prikazani su rezultati ispitivanja fizikalno kemijskih svojstava mesa lignji.

Prosječna pH vrijednost ispitivanih uzoraka iznosila je 6,7.

Kemijski sastav je prikazan u tablici 5. U odnosu na druge proizvode ribarstva, lignje imaju nešto niži udio proteina. Ozogul i sur. (2007) navode kako udio proteina u uzorcima svježe lignje *L. vulgaris* ulovljene u Sredozemnom moru nije značajno ovisan o sezoni ulova i iznosi 17,44 – 18,60%. Prema navodima drugih autora (Sasaki, 1975; Pandit and Madag, 1972; Sato, 1975), udio proteina u uzorcima četiriju porodica lignji (*Gonatopsis sp.*, *Loligo sp.*, *Sepioteuthis sp.* i *Omastrephes sp.*) iznosi 15,7 – 20,6%. U odnosu na kemijski sastav svježe lignje objavljen u dostupnoj literaturi, istraživani uzorci imaju smanjen udio proteina. Ozogul i sur. (2007) navode kako udio masti u uzorcima svježe lignje *L. vulgaris* ulovljene u Sredozemnom moru varira od 1,34 - 1,92%, ovisno o sezoni ulova. Udio masti u promatranim uzorcima četiriju porodica lignji (*Gonatopsis sp.*, *Loligo sp.*, *Sepioteuthis sp.* i *Omastrephes sp.*) prema navodima drugih autora (Sasaki, 1975; Pandit and Madag, 1972; Sato, 1975) varira ud 0,29 - 1,32%. U odnosu na kemijski sastav svježe lignje objavljen u dostupnoj literaturi, istraživani uzorci imaju povećan udio masti, no budući da lignje općenito ne sadržavaju visok udio masti, dobiveni rezultati, iako pokazuju veće vrijednosti od onih navedenih u literaturi, ne ukazuju na lošiju kvalitetu.

Dobivene vrijednosti za vodu su nešto više od vrijednosti udjela vode dobivenih na uzorcima četiriju porodica lignji (Sasaki, 1975; Pandit and Madag, 1972; Sato, 1975) koji su iznosili 78 - 81,4%.

Tablica 5. Kemijski sastav mesa lignji s hrvatskog tržišta

uzorak	masti	proteini	voda
1	1,91 ± 0,04	12,53 ± 0,87	83,92 ± 0,59
2	2,06 ± 0,09	11,93 ± 0,25	83,03 ± 0,12
3	2,62 ± 1,08	11,79 ± 0,09	84,98 ± 0,60
4	1,47 ± 0,00	15,91 ± 0,01	80,41 ± 0,70

U tablici 7 je prikazana rezultati koncentracije malondialdehida koji su dobiveni spektrofotometrijski. Ke i Woyewoda. (1976) navode da vrijednosti koncentracije malondialdehida treba biti manja od 10 $\mu\text{mol/kg}$ kako ne bi došlo do narušavanja organoleptičkih svojstava (užeglost). Dobiveni rezultati zadovoljavaju navedeni kriterij. Na uzorku 4 je dobivena skoro dvostruko viša vrijednost koncentracije malondialdehida u odnosu na preostale uzorke, što ukazuje na prisutnost oksidacije masti u njemu.

Tablica 7. Koncentracija malondialdehida smrznutih lignji s hrvatskog tržišta

uzorak	c MA (μM)
1	0,479
2	0,454
3	0,309
4	0,763

U tablici 8 su prikazani rezultati ispitivanja sposobnosti vezanja vode koja je važan parametar koji utječe na senzorska svojstva namirnice. Što je sposobnost proteina da zadrži vodu veća to će biti manji gubitak na masi proizvoda i bolja funkcionalna i tekstualna svojstva istog. Zavadlav i sur. (2016) su ispitivali sposobnost vezanja vode na uzorcima smrznute *L. gahi* tijekom 240 dana. Smrznuti uzorci skladišteni 60 dana na temp -18°C imali su vrijednost $30,13 \text{ mLg}^{-1}$. Sposobnost vezanja vode se smanjivala s vremenom skladištenja. Rezultati dobiveni u ovom radu pokazuju razliku u sposobnosti vezanja vode u ispitivanim uzorcima što može ukazivati na različit period skladištenja smrznutog proizvoda ili moguće višestruko smrzavanje izazvano neadekvatnim uvjetima skladištenja, te je uzorak br 4 ima najlošija svojstva

Tablica 8. Sposobnost vezanja vode uzoraka lignji s hrvatskog tržišta

Uzorak	% vode
1	$30,60 \pm 3,01$
2	$40,71 \pm 3,35$
3	$40,53 \pm 0,87$
4	$28,81 \pm 0,29$

Otwell i Hamann (1979) navode kako drip loss mišićja lignje može varirati od 25% - 45%, a o duljini skladištenja u ledu. Prosječna vrijednost drip lossa za uzorke ispitivanje u ovom radu je iznosila 33,76% što je u skladu s literaturnim navodom.

5 Zaključak

Rezultati analize smrznutih lignji s hrvatskog tržišta su pokazali niži udio proteina i viši udio masti i vode od rezultata navedenih u literaturi.

Usporedbom uzoraka prisutnih na hrvatskom tržištu utvrđeno je postojanje razlika u funkcionalnim svojstvima proteina, odnosno sposobnosti vezanja vode te u stupnju oksidacije masti, pri čemu je jedan uzorak odstupao značajnije od ostalih.

Budući da na kemijski sastav namirnice i njena fizikalna svojstva utječe postupak smrzavanja te duljina i uvjeti skladištenja smrznutih proizvoda, međusobnom usporedbom rezultata dobivenih analizom u ovom radu, možemo zaključiti da postoji razlika u kvaliteti smrznutih lignji na hrvatskom tržištu. Značajan parametar koji može biti pokazatelj te razlike je sposobnost vezanja vode koja upućuje na različito trajanje i uvjete skladištenja (moguće višestruko smrzavanja) analiziranih uzoraka.

6 Literatura

1. Daniels, J.I., Longnecker, M.P., Rowland, A.S. i Golding, J. (2004) Fish intake during pregnancy and early cognitive development of offspring. *Epidemiology*, **15**, 402 – 384.
2. Garthwaite, G.A. (1997) Chilling and freezing of fish. U: *Fish Processing Technology* (Hall, G.M. ured.), Blackie Academic & Professional, London, str. 93-118.
3. Huss, H.H. (1995) Quality changes in fresh fish. FAO Fish. Tech. Pap., Roma.
4. Kovačević, D. (2001) Kemija i tehnologija mesa i ribe, Sveučilište J.J. Strossmayer, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.
5. Lovrić, T. (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Hinus, Zagreb, str.101 – 131.
6. Paarup, T., Sanchez, J.A., Moral, A., Christensen, H., Bisgaard, M., Gram, L. (2002) Sensory, chemical and bacteriological changes during storage of iced squid. *Journal of Applied Microbiology*, **92**: 941 -950.
7. Pandit, A.R. i Magar N.G. (1972) Chemical composition of *Sepia orientalis* and *Loligo vulgaris*. *Fishery Technology*, **9**: 122 – 25.
8. Sasaki, M. (1975) On processing of squid fished off Kushiro, Hokkaido. *Kushiro Fisheries Experimental Station*, **35**: 11 – 18.
9. Sato, T. (1975) Characteristics of squid flesh from the view of processing. U: Development and utilization of world cephalopod resources. Tokyo, Japanese Fisheries Agency, 201 -13.
10. Sioen, I., Camp, J.V., Verdonck, F., Verbeke, W, Vanhonacker, F., Willems, J. i Henauw. S. (2008) Probabilistic intake assessment of multiple compounds as a tool to quantify the nutritional toxicological conflict related to seafood consumption. *Chemosphere*, **73**: 1066 - 1059.
11. Cooper, J. (1979) Length – mass relationships, water content and energy values for two species of squid *Loligo reynaudi* and *Todaropsis eblanae* off the south western Cape. *Fisheries Bulletin of South Africa*, **11**: 43 – 45.
12. FAO (1994) Freezing and refrigerated storage in fisheries – Influence of temperature, [<www.fao.org/docrep/003/>](http://www.fao.org/docrep/003/) . Pristupljeno :15.8.2017
13. FAO (2016) Global per capita fish consumption rises above 20 kilograms a year, [<www.fao.org/news/story/en/item/421871/icode/>](http://www.fao.org/news/story/en/item/421871/icode/) . Pristupljeno 15.8.2017.

14. Garthwaite, G.A. (1997) Chilling and freezing of fish. U: *Fish Processing Technology* (Hall, G.M. ured.), Blackie Academic & Professional, London, str. 93-118.
15. Hayashi, K. i Takagi, T (1979) Browning of dried seasoned squid product. 1. On the chemical constituents for amino – acids and fatty acids of squid mantles. Hokkaido Daigaku Suisangankabu Kenkyi Ito, **30**: 288 – 93.
16. He, K., Song, Y., Daviglius, M.I., Liu, K., Horn, L., Dyer, A.R. i Greenland, R. (2004) Accumulated aviseance on fish consumptionand coronary heart disese mortality: A meta – analysis iscohort studies. *Curculation*, **109**: 2705 – 2711.
17. Horie, N., Tsuchiya, T. i Matsumoto, J.J. (1975) Studies on ATPase activity of actomyosin of squid mantle muscle. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fisheries*, **41**: 1039 – 45.
18. Iguchi, S.M.M., Tsuchiya, T. i Matsumoto, J.J. (1981) Studies on the freeze denaturation of squid actomyosin. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fisheries*, **47**: 1499 – 506.
19. Lawrie, R.A. (1998) Meat Science, 6.izd., Pergamon Press, New York.
20. Ke, P.J., Woyewoda, A.D. (1979) Determination of thiobarbituric acis values in marine lipids by a direct spectrophotometric method whit a monophasic reaction system. *Analytical Chimica Acta*, **106**: 279 - 284
21. Kolodziejska, I. (1985) The proteins of squid meat. U: Proceedings of the XXXI European Meeting of Meat Research Workers, Albena, **1**: 175 – 178.
22. Otwell, W.S. i Hamann, D.D. (1979) Textural characterization of squid (*Loligo pealei*): Instrumental and panel evaluation. *J. Food Sci*, **44**: 1635 - 1643
23. Ozogul, Y., Duysak, O., Ozogul, F., Ozkutuk, A.S. i Tureli, C. (2007) Seasonal effects int he nutritional quality of the body structual tissue od cephalopods. *Food Chemistry*, **108**: 847 - 852.
24. Sidwell, V.D., Buzzell, D.H., Foncannon, P.R. i Smith, A.L., (1977) Composition of edible portion of raw (fresh or frozen) crustaceans, finfish and mollusks. II. Macroelements sodium, potassium, chlorine, calcium, phosphorus and magnesium. *Marine Fisheries Rev.*, **39 (1)**: 1 – 11.
25. Sidwell, V.D., Loomis, A.L., Foncannon, P.R. i Buzzell, D.H. (1978b) Composition of edible portion of raw (fresh or frozen) crustaceans, finfish and mollusks. IV. Vitamins. *Marine Fisheries Rev.*, **40 (12)**: 1 – 16
26. Sikorski, Z.E. i Kolodziejska, I. (1986) The composition and properties of squid meat. *Food Chemistry*, **20(3)**: 213 – 224.
27. Šoša, B. (1989) Higijena i tehnologija prerade morske ribe, Školska knjiga, Zagreb.


28. Tejada, M. (2001) Aggregation of Myofibrillar Proteins During Frozen Storage of Fish. U: Novel Processes and Control Technologies in the Food Industry (Bozoglu, F., Deak, T., Ray, B. ured.), IOS Press, Amsterdam, str. 212-226.
29. Vidaček, S. (2006) Bioelektrička impedancijska analiza pri utvrđivanju promjene kvalitete odmrznutog ribljeg mišićja. Doktorska disertacija, Prehrambeno – biotehnološki fakultet. Zagreb.
30. Zavadlav, S., Janči, T., Lacković, I., Karlović, S., Vidaček, S. (2016) Assessment of storage time of frozen squids (*Cephalopod: Loliginidae, Loligo gahi*) by impedance analysis. U: Book of abstracts 8th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists (Hruškar M. ured.), 46th WEFTA Conference, Split, str. 19 – 22.

Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



ime i prezime studenta