

# Trajnost svježeg svinjskog mesa pakiranog u modificiranu atmosferu

---

**Perkušić, Ružica**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2016**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:640116>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-06-26**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2016.

Ružica Perkušić

636/PI

**TRAJNOST SVJEŽEG SVINJSKOG  
MESA PAKIRANOG U  
MODIFICIRANU ATMOSFERU**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof.dr.sc. Helge Medić, te uz pomoć dr.sc. Nives Marušić Radovčić, više asistentice.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno – biotehnološki fakultet  
Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe  
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### TRAJNOST SVJEŽEG SVINJSKOG MESA PAKIRANOG U MODIFICIRANU ATMOSFERU

*Ružica Perkušić, 636/PI*

#### **Sažetak:**

*Cilj ovog rada bio je odrediti trajnost svježeg svinjskog mesa pakiranog u modificiranoj atmosferi (MAP). Ispitivani su uzorci svježeg svinjskog buta pakiranog u MAP s 70% kisika te 30% ugljikovog dioksida. Kontrolni uzorak bio je svinjski but pakiran u atmosferi zraka. Metodom kojom je određen broj ukupnih aerobnih mezofilnih bakterija je bila standardna metoda HRN ISO 4833-1:2013. Mjerena je i promjena boje uzoraka tijekom 8 dana skladištenja pomoću spektrofotometra gdje su praćeni parametri  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ . Nakon mikrobiološke analize zaključeno je da je rok trajnosti za meso pakirano u MAP produljen za 4 dana u odnosu na kontrolni uzorak. Parametar  $L^*$  koji označava svjetlinu mesa je veći za uzorak pakiran u MAP, pa je meso pakirano u modificiranoj atmosferi svjetlije. Parametar  $a^*$  koji označava crvenilo meso je također veći za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi, kao i parametar  $b^*$  koji označava žutu boju u odnosu na kontrolni uzorak.*

**Ključne riječi:** *svježe svinjsko meso, MAP, boja, trajnost*

**Rad sadrži:** 41 stranica, 8 slika, 6 tablica, 43 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** prof.dr.sc. *Helga Medić*

**Pomoć pri izradi:** dr.sc. *Nives Marušić Radovčić*, viši asistent

#### **Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. izv.prof.dr.sc. *Sandra Balbino*
2. prof.dr.sc. *Helga Medić*
3. prof.dr.sc. *Kata Galić*
4. doc.dr.sc. *Mario Šćetar* (zamjena)

**Datum obrane:**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Department of Food Engineering  
Laboratory for Meat and Fish Technology  
Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

### SHELF LIFE OF FRESH PORK MEAT PACKAGED IN A MODIFIED ATMOSPHERE

*Ružica Perkušić, 636/PI*

#### Abstract:

*The aim of this study was to determine the shelf life of fresh pork meat packaged in a modified atmosphere (MAP). Samples of fresh pork ham were packaged in MAP with 70% oxygen and 30% carbon dioxide. The control sample was packed in air atmosphere. The method used to determine a certain number of total aerobic mesophilic bacteria was PCA (plate count agar). The change in color of samples for 8 days of storage using the spectrophotometer was also measured. Colour parameters determined were:  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ . After the microbiological analysis, it was concluded that the shelf life of meat packaged in MAP was extended for four days compared to the control sample. The parameter  $L^*$ , which indicates the brightness of meat is higher for the sample packaged in MAP, so the meat packaged in a modified atmosphere is brighter. Parameter  $a^*$  which indicates red colour is also higher for the samples packaged in a modified atmosphere, as well as the parameter  $b^*$  (yellow color).*

**Keywords:** fresh pork, modified atmosphere, color, shelf life

**Thesis contains:** 41 pages, 8 figures, 6 tables, 43 references

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** *PhD. Helga Medić, Full Professor*

**Technical support and assistance:** *PhD. Nives Marušić Radovčić, Senior Assistant*

#### Reviewers:

1. PhD. *Sandra Balbino*, Associate Professor
2. PhD. *Helga Medić*, Full Professor
3. PhD. *Kata Galić*, Full Professor
4. PhD. *Mario Šćetar*, Assistant Professor (substitute)

**Thesis defended:**

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	3
2.1. Meso .....	3
2.1.1. Svježe meso.....	4
2.2. Mikrobiološki zahtjevi za svježe svinjsko meso .....	8
2.3. Pakiranje u modificiranoj atmosferi .....	11
2.3.1. Plinovi u modificiranoj atmosferi .....	13
2.3.2. Ambalažni materijali .....	16
2.3.3. Uvjeti pri pakiranju proizvoda .....	18
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	19
3.1. Materijal.....	19
3.2. Metode .....	20
3.2.1. Priprema za izvođenje eksperimenta.....	20
3.2.2. Priprema uzoraka.....	21
3.2.3. Priprema razrijeđenja .....	22
3.2.4. Određivanje ukupnog broja bakterija (pca metoda).....	23
3.2.5. Određivanje boje .....	25
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	28
4.1. Rezultati mjerenja boje.....	28
4.2. Rezultati ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija .....	33
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	37
<b>6. LITERATURA</b> .....	38

# 1. UVOD

U posljednje vrijeme javlja se sve veća potražnja za prehrambenim proizvodima koji nisu tretirani kemijskim agensima odnosno onima konzerviranim netermalnim načinom. Pakiranje u modificiranoj atmosferi jedna je od metoda koje se smatraju povoljnima, kako s mikrobiološkog gledišta, tako i s nutritivnog, te stoga ne čudi sve veća zainteresiranost za istraživanje raznih mogućnosti koje ovaj način konzerviranja nudi. Svijest potrošača o kvaliteti prehrambenih proizvoda je porasla, te su njihovi zahtjevi u pogledu održivosti predstavili izazov za prehrambenu industriju posebice u pogledu razvoja novih načina pakiranja.

Očuvanje kvalitete svježeg mesa može se postići na više načina, a pakiranje u modificiranoj atmosferi se smatra odličnim načinom za očuvanje kvalitete mesa. U tom smislu je razvijeno pakiranje u modificiranoj atmosferi, koje označava pakiranje s promijenjenim sastavom plinova unutar pakovanja te korištenjem nepropusnih ili slabopropusnih materijala kojima se proizvod omata kako bi se postigao konzervirajući učinak ali i kako bi se očuvala poželjna svojstva koja potrošač traži poput boje mesa. Uloga smjese plinova je u smanjenju intenziteta disanja, rasta mikroorganizama i usporavanju enzimske aktivnosti ovisno o vrsti proizvoda. Kako bi ova metoda konzerviranja bila uspješna potrebno je odrediti optimalni sastav atmosfere ovisno o proizvodu i željenim karakteristikama istog (Hofmann, 1994).

Kemijska industrija je odgovorila na te zahtjeve razvijanjem polimernih materijala koji omogućuju ispunjavanje zahtjeva za rokom trajanja proizvoda, te karakteristika koje meso mora imati kako bi bilo zadovoljavajuće kvalitete.

Očekivana trajnost svježeg crvenog mesa u modificiranoj atmosferi je između 5 i 8 dana za razliku od skladištenja pri istoj temperaturi na zraku, a u smjesi plinova se nalazi i kisik pošto se crvena boja mesa može održati samo u prisutnosti toga plina (McMillin, 2008).

Cilj ovog rada je ispitati utjecaj pakiranja u modificiranoj atmosferi svježeg svinjskog mesa na rok trajanja. Praćen je ukupan broj aerobnih mikroorganizama, te je praćena promjena boje tijekom skladištenja u odnosu na kontrolni uzorak pakiran bez modificirane atmosfere. Sukladno rezultatima, donijeti zaključak o produljenju roka trajnosti kod izmijenjene



atmosfere, kao i ustvrditi promjenu boje u oba slučaja tijekom skladištenja u hladnjaku pri 4°C tijekom osam dana.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. MESO

Meso je namirnica životinjskog podrijetla koja se dobiva klanjem stoke i peradi te odstrelom ili klanjem divljači. Meso u užem smislu podrazumijeva skeletno mišićje dobiveno klanjem stoke ili peradi te klanjem ili odstrelom divljači s uraštenim kostima, hrskavicama, masnim i vezivnim tkivom, limfnim žlijezdama, limfnim i krvnim žilama i živcima. Meso u širem smislu podrazumijeva jestive iznutrice (jezik, srce, pluća, jetra, slezena, bubrezi, mozak, želudac, crijeva i dr.), masna tkiva (slanina, salo, oporci, loj) i krv.

Prema Pravilniku o mesnim proizvodima donesenom na temelju članka 94. stavka 2. Zakona o hrani (NN, 55/11), proizvodi od cijelih ili izrezanih komada ili mljevenog mesa su definirani kao mesni proizvodi zaklanih životinja i divljači, cijelih ili izrezanih komada ili mljeveog i oblikovanog mesa i masnog tkiva, iznutrica i dodatnih sastojaka, proizvode se i stavljaju na tržište kao toplinski neobrađeni, ohlađeni ili smrznuti, odnosno duboko smrznuti.

Nije dozvoljena proizvodnja ovih proizvoda iz prethodno odmrznutog mesa.

Proizvodi od svježeg mesa se proizvode kao:

- proizvodi od mljevenog mesa
- marinirani, panirani i tretirani proizvodi

Kemijski sastav mišića uvjetuje više faktora. Ti su faktori: vrsta životinje, starost, spol, prehrana i uhranjenost, način držanja i korištenja, zdravstveno stanje. Kod pojedinih vrsta životinja razlike u sastavu mesa su neznatne, a uglavnom se odnose na količinu i sastav masti. Budući da mast povećava ukusnost i sočnost mesa na tržištu se cijeni meso mlađih srednje utovljenih životinja s dobro razvijenim mišićima. Voda, bjelančevine, masti i mineralne tvari važne su za organoleptička i prehrambena svojstva pojedinih vrsta i kategorija svježeg mesa.

### 2.1.1. SVJEŽE MESO

Svježe meso je meso koje nije bilo podvrgnuto nikakvom drugom postupku konzerviranja osim hlađenja, zamrzavanja ili brzog zamrzavanja, uključujući vakuumski pakirano meso i meso pakirano u kontroliranoj atmosferi (NN, 46/07). Kod svježeg mesa je stoga iznimno važno kontrolirati sve uvjete kako bi se dobio zdravstveno ispravan proizvod.

Svinjsko meso je tradicionalno prisutno u prehrani u Republici Hrvatskoj od davnina, stoga potrošači imaju svijest o tome kako izgleda kvalitetno svinjsko meso te isto takvo zahtijevaju prilikom kupnje, a godišnja potrošnja mesa i proizvoda od mesa svinje se prema nekim procjenama kreće oko 30 kilograma po stanovniku. Zbog svega navedenog očita je važnost kvalitete svinjskog mesa, a ona ovisi o više čimbenika (pasmina, dob, spol, hranidba, način uzgoja i dr.). Kemijski sastav odnosno količina vode, bjelančevina, masti te mineralnih tvari su važni kako za organoleptička tako i za prehrambena svojstva pojedinih vrsta mesa. U tablici 1. prikazan je kemijski sastav svinjskog mesa izražen na 100g mesa prema Kulieru (1994).

Tablica 1. Kemijski sastav svinjskog mesa (Kulier, 1994)

<b>Vrsta mesa</b>	<b>Energija (kcal)</b>	<b>Proteini (ukupno)</b>	<b>Masti (ukupno)</b>	<b>Zasićene masti</b>	<b>Kolesterol (mg/100G)</b>
Svinjsko	240	17,1	19,2	8,3	60

Voda je anorganski sastojak mesa, najveći dio vode zastupljen je u mišićnom tkivu u obliku vezane ili slobodne vode, a manji dio zastupljen je u ostalim tkivima. Količina vode u mesu ovisi o sadržaju ostalih sastojaka osobito sadržaja masti. Veći sadržaj masti uzrokuje manju

količinu vode. Bjelančevine su najznačajniji sastojak mesa i poslije vode nalaze se u mesu u najvećoj količini. Životinjske masti prisutne u mesu sadržavaju nezasićene masne kiseline (linolna, linolenska, arahidonska). Ugljikohidrat prisutan u mesu je glikogen. Nalazi se u životinjskim jetrama kao rezervni ugljikohidrat, a ima ga i u mišićju. Vitamini su zastupljeni u malim količinama. Meso sadržava najviše vitamina koji su topivi u mastima (A,D E i K) i vitamina B-kompleksa. Mineralne tvari su zastupljene u manjim količinama.

Kakvoća mesa je kompleksna te je prema Hofmannu (1994) definirana kroz nekoliko skupina koje označavaju čimbenike kakvoće mesa koji se mogu objektivno mjeriti. U Tablici 2. prikazani su čimbenici kakvoće podijeljeni na senzorne, tehnološke, nutritivne te higijensko-toksikološke.

Tablica 2. Čimbenici kakvoće mesa (Hofmann, 1994)

<b>Senzorni</b>	<b>Tehnološki</b>	<b>Nutritivni</b>	<b>Higijensko-toksikološki</b>
Boja	Struktura	Bjelančevine	Mikroorganizmi
Oblik	Tekstura	Lipidi	Toksini
Miris	Konzistencija	Aminokiseline	Rok trajanja
Okus	Viskoznost	Masti	pH
Aroma	Sadržaj vode	Vitamini	Aktivnost vode
Mramoriranost	Sposobnost vezanja vode	Minerali	Rezidue
Sastav masti	pH	Probavljivost	Kontaminanti
Nježnost	Stanje bjelančevina	Iskoristivost	
Sočnost	Stanje masti	Biološka vrijednost	
pH			

Boja svježeg mesa je svakako jedan od najvažnijih parametara kvalitete, pogotovo s gledišta potrošača, stoga je upravo ovaj parametar praćen u ovom radu. Boja mesa zavisi od vrste, starosti i ishrane, načina držanja životinje i funkcije koju mišić ima u živom organizmu. Osnovni nosilac boje mesa, odnosno mišića zaklane životinje, jesu Mb (mioglobin) i Hb (hemoglobin). Boja mesa primarno potječe od pigmenta mišićnog tkiva mioglobina, koji se nalazi rastvoren u sarkoplazmi mišićnih vlakana, a u manjoj mjeri ovisi o krvnom pigmentu hemoglobinu, koji poslije iskrvarenja jednim dijelom zaostaje u mesu. Mioglobin je glavni nositelj crvene boje mesa te njegova količina u mišiću ovisi od vrste životinje.

Boja svježeg svinjskog mesa ovisi o više čimbenika od kojih su najznačajniji sadržaj pigmentata i njihov oksidativni status, sadržaj intramuskularnog masnog tkiva te brzina postmortalne glikolize. Mioglobin je najvažniji pigment mesa, a prema oksidativnom statusu postoje tri oblika hemoglobina mesa: deoksimioglobin (ljubičasto-crveni, u svježem mesu u odsutnosti kisika), oksimioglobin (sjajno crveni, formiran u prisutnosti kisika) te metmioglobin (smeđe boje, nastaje oksidacijom mioglobina). U oksimioglobinu željezo iz hem skupine je u dvovalentnom, fero stanju ( $Fe^{2+}$ ), što rezultira formiranjem svijetlo crvene boje, dok je trovalentno, feri stanje željeza ( $Fe^{3+}$ ) odgovorno za formiranje tamnije boje metmioglobina koji nije sposoban vezati kisik. Deoksimioglobin (reducirani mioglobin) ima centralno smješten atom željeza u reduciranom stanju, a na njegovo šesto mjesto je vezana voda. Vidljiv je odmah nakon rezanja mišića svježeg mesa i purpurno crvene je boje. Oksimioglobin ima također centralno smješten atom željeza u reduciranom stanju, no na njegovo šesto mjesto je vezan kisik. Vidljiv je nekoliko minuta nakon rezanja mišića svježeg mesa (nakon što završi oksigenacija mioglobina) i svjetlocrvene je boje. Uslijed dužeg izlaganja mesa kisiku oksimioglobin se može pojaviti i dublje u mišiću. Prodiranje kisika u dublje slojeve mišića ovisno je o temperaturi, pH vrijednosti, parcijalnom tlaku kisika i potrošnji kisika u mesu. Metmioglobin se javlja nakon oksidacije željeza pri čemu ono gubi jedan elektron i prelazi iz  $Fe^{2+}$  u  $Fe^{3+}$  stanje pri kojem dolazi do razvoja nepoželjne smeđe sive boje mesa (Faustman i sur., 1990).

Na promjene pigmenta utječe vrsta, spol, starost, ishrana te postupci sa životinjom prije klanja i pri samom klanju, te postupci obrade, pripreme, prerade, pakiranja i skladištenja (Viana i sur., 2005).

Količina intramuskularnog masnog tkiva utječe na više svojstava mesa pa tako i na boju.

Meso koje sadrži više intramuskularnog masnog tkiva ima blijedu ružičastu boju od onog koje je manje masno.

Promjena boje može biti uzrokovana aktivnošću mikroorganizama, dodatkom različitih aditiva, svjetlom određenih valnih duljina. Na boju mesa utječe i voda jer gubitkom vlage dolazi do povećanja koncentracije pigmenta i time je refleksija svjetla manja i meso je tamnije (Viana i sur., 2005).

## 2.2. MIKROBIOLOŠKI ZAHTJEVI ZA SVJEŽE SVINJSKO MESO

Svježe meso, uz veliku prehrambenu vrijednost, vrlo je povoljno za razvoj mikroorganizama. Vlažna površina i cjelokupna struktura mesnog tkiva omogućuju brz razvoj mikroorganizama, razgradnju bjelančevina i drugih sastojaka mesa, stvaranje neugodnih proizvoda metabolizma, neprijatnih mirisa i drugih znakova kvarenja mesa. U Tablici 3. su prikazana svojstva svježeg ispravnog te pokvarenog mesa prema karakteristikama boje, mirisa, čvrstoće te izgleda površine.

Tablica 3. Znakovi svježeg ispravnog i pokvarenog mesa (Anonymous,2008)

<b>Organoleptička svojstva</b>	<b>Svježe meso</b>	<b>Pokvareno meso</b>
Površina	Suha, masna ili vlažna	Sluzava, ljepljiva
Boja	Svojstvena vrsti i starosti životinje; svinjetina ružičasta do crvena	Neprirodna tj. bakrenasto crvena, sivo-zelena, tamnoplava, čokoladno smeđa
Miris	Svojstven za pojedinu vrstu mesa	Promijenjen, neugodan, smrdljiv, užežen, upaljen
Čvrstoća	Meso mekano-elastično, udubina nastala blagim pritiskom nestaje nakon kraćeg vremena	Meso gnjecavo, udubina nastala blagim pritiskom prsta ostaje dulje vrijeme

Jedan od glavnih zadataka prehrambene industrije je proizvesti zdravstveno ispravan proizvod, što je u slučaju svježeg mesa kao kvarljive namirnice pravi izazov. Pošto je svježe meso namirnica vrlo kratkog roka trajanja, moguće je da dok budu provedene mikrobiološke analize, rok trajnosti već prođe odnosno proizvod već bude konzumiran. Stoga je vrlo važna dobra proizvođačka praksa u industriji, dobra higijenska praksa, primjena načela HACCP-a, strogo kontrolirani uvjeti proizvodnje te pravilni uvjeti skladištenja.

Iako se svinjsko meso u manjoj mjeri povezuje s bolestima izazvanim patogenima u hrani u usporedbi s drugim vrstama mesa, ipak ima značajnu ulogu zbog velike konzumacije. Svinjetina je meso koje se u Europskoj Uniji konzumira više nego ijedno drugo (Devine, 2003) te je stoga bitno odrediti mikrobiološke kriterije.

Prema Pravilniku o mikrobiološkim kriterijima za hranu je definirano za porcionirano i meso u malim komadima dozvoljena vrijednost od  $10^5$  do  $10^6$  cfu g<sup>-1</sup> ukupnih aerobnih mezofilnih bakterija, ovisno o broju uzorka.

Kako bi se osigurala učinkovita sigurnost te moguće potrebna intervencija kod svinjskog mesa, potrebno je razumjeti prirodu najvažnijih patogenih mikroorganizama koji su značajni za industriju svinjskog mesa, faze u proizvodnji u kojima se javljaju te postupke intervencije. Prema istraživanju Baer i suradnika (2013), istaknuta je važnost patogena poput *Salmonella*, *Campylobacter*, *Trichinella spiralis*, *Toxoplasma gondii*, *Listeria monocytogenes*, meticilin-rezistentna *Staphylococcus aureus*. *Trichinella* i *Toxoplasma* su patogeni čija se prisutnost u mesu svinjetine uspješno kontrolira. *Salmonella* i *Campylobacter* su uobičajeni za svinjski intestinalni trakt, što uzrokuje opasnost od kontaminacije na farmi odnosno tijekom klanja. Međutim, prisutnost tih patogena u mesu može biti kontrolirana higijenskim uvjetima klanja, te općenito uvjeta na farmi te primjenom odgovarajućih procesnih tehnologija. Meticilin-rezistentni *S.aureus* je patogen koji je važan za industriju žive stoke te su bitni uvjeti i prije i nakon klanja kako bi se reducirao ovaj patogen.

Rast i razvoj patogenih mikroorganizama i bakterija uzročnika kvarenja je podložan utjecaju modificirane atmosfere. Dušik ima neznatan utjecaj na metaboličke reakcije u mesu zbog svoje slabe topivosti u mastima i vodi, ali anoksična atmosfera nastala upotrebom dušika i/ili drugih plinova djelovat će selektivno na anaerobne aerotolerantne lactobacille (Thippareddi i Phebus, 2007). Povećan udio ugljikovog dioksida će inhibirati mikrobni rast, s učinkovitim djelovanjem pri udjelu od 20 do 40% koji se koristi u pakovanjima s modificiranom atmosferom, dok se pri višim udjelima može očekivati preživljavanje nekih patogenih mikroorganizama. Gram-negativne bakterije su općenito osjetljivije na ugljični dioksid od Gram-pozitivnih (Church, 1994) jer su Gram- pozitivne bakterije većinom fakultativni ili obligatni anaerobi. Prema Viana i sur. (2005) u uzorcima svinjetine zapakirane u anaerobnoj atmosferi zabilježen je povećan broj bakterija mliječne kiseline, dok je u atmosferi s 100% kisika taj broj bio najmanji nakon skladištenja od 20 dana. Međutim, najveći rast *Pseudomonas* zabilježen je kod pakovanja u aerobnoj atmosferi (100% kisik) dok je u



vakuum pakovanju, 100% ugljikovom dioksidu te u atmosferi s 99% ugljikovog dioksida i 1% ugljikovog monoksida zabilježen manji rast. Kisik općenito stimulira rast i razvoj aerobnih bakterija a inhibira razvoj obligatnih anaeroba, dok je osjetljivost anaerobnih mikroorganizama na kisik varijabilna. *Pseudomonas* i *Lactobacillus sakei* su identificirani kao glavni uzročnici kvarenja u pakovanjima s modificiranom atmosferom s 60% kisika (Ercolini i sur., 2006).

Jayasingh i sur. (2002) su proveli istraživanje na uzorcima mljevene teletine pakiranje u modificiranoj atmosferi s visokim udjelom kisika (80% kisika i 20% ugljikovog dioksida) te usporedili rezultate s kontrolnim uzorcima pakiranim u plitice nepropusne za kisik. Oba uzorka su promijenila boju u crvenu a broj aerobnih bakterija je porasta na  $9 \times 10^6$  cfu g<sup>-1</sup> do desetog dana skladištenja, te bez većih odstupanja ovisno o načinu pakiranja.

Prema rezultatima istraživanja Brooks i sur. (2008) na uzorcima mljevenog junećeg mesa, uzorci pakirani u modificiranoj atmosferi su imali znatno manji broj psihrofilnih aerobnih bakterija u usporedbi s kontrolnim pakiranjima, dok su kontrolni uzorci imali značajno veći broj ukupnih aerobnih bakterija te bakterija mliječne kiseline.

### 2.3. PAKIRANJE U MODIFICIRANOJ ATMOSFERI

Kod pakiranja svježeg mesa valja voditi računa o sprečavanju kontaminacije, odgađanju kvarenja, smanjenju gubitka na masi, te omogućiti enzimatsku aktivnost kako bi se poboljšala mekoća mesa i osigurati željenu boju mesa, ovisno o zahtjevima potrošača. Danas se koriste mnogi načini pakiranja mesa, od omota za pakiranje za kratkotrajno čuvanje pri nižim temperaturama, vakuumsko pakiranje, do različitih vrsta specifičnih pakiranja u modificiranoj atmosferi za duže čuvanje proizvoda pri nižim temperaturama (Šćetar i sur., 2010).

Pakiranje u modificiranoj atmosferi podrazumijeva i čuvanje proizvoda pri nižim temperaturama, pa se konzervirajući učinak postiže kombinacijom hlađenja i izmijenjenog sastava plinova. Smatra se da je konzerviranje hlađenjem metoda čijom se primjenom najmanje mijenjaju izvorna svojstva namirnice, međutim održivost se povećava na relativno kratko razdoblje. Snižanjem temperature usporavaju se kemijske promjene u namirnicama, bilo da su posljedica aktivnosti autohtonih enzima ili drugih kemijskih agenasa, bilo da nastaju djelovanjem mikroorganizama. Poznato je da se sniženjem temperature za 10°C većina kemijskih i biokemijskih reakcija usporava za 2-3 puta. Osim toga kod mesa hlađenje ima višestruko tehnološko značenje jer osim za konzerviranje služi i za kondicioniranje mesa čime se poboljšava tekstura i druga organoleptička svojstva.

Pakiranje u modificiranoj atmosferi je tehnološki postupak u kojem se neki prehrambeni proizvod pakira u nepropusnim, odnosno slabo propusnim (ambalažnim) materijalima, pri čemu je zrak zamijenjen odgovarajućom smjesom plinova, kako bi se produžila trajnost proizvoda. Uloga smjese plinova je u smanjenju intenziteta disanja, rasta mikroorganizama i usporavanju enzimatske aktivnosti ovisno o vrsti proizvoda.

Načini pakiranja svježeg mesa uključuju vakuumsko pakiranje, MAP s visokim i niskim udjelom kisika. Razlikuju se po načinu utjecaja na upakiranu sirovinu i njihovoj primjenjivosti u maloprodaji. Vakuumski pakirani proizvod je smješten u plitice male propustljivosti kisika, zrak je evakuiran i plitica je zapečaćena tj. hermetički zatvorena termozataljivim filmom. Pakiranje svježeg crvenog mesa u MAP s visokim udjelom kisika se često koristi u praksi. Visoke koncentracije kisika koriste se za povećanje oksimioglobina na i ispod površine mesa te mu donosi žarko crvenu boju. Uporaba MAP pakiranja s visokim udjelom kisika pogodna je za proizvode koji će se održati kratko vrijeme i kod kojih se

priželjkuje da je boja mesa crvena tijekom cijelog vremena uporabe. Pakiranje u modificiranoj atmosferi s malim udjelom kisika u potpunosti koristi inhibitorski učinak ugljikovog dioksida na bakterije i namijenjen je proizvodima koji se prevoze dugim relacijama ili su pohranjeni na duže vrijeme. S ugljikovim dioksidom u pliticu se uvodi i dušik. Unatoč očitom nedostatku, tj. ljubičastoj boji mesa, ovu je tehnologiju pakiranja moguće koristiti u maloprodaji.

Svojstva mesa koja su važna za određivanje roka trajnosti su kapacitet vezanja vode, boja, mikrobiološka kvaliteta, lipidna stabilnost i prihvatljiv okus (Renerre i Labadie, 1993). Varijable koje utječu na rok trajnosti pakiranog svježeg mesa su sami proizvod, smjesa plinova, prostor unutar pakovanja, oprema za pakiranje, temperatura pri kojoj se proizvod čuva te aditivi. Promjene do kojih dolazi tijekom skladištenja mesa uzrokovane su metaboličkim reakcijama zbog pucanja bioloških membrana te biokemijskih oksidativnih procesa. Kvaliteta mesa se određuje prema diskoloraciji, nepoželjnim okusima, gubitku nutrijenata, promjenama na teksturi, razvijanju patogenih mikroorganizama te progresiji čimbenika kvarenja (Skibsted i sur., 1994).

Svrha pakiranja u modificiranoj atmosferi je upravo održavanje poželjnih karakteristika mesa za željeno vrijeme skladištenja. Kako bi primjena ove tehnologije bila učinkovita, treba uzeti u obzir unutarnje i vanjske čimbenike kako bi se postigla visoka kakvoća te osigurala zdravstvena ispravnost proizvoda kroz određeni period.

Jedna od najvažnijih karakteristika svježeg mesa je boja, koju potrošači prvo primjećuju i često na temelju nje odlučuju o kupnji, stoga je bitno razumjeti kemijske procese koji se odvijaju u mesu te kojima nastaju poželjne ili nepoželjne promjene. Mioglobin je purpurni pigment koji u prisutnosti zraka mijena boju u svijetlocrveni pigment, oksimioglobin. Ova reakcija je reverzibilna. Oksidacijom oksimioglobina nastaje smeđe obojani pigment, metmioglobin. Ova reakcija je ireverzibilna, a nastalo smeđe obojenje je nepoželjno. Prema Carpenter i sur. (2001) potrošači su ocijenili crvenu boju mesa najpoželjnijom, zatim purpurnu boju te su neprihvatljivom ocijenili smeđu boju.

Sirovo meso se smatra nerespirirajućim proizvodom u usporedbi s na primjer voćem ili povrćem (Siegel, 2001), jer mitohondriji u postmortem mišićima nastavljaju metabolizirati kisik, ali se aktivna potrošnja kisika kod mitohondrija i otpuštanje ugljikovog dioksida smanjuju s postmortem vremenom. Mitohondriji mogu utjecati na redoks stabilnost mioglobina potrošnjom kisika čime se smanjuje parcijalni tlak kisika, redukcija metmioglobina pomoću mitohondrijskih lančanih reakcija prijenosa elektrona, i/ili

mitohondrijske membranske lipidne oksidacije (Tang i sur., 2006). Redukcija metmioglobina je nužna kako bi se održala željena boja mesa, te ovisi o enzimskim sustavima i o NADH rezervama. Oksidacija hema je također podložna utjecaju svjetla, količini i tipu bakterija, pH, temperaturi i količini ugljikovog dioksida na površini mesa. Temperatura, propusnost filma pakovanja na vodenu paru te atmosfera plinova unutar pakovanja također utječu na boju mesu i na održivost željene boje mesa.

Primarni zadatak pakiranja u modificiranoj atmosferi je sprječavanje mikrobiološke aktivnosti, dok je za proizvode s visokim udjelom masti i niskim udjelom vode bitna i zaštita od oksidativnih reakcija. Povećanjem količine ugljikovog dioksida u pakovanju inhibira se rast mikroorganizama, te se pritom učinkovitim smatra količina od 20% do 40% ugljikovog dioksida u modificiranoj atmosferi, dok veće koncentracije povećavaju mogućnost stvaranja povoljnih uvjeta za rast nekih patogenih mikroorganizama (McMillin, 2008).

### 2.3.1. PLINOVI U MODIFICIRANOJ ATMOSFERI

U pakiranju svježeg mesa koriste se najčešće sljedeće kombinacije plinova: za crveno meso 60-85% kisika te 15-40% ugljikovog dioksida, dok je posebno za svinjetinu najčešća kombinacija od 80% kisika te 20% ugljikovog dioksida, te za narezane komade svježeg mesa 69% kisika, 20% ugljikovog dioksida te 11% dušika (Brooks i sur., 2008).

Funkcija ugljikovog dioksida u pakovanju jest inhibicija rasta bakterija uzročnika kvarenja (Seideman i Durland, 1984). Koristi se prvenstveno kako bi došlo do sniženja pH vrijednosti, odnosno do povećanja kiselosti na način da se na površini mesa apsorbira formirajući ugljičnu kiselinu, nakon čega dolazi do njene ionizacije odnosno do sniženja pH vrijednosti te time i produljenja roka trajnosti. Osnovno djelovanje uključuje slabljenje te promjenu funkciju stanične membrane, inhibiciju ili usporavanje enzimskih reakcija te direktne promjene fizikalno-kemijskih osobina proteina.

Dušik se koristi u modificiranoj atmosferi kao inertni plin ili za reduciranje količina ostalih plinova, odnosno za sprječavanje kolapsa pakovanja. Karakteristika dušika je i sprečavanje užeglosti, poticanje rasta anaerobne kao i sprječavanje rasta aerobne mikroflore.

Glavna funkcija kisika je održavanje mišićnog pigmenta mioglobina u njegovoj oksigeniranoj formi, oksimioglobinu. Niže koncentracije kisika pogoduju oksidaciji oksimioglobina u

metmioglobin. Stoga, kako bi se smanjilo nastajanje metmioglobina u svježem crvenom mesu, kisik mora biti uklonjen iz pakovanja ispod razine od 0,05% ili mora biti prisutan pri razini zasićenja (Faustman i Cassens, 1990). Pri visokim koncentracijama u modificiranoj atmosferi kisik potiče oksidaciju masti, što uzrokuje pojavu nepoželjne boje mesa. Lipidna oksidacija je nepoželjna jer dovodi do stvaranja nepoželjnih okusa i nepoželjnog vizualnog izgleda proizvoda. Za taj način pakiranja se upotrebljava termooblikovana ambalaža izrađena od laminata poli(vinil-klorid)/polietilen (PVC/PE), što daje dobru barijeru na kisik te mogućnost termozataljivanja. Vodeći materijal u tom području je laminat PE filma i poliesterstog filma prevučenog poli(viniliden-kloridom) (PVDC) ili kombinacija poliamida (PA) i polietilena (PA/PE).

Ugljikov dioksid, kao esencijalna komponenta svake učinkovite modificirane atmosfere, je dobro topljiv i u masnom i u mišićnom tkivu. Topivost u mišićnom tkivu se smanjuje sa smanjenjem pH i povećanjem temperature, ali se topivost u masnom tkivu povećava s povećanjem temperature. Zbog otapanja ugljikovog dioksida u samom proizvodu, početna koncentracija ugljikovog dioksida bi trebala biti viša od onih 20%, što je željena koncentracija radi maksimalne inhibicije aerobnih bakterija uzročnika kvarenja. Što je manji volumen atmosfere u odnosu na masu proizvoda, to viša mora biti početna koncentracija ugljikovog dioksida upravo zbog otapanja ugljikovog dioksida u tkivima nakon zatvaranja pakovanja (Šćetar i sur., 2010).

Za razliku od ugljikovog dioksida, kisik je slabo topljiv, kako u mišićnom tako i u masnom tkivu. Međutim, kisik je konvertiran u ugljikov dioksid preko respiratornih aktivnosti mišićnog tkiva i bakterija. U modificiranoj atmosferi s visokim udjelom kisika je uobičajeno da se koncentracija kisika smanji s vremenom, ali koncentracija ugljikovog dioksida se malo mijenja nakon početnog otapanja u tkivima. Ako je pakovanje s modificiranom atmosferom bogatom kisikom namijenjeno dužem skladištenju, volumen atmosfere unutar pakovanja bi trebao biti oko tri puta veći od volumena proizvoda kako bi se izbjegao pretjerani pad koncentracije kisika. Tip atmosfere s visokom koncentracijom kisika (80%) se koristi u mesnoj industriji, jer se održava poželjna boja mesa, a rast aerobnih bakterija je inhibiran s ugljikovim dioksidom koji čini ostatak atmosfere. Problem koji se u ovom slučaju javlja je lipidna oksidacija i brzi rast psihotropnih bakterija, pa je trajnost mesa procijenjena na 5-8 dana (za razliku od skladištenja pri istoj temperaturi u zraku) (Lovrić, 2003).

Topivost dušika u tkivima je niska, a plin je metabolički inertan. Funkcija dušika u atmosferi

jest smanjenje mogućih promjena volumena koje bi mogle dovesti do kolapsa pakovanja.

Ako se u modificiranoj atmosferi koristi i ugljikov monoksid, njegova koncentracija iznosi manje od 1%. Plin se izdvaja iz atmosfere brzo jer reagira brzo i ireverzibilno s mioglobinom. Promjene u volumenu zbog tog vezanja su zanemarive u usporedbi s onima uzrokovanim otapanjem ugljikovog dioksida. Karboksimioglobin koji nastaje otapanjem ugljikovog monoksida, osigurava poželjnu crvenu boju mesu, pa atmosfera ne treba sadržavati kisik. Najčešće kombinacije su 60% ugljikovog dioksida te 40% dušika s ugljikovim monoksidom od 0,3% do 0,5%, te ovakva kombinacija plinova osigurava stabilnost boje mesa i osigurava mikrobiološku kvalitetu za relativno dug vremenski period. Realna opasnost javlja se u potencijalnoj mogućnosti zlorabe roka valjanosti robe pakirane u MAP s udjelom ugljikovog monoksida, gdje se s obzirom na još uvijek odgovarajuća organoleptička svojstva može dogoditi da prodavač koji rukuje robom produži njen rok trajnosti zanemarujući potencijalnu opasnost teškog trovanja mesom, ali i zlorabu povjerenja potrošača, iako postoje istraživanja koja pokazuju suprotno (Hunt i sur., 2004).

Postoje također i prigovori kupaca o mogućem trovanju no znanstvenici (John i sur., 2004) uvjeravaju da takva mogućnost ne postoji zbog niskih koncentracija pri pakiranju- trebalo bi udahnuti količinu plina 200 posudica kako bi došlo do primjetnih posljedica po zdravlje čovjeka. Ovakav tip pakiranja je atraktivan tvrtkama koje pakiraju svježe meso iz razloga što kod tih proizvoda najveći gubici nastaju iz povrata mesa sa polica koji kupci ne žele kupiti zbog njegova lošeg izgleda, a da ono još uvijek ima zadovoljavajući mikrobiološki status za taj tip proizvoda.

Najnovija tehnologija pakiranja je anaerobna modificirana atmosfera s niskom koncentracijom ugljikovog monoksida od 0,4%; 20-30% ugljikovog dioksida te ostatak čini dušik. Ova kombinacija plinova nudi nekoliko prednosti u odnosu na aerobna pakiranja modificirane atmosfere: stabilnost poželjne crvene boje mesa, bolja organoleptička svojstva proizvoda, bez oksidiranih okusa, izostanak preuranjenog posmeđivanja tijekom kuhanja, poboljšana tekstura zbog manje oksidacije proteina u anaerobnim uvjetima (Lund i sur., 2007). Nedostatak ove tehnologije je negativna konotacija ugljikovog monoksida kod potrošača te zabrinutost da bi proizvod mogao izgledati svježe iako je razina bakterija visoka odnosno ako je proizvod već pokvaren.

### 2.3.2. AMBALAŽNI MATERIJALI

Svaki tip ambalažnog materijala ima svoje prednosti i nedostatke, s gledišta marketinga, potrošača, utjecaja na okoliš te troškova. Kod odabira najpovoljnijeg materijala bitno je da odabirati materijal čija će negativna svojstva s obzirom na proizvod imati najmanji negativni utjecaj na dobru realizaciju ambalaže, uz nužno ispunjavanje sljedećih zahtjeva: osigurati oblikovanje i zatvaranje ambalaže zataljivanjem, poboljšati barijerna svojstva za plinove, za vodenu paru, na elektromagnetska zračenja, na aromatične tvari te smanjiti masu po jedinici površine i debljinu materijala.

Polimeri koji se najčešće koriste za pakiranje hrane su polietilen niske gustoće PE-LD (low-density polyethylene), polietilen visoke gustoće PE-HD (high-density polyethylene), polipropilen PP (polypropylene) i poliamid PA (poliamid) (Jan i sur., 2005).

Za pakiranje svježeg mesa u modificiranoj atmosferi upotrebljava se termooblikovana ambalaža izrađena od laminata PVC/PE (poli(vinil-klorid) i polietilen). Materijal koji se najčešće koristi je laminat PE filma i poliesterskog filma prevučen PVDC-om. Pri pakiranju svježeg mesa gornja folija mora sadržavati prevlaku protiv zamagljivanja (anti-fog prevlaka). U tu svrhu se najčešće koriste esteri glicerola, esteri poliglicerola, esteri sorbitana i njihovi etoksilati te alkohol etoksilati (Osswald i sur., 2006). Da bi se postigla poželjna boja pakiranog svježeg mesa potrebno je upotrijebiti plastičnu foliju propusnu za kisik, ali nepropusnu za vodenu paru. Polietilen (PE) se koristi kao sredstvo termozavarljivosti. Poli(vinil-klorid) (PVDC) i etilen/vinil-alkohol (EVAL) se koriste kao barijerni filmovi dok poli(vinil-klorid) (PVC), poliamid (PA), polipropilen (PP) i polistirol (PS) služe za mehaničku čvrstoću pakovanja.

Materijali koji se koriste za pakiranja s modificiranom atmosferom moraju osigurati barijeru na izmjenu plinova između vanjske atmosfere i one unutar pakovanja. Međutim, barijerna svojstva materijala za plinove se razlikuju ovisno o tipu pakovanja odnosno o komercijalnoj funkciji samog pakovanja. Pakovanja koja čuvaju proizvod dan ili dva dana su najčešće laminati sastavljeni od čvrstih materijala s smanjenim barijernim svojstvima za plinove, kao što je kombinacija od poliamida (PA) i od polietilena (PE).

Višeslojni polimerni materijali se sastoje od dva ili više polimernih slojeva. Za sve višeslojne materijale karakteristično je da je unutarnji sloj termozataljiv, odnosno da ga čine polimerni materijali niskih temperatura prijelaza u termoplastično stanje, i samim time zataljivi. Stoga je

oblikovana ambalaža i na spojevima nepropusna za plinove (hermetična), vodenu paru i mikroorganizme (Vujković i sur., 2007).

U novije vrijeme dolazi do razvoja antimikrobnih filmova koji svoju primjenu pronalaze upravo kod pakiranja mesa. Njihova funkcija je produljenje lag faze i reduciranje mikrobnog rasta kako bi se održala kvaliteta i sigurnost proizvoda te produljio rok trajnosti (Han, 2000). Antimikrobni agensi ugrađivani u filmove su bakteriocin nisin, prehrambene kiseline i soli, hitozan, enzim lizozim te polisaharidi. Rezultati u nekim slučajevima nisu ispunili očekivane učinke, pa se ubrajaju samo kao komponenta strategije prepreka (Joerger, 2007), dok su se drugdje pokazali korisnima u smislu povećavanja sigurnosti i trajnosti hrane (Limjaroen i sur., 2005). U paketiće se osim toga dodaju nosači s plinom koji osiguravaju kontrolu sastava plinova u plitici (Tewari i sur., 2002).

U Tablici 4. prikazani su najčešći filmovi koji se koriste za pakiranje mesa te su navedene njihove karakteristike koje određuju primjenu pojedinog filma.

Tablica 4. Tipovi i karakteristike filmova za pakiranje mesa (Anonymous, 2009)

Film	Karakteristike
Celofan (100 grades)	Pogodan za printanje, otporan na toplinu, nepropusan za kisik
Celuloza acetat PE-LD derivatizirani ionomeri	O <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> propusnost, otporan na ulja, upotrebljava se za svježe kobasice čvrst, otporan na ulja, za vakuumska pakiranja
Metalizirani filmovi	Otporan na svjetlo i plinove, pogodan za printanje ,čvrst, za laminate, O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O nepropusan
Poliamid (PA) Polibutilen terefatat (PBT) Poliester	Otporan na visoke temperature, nepropusan za O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O , pogodan za printanje, čvrst
Polietilen – PE-LD, PE-HD Polipropilen	Otporan na toplinu, trganje, abraziju, kemikalije , adhezivan za hermetičko zatvaranje, O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O neotporan . koristi se za vrećice i laminate
Polistiren, PS	Propusan za kisik , lako se zavaruje, čvrst, slabo otporan na masnoću, nije otporan na toplinu.
Poliuretan	Jači od PE, otporniji na toplinu, mast,



	proziran, propusan za kisik , nije otporan na savijanje
Poliiolefin	Jako čvrst
Poli (vinil-klorid) (PVC)	Proziran, otporan na toplinu koristi se za pakiranje u vakuumu
Poli(viniliden-klorid), PVDC sa polipropilenom, PP	Lako se formira, lako zavaruje, čvrst, lako se presvlači i printa. Slabo otporan na vodu, otporan na kemikalije, temperaturu, trganje, ulje i masti, često kao završni sloj

### 2.3.3. UVJETI PRI PAKIRANJU PROIZVODA

Najvažniji učinak na kvalitetu proizvoda pri pakiranju imaju vrsta i omjer plinova, te temperatura. Temperatura se pokazala kao najvažniji faktor za brzinu promjene kvalitete proizvoda te tako vrijeme skladištenja i temperatura pokazuju visoku korelaciju (Ho i sur., 2003; Sun i sur., 2005). Nakon same pripreme svježeg mesa za pakiranje u vidu mljevenja, sječenja, dorade bitno je meso kondicionirati u za to odgovarajućoj prostoriji s adekvatnim temperaturnim režimom. Optimalno bi bilo da je to između 0°C do +2°C samog pakiranja. Još veću važnost kondicioniranje ima radi povišenja temperature posudica pri procesu termooblikovanja folije i varenja bez obzira da li se radi samo o predfabriciranim posudicama na koje se varenjem stavlja poklopac ili se termoformiranjem izvlače posudice i nakon varenja siječe u gotove paketiće. Svako povišenje temperature ima značajan utjecaj na boju svježeg mesa i kondenzaciju nakon isparavanja slobodne vode. Naknadnim hlađenjem i variranjem temperature unutar hladnog lanca dolazi do kondenzacije vode, formiranja kapljica koje će pri rukovanju posudicama kapnuti na meso i intenzivirati kemijske reakcije na površini.

Važan utjecaj ima i temperatura okolnog prostora, te vrijeme zadržavanja mesa pri manipuliranju do ulaska gotovog proizvoda u hlađeni skladišni prostor za koji je također preporučeni režim od 0°C do +2°C.

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJAL

Uzorci korišteni u ovom radu su svinjski butovi otkošteni kupljeni na istom mjestu od istog proizvođača (Pik Vrbovec d.o.o.) zapakirani u modificiranu atmosferu (Slika 1) te kontrolni uzorci mesa pakirani u atmosferi zraka (Slika 2). Uređaj korišten za pakiranje je od proizvođača Multivac (Slika 3). Svinjski but je dobiven od životinje zaklane 8.travnja 2016.godine u klaonici Pik Vrbovec, a starost životinje je bila 5,5 mjeseci.



Slika 1. Svinjski but u MAP-u, Pik Vrbovec (Anonymous, 2016)



Slika 2. Svježe svinjsko meso u pliticama s prijanjajućom folijom (Anonymous3, 2016)



Slika 3. Uređaj za pakiranje, Multivac (Anonymous 4, 2016)

## 3.2. METODE

Tijekom osam dana skladištenja u hladnjaku na temperaturi od 4°C praćena je promjena boje i određivan je broj ukupnih aerobnih mezofilnih bakterija za uzorke zapakirane u modificiranoj atmosferi te kontrolne uzorke svinjskog buta pakirane u pliticama s prijanjajućom folijom.

Metode korištene u ovom radu su određivanje boje objektivnom metodom pomoću spektrofotometra te određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija (PCA) prema standardnoj metodi HRN ISO 4833-1:2013.

### 3.2.1. PRIPREMA ZA IZVOĐENJE EKSPERIMENTA

Nekoliko dana prije početka izvođenja eksperimenta, pripremljene su podloga i fiziološka otopina te je svo posuđe sterilizirano.

Pod pojmom fiziološka otopina podrazumijevamo 0,85%-tnu otopinu NaCl koja je sterilizirana u autoklavu pri 121°C kroz 15 minuta. Takav postotak otopine je dobiven otapanjem 8,5 grama krutog NaCl u 1000ml destilirane vode.

Podloga (Tryptic Glucose Yeast Agar, Biolife) je pripremljena tako da je izvagano 22,5 grama dehidrirane podloge te otopljeno u 1 l destilirane vode, uz zagrijavanje u vodenoj kupelji. Dehidrirane podloge moraju se čuvati na suhom i tamnom mjestu pri temperaturi +15 do +25°C. Kutije s podlogom potrebno je dobro zatvoriti nakon svake upotrebe, te se u idealnim uvjetima skladištenja, dehidrirane podloge mogu čuvati maksimalno pet godina.

Nakon vaganja podloge potrebne za eksperiment, provedeno je zagrijavanje uz intenzivno miješanje je provođeno do vrenja, te je nakon pojave mjehurića zagrijavanje prekinuto.

Nakon pripreme fiziološke otopine te rehidracije podloge, provedena je sterilizacija u autoklavu pri 121°C kroz 15 minuta. Sterilizacija je provedena kroz točno 15 minuta ne računajući vrijeme potrebno za zagrijavanje i hlađenje autoklava, te je nakon sterilizacije podloga izvađena iz autoklava i ohlađena kako bi se minimiziralo vrijeme izloženosti podloge toplini što može umanjiti njenu kvalitetu.

Podloga koja je korištena jest PCA neselektivna hranjiva podloga, jer je ona pogodna za utvrđivanje ukupnog broja aerobno mezofilnih bakterija.

### 3.2.2. PRIPREMA UZORAKA

Uzeti su uzorci svježeg svinjskog buta zapakiranog u modificiranu atmosferu te uzorci svježeg svinjskog buta zapakiranog u plitice s prijanjajućom folijom. Uzorci su skladišteni pri temperaturi od 4°C kroz osam dana.

Svakog dana uzet je jedan uzorak mesa zapakiranog u modificiranoj atmosferi te jedan kontrolni uzorak. Pri sterilnim uvjetima rada, uz plamenik, odrezano je 10 grama uzorka nožem koji je prethodno steriliziran alkoholom te plamenom, vagano na analitičkoj vagi, te stavljeno u sterilnu vrećicu u koju je zatim dodano 90 ml fiziološke otopine. Uzorak u vrećici je zatim stavljen u uređaj (Stomacher, Interscience) u kojem je usitnjen (Slika 4).

Ovakav način pripreme uzorka je karakterističan za krute uzorke, koji stavljeni u sterilnu vrećicu i u ovakav uređaj, osiguravaju optimalnu ekstrakciju bakterija kroz 60 sekundi uz eliminaciju rizika križne kontaminacije. Uređaj radi na principu udaranja uzorka 8 puta u sekundi, a vrijeme može varirati od 30 do 210 sekundi. Nakon toga, uzorak je homogeniziran i spreman za daljnju analizu.



Slika 4. Stomacher, Interscience (vlastita fotografija)

### 3.2.3. PRIPREMA RAZRJEĐENJA

Ovisno o mikrobiološkoj kontaminaciji uzorka, uzorak je potrebno razrijediti kako bi bilo moguće očitati rezultat na Petrijevoj ploči. 10 grama uzorka odvagano u vrećici s 90 mL fiziološke otopine predstavlja razrjeđenje  $10^{-1}$ . Razrjeđenje reda veličine  $10^{-2}$  dobije se tako da se 1 mL uzorka otpipetira u iduću epruvetu s 9 mL fiziološke otopine. Homogeniziranje otopine uzorka na Vortexu prethodi svakom pipetiranju, što osigurava veću točnost. Postupak je ponovljen do razrjeđenja onog reda veličine koji je očekivan za uzorak svježeg mesa.

### 3.2.4. ODREĐIVANJE UKUPNOG BROJA BAKTERIJA (PCA METODA)

Standardna metoda koja se koristi za određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija je metoda HRN ISO 4833-1:2013. Ova metoda se koristi za određivanje broja mikroorganizama koji su sposobni narasti te formirati kolonije u čvrstom mediju nakon aerobne inkubacije pri 30°C. Ova metoda je prikladna za proizvode namijenjene konzumaciji kod ljudi i za hranu za životinje, te za uzorke iz područja proizvodnje hrane odnosno rukovanja hranom.

Princip metode jest da se određena količina uzorka u tekućem obliku (suspenzije ako je uzorak u krutom obliku) stavi u praznu Petrijevu ploču te zalije određenom količinom tekućeg agara, te se stavi u inkubator na 30°C tijekom 72 h. Broj mikroorganizama po gramu ili po mililitru uzorka se dobije iz broja poraslih kolonija u Petrijevim pločama, uzimajući u obzir one s brojem kolonija manjim od 300. Pomoću brojača kolonija određuje se broj aerobnih mezofilnih bakterija u 1 gramu.

Sastav agara koji se koristi u ovoj metodi prikazan je u Tablici 5.

Tablica 5. Sastav medija za PCA (plate count agar)

<b>Kazein (enzimski razgrađen)</b>	<b>5,0 g</b>
<b>Ekstrakt kvasca</b>	<b>2,5 g</b>
<b>Glukoza</b>	<b>1,0 g</b>
<b>Agar</b>	<b>9 g do 18 g</b>
<b>Voda</b>	<b>1000 mL</b>

Prilikom nalijevanja agara u Petrijeve ploče bitno je provjeriti temperaturu agara koja bi trebala biti od 44°C do 47°C te količina koja se ulijeva u pojedinu Petrijevu ploču je 12 mL do 15 mL. Posebno je bitno dobro promiješati inokulum s medijem rotirajući Petrijeve ploče kako bi se ravnomjerno rasporedio po cijeloj površini da bi očitavanje rezultata bilo moguće. Nakon inkubacije pri već navedenim uvjetima, slijedi očitavanje rezultata odnosno brojanje kolonija koje su porasle.

Po 1 mL otopine uzorka je otpipetiran u praznu sterilnu Petrijevu ploču, te preliven s 12 mL do 15 mL agara kojemu je prethodno termometrom provjerena temperatura. Zatim je kružnim pokretima miješano kako bi se ravnomjerno rasporedio uzorak po cijeloj Petrijevoj ploči, te spremljeno na suhom mjestu dok se agar ne stvrdne nakon čega su napunjene Petrijeve ploče stavljene u inkubator na 30°C tijekom 72 h.

Nakon 72h iz inkubatora su izvađene Petrijeve ploče te su porasle kolonije izbrojane. S obzirom da su rađene paralele, izračunata je srednja vrijednost za svako pojedino razrjeđenje te su na taj način prikazani rezultati kao cfu mL<sup>-1</sup>.

### 3.2.5. ODREĐIVANJE BOJE

Objektivno mjerenje boje mesa temelji se na parametrima trodimenzionalnog spektra boja, korištenjem uređaja koji rade na principu mjerenja stupnja reflektirane svjetlosti od mjerne površine.

Boja je psihofizičko svojstvo, što znači da će isti uzorak pod jednakim osvjetljenjem dva različita promatrača percipirati drugačije ili čak isti promatrač, ali u različitim dijelovima dana. Iz tog razloga, potrebno je eliminirati tu promjenjivost kako bi se opisala boja. Osjetljivost čunjića je za svaku boju drugačija. No, u slučaju da se nađe prosjek kako promatrači s normalnim vidom vide boju, moglo bi se govoriti o standardnom promatraču. To je učinila Internacionalna komisija za rasvjetu CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) dvadesetih godina prošlog stoljeća, definirajući 1931. godine standardnog promatrača. Dakle, kako čovjekovo oko vidi, boju ovisi o stimulaciji receptora za crvenu, zelenu i plavu komponentu, pa su zato potrebne tri vrijednosti kako bi se opisale sve moguće boje. Ako zamislimo da su primarne boje na osima trodimenzionalnog sustava, dobili smo sustav boja. Stručnjaci su razvili mnoge sustave boja, a svaki ima svoje prednosti i mane. Ključni sustavi su međunarodno standardizirani, pa se primjenjuju u industrijskoj proizvodnji. Najraširenija je primjena XYZ i CIE  $L^*a^*b$  sustava boja.

Referentna metoda mjerenja boje mesa (Honikel, 1998) je ona koja koristi  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  spektar boja. Parametar  $L^*$  je mjera svjetlosti mesa iskazana vrijednostima od 0 do 100 (0 = crno; 100 = bijelo). Vrijednost parametra  $a^*$  je mjera crvenila mesa iskazana vrijednostima od -60 do 60, a iskazuje spektar od crvene do zelene boje, pri čemu veća vrijednost  $a^*$  parametra karakterizira crvenije meso. Vrijednost  $b^*$  parametra ukazuje na spektar nijansi između plave i žute boje, a njegova veća vrijednost označava izraženost žutog dijela spektra (Yiu i sur., 2001).

Rad uređaja temelji se na rastavljanju bijelog svjetla na pojedinačne valne dužine pomoću monokromatora (prizma ili optička rešetka). Njima se osvjetljava ispitivani uzorak boje i bijeli standard. Postupak se provodi redom s monokromatskim svjetlima duž čitavog spektra. Reflektirano svjetlo dolazi do fotoćelije, koja ih pretvara u električne impulse. Impulsi se dalje preračunavaju tako da se na skali mogu očitati faktor refleksije ili transmisije, pri određenoj valnoj dužini, u odnosu na bijeli standard.



$L^*a^*b^*$  prostor boja zasnovan je na suprotnoj teoriji boja. Funkcija svjetline  $L^*$  daje skalu neutralne boje od crne do bijele (od 0 do 100 jedinica svjetline), a kromatičnost boje definira se u odnosu na neutralnu os koja ima vrijednost 0 kromatičnosti.  $L^*a^*b^*$  svoju primjenu nalazi u formuli boja, procesnoj kontroli i kontroli kvalitete.

S digitalnim sustavom za snimanje moguće je odrediti boju hrane koristeći tri senzora boje. U ovom slučaju boja površine uzorka određuje se i prati bez kontakta s uzorkom. Prednost kompjuteriziranog vizualnog nadzora nad ljudskim je u tome da uređaji mogu mjeriti boju objektivno i kontinuirano. Ljudsko oko ima receptore za kratke (S), srednje (M) i duge (L) valne duljine koje su poznate i kao plavi, zeleni i crveni receptori. Prema tome, potrebna su tri parametra za opis osjeta boje. Specifična metoda za povezivanje ta tri parametra zove se obojeni prostor. Godine 1976. CIE definirala je  $L^*a^*b^*$  model i to je najpotpuniji i perceptivno ujednačen model koji djeluje kao poveznica te je neovisan o uređajima. Temelji se na XYZ obojenom prostoru, a predstavlja pokušaj linearizacije percepcije razlike u bojama koristeći matricu za razliku boje opisane pomoću Macadam elipse. Nelinearni odnosi za  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  imaju zadatak imitirati logaritamski odgovor ljudskog oka (Gökmen i Sügüt, 2007).

Za određivanje boje svinjskog buta korišten je spektrofotometar Konica Minolta CM-700d/600d (Osaka, Japan). Izmjerene su  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti. Svaka vrijednost je srednja vrijednost dobivena od 6 mjerenja po uzorku na različitim mjestima uzorka. Boja je mjerena na način da se pokušavalo izbjeći zone sa masnim tkivom tako da vrijednosti boje prezentiraju pravu boju mišićnog tkiva svinjskog buta.

Boja je mjerena za kontrolne uzorke nezapakiranog mesa te za uzorke zapakirane u modificiranoj atmosferi.

Uređaj koji je korišten prikazan je na Slici 5.



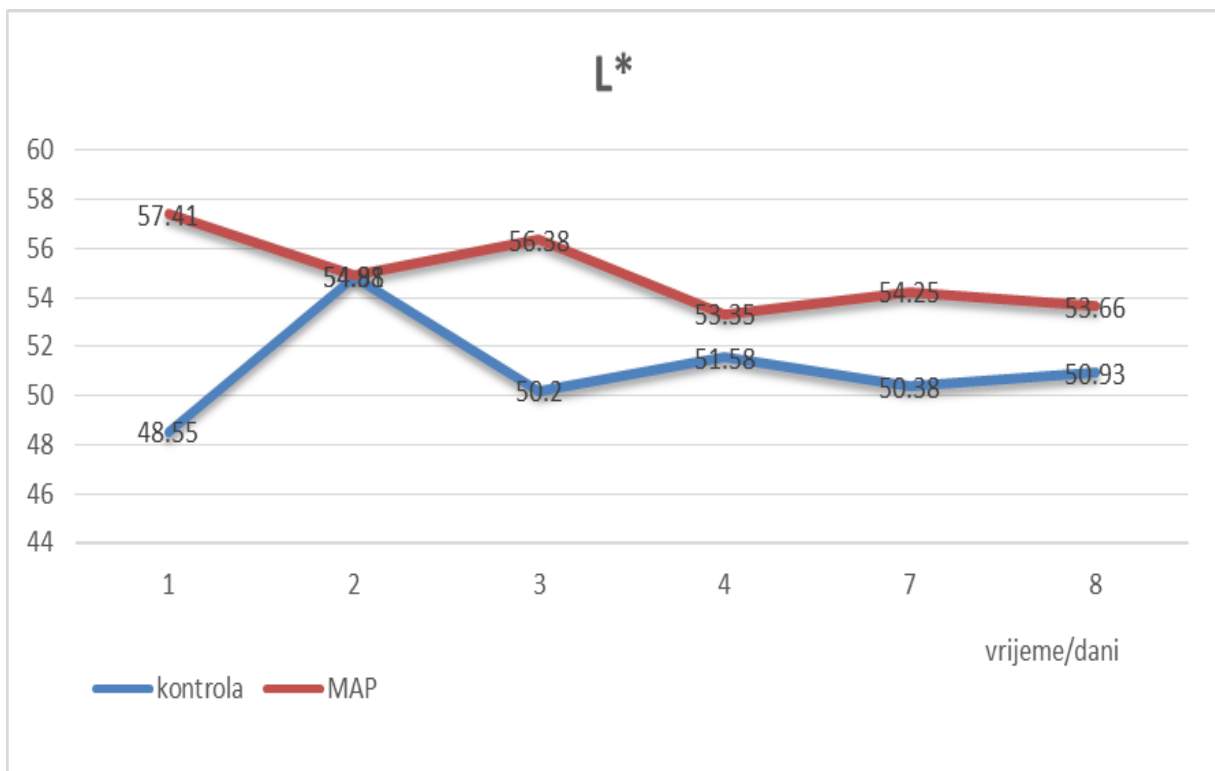
Slika 5. Spektrofotometar Konica Minolta CM-700d/600d (Anonymous 2, 2016)

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. REZULTATI MJERENJA BOJE

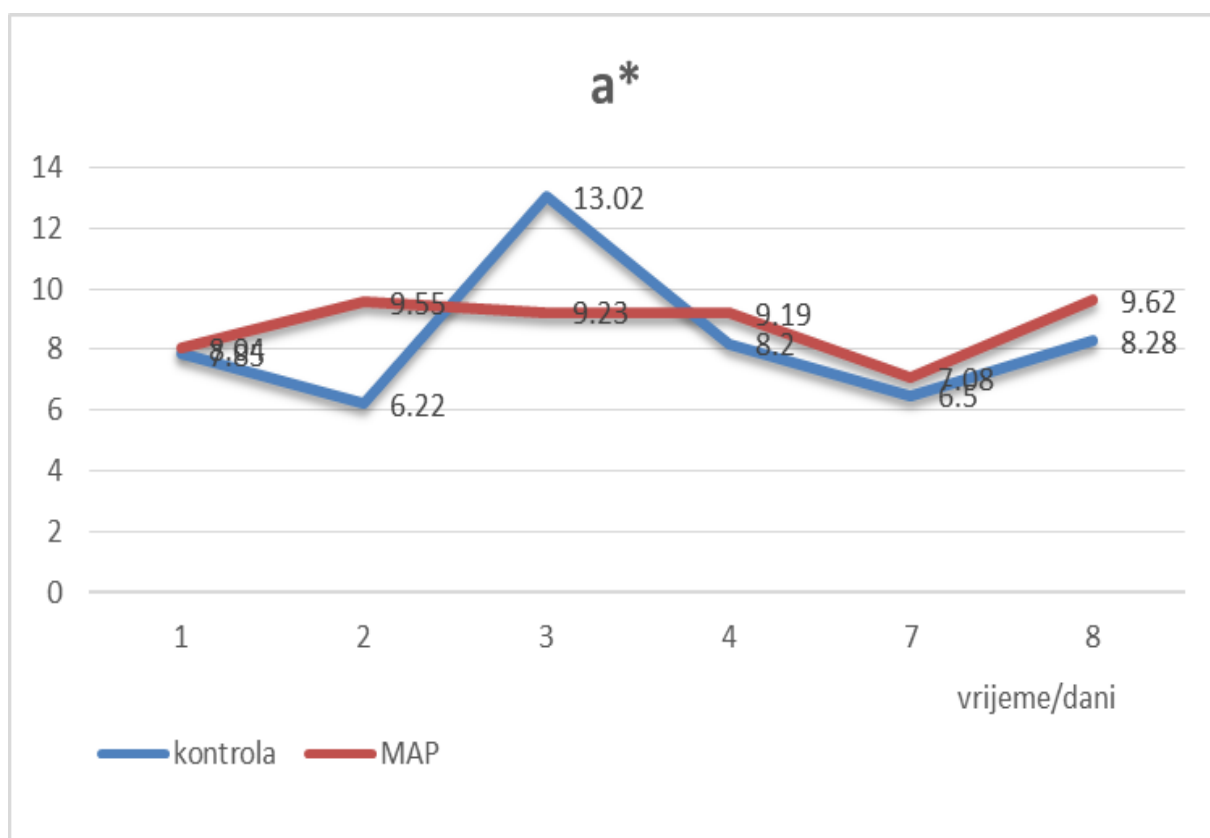
Na sljedećim slikama su prikazani rezultati mjerenja boje uzoraka svježeg nepakiranog mesa i uzoraka mesa pakiranog u modificiranoj atmosferi.

Na Slici 6. prikazan je parametar boje  $L^*$  za uzorak u modificiranoj atmosferi i kontrolni uzorak tijekom 8 dana skladištenja. Ovaj parametar označava svjetlost uzorka te je vidljivo da je veći za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi. Specifičnost koja se vidi iz grafičkog prikaza jest da je za uzorak pakiran u MAP vidljiv pad vrijednosti  $L^*$  što znači da je uzorak bio svjetliji na početku mjerenja, dok je kontrolni uzorak bio tamniji na kraju mjerenja što je vidljivo iz porasta vrijednosti  $L^*$ .



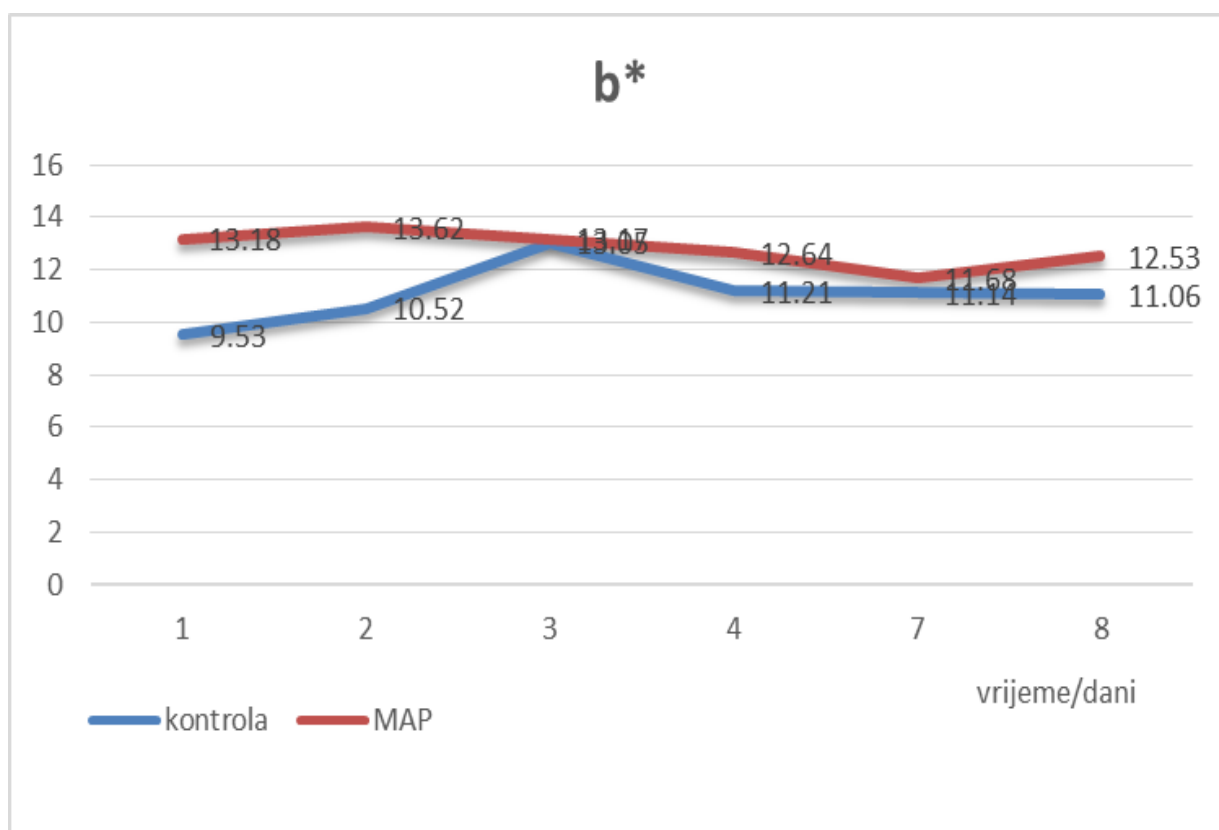
Slika 6. Ovisnost parametra boje  $L^*$  o vremenu za svježe upakirane uzorke svinjskog buta u atmosferi zraka (kontrolni) i u modificiranoj atmosferi (MAP)

Na Slici 7. je prikaz parametra boje  $a^*$  po danima skladištenja za kontrolni i MAP uzorak, te je vidljivo da je u prosjeku vrijednost veća za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi s izuzetkom trećeg dana skladištenja kad je za kontrolni uzorak izmjerena vrijednost od 13,02 u usporedbi s MAP uzorkom koji je 9,23. Ovaj parametar predstavlja mjeru za crvenilo meso, te znatno ovisi o tome koji dio komada mesa je uzet za mjerenje. Iz priloženog grafičkog prikaza vidimo da je uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi imao stabilniju izraženost crvene boje, što se smatra poželjnom karakteristikom, dok je kod kontrolnog uzorka vrijednost  $a^*$  dosta varirala tijekom 8 dana, što se vidi na grafičkom prikazu kao nagli porast odnosno pad vrijednosti.



Slika 7. Ovisnost parametra boje  $a^*$  o vremenu za svježe upakirane uzorke svinjskog buta u atmosferi zraka (kontrolni) i u modificiranoj atmosferi (MAP)

Na Slici 8. prikazana je ovisnost parametra boje  $b^*$  za kontrolni i MAP uzorak te je i ova vrijednost u prosjeku veća tijekom svih dana skladištenja za MAP uzorak. Ovaj parametar predstavlja žutu boju mesa, odnosno što je ovaj parametar veći to je izraženija žuta boja mesa. Kod oba uzorka nije primijećena izrazita promjena ovih vrijednosti tijekom osam dana skladištenja, a izmjerene vrijednosti su slične za kontrolni uzorak i uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi.



Slika 8. Ovisnost parametra boje  $b^*$  o vremenu za svježe upakirane uzorke svinjskog buta u atmosferi zraka (kontrolni) i u modificiranoj atmosferi (MAP)

Iz prikazanih rezultata jasno se vidi razlika u boji između uzoraka svinjskog svježeg mesa

zapakiranog u atmosferi zraka i onog zapakiranog u modificiranoj atmosferi, što je u skladu s očekivanim rezultatima.

Parametar  $L^*$ , koji predstavlja svjetlinu mesa, vidljivo je veći za uzorke zapakirane u modificiranu atmosferu u odnosu na kontrolne uzorke. Prema tome, meso koje je zapakirano u modificiranoj atmosferi jest svjetlije.

Parametar  $a^*$ , koji predstavlja mjeru za crvenilo mesa je u prosjeku neznatno veći za uzorke zapakirane u modificiranoj atmosferi. Pošto se radi o atmosferi s 70% kisika, očekivano je da meso bude svjetlije crvene boje zbog toga što se pri tim uvjetima mioglobina nalazi u stanju oksimioglobina.

Što je parametar  $b^*$  veći to je izraženija žuta boja mesa, a prema dobivenim rezultatima i ovaj je parametar veći za uzorak zapakiran u modificiranoj atmosferi.

Za uzorak pakiran u MAP izmjerena je najveća vrijednost parametra  $L^*$  prvog dana te je iznosila 57,41. Tijekom skladištenja vrijednost ovog parametra se smanjivala, s iznimkom trećeg dana mjerenja kada je primijećen rast vrijednosti u odnosu na prethodni dan. Ukupno gledano, nakon 8 dana skladištenja parametar  $L^*$  je dosegao nižu vrijednost u odnosu na početnu, što upućuje na to da je meso potamnilo (svjetlina se smanjila).

Za uzorak pakiran u atmosferi zraka vrijednost ovog parametra izmjerena zadnjeg dana skladištenja je veća od vrijednosti izmjerene prvoga dana (s početnih 48,55 porasla je na 50,93), što znači da je meso svjetlije (svjetlina se povećala tijekom 8 dana skladištenja).

Izmjerene vrijednosti parametra  $a^*$  za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi kroz 8 dana skladištenja su slične, ali vidi se razlika između prvog dana kad je izmjereno 8,04 te zadnjeg dana kad je izmjereno 9,62, što upućuje na to da se crvenilo mesa povećalo.

Za uzorke pakirane u atmosferi zraka ova vrijednost je tijekom skladištenja imala rast i pad, s tim da je ukupno gledano nakon 8 dana također porasla u odnosu na početnu vrijednost, što znači da se crvenilo mesa povećalo.

Parametar  $b^*$  je za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi prilično stagnirao tijekom skladištenja, s izmjerenim neznatnim padom nakon 8 dana, što znači da se prisutnost žute boje smanjila. S početnih 13,18 prvoga dana smanjio se na 12,53 što je izmjereno osmog dana skladištenja.

Za kontrolni uzorak izmjeren je porast ove vrijednosti nakon 8 dana, s početnih 9,53 na 11,06 što upućuje na porast prisutnosti žute boje mesa. Ako usporedimo vrijednosti ovog parametra izmjerene zadnjeg dana za oba uzorka vidimo da je razlika između njih neznatna.

Zakrys i sur. (2008) istraživali su pakiranje junetine u modificiranoj atmosferi s visokom koncentracijom kisika te su utvrdili najbolja svojstva mesa pri koncentraciji kisika od 50%. U tim uvjetima je bila najbolja postojanost boje mesa. U uzorcima korištenim u ovom radu prisutnost kisika je 70% što se također smatra atmosferom bogatom kisikom, te je također utvrđeno dobro očuvanje boje tijekom svih dana skladištenja.

## 4.2. REZULTATI UKUPNOG BROJA AEROBNIH MEZOFILNIH BAKTERIJA

U Tablici 6. je prikaz ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija prikazan po danima skladištenja, za kontrolni uzorak i za uzorak pakiran u MAP.

Tablica 6. Prikaz broja ukupnih aerobnih bakterija po danima skladištenja za kontrolni uzorak i MAP

	Dani skladištenja					
	1.dan	2.dan	3.dan	4.dan	7.dan	8.dan
KONTROLNI UZORAK	$6,89 \times 10^3$ cfu g <sup>-1</sup>	$1,87 \times 10^5$ cfu g <sup>-1</sup>	$3,54 \times 10^5$ cfu g <sup>-1</sup>	$3,64 \times 10^5$ cfu g <sup>-1</sup>	$>10^8$ cfu g <sup>-1</sup>	$>10^8$ cfu g <sup>-1</sup>
MAP	$2,82 \times 10^3$ cfu g <sup>-1</sup>	$2,76 \times 10^3$ cfu g <sup>-1</sup>	$5,04 \times 10^4$ cfu g <sup>-1</sup>	$1,45 \times 10^4$ cfu g <sup>-1</sup>	$7,23 \times 10^5$ cfu g <sup>-1</sup>	$2,17 \times 10^7$ cfu g <sup>-1</sup>



Iz prikazanih rezultata je vidljivo da je za kontrolni uzorak broj ukupnih aerobnih mezofilnih bakterija veći od  $10^6$  cfu g<sup>-1</sup>, što se smatra graničnom vrijednosti za sirovo meso prema Pravilniku o mikrobiološkim kriterijima, dobiven iza četvrtog dana kad je vrijednost ukupnog broja aerobnih bakterija iznosila  $3,64 \times 10^5$  cfu g<sup>-1</sup>. Za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi produljen je rok trajnosti do sedmog dana skladištenja, jer je dobivena vrijednost ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija osmog dana premašila dozvoljenu vrijednost te iznosi  $2,17 \times 10^7$  cfu g<sup>-1</sup>.

Za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi broj ukupnih aerobnih bakterija je prvi i drugi dan skladištenja gotovo jednak, a vidljivi porast je sedmog dana skladištenja kad broj ukupnih aerobnih bakterija iznosi  $7,23 \times 10^5$  cfu g<sup>-1</sup>. Treći i četvrti dan skladištenja broj ukupnih aerobnih bakterija je gotovo jednak te iznosi  $5,04 \times 10^4$  cfu g<sup>-1</sup> te  $1,45 \times 10^4$  cfu g<sup>-1</sup>, dok je zadnji dan broj ukupnih aerobnih bakterija  $2,17 \times 10^7$  cfu g<sup>-1</sup>. Iz rezultata vidimo značajni skok u broju ukupnih aerobnih bakterija tek zadnji dan skladištenja kad meso više nije zdravstveno ispravno.

Kod kontrolnog uzorka je već drugog dana skladištenja dobiven broj ukupnih aerobnih bakterija  $1,87 \times 10^5$  cfu g<sup>-1</sup>, što je za dva reda veličina više od uzorka pakiranog u MAP. Sedmog i osmog dana skladištenja kontrolnog uzorka broj ukupnih aerobnih bakterija je

$>10^8$  cfu g<sup>-1</sup>, što je znatno više u odnosu na uzorak pakiran u MAP.

Rezultati dobiveni ovim eksperimentalnim radom su u skladu s očekivanjima. Uzorci svježeg svinjskog mesa pakirani u atmosferi bogatoj kisikom očekivano imaju dulji rok trajnosti od onih koji su nezapakirani. Atmosfera bogata kisikom je u primjeni zbog toga što veća koncentracija kisika osigurava povećanje oksimioglobina te se na taj način održava crvena boja mesa, a rast aerobnih mikroorganizama je spriječen određenim postotkom ugljikovog dioksida, u ovom slučaju je omjer kisika i ugljikovog dioksida 70:30.

Utjecaj MAP na mikrobiološku kakvoću mljevenog junećeg mesa su istraživali Brooks i sur. (2008) te dokazali da je pakiranje u MAP suzbilo rast psihrofilnih aerobnih bakterija u usporedbi s kontrolnim pakiranjima te da su kontrolna pakiranja imala značajno veći broj ukupnih aerobnih bakterija i bakterija mliječne kiseline nego MAP pakiranja. Rezultati su također pokazali da MAP suzbija i rast patogena (*Escherichia Coli O157*, *Salmonella*) u

usporedbi s kontrolnim uzorcima.

U istraživanjima Jayasingh i sur. (2002) na mljevenoj teletini pakiranoj u modificiranoj atmosferi s visokim udjelom kisika (80% kisika i 20% ugljikovog dioksida) je broj aerobnih bakterija porastao desetog dana skladištenja na  $9 \times 10^5$  cfu g<sup>-1</sup> bez većih odstupanja u odnosu na vrstu pakiranja.

Rezultati ovog istraživanja su u skladu s rezultatima istraživanja Brooks i sur. (2008), jer je dobiven također značajno veći broj ukupnih aerobnih bakterija za kontrolna pakiranja. Može se zaključiti o pozitivnom utjecaju modificirane atmosfere na rok trajnosti svježeg mesa, odnosno o produljenju roka trajnosti u odnosu na kontrolne uzorke.

U usporedbi s rezultatima istraživanja Jayasingh i sur. (2002) ovim je radom utvrđena značajna razlika u broju aerobnih mezofilnih bakterija ovisno o načinu pakiranja, odnosno ovim radom je primijećen pozitivan utjecaj modificirane atmosfere na trajnost mesa.

Na temelju ovih rezultata ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija trajnost svježeg svinjskog mesa pakiranog u modificiranoj atmosferi bogatoj kisikom je povećana u odnosu na kontrolne uzorke.

U našem slučaju korištena koncentracija od 70% kisika te 30% ugljikovog dioksida se pokazala uspješnom, kako s mikrobiološkog gledišta tako i sa strane izgleda odnosno boje. Produljenje roka trajnosti u skladu je s očekivanim literaturnim navodima roka trajnosti svježeg mesa pakiranog u modificiranu atmosferu (Lovrić, 2003) te se ono pripisuje antimikrobnom učinku ugljikovog dioksida kao sastavnog dijela modificirane atmosfere. Koncentracija ugljikovog dioksida bi trebala biti viša od onih 20% što je željena koncentracija radi maksimalne inhibicije aerobnih bakterija uzročnika kvarenja prema literaturnim navodima, te se u našem slučaju koncentracija od 30% pokazala uspješnom zbog inhibitornog učinka na rast aerobnih bakterija. Atmosfera bogata kisikom je korištena radi očuvanja boje, ali je ugljikov dioksid nužna komponenta u tom slučaju za inhibiciju rasta aerobnih bakterija.

Prema literaturnim navodima procijenjena trajnost svježeg mesa pakiranog u modificiranu atmosferu je od 5 do 8 dana pri temperaturi od 4°C (Lovrić, 2003), što je ovim radom i potvrđeno jer je sedmi dan skladištenja pri toj temperaturi ukupni broj aerobnim mezofilnih bakterija još uvijek odgovarao onom propisanom Pravilnikom o mikrobiološkim kriterijima, te je tek osmi dan skladištenja taj broj premašen. U usporedbi s kontrolnim uzorkom, rok trajnosti je produžen za četiri dana s obzirom na ukupni broj aerobnih mezofilnih bakterija

koji je premašio dozvoljenu vrijednost već nakon četvrtog dana skladištenja uzoraka pri istim uvjetima.

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju izvršenih analiza, dobivenih rezultata i provedene rasprave, može se zaključiti sljedeće:

1. Svježe svinjsko meso pakirano u modificiranoj atmosferi može se duže skladištiti pri 4°C u odnosu na svježe meso zapakirano u plitice s prijanjajućom folijom. Modificirana atmosfera pokazuje stoga dobar učinak sa strane održivosti što se pripisuje antimikrobnom učinku ugljikovog dioksida.
2. Prema rezultatima mikrobiološke analize rok trajnosti je za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi produljen za četiri dana.
3. Prema rezultatima mjerenja boje, utvrđene L\*, a\* i b\* vrijednosti su veće za uzorke pakirane u modificiranoj atmosferi. L\* vrijednost koja označava svjetlinu mesa je veća za uzorak pakiran u modificiranoj atmosferi, te je stoga meso pakirano u MAP svjetlije od kontrolnog uzorka. Vrijednost parametra a\* koji predstavlja mjeru za crvenilo mesa je također veći za uzorak pakiran u MAP, što ukazuje na to da je meso u modificiranoj atmosferi crvenije u odnosu na kontrolni uzorak. U atmosferi bogatoj kisikom povećan je udio oksimioglobina koji je zaslužan za održavanje poželjne crvene boje svježeg mesa. Vrijednost parametra b\* koji označava mjeru za žutu boju mesa je neznatno veća za uzorak pakiran u MAP.

## 6. LITERATURA

Anonymous (2008) Ispitivanje higijenske ispravnosti namirnica, [http://benz.hr/files/ispitivanje\\_higijenske\\_ispravnosti\\_namirnica.pdf](http://benz.hr/files/ispitivanje_higijenske_ispravnosti_namirnica.pdf) Pristupljeno 17. srpnja 2008.

Anonymous (2009) Packaging of meat (<http://labs.ansci.uiuc.edu/meatscience/Library/packaging.htm>). Pristupljeno 22. srpnja 2009

Anonymous(2013) <http://www.meatscience.org/docs/ckdefault-source/publications-resources/Hot-Topics/download-the-ebook-format-pdf-of-the-meat-color-measurement-guidelines.pdf?sfvrsn=0>. Pristupljeno 15. svibnja 2016.

Anonymous (2016) <http://www.pik-vrbovec.hr/> Pristupljeno 20. svibnja 2016.

Anonymous2 (2016) <http://sensing.konicaminolta.asia/products/cm-700d-spectrophotometer/> Pristupljeno 10. lipnja 2016.

Anonymous3 (2016) [https://www.google.hr/search?newwindow=1&biw=1517&bih=741&tbm=isch&sa=1&q=svje%C5%BEe+svinjsko+meso+&oq=svje%C5%BEe+svinjsko+meso+&gs\\_l=img.3...8509.10882.0.11631.18.11.0.0.0.0.128.900.6j3.9.0....0...1c.1.64.img..12.0.0.keW2o6LbQ1E#imgrc=KSZQfbkDk-VSvM%3A](https://www.google.hr/search?newwindow=1&biw=1517&bih=741&tbm=isch&sa=1&q=svje%C5%BEe+svinjsko+meso+&oq=svje%C5%BEe+svinjsko+meso+&gs_l=img.3...8509.10882.0.11631.18.11.0.0.0.0.128.900.6j3.9.0....0...1c.1.64.img..12.0.0.keW2o6LbQ1E#imgrc=KSZQfbkDk-VSvM%3A) Pristupljeno 25. kolovoza 2016.

Anonymous4 (2016) <http://rs.multivac.com/hr/rjesenja/proizvodi/categories/product/termoforming-strojevi-za-pakiranje/kompaktni-strojevi-za-vakuum-pakiranje/r-126/> Pristupljeno 6. rujna 2016.

Baer, A., Miller, M.J., Dilger, A.C. (2013) Pathogens of interest to the Pork Industry: A review of research on Interventions to assure food safety, *Compr. Rev. Food Sci. F.* **12**, 182-209.

Brooks, J.C., Alvarado M., Stephens T.P., Kellermeier, J.D., Tittor A.W., Miller, M.F. (2008) Spoilage and safety characteristics of ground beef packaged in traditional and modified atmosphere packages. *J. Food Protect.* **71(2)**, 293-301.

Carpenter, C.E., Cornforth, D.P., Whittier D. (2001) Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat. Sci.* **57**, 359-363.

Church, P.N. (1994) Developments in modified-atmosphere packaging and related

technologies. *Trends. Food Sci. Tech.* **5**, 345-352.

Devine, R. (2003) La consommation des produits carnés. *INRA Pru* **16(5)** 325–7.

Ercolini, D., Russo, F., Torrieri, E., Masi, P., Vilani, F. (2006) Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Appl. Environ. Microb.* **72(7)**, 4371-4663.

Faustman, C., Cassens, R. G. (1990) The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *J. Food Protect.* **54**, 58-70.

Gökmen, V., Sügüt, I. (2007) Computer-vision based analysis of colour as a tool for food process control. U: Focus on food engineering research and developments, (Pletney, V.N., ured.), Nova Publishers, New York, str. 17-27.

Han, J.H. (2000) Antimicrobial food packaging, *Food Tech.* **54**, 56-65.

Hofmann, K. (1994) What is quality? Definition, measurement and evaluation of meat quality. *Meat Focus International* **3(2)**, 55-67.

Honikel, K.O. (1998) Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* **49**, 447–457.

Hunt, M.C., Mancini, R.A., Hachmaister, K.A., Kropf, D.H., Merriman, M., Lduca, G., Milliken, G. (2004) Carbon monoxide in modified atmosphere packaging affects color, shelf life and microorganisms of beef steaks and ground beef. *J. Food Sci.* **69**, 45-52.

Jan, J.H., Zhang, Y., Buffo, R. (2005) Surface chemistry of food, packaging and biopolymer materials. In: J.H. Han, Editor, Innovations in food packaging, Elsevier Academic Press, Amsterdam, 45-59.

Jayasingh, P., Cornforth, D.P., Brennand, C.P., Carpenter, C.E., Whittier, D.R. (2002) Sensory evaluation of ground beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging, *J. Food Sci.* **67(9)**, 3493-3496.

Joerger, R.D. (2007) Antimicrobial films for food applications: a quantitative analysis of their effectiveness. *Packag. Technol. Sci* **20**, 231-273.

John, L., Cornforth, D., Carpenter, C.E., Sorheim, O., Pettee, B.C., Whittier, D.R. (2004) Comparison of color and thiobarbituric acid values of cooked hamburger patties after storage of fresh beef chubs in modified atmospheres. *J. Food Sci.* **69**, 608-614.

Kulier, I. (1994) Hrvatsko-engleski prehrambeni rječnik, Hrvatski farmer, Zagreb.

Limjaroen, P., Ryser, E., Lockhart, H., Harte, B. (2005) Inactivation of *Listeria monocytogenes* on beef bologna and cheddar cheese using polyvinyl-idene chloride films containing sorbic acid. *J. Food. Sci.* **70**, 267-271.

Lovrić, T. (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, 1. Izd., Hinus, Zagreb, str. 88-101.

Lund, M.N., Lametsch, R., Hviid, M.S., Jensen, O. N., Skibsted, L. H. (2007) High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage, *Meat. Sci.* **77**, 295-303.

McMillin, K.W. (2008) Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat, *Meat. Sci.* **80**, 43-65.

Osswald, T.A., Baur, E., Brinkmann, S., Oberbach, K., Schmachtenberg E. (2006) International plastics handbook, Hanster Publishers, Munich, 507-699, 708.

Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla (2007) *Narodne novine* **46**, Zagreb (NN 46/07)

Pravilnik o mesnim proizvodima (2011) *Narodne novine* **55**, Zagreb (NN 55/11)

Pravilnik o mikrobiološki kriterijima za hranu (2007) *Narodne novine* **46**, Zagreb (NN 46/07)

Renner, M., Labadie, J. (1993) Fresh red meat packaging and meat quality. In Proceedings 39<sup>th</sup> international congress of meat science and technology (361-387), Calgary, Kanada.

Seideman, S.C., Durland, P.R. (1984) Vacuum packaging of fresh beef. A review. *J. Food Quality.* **6**, 29-47.

Siegel, D.G. (2001) Case ready concepts- packaging technologies. Western science research update conference on technologies for improving the quality and safety of case-ready products, Annual meeting of national meat association, Las Vegas.

- Skibsted, L.H., Bertelsen, G., Qvist, S. (1994) Quality changes during storage of meat and slightly preserved meat products. In Proceedings 40<sup>th</sup> international congress of meat science and technology (1-10), The Hague, Nizozemska.
- Šćetar, M., Kurek, M., Galić, K. (2010) Trends in meat and meat products packaging- a review, *Croat. J. Food Sci. Technol.* **2(1)** 32-48.
- Tang, J., Faustman, C., Mancini, R.A., Seyfert M., Hunt, M.C. (2006) The effects of freeze-thaw and sonication on mitochondrial oxygen consumption, electron transport chain-linked metmyoglobin reduction, lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation, *Meat. Sci.* **74**, 510-515.
- Tewari, G., Jayas, D.S., Holley, R.A. (1999) Centralized packaging of retail meat cuts: A review. *J. Food Prot.* **62**, 418-425.
- Thippareddi, H. I., Phebus, R. K. (2007) Modified atmosphere packaging (MAP): Microbial control and quality. Pork Information Gateway Factsheet, 1-5.
- Viana, E. S., Gomide, L. A. M., Vanetti, M.C. D. (2005) Effect of modified atmosphere on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. *Meat. Sci.* **71**, 696-705.
- Vujković, I., Galić, K., Vereš, M. (2007) Ambalaža za pakiranje namirnica, Tectus, Zagreb.
- Yiu, H., Wai-Kit, N., Rogers, R. (2001) Meat Science and Applications. CRC Press
- Zakrys, P.I., Sullivan, M.G.O., Allenl, P., Kerry, J.P. (2008) Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Sci.* **79**, 648-655.