

Proizvodnja i kontrola kvalitete sladoleda King Obsession

Dominko, Anamaria

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:159:181699>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2021.

Anamaria Dominko

1377/PI

**PROIZVODNJA I KONTROLA
KVALITETE SLADOLEDA KING
OBSESSION**

Diplomski rad izrađen je u prehrambenoj industriji Ledo plus d.o.o. u Zagrebu pod nadzorom dipl. ing. Patrisa Mrše, rukovoditelja proizvodnje sladoleda, i mentorstvom prof. dr. sc. Rajke Božanić, redovite profesorice u Laboratoriju za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda Zavoda za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Veliko hvala tvrtki Ledo plus d.o.o. koja mi je pružila mogućnost izrade diplomskog rada u svom proizvodnom pogonu, kao i dipl. ing. Patrisu Mrši, rukovoditelju proizvodnje sladoleda, na savjetima i pomoći.

Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Rajki Božanić što me je usmjerila i svojim zalaganjem omogućila izradu diplomskog rada.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda

Diplomski rad

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

PROIZVODNJA I KONTROLA KVALITETE SLADOLEDA KING OBSESSION

Anamaria Dominko, 1377/PI

Ledo plus d.o.o. Čavićeva 1a, Zagreb

Sažetak: Cilj rada bio je praćenje procesa proizvodnje sladoleda King Obsession te kontrola kvalitete sirovina i konačnog proizvoda. Proces finalizacije sladoleda sastojao se od zrenja sladoledne smjese, djelomičnog zamrzavanja, oblikovanja i punjenja sosom od čokolade te dubokog zamrzavanja. Potom se oblikovani sladoled umakao u kakao preljev, preljev tamne i bijele čokolade te posipao ekspanziranim žitaricama s kakaom. Kontrola kvalitete sastojala se od mikrobiološke analize sirovina, kemijske analize sladoledne smjese, praćenja cjelokupnog tehnološkog procesa te mikrobiološke analize gotovog proizvoda. Tijekom proizvodnje u provedenim ispitivanjima nisu utvrđena odstupanja u mikrobiološkoj ispravnosti sirovina, kao ni u kemijskom sastavu sladoledne smjese. Proizvedeni sladoled udovoljava mikrobiološkim kriterijima i kriterijima zadanih Pravilnika te proizvođačku recepturu, što upućuje na učinkovitost vođenja procesa proizvodnje prema dobroj proizvođačkoj praksi.

Ključne riječi: sirovine, sladoledna smjesa, sladoled, proizvodnja, kontrola kvalitete

Rad sadrži: 44 stranice, 21 sliku, 12 tablica, 42 literaturna 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., Rajka Božanić*

Pomoć pri izradi: *Patris Mrša, dipl. ing (rukovitelj proizvodnje sladoleda u Ledo plus d.o.o.)*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Doc. dr. sc. *Katarina Lisak Jakopović*
2. Prof. dr. sc. *Rajka Božanić*
3. Prof. dr. sc. *Nada Vahčić*
4. Prof. dr. sc. *Ksenija Marković* (zamjena)

Datum obrane: 21. srpnja 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Graduate Thesis

Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Technology and Engineering
Laboratory for Technology of Milk and Milk Products

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

PRODUCTION AND QUALITY CONTROL OF ICE CREAM KING OBSESSION

Anamaria Dominko, 1377/PI

Ledo plus d.o.o. Čavićeva 1a, Zagreb

Abstract: The aim of this paper is monitoring of production and quality control of ice cream King Obsession. The ice cream finalization process consisted of maturing the ice cream mixture, partial freezing, shaping and filling with chocolate sauce, and deep freezing. The shaped ice cream was then dipped in a cocoa topping, a topping of dark and white chocolate, and sprinkled with expanded cereals with cocoa. Quality control consisted of microbiological analysis of ingredients, chemical analysis of ice cream mix, monitoring of the whole technological process and microbiological analysis of finished product. During the production process in test there were no differences in microbial quality of ingredients and chemical composition of ice cream mix. The produced ice cream meets the microbiological criteria and the criteria of the default regulations, as well as the production recipe, which indicates the efficiency of conducting the production process according to good production practice.

Key words: ingredients, ice cream mix, ice cream, production, quality control

Thesis contains: 44 pages, 21 figures, 12 tables, 42 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. *Rajka Božanić*, Full professor

Technical support and assistance: *Patris Mrša, dipl. ing (production manager of ice cream Ledo plus d.o.o.)*

Reviewers:

1. PhD. *Katarina Lisak Jakopović*, Assistant professor
2. PhD. *Rajka Božanić*, Full professor
3. PhD. *Nada Vahčić*, Full professor
4. PhD. *Ksenija Marković*, Full professor (substitute)

Thesis defended: Juli 21st 2021

1	UVOD.....	1
2	TEORIJSKI DIO	2
2.1	MLIJEČNI DESERTI	2
2.2	SMRZNUTI DESERTI.....	2
2.3	DEFINICIJA I PODJELA SLADOLEDA.....	2
2.4	SASTOJCI SLADOLEDA.....	3
2.4.1	Mliječni sastojci	4
2.4.2	Nemliječni sastojci.....	5
2.5	TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE SLADOLEDA.....	6
2.5.1	Priprema, miješanje i predgrijavanje sladoledne smjese	6
2.5.2	Homogenizacija sladoledne smjese	7
2.5.3	Pasterizacija i hlađenje sladoledne smjese.....	8
2.5.4	Zrenje sladoledne smjese	9
2.5.5	Djelomično zamrzavanje sladoledne smjese i upuhivanje zraka.....	9
2.5.6	Oblikovanje i duboko zamrzavanje sladoleda	10
2.5.7	Pakiranje i skladištenje sladoleda	11
2.6	TEKUĆI DUŠIK U PROIZVODNJI SLADOLEDA	11
2.7	MANE SLADOLEDA	11
2.8	MIKROORGANIZMI U SLADOLEDU.....	12
2.9	KONTAMINACIJA SLADOLEDA SIROVINAMA	13
2.10	KONTAMINACIJA SLADOLEDA TIJEKOM POSTUPKA PROIZVODNJE.....	13
2.11	AEROBNE MEZOFILNE BAKTERIJE	14
2.12	OBITELJ <i>Enterobacteriaceae</i>	14
2.12.1	<i>Escherichia coli</i>	14
2.12.2	<i>Salmonella</i> spp.....	15
2.13	<i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.14	<i>Listeria monocytogenes</i>	15
2.15	KVASCI I PLIJESNI	16
2.16	SULFITOREDCIRAJUĆE KLOSTRIDIJE	17
3	EKSPERIMENTALNI DIO	18
3.1	MATERIJALI	18
3.2	METODE	20

3.2.1	Mikrobiološka analiza sirovina i gotovog proizvoda.....	20
3.2.1.1	Određivanje broja aerobnih mezofilnih bakterija.....	20
3.2.1.2	Određivanje broja Enterobacteriaceae	20
3.2.1.3	Određivanje Escherichia coli	20
3.2.1.4	Određivanje Salmonella spp.....	21
3.2.1.5	Određivanje bakterija Listeria monocytogenes.....	22
3.2.1.6	Određivanje bakterija Staphylococcus aureus.....	23
3.2.1.7	Određivanje sulfitoreducirajućih klostridija.....	23
3.2.1.8	Određivanje broja kvasaca i plijesni	24
3.2.2	Fizikalno-kemijski parametri sladolednih smjesa (čokolada i bijela čokolada)	24
3.2.2.1	Određivanje suhe tvari vlagomjerom	24
3.2.2.2	Određivanje sadržaja masti u sladolednoj smjesi prema Gerberu.....	25
3.2.2.3	Određivanje bubrenja sladoledne smjese	26
3.2.3	Kontrola proizvoda tijekom oblikovanja i pakiranja	26
3.2.3.1	Određivanje mase i temperature sladoleda.....	26
3.2.3.2	Određivanje volumena sladoleda	27
4	REZULTATI I RASPRAVA.....	28
4.1	TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE KING OBSESSION SLADOLEDA ..	29
4.1.1	Proizvodnja sladolednih smjesa choco obsession i bijele čokolade	29
4.1.2	Proizvodnja sladoleda King Obsession.....	31
4.1.3	Moguće mane King Obsession sladoleda	33
4.2	KATEGORIZACIJA I SASTOJCI <i>King obsession</i> SLADOLEDA.....	33
4.3	REZULTATI PARAMETARA TIJEKOM PROCESA FINALIZACIJE.....	35
4.3.1	Mikrobiološki rezultati sirovina i gotovog proizvoda King Obsession	36
5	ZAKLJUČCI	40
6	LITERATURA	41

1 UVOD

Od svih smrznutih mliječnih deserata, sladoled je proizvod koji se najviše konzumira (Goff i Hartel, 2013). Djelomično je ili potpuno zamrznuta namirnica koja se sastoji od mlijeka ili mliječnih proizvoda i nemliječnih sastojaka koji se dodaju u smjesu u svrhu podešavanja okusa, arome, boje, mirisa i konzistencije (Božanić i sur., 2010). Zrak je jedan od najvažnijih sastojaka odgovoran za dobivanje visokokvalitetnog sladoleda koji pruža laganu teksturu i utječe na fizikalna svojstva i sposobnost otapanja sladoleda u ustima (Sofjan i Hartel, 2003).

U radu je praćena proizvodnja sladoleda „King Obsession“ koji prema Pravilniku o smrznutim desertima (NN 20 / 2009) spada u kategoriju krem sladoleda. King Obsession sastoji se od sladolednih smjesa okusa bijele i tamne čokolade, sosa od čokolade, kakao preljeva, preljeva bijele čokolade te preljeva tamne čokolade s dodatkom crispy posipa ekspanziranih žitarica s kakaom.

Cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi kakvoću gotovog proizvoda na način da se odredi fizikalno-kemijska analiza sladolednih smjesa, provedu mjerenja i vaganja tijekom proizvodnog procesa te ispita mikrobiološka ispravnost sirovina i gotovog proizvoda. Mikrobiološke analize uključivale su određivanje aerobnih mezofilnih bakterija, *Enterobacteriaceae*, kvasaca i plijesni, sulfitreducirajućih klostridija, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*.

2 TEORIJSKI DIO

2.1 MLIJEČNI DESERTI

Mliječni deserti obuhvaćaju skupinu suhих mješavina za deserte te deserte spremne za konzumaciju. Industrijski proizvedene mliječne deserte spremne za konzumaciju nije potrebno prethodno doraditi zbog čega se nazivaju ready-to-eat deserti. Oni se pak dijele na ohlađene deserte i smrznute deserte čijoj skupini pripada i sladoled (Chandan i sur., 2016).

2.2 SMRZNUTI DESERTI

Prema Pravilniku o smrznutim desertima (NN 20/09) smrznuti deserti mogu biti smrznute emulzije (koje se proizvode od toplinski obrađene smjese mlijeka, vrhnja i/ili drugih mliječnih proizvoda i/ili vode, mliječne i/ili biljne masti, mliječnih i/ili biljnih bjelančevina, šećera i drugih sastojaka) ili smrznute otopine (koje se proizvode od toplinski obrađene smjese vode, šećera i drugih sastojaka). Proizvode se postupkom zamrzavanja, najčešće uz dodavanje zraka te se na tržište stavljaju pod različitim nazivima.

2.3 DEFINICIJA I PODJELA SLADOLEDA

Sladoled je djelomično ili potpuno zamrznuta namirnica koja se sastoji od (pasteriziranog ili steriliziranog) mlijeka ili mliječnih proizvoda (mlijeka u prahu, ugušćenog mlijeka, vrhnja ili maslaca) i nemliječnih sastojaka koji se dodaju u smjesu u svrhu podešavanja okusa, arome, boje, mirisa i konzistencije, aditiva za stabilizaciju i emulgiranje smjese, vode i uklopljenog zraka (Božanić i sur., 2010). Definicija i podjela sladoleda s obzirom na formulaciju globalno se razlikuje zbog različite tradicije i propisa. Varijacije standardnog sladoleda obično su u minimalnom udjelu masti i bjelančevina, koje mogu biti mliječne ili nemliječne, te suhe tvari (Goff i Hartel, 2013). U Pravilniku o smrznutim desertima (NN 20/09) navedene su sljedeće četiri kategorije sladoleda:

- Mliječni sladoled je proizvod koji sadrži najmanje 2,5 % mliječne masti, najmanje 6 % bezmasne suhe tvari mlijeka i najmanje 24 % ukupne suhe tvari. Mliječni sladoled ne smije sadržavati biljnu mast i biljne bjelančevine.

- Krem sladoled je proizvod koji sadrži najmanje 5 % mliječne masti, najmanje 6 % bezmasne suhe tvari mlijeka i najmanje 30 % ukupne suhe tvari. Krem sladoled ne smije sadržavati biljnu mast i biljne bjelančevine.
- Sladoled je proizvod koji sadrži najmanje 2,5 % mliječne i/ili biljne masti, mliječne i/ili biljne bjelančevine, a sadrži najmanje 24 % ukupne suhe tvari.
- Smrznuti aromatizirani desert je proizvod koji sadrži vodu, šećer, arome i druge sastojke.

2.4 SASTOJCI SLADOLEDA

Četiri su vrste otopina koje čine sladolednu smjesu: prava otopina (čine ju otopine šećera - laktoze, glukoze i saharoze), koloidna otopina (u kojoj se nalaze otopine proteina, stabilizatora i soli), emulzija (koju čini tekuća masna faza otopljena u vodi) te suspenzija koja se definira kao otopina krutih čestica i kristala leda u tekućoj fazi (Marshall i Arbuckle, 1996). Svi sastojci sladoleda u nezamrznutom stanju bez inkorporiranog zraka čine sladolednu smjesu od koje se dobiva sladoled (Murgić i Božanić, 2008). Tablica 1 prikazuje mliječne i nemliječne sastojke sladoledne smjese.

Tablica 1. Mliječni i nemliječni sastojci sladoledne smjese (Goff i Hartel, 2013)

MLIJEČNI SASTOJCI	NEMLIJEČNI SASTOJCI
Mliječna mast	Biljna mast
Bezmasna mliječna suha tvar	Biljni proteini
<ul style="list-style-type: none"> • laktoza • kazein • proteini sirutke • mineralne tvari i vitamini • kiseline • enzimi • plinovi 	Boje
	Arome
	Zaslađivači
	Stabilizatori
	Emulgatori
	Voda
	Zrak

2.4.1 Mliječni sastojci

Skupinu mliječnih sastojaka sladoledne smjese čine mliječna mast i bezmasna mliječna suha tvar (Goff i Hartel, 2013).

Kao izvor mliječne masti u sladolednoj smjesi mogu se koristiti mlijeko, mlijeko u prahu, ugušćeno punomasno mlijeko, maslac i vrhnje. Mliječna mast najskuplji je sastojak o kojem ovisi i cijena sladoleda. O udjelu mliječne masti u sladolednoj smjesi ovise i važna svojstva sladoleda. Visok udjel povećava viskoznost i otpornost topljenja, a smanjuje sposobnost tučenja, dok je pri manjem udjelu mliječne masti više praznog prostora za formiranje kristalića leda. Optimalan udjel mliječne masti je 10 – 12 %, no može iznositi 8 – 18 %. Mliječna mast povećava hranjivu vrijednost sladoleda, utječe na zadržavanje arome i punoću okusa te poboljšava strukturu i teksturu proizvoda. Masne se globule prilikom smrzavanja sladoledne smjese u obliku aglomerata koncentriraju na površinu mjehurića zraka čime se dobiva ‘kremasti’ okus (Marshall i Arbuckle, 1996). Zbog različitog omjera dugolančanih i kratkolančanih masnih kiselina mliječa se mast otapa na tjelesnoj temperaturi (37 °C), a na sobnoj temperaturi (22 °C) se nalazi u polučvrstom obliku te je moguć raspon topljenja od -40 °C do +40 °C. Navedeno svojstvo omogućava da je na temperaturama tučenja i smrzavanja dvije trećine mliječne masti kristalizirano, a ostatak u tekućem stanju.

Kao izvor bezmasne mliječne suhe tvari najčešće se koriste obrano mlijeko, mlijeko u prahu ili sirutka u prahu. Povećanjem udjela bezmasne suhe tvari u sladolednoj smjesi povećava se hranjiva vrijednost, viskoznost i otpornost na topljenje te snizuje točka ledišta sladoleda. Prevelika količina bezmasne suhe tvari može prouzrokovati pojavu okusa po kuhanom i/ili kondenziranom mlijeku, slan okus sladoleda i pjeskovitu teksturu. Najveći udjel bezmasne suhe tvari zauzimaju laktoza i proteini (Goff i Hartel, 2013; Goff, 2011).

Laktoza sladoledu daje blago slatkasti okus te je optimalan udjel 9 – 12 %. Zbog svojstva slabe topivosti laktoze u sladolednoj smjesi, udjel veći od 18 % može uzrokovati već spomenutu pjeskovitu teksturu sladoleda (Tudor Kalit, 2019).

Proteini mlijeka se tijekom homogenizacije sladoledne smjese adsorbiraju na površinu globula mliječne masti te povećavaju sposobnost tučenja (inkorporacije mjehurića zraka u sladolednu smjesu) i bubre prilikom vezanja slobodne vode čime dolazi do povećanja viskoznosti pa time i poboljšanja strukture sladoledne smjese (Goff, 2011).

2.4.2 Nemliječni sastojci

Skupinu nemliječnih sastojaka sladoledne smjese čine stabilizatori, emulgatori, zaslađivači, voda, arome, boje i zrak te biljne masti i proteini (Goff i Hartel, 2013).

Zrak je jedan od najvažnijih sastojaka sladoledne smjese odgovoran za dobivanje visokokvalitetnog sladoleda. Sladoledu pruža laganu teksturu te utječe na fizikalna svojstva djelujući na čvrstoću i sposobnost otapanja u ustima. Njegovim upuhivanjem, odnosno inkorporiranjem dolazi do povećanja volumena sladoledne smjese (*overrun*) čime smjesa dobiva strukturu pjene. Osim količine inkorporiranog zraka važna je veličina i raspodjela mjehurića zraka u sladolednoj smjesi. Količina zraka ugrađena tijekom smrzavanja utječe na veličinu kristala leda (Sofjan i Hartel, 2003).

Optimalan udjel stabilizatora je 0,1 – 0,5 %, a prevelike količine dovode do prevelike viskoznosti sladoledne smjese koja nije pogodna za oblikovanje. Stabilizatori se dodaju u svrhu poboljšanja konzistencije, teksture i otpornosti na topljenje. Također, sprečavaju rast većih kristala leda i bubre priikom upijanja slobodne vode sprečavajući time migraciju vode u ambalažu (*siling*) (Goff, 2011). Uz navedeno, mogu djelovati na teksturu i oslobađanje arome. U proizvodnji sladoleda najčešće se koriste želatina, natrijev alginat, guar guma, ksantan, karuba guma, karagenan, pektin, itd. (Tudor Kalit, 2019).

Lecitin, gliceridi i esteri masnih kiselina najčešći su emulgatori u sladoledu. U sladolednu smjesu dodaju se u udjelu 0,3 – 0,5 % radi poboljšanja sposobnosti tučenja te skraćivanja procesa tučenja i zrenja. Prevelike količine imaju negativne posljedice na sposobnost topljenja sladoleda i strukturu. Olakšavaju oblikovanje sladoleda dajući čvrstu, glatku i manje vlažnu teksturu (Marshall i Arbuckle, 1996; Božanić, 2012).

Šećeri i zaslađivači poboljšavaju okus i teksturu te utječu na točku ledišta, a u prevelikim količinama smanjuju sposobnost tučenja.

Potrebno je obratiti pozornost na intenzitet dodanih boja i aroma u konačnom proizvodu koje se dodaju u svrhu poboljšanja okusa sladoleda, a boje djeluju i na izgled konačnog proizvoda (Božanić, 2012).

2.5 TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE SLADOLEDA

Tehnološki postupak proizvodnje sladoleda može se podijeliti na dva dijela - pripremu sladoledne smjese i operacije pretvorbe smjese u sladoled. Priprema sladoledne smjese obuhvaća miješanje mliječnih i nemliječnih sastojaka, predgrijavanje, homogenizaciju, pasterizaciju te hlađenje i zrenje. Operacije kojima se dobiva sladoled i konačan proizvod uključuju djelomično zamrzavanje i upuhivanje zraka, oblikovanje, duboko zamrzavanje u tunelu i pakiranje (Tratnik i Božanić, 2012).

2.5.1 Priprema, miješanje i predgrijavanje sladoledne smjese

Sladoledna smjesa priprema se prema proizvođačkoj recepturi. Emulgatori i stabilizatori miješaju se s ostalim sastojcima, dok se boje i arome dodaju nakon pasterizacije jer su osjetljivi na visoke temperature zbog čega je bitno osigurati njihovu prethodnu mikrobiološku ispravnost (Tratnik i Božanić, 2012).

Radi izbjegavanja nastanka grudica u sladolednoj smjesi, važno je da se svi sastojci iz recepture hidratiziraju i to u istim koncentracijama u svakoj šarži kako bi sladoled iz svake šarže sladoledne smjese bio jednake kvalitete. Sladoledna smjesa se miješa pri čemu dolazi do emulgiranja masti i otapanja sirovina. Miješanje se može provoditi u duplikatorima na 50 – 60 °C ili u vakuum mix tanku Almix (slika 1) na temperaturi 20 – 25 °C.

Predgrijavanje se provodi pri 73 – 75 °C u sekciji regeneracije u pasterizatoru gdje se hladna sladoledna smjesa zagrijava već pasteriziranom, a pasterizirana sladoledna smjesa se hladi hladnom smjesom. U ovoj fazi dolazi do potpunog otapanja mliječne masti (Goff i Hartel, 2013; Tratnik i Božanić, 2012).



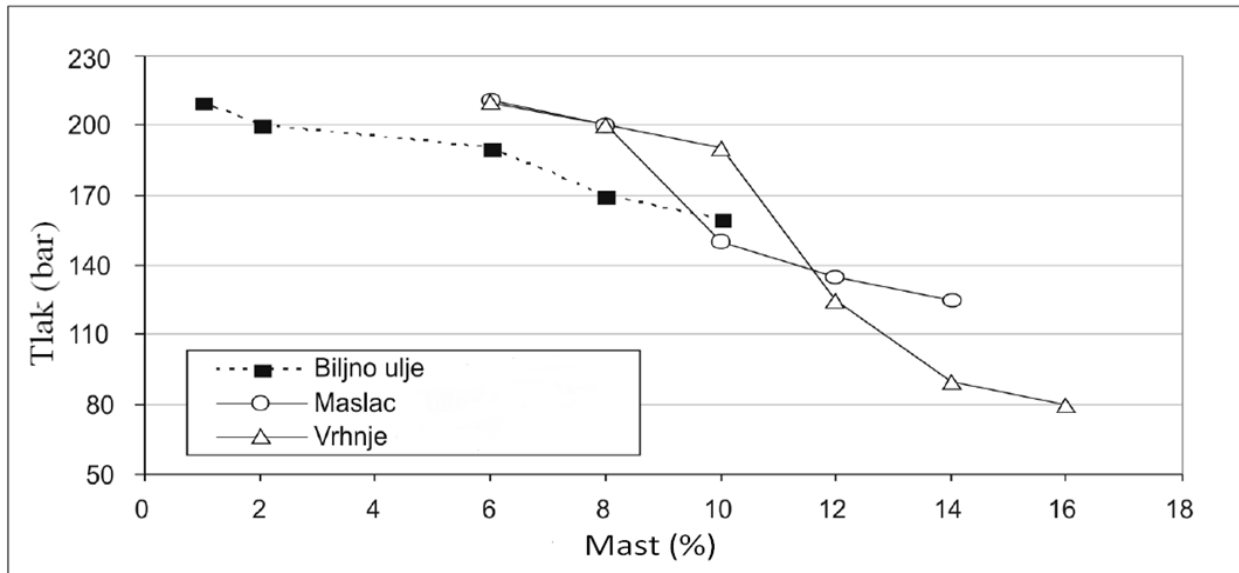
Slika 1. Almix uređaj za miješanje sastojaka sladoledne smjese (Anonymous 1, 2021)

2.5.2 Homogenizacija sladoledne smjese

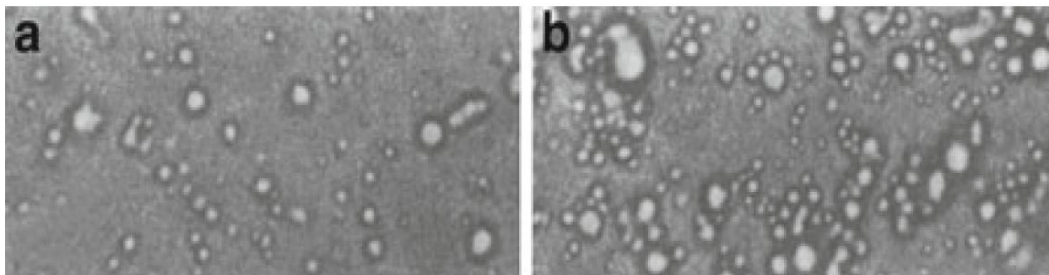
Homogenizacija je neophodna operacija za smjese koje sadržavaju mast ili ulje koje nije u stabilnoj emulziji. Provodi se s ciljem dobivanja fine smjese bez odvajanja faza u kojoj su sastojci bolje povezani. Također, emulgatori i sredstva za vezanje bolje se izmiješaju s masnoćama pa se tako poboljšava sposobnost vezanja zraka. Cilj homogenizacije je postići veličinu globula masti $<2 \mu\text{m}$ što se postiže uporabom tlaka 140 – 200 bara. Pri tlaku nižem od optimalnog globule masti ostaju prevelike, dok kod previsokog tlaka postoji opasnost od nakupljanja nastalih vrlo sitnih globula. Optimalan tlak ovisi o udjelu i vrsti masti, tipu ventila homogenizatora, temperaturi te stupnju homogenizacije (Tratnik i Božanić, 2012).

Tlak homogenizacije obrnuto je proporcionalan udjelu masti u sladolednoj smjesi te je potrebno uzeti u obzir i sadržaj masti u komponentama koje ulaze u smjesu, poput desertne čokolade ili kakaovog praha. Na primjenjeni tlak homogenizacije utječe i korišteni izvor masti pa je tako veći tlak homogenizacije potreban kada se kao izvor masti koristi mliječna mast u odnosu na biljno ulje. Isto tako, veći je tlak potreban za vrhnje nego za maslac, što je vidljivo i na grafu ovisnosti optimalnog tlaka o udjelu masti na slici 2 (Murgić i Božanić, 2008).

U proizvodnji sladoleda uglavnom se koristi dvostupanjska homogenizacija prilikom koje se u prvom stupnju koriste tlakovi 150 – 220 bara i globule se smanjuju na oko $1 \mu\text{m}$, dok u drugom stupnju tlak 50 – 70 bara sprečava ponovnu aglomeraciju masnih globula (Tratnik i Božanić, 2012). Na slici 3 a) vidljiva je dobra dispergiranost masnih globula nakon dvostupanjske homogenizacije, dok slika 3 b) prikazuje nakupine masnih globula u nehomogeniziranoj sladolednoj smjesi.



Slika 2. Ovisnost optimalnog tlaka homogenizacije o udjelu masti u sladolednoj smjesi s obzirom na izvor masnoće (prema Murgić i Božanić, 2008)



Slika 3. Mikroskopski prikaz globula miječne masti: a) raspšene masne globule nakon dvostupanjske homogenizacije b) nakupine masnih globula u nehomogeniziranoj sladolednoj smjesi (Goff i Hartel, 2013)

2.5.3 Pasterizacija i hlađenje sladoledne smjese

Glavni cilj pasterizacije je osigurati mikrobiološku kvalitetu proizvoda što se postiže zagrijavanjem na temperaturi 83 – 85 °C tijekom 15 – 30 °C sekundi. Pasterizacijom se uništavaju patogeni mikroorganizmi i hidrolitički enzimi (Goff i Hartel, 2013), popravljaju aroma, stabilnost i tekstura te pomaže otapanju i miješanju sastojaka. Serum proteini izlučuju se iz koloidnog stanja te na sebe vežu više vode pri čemu se sastojci bolje povezuju.

Nakon pasterizacije toplinski se obrađena smjesa hladi hladnom smjesom na otprilike 12 °C, a hladna smjesa se tako predgrijava. Tako ohlađena smjesa se dodatno hladi vodom na otprilike 5 °C.

Brzo hlađenje pasterizirane smjese na 4 – 6 °C obavezno je kako bi se zadržala viskoznost smjese i tekstura nakon čega smjesa odlazi na zrenje (Tratnik i Božanić, 2012).

2.5.4 Zrenje sladoledne smjese

Zrenje je posljednja faza proizvodnje sladoledne smjese. Ono poboljšava svojstva tučenja, oblikovanje, konzistenciju, teksturu i strukturu te povećava otpornost na otapanje i stabilnost tijekom skladištenja. Zrenje smjese zajedno s već dodanom bojom i aromom provodi se u duplikatoru, tzv. zrijaču, na 2 – 4 °C uz blago miješanje pri čemu dolazi do kristalizacije mliječne masti, vezanja vode na stabilizatore, bubrenja proteina i povećanja viskoznosti smjese (Tratnik i Božanić, 2012). Temperatura 0 – 2 °C povećava stupanj kristalizacije mliječne masti i u potpunosti uklanja mogućnost rasta mikroorganizama. Zrenje se provodi 4 – 24 sata ovisno o uporabljenom tipu masti i emulgatora (Goff i Hartel, 2013). Dulje zrenje provodi se za smjese s većim udjelom masti, tj. one podvrgnute nižem tlaku homogenizacije. Potrebno vrijeme može se skratiti dodatkom emulgatora/stabilizatora (Tratnik i Božanić, 2012) koji zamjenjuju proteine na površini membrane globula mliječne masti. Pravilno proveden postupak zrenja važan je kako bi kasnije smrznuta emulzija bila stabilna, zadržala oblik i kako bi se produljilo vrijeme otapanja (Goff i Hartel, 2013).

2.5.5 Djelomično zamrzavanje sladoledne smjese i upuhivanje zraka

Djelomično zamrzavanje sladoledne smjese i upuhivanje zraka jedna je od najvažnijih operacija u proizvodnji sladoleda. Nastankom pjene, zamrzavanjem vode i formiranjem ledene faze te djelomičnom destabilizacijom emulzije masti osigurava se kvaliteta, dobar okus i prinos gotovog proizvoda zbog povećanja volumena i do 100 %, te smanjenje osjeta hladnoće u ustima. Optimalan omjer zraka i ostalih sastojaka je 1:1. Optimalna veličina mjehurića zraka je 60 – 100 µm, a kristala leda 10 – 40 µm. Nastala viskozna, plastična, meka i pjenasta sladoledna smjesa prikladna je za oblikovanje.

Ovisno o sastavu smjese, djelomično zamrzavanje odvija se na temperaturi od -3 do -7 °C pri čemu se zamrzne 30 – 50 % vode. Cilj operacije je proizvesti kristale leda veličine 40 – 50

μm , odnosno ispod ili ne značajno iznad praga senzorske detekcije u vrijeme konzumacije, što se osigurava brzim zamrzavanjem. Zamrzavanjem vode koncentriraju se tvari u preostaloj nezamrznutoj otopini što posljedično dovodi do smanjenja temperature ledišta. U komercijalnoj industriji sladoleda koriste se kontinuirani zamrzivači (slika 4) s dvostrukim koncentričnim cilindrima koji često rade pod povećanim tlakom kako bi se smanjio volumen zraka u smjesi i povećala izmjena topline. U vanjskom cilindru nalazi se amonijak, rashladno sredstvo smjese koja se zamrzava u unutarnjem cilindru.

Osovina se sastoji od noževa koji stružu zamrznutu smjesu dovedenu dvjema pumpama između kojih je ventil za upuhivanje zraka. Volumen se povećava upuhivanjem aseptičnog zraka (ili plina, najčešće N_2 ili CO_2) za 80 – 100 % ovisno o udjelu suhe tvari i tehnološkoj obradi smjese. Množenjem udjela suhe tvari s 2,5 može se dobiti približna vrijednost povećanja volumena. Regulacijom brzine prolaska smjese kroz cilindar utječe se na strukturu sladoleda pa se tako jednom pumpom regulira dotok, odnosno količina smjese, a drugom protok. Smjesa se u zamrzivaču zadržava 0,4 – 2 min, dok je zamrzavanje brzinom 5 – 27 °C/min, tj. sve dok se ne postigne temperatura od -6 °C (Tratnik i Božanić, 2012).



Slika 4. Kontinuirani sladoledni zamrzivač (Anonymous 2, 2021)

2.5.6 Oblikovanje i duboko zamrzavanje sladoleda

Duboko zamrzavanje provodi se u tunelima na temperaturi od -38 do -50 °C te se postupak smatra gotovim kada sredina proizvoda dosegne temperaturu -15 °C. Brz postupak dubokog zamrzavanja sprečava nastanak velikih kristala leda te miješanje sastojaka (Tratnik i Božanić,

2012). Sladoled se može oblikovati i pakirati na različite načine poput štapića, korneta, čašice ili kutije.

2.5.7 Pakiranje i skladištenje sladoleda

Potom slijedi pakiranje i skladištenje gotovog proizvoda. Rok trajanja je 18 mjeseci te je potrebna konstantna temperatura skladištenja radi onemogućavanja nastanka velikih kristala leda (Tratnik i Božanić, 2012)

2.6 TEKUĆI DUŠIK U PROIZVODNJI SLADOLEDA

Tekući dušik (LN_2) pri atmosferskom tlaku s temperaturom ključanja od $-196\text{ }^{\circ}C$ osigurava trenutno zamrzavanje sladoleda. Potpuna kristalizacija leda inhibirana je niskom temperaturom zbog ograničene pokretljivosti molekula vode pa se tako formiraju dendritični kristali leda koji su fino raspršeni. Daljnja kristalizacija leda može se potaknuti neprihvatljivom temperaturom skladištenja uzrokujući štetne učinke u kvaliteti proizvoda (Goff i Hartel, 2013).

2.7 MANE SLADOLEDA

Puno je čimbenika koji mogu djelovati negativno na senzorska svojstva sladoleda, a najčešće pogreške i mane nastaju u okusu, boji, strukturi, pri topljenju, pri pakiranju te odstupanje od deklarirane količine.

Na okus negativno mogu utjecati neodgovarajući sastojci, njihova loša kvaliteta, neodgovarajuća količina aroma, zaslađivača i dr. Užegao okus može nastati od oksidirane mliječne masti, kiseo miris i okus od kiselih sastojaka, gorak priokus može biti posljedica mikrobiološkog djelovanja ili promjene sirovina ili dodanih aroma. Okus na kuhano može se pak pojaviti zbog denaturacije proteina sirutke uslijed djelovanja previsokih temperatura.

Boja sladoleda mora biti u skladu s deklariranim okusom, pravilna i dovoljno izražena. Nepravilno raspoređena boja, šaren ili točkast sladoled nije prihvatljiv.

Veličina, količina i raspored kristala leda, mjehurići zraka te količina i raspored nezamrznutih sastojaka utječu na strukturu sladoleda. Premekan, premastan, leden, drobljiv ili pjeskast sladoled nezaovoljavajuće je strukture. Prevelika količine zraka, premalo stabilizatora ili emulgatora te suhe tvari mogu rezultirati mrvičastom ili pahuljičastom strukturom. Također,

tehnološko-proizvodni parametri poput nedovoljnog tlak tijekom homogenizacije, nedovoljnog zrenja, presporog zamrzavanja, prebrzog pumpanja kroz zamrzivač, sporog očvršćivanja sladoleda te fluktuacija temperature tijekom skladištenja i distribucije mogu prouzročiti mane u strukturi sladoleda.

Kod rastopljenog sladoleda ne smije doći do razdvajanja faza. Prevelika kiselost (koagulacija proteina), ravnoteža soli (koagulacija proteina), prevelik tlak homogenizacije ili preniska temperatura u zamrzivaču (kristalizacija masti) čimbenici su koji utječu na destabilizaciju masti ili stabilizaciju proteina što za posljedicu ima grudanje ili grušanje sladoleda prilikom otapanja. Uzroci slabe topljivosti mogu pak biti pogrešan emulgator, prevelika količina emulgatora ili masti, preintenzivno povezivanje masti u smjesi tijekom homogenizacije pri preniskoj temperaturi ili uporaba jednofaznog homogenizatora te zamrzavanje pri preniskoj temperaturi u zamrzivaču.

Mane koje odbijaju potrošača te povećavaju mogućnost kontaminacije su moguće deformacije sladoleda ili lijepljenje proizvoda za ambalažu.

Pogreška sladoleda je bilo kakvo odstupanje od količine sastojka navedenog u deklaraciji. Ono je moguće tijekom proizvodnje ako je količina sastojaka nepravilno dozirana, ako je tehnološki postupak nepravilan ili tijekom skladištenja proizvoda (Tratnik i Božanić, 2012).

2.8 MIKROORGANIZMI U SLADOLEDU

Mikrobiološka kvaliteta i sigurnost proizvoda jedna su od glavnih obaveza prehrambene industrije koja potrošačima pruža pouzdanje te utječe i na ugled tvrtke. Mogućnost kontaminacije sladoleda dodacima i rukovođenjem nakon pasterizacije ono je što sladoled izdvaja među mliječnim proizvodima (Goff i Hartel, 2013). Visoka hranjiva vrijednost, visok pH (6 – 7), sastav (šećeri, proteini, zrak) i duga trajnost sladoled čine dobrim medijem za rast bakterija (Ljevaković-Musladin, 2004; Kambamanoli-Dimon, 2000). Patogeni mikroorganizmi ne preživljavaju pasterizaciju, no moguća je križna kontaminacija sirovinama koje se dodaju nakon pasterizacije te okolišnim uvjetima, odnosno putem opreme i pribora za proizvodnju, prometom i skladištenjem te osobljem koje dolazi u kontakt sa sladoledom tijekom proizvodnje, prometa i skladištenja. Stoga su indikatori mikrobiološke kvalitete proizvodne opreme i higijene okoliša te konačnog proizvoda aerobne mezofilne i koliformne bakterije (*Enterobacteriaceae*) (Goff i Hartel, 2013; Ljevaković-Musladin, 2004). Prisutnost patogenih i/ili potencijalno

patogenih mikroorganizma sladoled čine mikrobiološki neispravnim, kao i prisutnost ostalih mikroorganizama u količinama koje su štetne za zdravlje ili veće od propisanih Zakonom o hrani (NN 46/07) te važećim Pravilnikom o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 74/08).

2.9 KONTAMINACIJA SLADOLEDA SIROVINAMA

Mlijeko u prahu kao sirovina može biti kontaminirano salmonelama i stafilokokima eventualno preživjelima nakon postupka pasterizacije.

Suhi šećeri gotovo su sterilni, ako su pravilno pripremani, procesirani i usklađeni. No, moguća je kontaminacija osmofilnih mikroorganizmima, kvascima i plijesnima.

Maslac za proizvodnju sladoleda proizvodi se iz iz pasteriziranog vrhnja u kojem su patogeni i većina ostalih mikroorganizama uništeni. Međutim, mali broj mezofilnih bakterija, koliforma i lipolitičkih bakterija (*Psseudomonas*) ipak može preživjeti, no maslac se čuva na temperaturi od -20 °C na kojoj nema rasta bakterija.

Također, svi emulgatori su rizični ako nisu proizvedeni u higijenskim uvjetima, posebice oni koji sadrže jaja, kao i ostali dodaci sladoledu (vanilija, čokolada, orasi, voće, lješnjaci) koji se dodaju nakon pasterizacije (Kambamanoli-Dimon, 2000).

2.10 KONTAMINACIJA SLADOLEDA TIJEKOM POSTUPKA PROIZVODNJE

Provedbom pasterizacije odmah nakon miješanja sastojaka može se izbjeći namnožavanje mikroorganizama eventualno prisutnih u sirovini. Patogeni mikroorganizmi mogu preživjeti pasterizaciju, ako ona nije provedena na ispravan način. Za mikrobiološki pravilno proveden postupak zrenja sladoledne smjese odgovorna je zadovoljavajuća čistoća opreme i pribora te adekvatna temperatura pri kojoj se provodi postupak. Također, bitna je mikrobiološka kvaliteta zraka koji se inkorporira u sladolednu smjesu tijekom hlađenja. Uz navedeno važna je i mikrobiološka kakvoća ambalaže. Duboko zamrzavanje onemogućava namnažanje mikroorganizama u sladoledu. Ipak, moguće je preživljavanje salmonela u tim uvjetima kroz dulji period. No, čuvanjem na preniskoj temperaturi stvaraju se uvjeti za rast bakterija koje su preživjele pasterizaciju ili su naknadno unesene u proizvod. Ako je između pasterizacije i zamrzavanja prošao duži vremenski period, te ako je došlo do odmrzavanja i ponovnog zamrzavanja, može doći do kvarenja (Kambamanoli-Dimon, 2000).

2.11 AEROBNE MEZOFILNE BAKTERIJE

Optimalna temperatura za rast aerobnih mezofilnih bakterija je 20 – 30 °C (mezofilno), uz prisustvo kisika (aerobno). Za većinu bakterija optimalna je temperatura 37 °C, odnosno tjelesna temperatura čovjeka. Stoga aerobnim mezofilnim baterijama pripada većina patogenih bakterija. Povećan broj ovih bakterija u hrani indikator je starosti i lošije mikrobiološke kakvoće (kontaminacije i/ili početka kvarenja). Kod mikrobioloških briseva broj aerobnih mezofilnih bakterija predstavlja količinu bakterija koje se nalaze na površinama, rukama i priboru, koja ako je povećana ukazuje na nedovoljno čišćenje pranje i dezinfekciju (ZZJZDNZ, 2021).

2.12 OBITELJ *Enterobacteriaceae*

Enterobakterije su crijevne bakterije i prirodna su mikroflora probavnog sustava ljudi i životinja. Obuhvaćaju sljedeće rodove: *Salmonella* (patogen), *Escherichia* (potencijalni patogen), *Shigella* (patogen), *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Yersinia*, *Hafnia*, *Serratia*, *Edwardsiella* i *Erwinia*. Prisutnost enterobakterija u namirnicama indikator je fekalnog zagađenja, tj. nedovoljne higijene tijekom proizvodnje, čuvanja i rukovanja s namirnicama. Namirnice u kojima se ustanovi prisutnost enterobakterija smatraju se zdravstveno neispravnima. Izolirane mikrobiološkim brisevima sa površina, ruku osoblja i pribora ukazuju na fekalno zagađenje i nedovoljno čišćenje, pranje i dezinfekciju (ZZJZDNZ, 2021).

2.12.1 *Escherichia coli*

Prirodno stanište *Escherichia coli* isključivo je probavni sustav zbog čega se smatra najboljim indikatorom fekalnog zagađenja u obitelji *Enterobacteriaceae*. Potencijalni je patogen te se otkrivaju i novi sojevi ove patogene vrste. U hrani se pojavljuje kao posljedica kontaminacije primarnih sirovina, među kojima je i mlijeko. Namirnica iz koje se izolira *Escherichia coli* smatra se zdravstveno neispravnom (ZZJZDNZ, 2021).

2.12.2 *Salmonella* spp.

Rodovi *Salmonella* također su crijevne bakterije koje su za čovjeka patogene. Oko 95 % *Salmonella* prenose se hranom. Rizičnoj skupini namirnica pripada mlijeko i sladoled. Prisutnost *Salmonella* u sladoledu moguća su posljedica nedovoljne pasterizacije i loše higijene. Pribor, posuđe, radne površine i ruke osoblja koje su onečišćene ovom bakterijom mogu biti izvor ove bakterije u već pripremljenoj i termički obrađenoj hrani, naročito ako hranu priprema i njome rukuje osoba koja je kliconoša. *Salmonella* se kuhanjem uništava. Namirnica iz koje se izolira *Salmonella* spp. smatra se zdravstveno nepravnom i zahtjeva epidemiološku obradu objekta i osoblja u kojem je dotična namirnica proizvedena i/ili zatečena (ZZJZDNZ, 2021).

2.13 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus vrlo je važan patogen u mikrobiologiji namirnica jer je najotpornija je od svih nesporogenih bakterija te je najvažnija karakteristika ove bakterije stvaranje enterotoksina. Ima sposobnost tolerancije visokog sadržaja soli, ekstremnih pH i visokih temperatura (60 °C/60 min), preživljava sušenje i otporna je na djelovanje mnogih dezinfekcijskih sredstava i antibiotika. Velik broj toksina i enzima koje sintetizira doprinose patogenosti ove bakterije. U proizvodnji i distribuciji hrane opasnost od kontaminacije *Staphylococcus aureus* predstavljaju ljudi kliconoše koji su i izvor ove bakterije u hrani. Inkubacija je vrlo kratka (1 – 6 h). Ovaj tip intoksikacije najčešće je porijeklom iz sladoleda, kremastih kolača i mesnih proizvoda. Pravilno čuvanje namirnica u hladnjaku na 4 °C i odgovarajuća pasterizacija pomažu sprečavanju razmnožavanja *Staphylococcus aureus* i inhibiraju sintezu enterotoksina. Hrana iz koje se izolira ova bakterija je zdravstveno neispravna, te ukazuje na potrebu epidemiološke obrade objekta u kojoj je dotična namirnica pripremljena i osoblja koje je sudjelovalo u pripremi i distribuciji (ZZJZDNZ, 2021).

2.14 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes prisutna je posvuda u prirodi te je novi patogen u mikrobiologiji namirnica. Prisutnost *Listeria monocytogenes* u termički obrađenoj namirnici rezultat je naknadne kontaminacije prljavim priborom i posuđem. Među rizičnim namirnicama su i mlijeko i mliječni proizvodi. Listerioza (bolest uzrokovana ovom bakterijom) ima vrlo blage simptome

nalik gripi i vrlo često prolazi neprepoznata pa je infekcija posebno opasna za djecu, trudnice, starije i osobe oslabljenog imuniteta kod kojih rezultira relativno visokim mortalitetom. Ulazak bakterije u organizam jest oralnim putem, preko hrane. S obzirom da je još uvijek nepoznata infekcijska doza, mikrobiološki standard za ovu bakteriju je vrlo strog odnosno, bakterija ne smije uopće biti prisutna u hrani. Značajna karakteristika *Listeria monocytogenes* je mogućnost rasta na temperaturi hladnjaka (+4 °C), što znači da čuvanje hrane u hladnjaku nema značajan učinak na sprečavanje rasta ove bakterije. Namirnica iz koje se izolira *Listeria monocytogenes* smatra se zdravstveno neipravnom (ZZJZDNZ, 2021).

2.15 KVASCI I PLIJESNI

Kvasci su jednostanični organizmi ovalnog ili cilindričnog oblika. Najčešće se razmnožavaju pupljenjem. Generacijsko vrijeme kvasaca je sporije nego kod bakterija (prosječno u hrani 2 – 3), što vodi od početne kontaminacije jednom stanicom po gramu do potpunog kvarenja za otprilike 40 do 60 sati. Kvasci se kao i plijesni mogu se prenositi zrakom. Kolonije kvasca uglavnom su vlažne ili mukozne po izgledu i blijedožute boje. Aktivitet vode koji im najviše odgovara je 0,90 – 0,94, ali mogu rasti i ispod 0,90. Najbolje rastu u kiseloj pH sredini. Vjerojatnost za razvoj kvasaca je vakuumirana hrana i/ili ona s nižim pH. Hrana koja je kontaminirana kvascima često ima slatkast miris. Većina njih nije štetna za ljudsko zdravlje. U pogledu sanitarne mikrobiologije, najveća pažnja posvećena je rodovima *Candida*, *Saccharomyces* i *Rhodotorula*.

Ako spora plijesni dospije na mjesto pogodno za klijanje, iz nje se može razviti nova plijesan. Spore su tvorevine različitog porijekla, oblika i veličine, sastavljene od jedne, dvije ili više stanica. Visoko su specijalizirane za reprodukciju, preživljavanje i rasprostranjenje vrsta. Plijesan se može formirati iz bilo kojeg vegetativnog dijela, omogućuje brzo razmnožavanje i opstanak u različitim sredinama. Kolonije su uglavnom veće od bakterijskih. Međusobno se razlikuju po: strukturi, obliku, obojenju i veličini. Odlikuju velikom moći rasprostranjenja. Otporne su na različite agense, pa se mogu izolirati iz različitih sredina i namirnica s izrazito kiselom sredinom, niskim sadržajem slobodne vode te sušenih, smrznutih i pasteriziranih prehrambenih proizvoda. Plijesi podnose veće raspone u pH vrijednosti sredine (2 – 8) i toleriraju veće razlike u temperaturi od bakterija i kvasaca te se brzo šire. Optimalna temperatura za rast plijesni je sobna temperatura, no moguć je rast i na temperaturama ispod 0 °C. Ovisno o

osmotolerantnosti, plijesni rastu pri aktivitetu vode od 0,60 do 0,9. Pri aktivitetu vode od 0,90 ili većem efikasnije rastu bakterije i kvasci, dok pri aktivitetu vode ispod 0,90 veća je vjerojatnost za rast plijesni. Plijesni se obično javljaju u kombinaciji s kvascima i bakterijama. Često su glavni uzrok za povlačenje namirnica iz prodaje. Mnoge plijesni ne predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi, no neke proizvode mikotoksine koji su toksični, kancerogeni, mutageni, ili teratogeni za ljude i životinje. Njihova prisutnost prepoznatjiva je po pojavi točkastih mjesta micelija ili obojenosti spora. Plijesni zahtjevaju prisustvo kisika, no sposobne su se prilagoditi na način da uzimaju kisik iz organskih tvari pa tako preživljavaju čak i u vakuum pakiranjima. Širenje plijesni teško je kontrolirati pa su veliki problem prerađivačima hrane (Šumić, 2009).

2.16 SULFITOREDCIRAJUĆE KLOSTRIDIJE

Među *Clostridium* vrstama sulfitoreducirajućih bakterija u mikrobiologiji namirnica najznačajnije su *Clostridium perfringens* i *Clostridium botulinum*. Karakteristika ovih bakterija je stvaranje spora u nepovoljnim uvjetima (visoka i niska temperatura, sušenje, kemijska obrada), te rast u uvjetima bez kisika. *Clostridium perfringens* stvara toksine koji uzrokuju intoksikaciju (otrovanje) hranom. Među rizičnim namirnicama su i mlijeko i mliječni proizvodi. *Clostridium botulinum* stvara toksine u hrani, koji su izuzetno jaki biološki otrovi (neurotoksini). Otrovanje ima vrlo teške simptome uz krajnji smrtni ishod. Inkubacija je vrlo kratka, dok je infekcijska doza vrlo niska (ZZJZDNZ, 2021).

3 EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 MATERIJALI

Za mikrobiološke analize korišteni su uzorci maslaca, obranog mlijeka u prahu, kristal šećera, Ledo čokoladnog sosa, Ledo kakaovog preljeva, *Pinopinguino bianco* preljeva bijele čokolade, preljeva tamne čokolade, komadića posipa ekspanziranih žitarica s kakaom te gotovog proizvoda.

Za mikrobiološke analize korišteni su sljedeći materijali i aparatura te kemikalije Biokar Diagnostics (Allonne, Francuska)

- digitalna vaga, Mettler-Toledo (Zürich, Švicarska)
 - epruvete
 - fiziološka otopina
 - Genobox vrećica
 - mikrobiološka eza
 - Petrijeve zdjelice
 - puferiraa peptonska voda (PPV)
 - sterilna pipeta
 - uzorak gotovog proizvoda
 - uzorak sladoledne smjese u sterilnoj PP čaši
-
- AB (Plate Count Agar) za aerobne mezofile bakterije
 - Braid-Parker agar za pozitivne stafilokoke (*Staphylococcus aureus*)
 - Compass Listeria agar za *Listeria monocytogenes*
 - Complete Half Fraser Broth bujon za *Listeria monocytogenes*
 - DRBC (Dichloran Rose Bengale Chloramphenicol) podloga za kvasce i plijesni
 - Fraser Broth bujon za *Listeria monocytogenes*
 - Giolitti and Cantoni broth with teen 80 bujon za pozitivne stafilokoke (*Staphylococcus aureus*)

- PCA agar (Plate count agar) za određivanje ukupnog broja mikroorganizama
- RV bujon (Rappaport Vassiliadis) za *Salmonella* spp.
- SPS agar (Sulfite Polymyxin Sulfadizine) za sulfitoreducirajuće klostridije
- TBX agar (Tryptone Bile X-Glucuronide) za *Escherichia coli*
- VRBG agar (Violet Red Bile Glucose Agar) za *Enterobacteriaceae*

Za kemijske analize korištena je sljedeća aparatura i kemikalije:

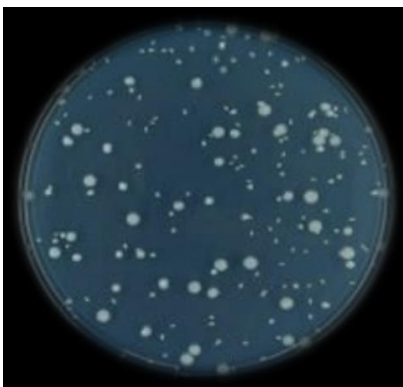
- aerometar
- butirometar po Gerber-u s graduiranim dijelom od 0 do 20 %
- centrifuga po Gerberu
- izoamilni alkohol
- menzura
- pipete
- plastične posude 500 ml
- sumporna kiselina 90 – 91 % za određivanje masti po Gerberu i za određivanje nitrata u mlijeku - T. T. T. d.o.o (Sveta Nedjelja, Hrvatska)
- uzorak gotovog proizvoda
- uzorak sladoledne smjese u sterilnoj PP čaši
- vaga Ohaus - Crux (New York, SAD)
- vlagomjer Ohaus - Crux (New York, SAD)

3.2 METODE

3.2.1 Mikrobiološka analiza sirovina i gotovog proizvoda

3.2.1.1 *Određivanje broja aerobnih mezofilnih bakterija*

Broj aerobnih mezofilnih bakterija određuje se prema normi HRN EN ISO 4833-11:2013. Aerobne mezofilne bakterije su mikroorganizmi koji formiraju kolonije na hranjivoj podlozi pri temperaturi 30 – 32 °C. Odvaga uzorka od 10 g homogenizira se s 90 ml fiziološke otopine. Potrebna decimalna razrjeđenja uzoraka inokuliraju se na Petrijeve zdjelice, zaliju s agarom te se uzorak inkubira na 32 °C kroz 48 + 3 sata, nakon čega se izbroje sve kolonije (slika 5).



Slika 5. Kolonije aerobnih mezofilnih bakterija na Plate Count Agar (Rizani, 2018)

3.2.1.2 *Određivanje broja Enterobacteriaceae*

Broj *Enterobacteriaceae* određuje se modificiranom metodom prema normi ISO HR 21528-2:2017. Vrste porodice *Enterobacteriaceae* su mikroorganizmi koji fermentiraju glukozu i daju negativnu oksidaza reakciju. 10 g uzorka homogenizira se s 90 ml fiziološke otopine. Petrijeve zdjelice inokuliraju se s po 1 ml osnovnog razrjeđenja uzorka te se postupak prema potrebi ponovi s većim decimalnim razrjeđenjima. Petrijeve zdjelice zaliju se s VRBG agarom i inkubiraju na 37 °C tijekom 24 h.

3.2.1.3 *Određivanje Escherichia coli*

Bakterija *Escherichia coli* određuje se metodom modificiranoj prema normi HRN ISO 16649-2:2001. Većina sojeva *Escherichia coli* posjeduje β -D-glukuronidazu koja cijepa BCIG (5-bromo-4-kloro-3-indolil-p-D-glukurotska kiselina) uzrokujući da kolonije postanu plave (slika 6).

10 g odvagano uzorka homogenizira se s 90 ml fiziološke otopine. Petrijeve zdjelice inokuliraju se s po 1 ml osnovnog razrjeđenja uzorka. Postupak se prema potrebi ponovi s većim decimalnim razrjeđenjima. Petrijeve zdjelice zaliju se s otprilike 15 ml TBX agarom i inkubiraju na 44 ± 1 °C najviše od 18 do 24 sata. Nakon 24-satne inkubacije izbroje se tipične kolonije (zeleno-plave do plave boje, promjera 0,5 mm ili više).

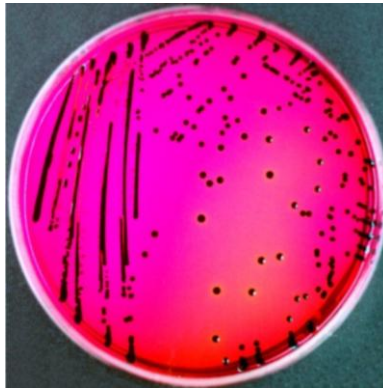


Slika 6. Kolonije *Escherichia coli* na TBX agaru (Vica, 2010)

3.2.1.4 Određivanje *Salmonella* spp.

Za otkrivanje *Salmonella* spp. koristi se horizontalna metoda modificirana prema normi ISO HR EN ISO 6579-1:2017. *Salmonella* je rod gram-negativnih štapićastih bakterija koje ne stvaraju spore, širine su od 0,7 do 1,5 μm , dužine od 2 do 5 μm , i većina je pokretna pomoću flagela. U sterilnu vrećicu odvaži se 25 g/ml uzorka i doda 225 ml (1:10) puferirane peptonske vode sobne temperature te se sve homogenizira u homogenizatoru. Uzorak pripremljen za prednamnažanje stavi se u inkubator na 37 ± 1 °C kroz 18 ± 2 sata. Nakon inkubacije iz inkubatora se izvadi puferirana peptonska voda. U laminarnom stolu sterilnom pipetom uzme se 0,1 ml puferirane puferirane vode i stavi se u epruvetu sa 10 ml Rappaport Vassilliadis soja bujona. Inokuliran Rappaport Vassilliadis bujon inkubira se u inkubatoru na $41,5 \pm 1$ °C kroz 24 ± 3 sata. Rappaport Vassilliadis soja bujon nakon inkubacije ezom se inokulira na dvije agar Petrijeve zdjelice-XLD i kromogenu podlogu za izolaciju *Salmonella* spp. Inokulirane Petrijeve zdjelice krenute poklopcem prema dolje inkubira se na 37 ± 1 °C kroz 24 ± 3 sata. Nakon inkubacije selektivnih hranjivih podloga ezom uzeti pet karakterističnih kolonija bakterije *Salmonella* spp. sa XLD agara (kolonija s crnim centrom i lagano transparentnom zonom crvenkaste boje, slika 7) i kromogene podloge (crveno-ružičaste kolonije). Uzme se jedna

kolonija s XLD ili IRIS ploče i stavi se na Rapid Latex test. Ukoliko dođe do koagulaze uzorak je pozitivan i šalje u ovlaštenu laboratoriju na serotipizaciju.



Slika 7. Kolonije *Salmonella* spp. na XLD agaru (Aryal, 2018)

3.2.1.5 Određivanje bakterija *Listeria monocytogenes*

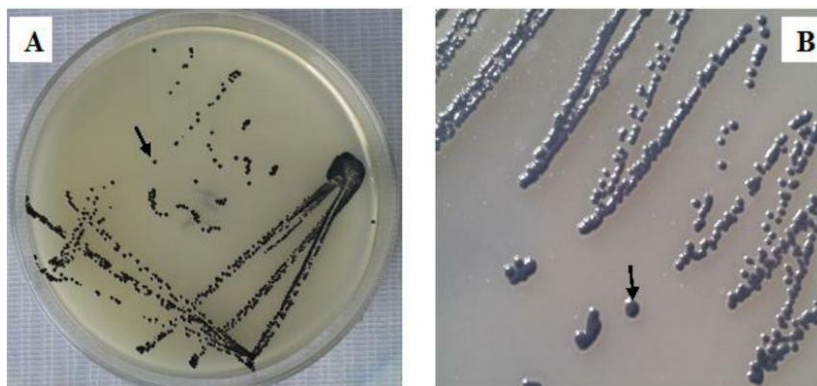
Za dokazivanje *Listeria monocytogenes*, gram-pozitivne štapičaste bakterije koja fermentira laktozu, koristi se horizontalna metoda modificiranoj prema normi HRN EN ISO 11290-1:2017. Izvaže se 25 g uzorka i doda 225 g Half fraser bujona. Homogenizirani uzorak inkubira se na 30 °C tijekom 24 ± 2 sata nakon čega se 0,1 ml prenese u epruvetu s 10 ml Fraser bujona, promućka i inkubira na 37 °C tijekom 24 ± 2 sata. Nakon inkubacije bujona provodi se inokulacija ezom na selektivnu kromogenu podlogu za *Listeria monocytogenes* (Listera agar - ALOA) i inkubira na 37 °C kroz 24 – 48 sati. Karakteristične kolonije su plavkasto zelene boje s pravilom zonom inhibicije (slika 8). Sumnjive kolonije dokazuju se potvrdnim šećernim testom tako da se kolonija prenese u epruvetu s reagensom, dobro izmiješa i inkubira kroz 24 sata na 37 °C. Prelazak boje reagensa iz ljubičaste u žutu potvrđuje prisutnost bakterije.



Slika 8. Kolonije *Listeria monocytogenes* na Compass Listeria Agar (Anonymous 4, 2021)

3.2.1.6 Određivanje bakterija *Staphylococcus aureus*

Broj bakterija *Staphylococcus aureus* određuje se prema modificiranoj normi HRN EN ISO 6888-1:2004. *Staphylococcus aureus* je bakterija koja na selektivnom agaru formira tipične kolonije s koagulaza pozitivnom reakcijom. U odvagu uzorka od 10 g doda se 90 ml fiziološke otopine. U petrijeve zdjelice stavi se oko 15 – 20 ml Baird-Parkeroag agara ohlađenog na 45 °C i lagano horizontalno promiješa te se na vodoravnoj površini ostavi da se ploče ohlade. Na gotove ploče sterilnom pipetom inokulira se 0,1 ml osnovnog (ili 1 ml na 3 ploče) ili prema potrebi većeg decimalnog razrijeđenja. Inokulirane ploče inkubiraju se 24 – 48 sati na 37 °C. Tipične kolonije *Staphylococcus aureus* na Baird-Parkerovoj podlozi su sjajno crne, okružene svjetlom zonom promjera 1 – 1,5 mm (slika 9). Nakon inkubacije tipične kolonije u bujonu pomiješaju se s 0,3 ml koagulaza-citrat plazme sa 0,1 ml bujonske kulture. Uzorak se inkubira na 37 °C i provjeri se pojava koagulacije plazme nakon 1, 2, 4, 8 i 24 sata inkubacije.



Slika 9. a) kolonije *Staphylococcus aureus* na Baird-Parker agaru b) uvećani prikaz jedne kolonije *Staphylococcus aureus* (Sukumar, 2015)

3.2.1.7 Određivanje sulfitoreducirajućih klostridija

Sulfitoreducirajuće klostridije određuju metodom modificiranoj prema normi HRN EN ISO 15213:2004. Sulfitoreducirajuće klostridije su sporogene bakterije koje formiraju crne kolonije u specifičnom selektivnom mediju. Odvaje se 10 g uzorka i homogenizira sa 90 ml fiziološke otopine. Pripremi se decimalno razrijeđenje uzorka koje se topliski obradi na 80 °C kroz 10 min. Uzorci se zaliju SPS agarom i inkubiraju na 37 °C ± 0,5 kroz 72 sata (3 – 5 dana). Epruvete u kojoj se pojave crne kolonije bakterija je potencijalno pozitivna na klostridije te se potvrđava dodatnom testu eliminacije. Test se provodi tako da se iz epruvete izoluju crne kolonije i

precijepe na dvije Petrijeve zdjelice s hranjivim agarom. Jedna Petrijeva zdjelica se inkubira u aerobnim uvjetima na 37 °C, a druga u anaerobnim (u plastičnoj kutiji s vrećicom za anaerobne uvjete-Genbox anaerob) također na 37 °C, 1 – 2 dana. Kako klostridije rastu samo u anaerobnim uvjetima, uzorak je pozitivan na klostridije ako se vidi rast samo na Petrijevoj zdjelici koja je inkubirana u anaerobnim uvjetima. Prikaz moguće poraslih kolonija prikaza je na slici 10.



Slika 10. Kolonije *Clostridium perfringens* na SPS agaru (Anonymous 4, 2021)

3.2.1.8 Određivanje broja kvasaca i plijesni

Broj kvasaca i plijesni određuje se metodom modificiranoj prema normi HRN ISO 21527-2:2012. Kvasci i plijesni su mikroorganizmi koji formiraju kolonije na selektivnoj podlozi i propisano ovom uputom pri temperaturi od 25 °C. 10 g uzorka odvaži se i homogenizira s 90 ml fiziološke otopine. U Petrijeve zdjelice s razlivenom podlogom doda se 1 ml osnovnog ili prema potrebi većeg decimanog razrjeđenja. Inkubacija se provodi pri 25 °C kroz 5 dana nakon čega se izbroje sve kolonije kvasaca i plijesni.

3.2.2 Fizikalno-kemijski parametri sladolednih smjesa (čokolada i bijela čokolada)

Uzorak sladoledne smjese uzima se iz zrijača u posudu od 500 ml. Prije uzimanja uzorka smjesa mora biti dobro promiješana. Uzorak se uzima kroz otvor na vrhu zrijača dezincifiranom rosfraj zaimačom (Interna radna uputa, 2016).

3.2.2.1 Određivanje suhe tvari vlagomjerom

Vlagomjeri služe za određivanje vlage i suhe tvari uzorka. Iz rezultata dobivenih vaganjem ukupne mase uzorka prije procesa sušenja i vaganjem mase istog uzorka nakon sušenja do konstantne mase izračunava se vlaga uzorka. Na aluminijsku tavicu vlagomjera ravnomjerno

se rasporedi količina uzorka ne manja od 0,5 g (~1 g). Trajanje procesa sušenja je 10 – 15 min pri 105 °C nakon čega se očitaju rezultati (Interna radna uputa, 2016).

3.2.2.2 *Određivanje sadržaja masti u sladolednoj smjesi prema Gerberu*

Sadržaj masti određuje se acidobutirometrijskom metodom prema Gerberu. Metoda se zasniva na otapanju bjelančevina sladoledne mase u sulfatnoj kiselini i izlučivanju masti djelovanjem centrifugalne sile. Sadržaj masti u % se očitava na ljestvici butirometra. U butirometar se pipetom odmjeri 10 ml otopine sulfatne kiseline po Gerber-u. Zatim se pipetom oprezno uz stijenke butirometra doda 5 ml sladoledne smjese (slika 11) i pipeta dobro ispere s 5 ml destilirane vode, tako da se kroz nj propušta voda iz druge pipete. U butirometar se doda 1 ml amilalkohola. Butirometar se začepi gumenim čepom i nekoliko puta snažno protrese, pri čemu se bjelančevine otope, a laktoza karamelizira (što se vidi po smeđoj boji smjese, slika 12). Butirometar se stavi u centrifugu tako da kraj s gumenim čepom bude okrenut prema dolje te se centrifugira 5 min pri 1000 – 1200 okretaja u minuti. Nakon centrifugiranja butirometar s čepom okrenutim prema dolje se stavi u vodenu kupelj na 65 – 70 °C, 3 – 5 min. Na toj temperaturi se očitava sadržaj masti u %. Pri očitavanju butirometar se mora držati uspravno s čepom okrenutim na dolje. Gornji meniskus izlučene masti mora se ugoditi točno na nulu. Rezultat izražava vrijednost graničnog sloja masti i ostalog sadržaja u butirometru (Interna radna uputa, 2016).



Slika 11. Pipetiranje sladoledne smjese za određivanje sadržaja masti (Ledo plus d.o.o. vlastita fotografija, 2021)



Slika 12. Prikaz karamelizirane laktoze koja daje karakteristično obojenje nakon dodatka amilnog alkohola u sladolednu smjesu (Ledo plus d.o.o. vlastita fotografija, 2021)

3.2.2.3 *Određivanje bubrenja sladoledne smjese*

Bubrenje je povećanje volumena sladoleda iznad volumena smjese zbog upuhivanja zraka. Plastična posuda od 500 ml do vrha se napuni sladolednom masom pazeći da prilikom punjenja ne bude zraka. Sladoledna masa na vrhu se s nožem izravna s vrhom posude i zabilježi se masa. Isti postupak ponovi se sa sladoledom.

$\% \text{ Bubrenja} = (\text{težina sladoledne mase} - \text{težina sladoleda}) \times 100 / \text{težina sladoleda}$

3.2.3 Kontrola proizvoda tijekom oblikovanja i pakiranja

3.2.3.1 *Određivanje mase i temperature sladoleda*

Tijekom proizvodnog procesa obavljaju se mjerenja temperature i mase periodično svaka 2 sata tijekom smjene. Tijekom rada mjerila se masa sladolednih smjesa s čokoladnim sosom, kakaovog preljeva, Pinopinguino bianco preljeva te preljeva tamne čokolade s komadićima Cracriz crisp cereals, ambalaže i neto količine.

Masa proizvoda određuje se vaganjem. Vaganjem se određuje bruto i neto masa proizvoda te pojedinih komponenti ambalaže i dodanih vrijednosti.

Specifično sa određivanje mase sladoleda:

1. Prosjek odvaga bruto količina proizvoda mora biti jednak ili veći od ciljane mase
2. Niti jedna odvaga ne smije biti manja od donje granice definirane uputom
3. U slučaju da nisu zadovoljene točke 1. i/ili 2. mjerenje se ponavlja
4. U slučaju ponovljenog odstupanja operater uklanja nesukladnost i mjerenje se ponavlja

Masa folije potrebne za pojedinačno pakovanje sladoleda određuje se vaganjem 10 ovitaka, te se dobivena težina podijeli s 10.

Mjerenje temperature provodi se digitalnim termometrom. Tijekom rada mjerila se temperatura sladolednih smjesa choco obsession i bijele čokolade, preljeva i tunela.

3.2.3.2 *Određivanje volumena sladoleda*

Volumen sladoleda određuje se uranjanjem sladoleda u vodu (4 °C) i vaganjem istisnute vode. Volumen sladoleda koji se izračuna prema foemuli jednak je masi istisnute vode.

$$\text{Volumen sladoleda} = (m2 - m1) - (m4 - m3)$$

m1 – vrijednost odvage prazne posude - ambalaže

m2 – vrijednost odvage do vrha napunjene posude s ledenom vodom

m3 – vrijednost odvage uzorka (posuda napunjena sladoledom)

m4 – vrijednost odvage uzorka (posuda napunjena sladoledom) i do vrha napunjene posude s ledenom vodom (Interna radna uputa, 2016).

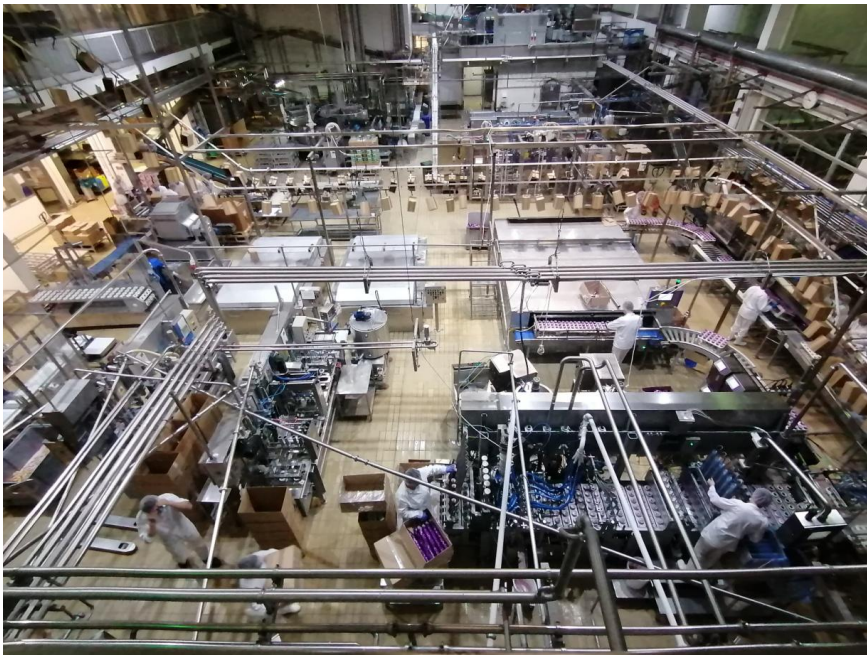
4 REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu praćena je proizvodnja King Obsession sladoleda u tvornici Ledo plus d.o.o. (slika 13) te je prikazan opis tehnološkog postupka u poglavlju 4.1. Provedena je fizikalno-kemijska analiza pripremljenih sladolednih smjesa u svakoj šarži, tijekom oblikovanja i pakiranja kontrolirani su određeni parametri finalizacije proizvoda te je ispitana mikrobiološka ispravnost sirovina i gotovog proizvoda.

Rezultati fizikalno-kemijskih analiza sladolednih smjesa (postotak masti i suhe tvari), koji su prikazani u tablici 2, određivani su kako bi se odredila kategorija sladoleda kojoj pripada King Obsession sladoled s obzirom na Pravilnik o smrznutim desertima (NN 20/09). Parametri finalizacije proizvoda kontrolirani su radi ispitivanja ispravnosti tehnološkog postupka i vrijednosti navedenih na deklaraciji kako ne bi došlo do zavaravanja potrošača. Parametri finalizacije koji su prikazani u tablici 3 su sljedeći: masa pojedine komponentne sladoleda (sladoledna smjesa s čokoladnim sosom, kakao preljev i preljev bijele čokolade te preljev tamne čokolade s posipom, nazivna količina i ambalaža), temperatura sladolednih smjesa (čokolada (choco obsession) i bijela čokolada s 8 % miječne masti) i preljeva (kakao, bijela (Pinopinguino bianco) i tamna čokolada), postotak bubrenja, volumen gotovog proizvoda, senzorska svojstva i deklarirani rok valjanosti.

Prema Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu (2011) preporučeno je provesti ispitivanje sladoleda, smrznutih deserata i sličnih proizvoda na aerobne mezofilne bakterije (čija se vrijednost smije kretati između 10^3 i 10^4 CFU/g), koagulaza pozitivne stafilokoke - *Staphylococcus aureus* (kojih smije biti najviše 10 CFU/g) te *Enterobacteriaceae* (kojih smije biti $10 - 10^2$ CFU/g). S obzirom na Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 74/08), obavezno je provesti ispitivanje na *Enterobacteriaceae*, *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* spp, dok kvasaca i plijesni smije biti <10 CFU/g. U tekućim smjesama za sladolede i onima u prahu, prema već spomenutom Vodiču, preporučeno je provesti ispitivanje na *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*, koje ne smiju biti prisutne u 25 g uzorka, aerobne mezofilne bakterije (čija prisutnost može biti zabilježena između 10^2 i 10^3 CFU/g) te koagulaza pozitivne stafilokoke – *Staphylococcus aureus* i *Enterobacteriaceae* kojih mora biti manje od 1 CFU/g. U King Obsession sladoledu određivani su mikrobiološki parametri sirovina u 5 elementarnih jedinica: maslaca (tablica 4), kristal šećera (tablica 5), obranog mlijeka mlijeka u prahu (tablica

6), čokoladnog sosa (tablica 7), kakaovog preljeva (tablica 8), Pinopinguino bianco preljeva bijele čokolade (tablica 9), preljeva tamne čokolade (tablica 10), komadića posipa ekspanziranih žitarica s kakaom (tablica 11) te gotovog proizvoda (tablica 12).



Slika 13. Pogon za proizvodnju sladoleda tvornice Ledo plus d.o.o. (Ledo plus d.o.o. vlastita fotografija, 2021)

4.1 TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE KING OBSESSION SLADOLEDA

4.1.1 Proizvodnja sladolednih smjesa choco obsession i bijele čokolade

Shematski prikaz proizvodnje King Obsession sladoleda Ledo plus d.o.o. prikazan je na slici 14. Tehnološki postupak započinje miješanjem sirovina koje se može provoditi u duplikatorima na 50 – 60 °C, no u Ledo plus d.o.o. sastojci se doziraju vaganjem u vakuum mix tank Almix prikazan na stranici 6 ovog rada (slika 1) na temperaturi 20 – 25 °C. Vakuumom se usisavaju prahovi bez inkorporacije zraka što pridonosi kvaliteti. Pri tom se sastojci sladoledne smjese hidratiziraju radi izbjegavanja nastanka grudica. Izmiješana sladoledna smjesa odlazi na predgrijavanje toplom sladoledom smjesom u sekciji regeneracije u pasterizatoru pri otprilike 72 °C. Predgrijana sladoledna smjesa potom se homogenizira nakon čega se ponovo vraća u izmjenjivač topline gdje se pasterizira (slika 15). U pločastom se pasterizatoru sladoledna smjesa

zagrijava na temperaturu od 82 °C, te se pri toj temperaturi zadržava 50 sekundi u zadrživaču (što je regulirano cijevima određene duljine). Nakon pasterizacije toplinski se obrađena smjesa hladi hladnom smjesom na otprilike 12 °C. Tako ohlađena smjesa se dodatno hladi vodom na otprilike 5 °C te odlazi na zrenje koje u Ledo plus d.o.o. uglavnom ne traje duže od 6 sati i završni je korak u proizvodnji sladoledne smjese.



Slika 14. Shematski prikaz proizvodnje King Obsession sladoleda u Ledo plus d.o.o. (prema Goff i Hartel, 2013)



Slika 15. Pločasti pasterizator i homogenizator u Ledo plus d.o.o. (Tudor Kalit, 2019)

4.1.2 Proizvodnja sladoleda King Obsession

Prolaskom sladoledne smjese kroz zamrzivač dolazi do djelomičnog zamrzavanja na temperaturi od $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ te se upuhuje i zrak pri čemu dolazi do bubrenja od preko 80 % (tablici 3). Djelomičnim zamrzavanjem i upuhivanjem zraka iz sladoledne se smjese dobiva sladoled. King Obsession sladoled oblikuje se okomitom ekstruzijom kojom nastaje željeni oblik s umetnutim štapićem i čokoladnim sosom između sladolednih smjesa (slika 16) te odlazi na tacni konvejerom u tunel za duboko zamrzavanje na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom 25 min (slika 17).



Slika 16. Oblikovanje King Obsession sladoleda (Ledo plus d.o.o. vlastita fotografija, 2021)



Slika 17. Odlazak King Obsession sladoleda na tacni konvejerom u tunel za duboko zamrzavanje (Ledo plus d.o.o. vlastita fotografija, 2021)

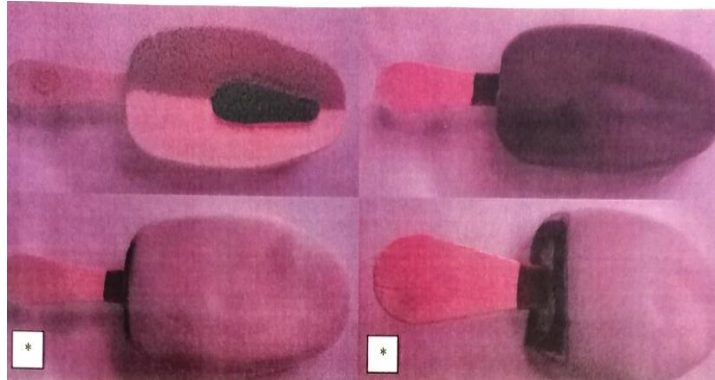
King Obsession sladoled se nakon prolaska tunelom za duboko zamrzavanje uranja u tekući dušik čime se omogućuje daljnje nanošenje tri vrste preljeva, jedan na drugi bez miješanja, i posipa bez lijepljenja za ambalažu (slika 18). Potom slijedi pakiranje te prolaz kroz detektor metala, jedinu kritičnu kontrolnu točku.



Slika 18. a) nanošenje kakao preljeva b) nanošenje Pinopinguino binaco preljeva bijele čokolade c) prolaz sladoleda kroz kadnicu s tekućim dušikom d) preljev tamne čokolade s posipom (Ledo plus d.o.o. vlastita fotografija, 2021)

4.1.3 Moguće mane King Obsession sladoleda

Moguće mane u izgledu King Obsession sladoleda nastaju nepravilnim nanošenjem čokoladnog sosa ili preljeva (slika 19), što u konačnici odbija potrošača. Ispravan izgled King Obsession sladoleda prikazan je na slici 20. Također, određuje se i senzorska prihvatljivost, a pogreška sladoleda je i odstupanje količine sastojaka od deklariranih vrijednosti (tablica 2).



Slika 19. Moguće mane King Obsession sladoleda: nepravilno nanošenje čokoladnog sosa ili jednog od preljeva (Ledo plus d.o.o. vlastita fotografija, 2021)



Slika 20. Ispravan izgled King Obsession sladoleda (Ledo plus d.o.o. vlastita fotografija, 2021)

4.2 KATEGORIZACIJA I SASTOJCI *King obsession* SLADOLEDA

Jedna od četiri kategorije sladoleda iz Pravilnika o smrznutim desertima (NN 20/09) je i krem sladoled. Krem sladoled je proizvod koji sadrži najmanje 5 % mliječne masti, najmanje 6 % bezmasne suhe tvari mlijeka i najmanje 30 % ukupne suhe tvari te ne smije sadržavati biljnu mast i biljne bjelančevine. Mliječni sastojci koji ulaze u sastav Ledo plus d.o.o. King Obsession sladoleda su maslac i mlijeko u prahu, dok su nemliječni aroma, boja, voda, kristal šećer, čokolada u prahu, emulgator, stabilizator i zrak.

S obzirom na definiciju Pravilnika (NN 20/09) te rezultate dobivene fizikalno-kemijskim analizama (tablica 2), King Obsession (slika 21) pripada krem sladoledima. Sastav sladoledne smjese propisan je i proizvođačkom specifikacijom i vrstom sladoleda te je u skladu i s dobrom proizvođačkom praksom s obzirom na kemijski sastav. Kemijskom analizom sladolednih smjesa utvrđeno je da čokoladna smjesa sadrži 37,74 %, a smjesa bijele čokolade 36,85 % ukupne suhe tvari. Čokoladna sladoledna smjesa sadrži 10 % masti, dok sladoledna smjesa bijele čokolade sadrži 9,7 % masti.



Slika 21. Ambalaža sladoleda King Obsession (PPK Bjelovar d.d., 2021)

Tablica 2. Rezultati fizikalno-kemijske analize sladolednih smjesa (n=2)

Vrsta analize	Sladoledna smjesa	Vrijednost prema recepturi	Stvarna vrijednost analiziranih uzoraka
Ukupna suha tvar (%)	Choco obsession	38,3	37,74
	Bijela čokolada	36,5	36,85
Masti (%)	Choco obsession	9,3	10,0
	Bijela čokolada	8,6	9,7

4.3 REZULTATI PARAMETARA TIJEKOM PROCESA FINALIZACIJE

Tablica 3. Rezultati kontroliranih parametara tijekom oblikovanja i pakiranja proizvoda (n=22)

Referentne vrijednosti		$m_{\min} - m_{\max}$ (g)	m_{opt} (g)	\bar{m} (g)
Masa (m)	Choco obsession + bijela čokolada + Ledo čokoladni sos - jezerce	39,5 - 46,5	42	42,91
	Ledo kakaov preljev	10,0 - 11,5	10,5	10,76
	Pinopinguino bianco preljev	15,7 - 18,1	16,1	16,86
	Preljev tamna čokolada + komadići Cracriz crisp cereals	25,3 - 29,2	26,4	28,41
	Neto (nazivna) količina		95	98,69
	Ambalaža (štapić + siling)	3,6 - 3,9	3,7	3,7
Srednja vrijednost bruto količine proizvoda		102,23		
Indikatorske vrijednosti	Temperatura (t)		t_{opt} (°C)	\bar{t} (°C)
		Choco obsession, zamrzivač	od -4 do -7	-5,62
		Bijela čokolada, zamrzivač	od -4 do -7	-6,13
		Ledo čokoladni sos - jezerce	0 - 5	5
		Ledo kakaov preljev	38 - 41	42,5
		Pinopinguino bianco preljev	15 - 25	18,24
		Preljev tamna čokolada	40 - 43	40,54
		Tunel	max -35	-40,71
	Bubrenje (%)	Choco obsession	65 - 85	82
		Bijela čokolada	65 - 85	82
Volumen (ml)		min 110		112,50
Senzorska svojstva (zadovoljava/nezadovoljava)		zadovoljava		
Rok valjanosti		24 mj		

* m_{\min} , m_{\max} (g) = minimalna i maksimalna prihvatljiva masa prema recepturi; m_{opt} = vrijednost mase prema recepturi; \bar{m} = srednja vrijednost stvarnih masa uzoraka;

* t_{opt} = temperatura prema recepturi; \bar{t} = srednja vrijednost stvarnih temperatura

Tijekom kontroliranja mase i temperature uočeno je da je pri nižoj temperaturi preljeva njegova masa na proizvodu veća i obratno. Izmjereni volumen proizvoda iznosio je 112,50 ml te je vrijednost nešto veća od vrijednosti navedene na deklaraciji proizvoda (110 ml). Senzorska svojstva proizvoda bila su zadovoljavajuća. Mjerenjima je utvrđeno da se vrijednosti svih navedenih parametara nalaze u granicama proizvođačkih specifikacija i da su u skladu s vrijednostima na deklaraciji.

4.3.1 Mikrobiološki rezultati sirovina i gotovog proizvoda King Obsession

Analizom maslaca utvrđeno je prosječno 60 CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, <10 CFU/g *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, kvasci i plijesni dok *Listeria monocytogenes* nije bila prisutna.

U kristal šećeru utvrđeno je prosječno 52 CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, dok enterobakterija te kvasaca i plijesni ima <10 CFU/g.

Analizom mlijeka u prahu utvrđeno je prosječno 94 CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, dok je prisutnost enterobakterija, *Staphylococcus aureus* i sulfitreducirajućih klostridija <10 CFU/g, a *Listeria monocytogenes* nije bila prisutna.

U čokoladnom sosu utvrđeno je prosječno 54 CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, <10 CFU/g enterobakterija te kvasaca i plijesni, a *Listeria monocytogenes* nije bila prisutna.

U kakaovom preljevu utvrđeno je prosječno 60 CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, <10 CFU/g enterobakterija te kvasaca i plijesni, a *Listeria monocytogenes* nije bila prisutna.

U preljevu bijele čokolade prosječno je 68 CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, <10 CFU/g enterobakterija te kvasaca i plijesni, a *Listeria monocytogenes* nije bila prisutna.

U preljevu tamne čokolade prosječno je 80 CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, enterobakterija te kvasaca i plijesni je <10 CFU/g, a *Listeria monocytogenes* nije bila prisutna.

U komadićima posipa ekspanziranih žitarica s kakaom utvrđeno je prosječno 50 CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, dok je enterobakterija, sulfitreducirajućih klostridija te kvasaca i plijesni <10 CFU/g, a prisutnot *Listeria monocytogenes* nije bila zabilježena.

Nakon završetka proizvodnje izvršena je i mikrobiološka analiza gotovog proizvoda u kojem je utvrđeno prosječno $1,47 \times 10^2$ CFU/g aerobnih mezofilnih bakterija, *Staphylococcus aureus* i *Enterobacteriaceae* <10 CFU/g te *Listeria monocytogenes* nije bila prisutna, što je prema Pravilniku o mikrobiološkim standardima za namirnice u dopuštenom rasponu.

Iz navedenih analiza može se zaključiti da sirovine i gotov proizvod odgovaraju kriterijima koje propisuju Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (2011) te Pravilnik o mikrobiološkim standardima za hranu (NN 74/08).

Tablica 4. Rezultati mikrobiološke analize maslaca (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	60	70	40	70	60
Koagulaza pozitivni stafilocoki (<i>Staphylococcus aureus</i>)	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Escherichia coli</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Kvasci i plijesni	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g

Tablica 5. Rezultati mikrobiološke analize kristal šećera (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	70	60	60	40	30
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Kvasci i plijesni	<10	<10	<10	<10	<10

Tablica 6. Rezultati mikrobiološke analize obranog mlijeka u prahu (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	80	100	120	90	80
Koagulaza pozitivni stafilocoki (<i>Staphylococcus aureus</i>)	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Sulfitreducirajuće klostridije	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g

Tablica 7. Rezultati mikrobiološke analize Ledo čokoladnog sosa (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	60	40	70	60	40
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Kvasci i plijesni	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g

Tablica 8. Rezultati mikrobiološke analize Ledo kakaovog preljeva (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	70	40	60	50	80
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Kvasci i plijesni	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g

Tablica 9. Rezultati mikrobiološke analize Pinopinguino bianco preljeva bijele čokolade (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	80	40	60	90	70
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Kvasci i plijesni	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g

Tablica 10. Rezultati mikrobiološke analize preljeva tamne čokolade (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	80	60	70	90	100
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Kvasci i plijesni	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g

Tablica 11. Rezultati mikrobiološke analize komadića ekspandiranih žitarica s kakaom (Cracriz crisp cereals) (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	60	40	30	70	50
Koagulaza pozitivni stafilocoki (<i>Staphylococcus aureus</i>)	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Kvasci i plijesni	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g

Tablica 12. Rezultati mikrobiološke analize gotovog proizvoda (King Obsession) (n=5)

Mikrobiološki parametri	Izmjerene vrijednosti (CFU/g)				
Aerobne mezofilne bakterije	$1,9 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	56	$1,2 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10	<10	<10	<10	<10
Koagulaza pozitivni stafilocoki (<i>Staphylococcus aureus</i>)	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g	n.n./25g

5 ZAKLJUČCI

Na temelju provedenih analiza i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- 1) King Obsession je krem sladoled s bijelom čokoladom i krem sladoled s čokoladom obogaćeni punilom okusa čokolade te prelivevi kakaovim preljevom, preljevom s bijelom čokoladom i čokoladom s komadićima ekspanziranih žitarica s kakaom. Od sastojaka sadržava čokoladu, mlijeko u prahu, šećer, vodu, emulgator sojin lecitin, arome, maslac, punilo okusa čokolade 8,3 %, komadića ekspanziranih žitarica s kakaom 0,9 %, preljev s bijelom čokoladom 16,8 %, bijelu čokoladu 7 % i čokoladu 26,7 %.
- 2) Rezultati fizikalno-kemijskih analiza sladolednih smjesa bijele i tamne čokolade pokazuju da je udio suhe tvari i masti u skladu s proizvođačkom specifikacijom i vrstom sladoleda s obzirom na Pravilnik o smrznutim desertima (NN 20/09).
- 3) Prema rezultatima parametara za praćenje procesa finalizacije proizvoda može se zaključiti da su mase sladolednih smjesa, čokoladnog punjenja, kakaovog preljeva, preljeva tamne i bijele čokolade u skladu sa proizvođačkim specifikacijama te da je tehnološki proces dobro proveden.
- 4) Viša temperatura preljeva rezultira manjom masom preljeva, odnosno manjom i neodgovarajućom nazivnom količinom konačnog proizvoda, stoga je važna kontrola temperature komponenti sladoleda.
- 5) Kvaliteta sladoleda ovisi o zdravstvenoj ispravnosti sirovina. U uzorcima su bile prisutne aerobne mezofilne bakterije, no unutar dozvoljenih granica. Nije uočena prisutnost bakterije *Listeria monocytogenes*, dok su eneterobakterije, sulfitoreducirajuće klostridije te kvasci i plijesni u rasponu dozvoljenom Pravilnikom o mikrobiološkim standardima za hranu (NN 74/08).
- 6) Dobiveni rezultati u skladu su s odredbama Pravilnika o smrznutim desertima (NN 20/2009) i Pravilnika o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 74/2008). Proizveden i analiziran sladoled zadovoljava mikrobiološke kriterije i proizvođaču specifikaciju.

6 LITERATURA

- ❖ Anonymous 1, Container mixer <https://promarchive.ru/en/catalog/industrial_machines_and_equipment/mixing_and_dosing/tumble_mixers/container_mixer_-_max_20_000_1_h_almix/>, Pristupljeno 19. lipnja 2021.
- ❖ Anonymous 2 (2018), Current Design of Ice Cream Freezers <<https://foodsci.wisc.edu/frozendessertcenter/assets/Koefer.pdf>>, Pristupljeno 16. srpnja 2021.
- ❖ Anonymous 3, *Listeria monocytogenes* <<https://www.noackgroup.com/product/compass-listeria-agar-chromogenic-media/>>, Pristupljeno 22. lipnja 2021.
- ❖ Anonymous 4, *Clostridium perfringens*, Selective Agar (SPS Agar) <https://www.scharlabmagyarorszag.hu/katalogus/01-050_TDS_EN.pdf>, Pristupljeno 22. lipnja 2021.
- ❖ Aryal, S. (2018) Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar-Principle, Uses, Composition, Preparation and Colony Characteristics <<https://microbiologyinfo.com/xylose-lysine-deoxycholate-xld-agar-principle-uses-composition-preparation-and-colony-characteristics/>>, Pristupljeno 22. lipnja 2021.
- ❖ Božanić, R. (2012) Sladoled. U: Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 441-470.
- ❖ Božanić, R., Jeličić, I., Bilušić, T. (2010) Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda. Priručnik, Plejada, Zagreb
- ❖ Chandan, R. C., Kilara, A., Shah, N. P. (2016) Dairy Processing and Quality Assurance, Second Edition, John Wiley & Sons, New Jersey, USA
- ❖ Goff, H. D. (2011) Ice Cream and Desserts/Ice Cream and Frozen Desserts: Manufacture. Enc. Dairy Sci, 899–904.
- ❖ Goff, H. D., Hartel, R. W. (2013) Ice Cream, 7. izdanje, Springer, New York

- ❖ HRN EN ISO 11290-1 (2017) Mikrobiologija u lancu hrane -Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Listeria monocytogenes* i drugih *Listeria* spp.
- ❖ HRN EN ISO 15213 (2004) Horizontalna metoda za brojenje sulfitreducirajućih bakterija u anaerobnim uvjetima
- ❖ HRN EN ISO 4833-11 (2013) Mikrobiologija lanca hrane - Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama
- ❖ HRN EN ISO 6888-1(2004) Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalni postupak brojenja koagulaza-pozitivnih stafilokoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste)
- ❖ HRN ISO 16649-2 (2001) Horizontalna metoda brojenja β -glukuronidaza-pozitivnih *Escherichia coli*
- ❖ HRN ISO 21527-2 (2012) Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za brojenje kvasaca i plijesni
- ❖ ISO HR 21528-2 (2017) Mikrobiologija u lancu hrane -Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Enterobacteriaceae*
- ❖ ISO HR EN ISO 6579-1 (2017) Mikrobiologija u lancu hrane -Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella*
- ❖ Kambamanoli-Dimou, A. (2008) Ice cream, U: Robinson, R. K., Batt, C. A., Patel, P. D., (eds) Enc. Food Mic, Accademic Press, str. 1083-1087.
- ❖ Ljevaković-Musladin, I. (2004) Kontrola mikrobiološke kakvoće sladoleda i kolača, magistarski rad, Prehrambeno biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- ❖ Marshall, R. T., Arbuckle W. S. (1996) Ice Cream, 5. izdanje. Chapman & Hall, New Jersey, SAD
- ❖ Murgić, I, Božanić, R. (2008) Utjecaj vrste i udjela masti na homogenizaciju sladoledne smjese. Mljekarstvo. 58, 233-242.

- ❖ Narodne novine (NN 20/2009) - Pravilnik o smrznutim desertima 449 <https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_02_20_449.html>, Pristupljeno 12. lipnja 2021.
- ❖ Narodne novine (NN 46/2007) - Zakon o hrani <https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2007_05_46_1554.html>, Pristupljeno 19. lipnja 2021.
- ❖ Narodne novine (NN 74/2008) - Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu 46/07 <https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/full/2008_06_74_2454.html>, Pristupljeno 19. lipnja 2021.
- ❖ PPK Bjelovar d.d. <<https://www.ppkbjelovar.com/sladoled-king-obsession-110ml-ledo.aspx>>, Pristupljeno 12. lipnja 2021.
- ❖ Rizani, H. B., (2018) - Mesophilic aerobic bacteria on Plate Count Agar <https://www.researchgate.net/figure/Mesophilic-aerobic-bacteria-on-Plate-Count-Agar_fig2_324909866>, Pristupljeno 22. lipnja 2021.
- ❖ Sofjan, R. P., Hartel, R. W. (2004) Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *Int. Dairy J.* 14, 255–262.
- ❖ Sukumar, B. (2015) *Staphylococcus aureus* colony on Baird-Parker agar <https://www.researchgate.net/figure/Staphylococcus-aureus-colony-on-Baird-Parker-agar_fig1_291073763>, Pristupljeno 22. lipnja 2021.
- ❖ Šumić, Z. (2009) Mikroorganizmi kontaminanti hrane <<https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/mikroorganizmi-kontaminanti-hrane>>, Pristupljeno 20. lipnja 2021.
- ❖ Tratnik, L., Božanić, R. (2012) Mlijeko i mliječni proizvodi. Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga.
- ❖ Tudor Kalit, M. (2019) Tehnologija proizvodnje sladoleda. Interna skripta. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb.
- ❖ Tvornica sladoleda Ledo plus d.o.o. (2016) : Interna radna uputa, Zagreb,

- ❖ Vica, M. (2010) *E. coli* colonies positive to β -glucuronidase on the TBX medium <https://www.researchgate.net/figure/E-coli-colonies-positive-to-b-glucuronidase-on-the-TBX-medium_fig1_279852700>, Pristupljeno 22. lipnja 2021.
- ❖ Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (2011), 3. izmijenjeno izdanje, <<http://www.veterinarstvo.hr/UserDocsImages/Vodic%20o%20mikrobioloskim%20kriteriji%20ma.doc>>, Pristupljeno 19. lipnja 2021.
- ❖ ZZJZDNZ - Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, Aerobne mezofilne bakterije, <<https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/960>>, Pristupljeno 20. lipnja 2021.
- ❖ ZZJZDNZ - Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, Sulfitoreducirajuće klostridije, <<https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/971>>, Pristupljeno 20. lipnja 2021.
- ❖ ZZJZDNZ - Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, *Enterobacteriaceae* (enterobakterije), <<https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/962>>, Pristupljeno 20. lipnja 2021.
- ❖ ZZJZDNZ - Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, *Escherichia coli*, <<https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/964>>, Pristupljeno 20. lipnja 2021.
- ❖ ZZJZDNZ - Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, *Salmonella* (Salmonela), <<https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/969>>, Pristupljeno 20. lipnja 2021.
- ❖ ZZJZDNZ - Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, *Listeria monocytogenes*, <<https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/967>>, Pristupljeno 20. lipnja 2021.
- ❖ ZZJZDNZ - Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije, *Staphylococcus aureus*, <<https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/970>>, Pristupljeno 20. lipnja 2021.

IZJAVA

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad rezultat mog rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Anamena Doinko

(Zagreb, 21. srpnja 2021.)