

# Utjecaj dodatka smeđe morske alge na kvalitetu sušenih kuhanih i sušenih fermentiranih kobasica

---

Sačić, Mihaela

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:159:674474>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2022

Mihaela Sačić

**UTJECAJ DODATKA SMEĐE  
MORSKE ALGE NA KVALITETU  
SUŠENIH KUHANIH I SUŠENIH  
FERMENTIRANIH KOBASICA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Helge Medić te na Faculty of AgriSciences, Mendel University in Brno pod voditeljstvom prof. Ing. Miroslav Juzl, PhD.

## ZAHVALA

*Hvala prof. dr. sc. Helgi Medić na prihvaćanju mentorstva, susretljivosti i na svim savjetima pri izradi diplomskog rada.*

*Veliko hvala prof. Ing. Miroslavu Juzlu, PhD što je prihvatio mentorstvo na svojem fakultetu, što mi je omogućio jedinstveno iskustvo izrade eksperimentalnog dijela ovog rada. Uz njega, posebno se zahvaljujem se i Mgr. Mileni Matejovičovi, PhD i Janu Slovāčeku, Ing. kao i svim suradnicima što su odvojili vrijeme te mi bili na raspolaganju tijekom eksperimentalnog dijela i cjelokupnog pisanja ovog rada. Děkuj!*

*Hvala svim mojim dragim prijateljicama, a posebice Luciji, Ivi i Dijani kao i prijateljima Robertu i Luki koji su uz mene od srednjoškolskih dana. Veliko hvala kolegama na dijeljenju studentskih briga, ali i prekrasnih trenutaka. Posebno hvala mojim curama, Emi, Adrijani, Dori i Hanni što su mi bile svakodnevna podrška, poticaj i motivacija te mi učinile studentski život lakšim, veselijim i zabavnijim.*

*Najveću zahvalnost iskazujem svojim roditeljima i braći koji su mi bili poticaj od početka studiranja, koji ni na tren nisu posumnjali u mene i bez kojih ne bih bila ovdje gdje sam sada. Hvala vam na podršci, strpljenju, savjetima i motivaciji. Bez vas ne bih uspjela!*

*Posebnu zahvalnost iskazujem svom Marku koji je sa mnom proživljavao teške i lijepe trenutke mog studiranja, koji mi je uvijek bio podrška, pomoć i motivacija te učinio da budem bolja.*

## 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

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

### UTJECAJ DODATKA SMEĐE MORSKE ALGE NA KVALITETU SUŠENIH KUHANIH I SUŠENIH FERMENTIRANIH KOBASICA

*Mihaela Sačić*, univ. bacc. ing. techn. aliment.  
0058211153

**Sažetak:** Morske alge su dobar izvor hranjivih tvari, kao i esencijalnih masnih kiselina te im je glavna upotreba ona za izravnu primjenu u hrani. Mesni proizvodi se često smatraju dijelom nepravilne prehrane. Dodatkom morskih algi u mesne proizvode mogu se dobiti novi, zdravijih mesni proizvodi. Cilj ovog rada je bio odrediti kako će dodatak smeđe morske alge utjecati na kvalitetu sušenih kuhanih i sušenih fermentiranih kobasica tako što su se odredili osnovni parametri (udjel proteina, masti, soli i suhe tvari), boja, profil masnih kiselina i mikrobiološka stabilnost. Udjel suhe tvari, proteina i soli pada, a masti raste proporcionalno dodatku morske alge, no razlika u odnosu na kontrolu je minimalna. Udjel masnih kiselina se nije promijenio. Dobiveni rezultati boje ukazuju na vidljivu promjenu boje. Mikrobiološka analiza je pokazala da smanjenje udjela soli nije utjecalo na mikrobiološku kvalitetu kobasica.

**Ključne riječi:** *smeđa morska alga, sušene kuhane kobasice, sušene fermentirane kobasice, funkcionalna svojstva, zdravija hrana*

**Rad sadrži:** 47 stranica, 8 slika, 12 tablica, 89 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

**Komentor:** prof. Ing. Miroslav Juzl, PhD

**Pomoć pri izradi:** Mgr. Milena Matejovičová, PhD, Jan Slováček, Ing.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. doc. dr. sc. Nives Marušić Radovčić (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Helga Medić (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Klara Kraljić (član)\*
4. doc. dr. sc. Marko Obranović (zamjenski član)

**Datum obrane:** 30. rujna 2022.

## **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

**Graduate university study programme:** Food Engineering

EFFECT OF THE ADDITION OF BROWN SEAWEED ON THE QUALITY OF DRIED COOKED  
AND DRIED FERMENTED SAUSAGES

*Mihaela Sačić*, univ. bacc. ing. techn. aliment.  
0058211153

**Abstract:** Seaweeds are a good source of nutrients, as well as essential fatty acids, and their main use is direct use in food. People often think that meat products are part of an improper diet. By adding seaweed to meat products, new, healthier meat products can be obtained. The aim of this paper was to determine how the addition of brown seaweed will affect the quality of dried cooked and dried fermented sausages by determining the basic parameters (proportion of protein, fat, salt and dry matter), color, fatty acid profile and microbiological stability. The proportion of dry matter, protein and salt decreases, and fat increases proportionally to the addition of seaweed, but the difference compared to the control is minimal. The proportion of fatty acids did not change. The color results obtained indicate a visible color change. Microbiological analysis showed that the reduction of the salt content did not affect the microbiological quality of the sausages.

**Keywords:** *brown seaweed, dried cooked sausages, dried fermented sausages, functional properties, healthier food*

**Thesis contains:** 47 pages, 8 figures, 12 tables, 89 references

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** Helga Medić, PhD, Full professor

**Co-mentor:** Miroslav Juzl, PhD, prof. Ing

**Technical support and assistance:** *Milena Matejovičová, M. Sc, PhD, Jan Slováček, Ing.*

### **Reviewers:**

1. Nives Marušić Radovčić , PhD, Assistant professor (president)
2. Helga Medić, PhD, Full professor (mentor)
3. Klara Kraljić , PhD, Associate professor (member)
4. Marko Obranović, PhD, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** September 30<sup>th</sup>, 2022

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. TRAJNE KOBASICE</b> .....	<b>2</b>
<b>2.2. FUNKCIONALNA SVOJSTVA PROTEINA MAKROALGI</b> .....	<b>4</b>
2.2.1. Bioaktivnost .....	4
2.2.2. Tehnološka funkcionalnost .....	4
2.2.3. Svojstvo topljivosti .....	4
2.2.4. Svojstvo emulgiranja.....	5
2.2.5. Svojstvo geliranja.....	5
2.2.6. Svojstvo pjenjenja .....	5
<b>2.3. NUTRITIVNA SVOJSTVA MORSKIH ALGI</b> .....	<b>6</b>
2.3.1. Ugljikohidrati .....	6
2.3.2. Lipidi .....	7
2.3.3. Proteini .....	10
2.3.4. Vitamini .....	10
2.3.5. Aminokiseline .....	11
2.3.6. Minerali .....	12
<b>2.4. UTJECAJ DODATKA MORSKIH ALGI NA KVALITETU KOBASICA</b> .....	<b>12</b>
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	<b>14</b>
3.1.1. Uzorci.....	14
3.1.2. Kemikalije .....	18
3.1.3. Aparatura.....	18
<b>3.2. METODE</b> .....	<b>20</b>
3.2.1. Analiza masnih kiselina .....	20
3.2.2. Određivanje udjela proteina .....	23
3.2.3. Određivanje udjela soli .....	24
3.2.4. Mikrobiološka analiza.....	25
3.2.5. Određivanje boje .....	26
3.2.6. Određivanje udjela suhe tvari .....	28
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>29</b>
<b>4.1. OSNOVNA KEMIJSKA ANALIZA KOBASICA</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2. PROFIL MASNIH KISELINA</b> .....	<b>31</b>



<b>4.3. BOJA .....</b>	<b>33</b>
<b>4.4. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA.....</b>	<b>34</b>
<b>5. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>36</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>37</b>

# 1. UVOD

Alge se od davnina koriste u ljudskoj prehrani, uglavnom u azijskim zemljama. U zapadnim zemljama, glavna primjena algi je kao sredstvo za želiranje i koloidi u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Morske alge su dobar izvor hranjivih tvari kao što su proteini, vitamini, minerali i dijetalna vlakna. Polifenoli, polisaharidi i steroli, kao i druge bioaktivne molekule, uglavnom su odgovorni za pozitivna zdravstvena svojstva povezana s morskim algama. Ovim spojevima se pripisuju antioksidativna, protuupalna, antikancerogena i antidijabetička svojstva. Uspoređujući s kopnenim biljkama, morske alge imaju veći udio esencijalnih masnih kiselina kao što su eikozapentaenska (EPA) i dokozaheksaenska (DHA) masna kiselina. Osim toga, postoji nekoliko sekundarnih metabolita koje sintetiziraju alge kao što su terpenoidi, oksilipini, flortanini, hlapljivi ugljikovodici i produkti miješanog biogenetskog podrijetla. Stoga se alge mogu smatrati prirodnim izvorom od velikog interesa, budući da sadrže spojeve s brojnim biološkim aktivnostima i mogu se koristiti kao funkcionalni sastojak u mnogim tehnološkim primjenama za dobivanje funkcionalne hrane (Peñalver i sur., 2020).

Glavna upotreba algi je ona za izravnu primjenu u hrani. Ova uporaba predstavlja glavno svjetsko tržište za alge. To je uglavnom zbog velike potrošnje koja postoji u azijskim zemljama, gdje su tradicionalni proizvodi visoke potrošnje. Jedna od glavnih morske alge koja se koristi u prehrani ljudi je i wakame (*Undaria pinnatifida*) (Gomez-Zavaglia i sur., 2019).

Meso i mesni proizvodi, unatoč visokoj biološkoj vrijednosti proteina i esencijalnih nutrijenata potrebnih za normalnu funkciju ljudskog organizma, vrlo su osjetljivi na oksidaciju lipida te im nedostaju složeni ugljikohidrati poput dijetalnih vlakana. Nedostatak dijetalnih vlakana često je povezan s povećanom pojavom nekih kroničnih bolesti poput rizika od kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa 2 i kolorektalnog karcinoma (Das i sur., 2020).

Cilj ovog rada je istražiti kako će dodatak sušene smeđe morske alge wakame *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar, 1873 utjecati na boju, profil masnih kiselina, mikrobiološku stabilnost, udjel proteina, masti, soli i suhe tvari u trajnim sušenim kobasicama.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. TRAJNE KOBASICE

Smatra se da su fermentacija i sušenje najstariji načini očuvanja sirovina. Iako povijesno podrijetlo fermentiranih mesnih proizvoda nije poznato, smatra se da se koristi više od 2500 godina u Kini. Mnogi od ovih proizvoda poznati su u Europi od trinaestog do četrnaestog stoljeća. Miješalo se usitnjeno svježe meso sa solju, koja je sadržavala nitrate, začinima ili biljem te se punilo u životinjska crijeva, a zatim sušilo. Dokaz proizvodnje kobasica je prvi put dokumentiran u staroj Grčkoj, vjerojatno zbog postojećih klimatskih uvjeta (Liepe, 1983). Tehnološki napredak i značajna poboljšanja u higijeni mesa koji su se dogodili 50-ih godina dvadesetog stoljeća zaslužni su za razvoj asortimana fermentiranih mesnih proizvoda u kojima su razlike između zemalja i regija rezultat vrste mesa, dostupnosti, uvjeta okoline i tradicije. Stabilnost fermentiranih mesnih proizvoda se osigurava kombinacijom zakiseljavanja djelovanjem bakterija mliječne kiseline (BMK) i smanjenom aktivnošću vode ( $a_w$ ) tijekom sušenja. Osim toga, kao posljedica djelovanja BMK nastaju biokemijske i fizikalno-kemijske promjene kao posljedica interakcije između mikroorganizama, mesa, masti i tehnologije prerade. Fermentirane kobasice možemo definirati kao mesni proizvod napravljen od mješavine mesa (uglavnom govedine i svinjetine, a rjeđe peradi, ovčetine, janjetine, kozetine, konjetine, nojetine i divljači (Vural i Özvural, 2007), svinjske masti, soli, sredstva za stvrdnjavanje, šećera, začina i u mnogim slučajevima starter kulture. Smjesa navedenih sastojaka se stavi u paropropusna crijeva (uz što manje kisika) i podvrgava se fermentaciji i sušenju.

Suhe fermentirane kobasice imaju konačni pH u rasponu između 5,2 i 5,8, što je u skladu s nižim sadržajem mliječne kiseline (0,5 % - 1,0 %), vlažnost manja od 30 % i omjer M:P manji od 2,3:1. Tijekom dugog procesa zrenja i sušenja događaju se biokemijske i fizikalne promjene koje utječu na njihovu stabilnost i sigurnost. Zbog  $a_w$ , koji se kreće od 0,85 do 0,91, suhe fermentirane kobasice imaju visoku stabilnost te se na policama mogu držati i bez hlađenja. Tipične niže  $a_w$  vrijednosti ovih proizvoda se postižu sušenjem na zraku u mediteranskim zemljama i dimljenjem u sjevernim zemljama. Dug proces zrenja suhих fermentiranih kobasica potiče rast starter kultura, što uvelike pridonosi njihovoj senzorskoj kvaliteti, a sigurnost se uglavnom osigurava sušenjem i niskim  $a_w$ . Iako se suhe fermentirane kobasice uglavnom rade od svinjskog mesa, formulacija, stupanj mljevenja, stupanj fermentacije, intenzitet dimljenja, temperatura sazrijevanja te vrsta i veličina crijeva određuje karakteristike konačnog proizvoda.

Za proizvođače i potrošače, kuhana kobasica je idealan mesni proizvod, jer se može napraviti od mnogo različitih formulacija i u mnogo oblika. Svi jestivi dijelovi trupa se mogu upotrijebiti na učinkovit način, čime je moguće iskoristiti cjelokupni nutritivni kapacitet. To je hrana spremna za jelo koja se može jesti hladna ili zagrijana, kao dio obroka ili samostalno. Zahtijeva malo vremena za pripremu, a za pripremu nisu potrebne nikakve vještine. Osim toga, sol, nitriti i zagrijavanje poboljšavaju sigurnost i mogućnost održavanja, mnogo bolje od svježeg mesa. Obično se rade od govedine i svinjetine, ali perad i druge vrste mesa se također koriste. Sadrže 30 % - 40 % nemasnog mesa i 15 - 30 % masti. Meso je obično fino nasjeckano, ali može sadržavati čestice mesa veličine zrna. Kako se najčešće jedu vruće, sadržaj soli je obično relativno nizak, 1,6 % - 1,8 %. Pone se u prirodne ovitke debljine 18 - 22 mm, ali umjetni ovitci se također široko koriste. Obično se i dime (Toldra, 2010). Meso i mesni proizvodi smatraju se temeljnim sastavnicama ljudske prehrane pošto su vrlo dobar izvor visokokvalitetnih proteina, esencijalnih aminokiselina, vitamina B skupine i minerala (Lorenzo i sur., 2018). No, oni su i glavni izvor natrija u zapadnjačkoj prehrani, pridonoseći oko 30% natrija ukupnog dnevnog unosa soli (Partearroyo i sur., 2019). Pretjerano uzimanje natrija povezano je s pojavom hipertenzije i s povećanim rizikom od kardiovaskularnih bolesti i moždanog udara (Inguglia i sur., 2017). Kako bi se smanjila učestalost ovih bolesti, Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) izdala je preporuku da se ograniči unos soli (natrijevog klorida) na manje od 5 g na dan (što odgovara 2 g natrija na dan) u odraslih. Ove preporuke, zajedno s podizanjem svijesti potrošača o vezi između hrane i zdravlja, potaknuli su prehrambenu industriju da dizajnira mesne proizvode s niskim udjelom soli koji su više u skladu s predloženim prehrambenim standardima (Gullon i sur., 2021). Iako je sve veći interes za morske alge ili njihove ekstrakte kao izvor biološki aktivnih spojeva (antioksidansi, pigmenti, peptide, polisaharide, masne kiseline), njihova primjena za razvijanje novih mesnih proizvoda s poboljšanim prehrambenim i tehnološkim svojstvima, ali i funkcionalnim svojstvima još je uvijek nedovoljno iskorištena. Uloga morskih algi i njihovih biospojeva u mesu i mesnim proizvodima je da kao funkcionalni sastojci pozitivno utječu na zdravlje, kao konzervansi da omogućuju očuvanje njihovih tehnoloških svojstva i kao sredstva za reformulaciju da poboljšaju njihovu nutritivnu vrijednost (Gullon i sur., 2020).

## **2.2. FUNKCIONALNA SVOJSTVA PROTEINA MAKROALGI**

### **2.2.1. Bioaktivnost**

Proteini alga mogu osigurati bioaktivne peptide (BAP) i druge proteinske spojeve s biološkom vrijednošću i pozitivnim učinkom na zdravlje pokazujući antioksidativna, antiproliferativna, protuupalna, antihipertenzivna, antidijabetična, antiaterosklerotična, antikoagulantna i antimikrobna svojstva (Pimentel i sur., 2019; Fan i sur., 2017). BAP-ovi su nizovi od 2 do 20 aminokiselina koje proizvode probavne proteaze i u odgovarajućim količinama, mogu se apsorbirati u crijevima i ući izravno u krvotok, izazivajući pozitivne zdravstvene učinke (Pimentel i sur., 2019). Zbog svojih posebnih svojstava, BAP-ovi su stekli poseban interes u području hrane, jer pokazuju veću bioaktivnost i biospecifičnost za ciljne stanice u usporedbi sa sintetičkim molekulama i vrlo su rijetko povezani s nuspojavama (Li i sur., 2019; Bleakley i Hayes, 2017). No, njihova aktivnost ovisi o njihovoj kemijskoj strukturu, duljini i hidrofobno/hidrofilnoj karakteristici lanca AA (Pimentel i sur., 2019).

### **2.2.2. Tehnološka funkcionalnost**

Osim nutritivnih svojstava, proteini imaju nekoliko funkcija u hrani, kao što su implementacija poželjnih karakteristika i njihovo fizičko ponašanje tijekom pripreme, transporta i skladištenja hrane. Dakle, mogu imati važnu ulogu zahvaljujući svojim strukturnim biopolimerima (Bernaerts i sur., 2019).

### **2.2.3. Svojstvo topljivosti**

Topivost proteina, koja je povezana s hidrofobnim i hidrofilnim interakcijama u vodi, može varirati od nula do stotinu miligrama po mililitru i bitan je zahtjev kada se namjerava primijeniti u prehrambenoj industriji (Grossmann i sur., 2020). Topljivost je dobar pokazatelj potencijalne primjene proteinskih ekstrakata te utječe na druga funkcionalna svojstva (npr. emulgiranje/kapacitet pjenjenja i agregacijsko stanje), koje određuje AA sastav, prirodno/ denaturirano stanje i čimbenici okoliša (npr. temperatura i pH) (Zheng i sur., 2020). Također, topljivost proteina je važna za nisko viskoznu hranu kako bi se spriječilo gravitacijsko odvajanje i zamućenje (Geada i sur., 2021).

#### 2.2.4. Svojstvo emulgiranja

Proteini se koriste kao emulgatori, jer mogu stabilizirati granicu između vodene i organske/ uljne faze. Ovo svojstvo je iznimno važno, budući da se mnoge namirnice sastoje od lipida i vodene faze. Sposobnost emulgiranja proteina, koja se naziva i kapacitet emulgiranja (EC), definira se kao najveća količina ulja koja se može raspršena u otopini emulgatora, bez stvaranja destabilizacije u svojoj strukturi koalescencijom, stvaranjem kreme, flokulacijom ili sedimentacijom tijekom određenog vremenskog razdoblja (Kumari i sur., 2014). Na formiranje i stabilnost protein-polisaharida utječu promjene u pH i povećanje ionske jakosti, zbog postojanja uglavnom elektrostatske interakcije (Schwenzfeier i sur., 2012). EC je viši za više pH vrijednosti (7 - 10) i minimalnim za niske pH vrijednosti (oko 3), budući da je povezan s procesom ekstrakcije/ pročišćavanja. Također, dodatak dvovalentnih kationa (npr.  $\text{Ca}^{2+}$ ) može negativno utjecati na emulziju, zbog smanjenja elektrostatskog odbijanja i ionskog premošćivanja (Grossmann i sur., 2020). Međutim, budući da se polisaharidi (npr. uronska kiselina) također mogu primijeniti kao emulgatori, mogu se kombinirati s proteinima dajući korisni i stabilniji emulgirajući kompleks, koji se može koristiti u prehrambenim proizvodima (npr. arapska guma) (Grossmann i sur., 2018; Schwenzfeier i sur., 2012).

#### 2.2.5. Svojstvo geliranja

Uspostavljanje mehanizma geliranja i priroda proteinskih gelova su izravno povezani s nekoliko čimbenika: vrstom i koncentracijom proteina, pH, ionskom jakošću, redukcijskim sredstvima, denaturansima i otapalima koja se miješaju (može doći do promjena u prirodi proteina, neto naboju i elektrostatskoj interakciji) (Geada i sur., 2021).

#### 2.2.6. Svojstvo pjenjenja

Proteinske pjene se nalaze u kruhu, kolačima, keksima, puslicama, ledenim kremama i nekim pekarskim proizvodima. Sastoje se od raspršenih plinova u tekućoj ili čvrstoj fazi, što je povezano s amfifilnim ponašanjem. U pjenama, proteini igraju posebnu ulogu u formiranju elastičnog i gustog međufaznog filma između dviju faza, budući da imaju sposobnost zadržavanja zraka te tako poboljšavaju poželjna teksturna svojstva. Na ovo svojstvo utječe površinska hidrofobnost, vezanje liganda, molekularna fleksibilnost i stabilnost strukture

proteina, na koju izravno utječe postupak ekstrakcije, kao i način sušenja (Grossmann i sur., 2020). Također, potvrđeno je da na svojstva pjenjenja proteina utječu promjene pH i vrijeme tretiranja (Benelhadj i sur., 2016).

## 2.3. NUTRITIVNA SVOJSTVA MORSKIH ALGI

Kao i većina morskih algi i biljaka, *U. pinnatifida* sadrži ugljikohidrate (9,14 %) kao što su monosaharidi, polisaharidi (uključujući sakran, manan i ksilan) i prehrambena vlakna, lipide (0,64 %) kao što su nezasićene masne kiseline i zasićene masne kiseline, proteine (3,03 %) kao što su peptidi, vitamine, aminokiseline i njihove derivate, kao što su metakrilna kiselina (MAA) i taurinska kiselina, minerale, kao i neke fitokemikalije uključujući polifenole, flavonoide, alkaloidne i sterole (Billakanti i sur., 2013; Dawczynski i sur., 2007; Kim i sur., 2015; Murata i sur., 1999; Roh i sur., 2008; Sanchez-Machado i sur., 2004; Suetsuna i sur., 2000; Yone i sur., 1986). Ove komponente su dio nutrijenata koja su potrebne u procesu rasta i neophodne su za normalne fiziološke funkcije i sintezu sekundarnih metabolita. Alge, zbog promjena u okolini proizvode različite obrambene metabolite koji imaju različitu biološku aktivnost (Wang i sur., 2018; Kuhlich i sur., 2015; Verpoorte i sur., 2002).

### 2.3.1. Ugljikohidrati

Smeđe alge imaju celulozne stanične stijenke s alginskom kiselinom te sadrže polisaharid fukoidan u amorfnim dijelovima staničnih stijenki (Chapman i Chapman, 1980). Smeđe makroalge sadrže najvećim dijelom alginat, čak do 40 % težine. Alginati su linearni polisaharidi koji su strukturna komponenta stanične stijenke morskih smeđih algi i bakterija. Oni se u određenim oblicima mogu otopiti u vodi kako bi se dobio gel s posebnim reološkim svojstvima. Želatinozna svojstva alginata su pod velikim utjecajem sastava i sekvence monomera (Gacesa i sur., 1983). Alginska kiselina se sastoji od  $\beta$ -D-manuronske kiseline,  $\alpha$ -L-guluronske kiseline i izmjenične sekvence  $\beta$ -D-manuronske i  $\alpha$ -L-guluronske kiseline. Stoga su biokemijska i biofizička svojstva alginata su ovisna o molekularnoj težini i omjeru M/G (Salomonsen i sur., 2009). Fukoidan je sulfatirani polisaharid (prosječna molekularna težina: 20 000) koji proizvode smeđe alge. To je polisaharid baziran uglavnom na sulfatiranoj l-fukozi, s manje od 10 % ostalih monosaharida (Berteau i Mulloy, 2003). Ugljik u smeđim morskim algama može biti pohranjen u monomernim ili polimernim molekulama. Skladištenje u

polimerima je povoljno jer te velike molekule imaju manji učinak na osmotski potencijal, nego ekvivalentna količina ugljika u monomeru. Smeđe morske alge mogu sintetizirati laminarin i manitol kao skladište ugljikohidrata. Laminarin je uglavnom linearni polisaharid sastavljen od 25 - 50 jedinica glukoze povezane  $\beta$ -1,3-glikozidnim vezama i u nekim slučajevima, imaju  $\beta$ -1,6-glikozidne veze i grananja u O-6 poziciji. Laminarini se mogu razlikovati po terminalnom reducirajućem kraju, koji odgovara ostatku glukoze u laminarinima tipa G i manitolnom ostatku u M-tipu laminarina. To dovodi do različitih topljivosti za svaku vrstu laminarana, pri čemu je laminaran s manitolnim krajnjim skupinama nereducirajući oblik, pri čemu svaka vrsta laminarana ima različitu molekularnu veličinu. Sadržaj laminarina varira prema vrsti algi, starosti i dijelu talusa, a i prema godišnjem dobu (Chapman i Chapman, 1980). Pošto laminarin ne formira viskoznu otopinu ni gel, njegov glavni potencijal leži za upotrebu u medicini i za farmaceutske potrebe (Rioux i sur., 2010). Manitol je šećerni alkohol sa šest atoma ugljika i jedan je od najzastupljenijih poliola koji se pojavljuju u prirodi. U fotosintetskim organizmima, manitol se sintetizira kao glavni primarni produkt fotosinteze i koristi se kao važan translokacijski i skladišni spoj (Iwamoto i Shiraiwa, 2005). Manitol djeluje kao otopljena tvar u citoplazmi mnogih smeđih algi te se nakuplja kao odgovor na osmotski stres. Djelujući kao osmolit u smeđim algama, a budući da je hidrosiliran, pokazuje hidratantna i antioksidativna svojstva te se stoga može koristiti se u brojnim kozmetičkim i farmaceutskim primjenama (Iwamoto i Shiraiwa, 2005). Također, koristi se kao dodatak hrani (E421). Pokusi s radioaktivnim ugljikom pokazuju da su laminarin i manitol međusobno zamjenjivi skladišni spojevi u smeđim algama, kao što su saharoza i škrob u višim biljkama (Stiger-Pouvreau i sur., 2016; Michel i sur., 2010a; Michel i sur., 2010b).

### 2.3.2. Lipidi

Lipidi su bitne hranjive tvari za ljudsko zdravlje. Međutim, potrebno je osigurati uravnotežen unos u odgovarajućim količinama i u kombinaciji s drugim važnim hranjivim tvarima, kao što su vitamini, ugljikohidrati, proteini i minerali (Gupta i sur., 2020; Simopoulos 2016). Primarna uloga lipida je osigurati energiju, ali su također potrebni za izgradnju stanične membrane i proizvodnju hormona (Miles i Calder, 1998). Također, lipidi su bitni za transport i apsorpciju vitamina topljivih u mastima (tj. A, D, E i K). Bolesti poput pretilosti, dijabetesa, dislipidemije i kardiovaskularnih bolesti su popratni poremećaji povezani su s visokim unosom zasićenih lipida, uglavnom zasićenih masnih kiselina (ZMK) (Brown i sur., 2014; Riccardi i sur., 2004). Brza



hrana sadrži veliku količinu zasićenih masti (Duarte i sur., 2021; Leandro i sur., 2020). Zbog navedenih zdravstvenih problema postoji potreba za procjenom novih izvora hrane koji ne podrazumijevaju prekomjerno iskorištavanje kopnenih ekosustava (Godfray i sur., 2010) kako bi se smanjio pritisak na te sustave. Upravo stoga morske alge predstavljaju inovativnu sirovinu za tržište hrane kao izvor masnih kiselina (MK). Unatoč niskoj koncentraciji ukupnih lipida koje morske alge sadrže, one imaju značajnu količinu esencijalnih nezasićenih masnih kiselina (NMK), koje su ključne za ljudsko zdravlje (Leandro i sur., 2020; Michalak i Chojnacka, 2015). Morske alge sintetiziraju omega-3 i -6 ( $\omega$ -3, odnosno  $\omega$ -6), polinezasićene masne kiseline (PUFA) i visoko nezasićene masne kiseline (HUFA), kao i mononezasićene masne kiseline (MUFA) (Galloway i sur., 2012). Za te je masne kiseline dokazano da imaju ključnu ulogu u ljudskom metabolizmu (esencijalne masne kiseline - EFA), uključene su u rast stanica i metaboličke puteve, za razliku od ZMK, koji uglavnom služe kao izvori energije (Ibanez i sur., 2012). Lipidni profil morskih algi razlikuje se među vrstama (Leandro i sur., 2020). 3/1 do 5/1 omjer  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 masnih kiselina smanjuje rizik od raka dojke, prostate, debelog crijeva i bubrega. 2/1 do 3/1 omjer  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 masnih kiselina minimizira upalu kod pacijenata s reumatoidnim artritismom. Omjer 5/1 se pokazao učinkovitim u pacijenata s astmom. Nasuprot tome, omjer masnih kiselina od 10/1 i viši, je povezan s negativnim ishodima (Zarate i sur., 2017; Simopoulos i sur., 2002). U prosjeku, morske alge imaju prinos lipida između 0,61 % i 4,15 % suhe težine. Međutim, neke vrste morskih algi mogu imati veće vrijednosti, jer se smatraju dobrim izvorom nezasićenih masnih kiselina (Shannon i Abu-Ghannam, 2019). Crvene i smeđe morske alge posebno su poznati izvori  $\omega$ -3 PUFA i HUFA (Fomenko i sur., 2019).

Za prehrambenu industriju, smeđa morska alga *U. pinnatifida* (slika 1) je bitna, osobito u azijskim zemljama (Ferdouse i sur., 2018). Ova vrsta ima visoku ekonomsku vrijednost, zbog svoje bogate nutritivne vrijednosti i svojstava koja su pozitivna za ljudsko zdravlje (Taboada i sur., 2013). Međutim, uzgoj ove vrste u europskim vodama nije zakonski dopušten, zbog neautohtonog karaktera i invazivnog ponašanja (Araujo i sur., 2021). *U. pinnatifida* sadrži bitne MK za promicanje zdravlja ljudi, kao što su EPA, ARA i DHA (Dellatorre i sur., 2020). No, lipidni profil je specifičan i karakterističan za svaku jedinku, ovisno o čimbenicima kojima je organizam izložen (Schmid i sur., 2016; Pereira i sur., 2012; Rohani-Ghadikolaei i sur., 2012). Različiti čimbenici mogu utjecati na sastav i sadržaj MK morske alge, a to su geolokacija i izloženost različitim abiotičkim (temperatura, salinitet, pH, izloženost valovima, svjetlost, dostupnost hranjivih tvari) i biotički čimbenicima (biljojedi) mogu dovesti do različitih

biokemijskih profila kod iste vrste, odnosno promjena u profilu MK (Mena i sur., 2020; Gosch i sur., 2015; Pereira i sur., 2012; Khotimchenko i sur., 2002). Istraživanja su otkrila da je palmitinska kiselina (C16:0) najzastupljenija MK. Profil MK se može razlikovati i ovisno o dijelu alge koji se analizira (npr. na sporofilu, lišću ili središnjoj žilici) (Dellatorre i sur., 2020; Cofrades i sur., 2010). U usporedbi s kopnenim biljkama, morske alge sadrže veći izbor metabolita koji imaju važna biološka svojstva, kao i veće količine visoko nezasićenih masnih kiselina ( $\omega$ -3 EPA i DHA i  $\omega$ -6 ARA) koje su važne za ugradnju makronutrijenata u hranidbene mreže. Imaju visoki potencijal ne samo kao izravni prehrambeni proizvod, već i za tehnološke primjene za proizvodnju funkcionalne hrane (Peñalver i sur., 2020; Balboa i sur., 2016).



**Slika 1.** Osušena alga *Undaria pinnatifida* (vlastita fotografija).

**Tablica 1.** Profil masnih kiselina osušene alge *Undaria pinnatifida* izražen u mg g<sup>-1</sup> (Rocha i sur., 2021).

Masna kiselina	mg masne kiseline g <sup>-1</sup> sušene alge <i>Undaria pinnatifida</i>
C16:0	11,51 ± 0,01
C17:0	0,00 ± 0,00
C18:0	0,64 ± 0,02
C24:0	0,00 ± 0,00
C15:1	2,44 ± 0,10

**Tablica 1.** Profil masnih kiselina osušene alge *Undaria pinnatifida* izražen u mg g-1 (Rocha i sur., 2021).- nastavak

C16:1	1,66 ± 0,06
C18:1	6,21 ± 0,11
C18:2	3,87 ± 0,08
C18:3 (α-LA)	7,51 ± 0,42
C18:3 (γ-LA)	12,33 ± 0,67
C20:4 (ARA)	0,00 ± 0,00
C20:5 (EPA)	13,15 ± 0,02
C22:6 (DHA)	8,55 ± 0,37
ω-6/ω-3	0,09

\*α-LA - alfa linolna kiselina; γ-LA - gama linolna kiselina; ARA - arahidonska kiselina; EPA - eikosapentaenska kiselina; DHA - dokozaheksaenska kiselina, ω-6/ω-3 - omjer omega 6/omega 3

### 2.3.3. Proteini

Sadržaj proteina u algama može iznositi čak 47 % suhe težine, ovisno o godišnjem dobu i vrsti. Više razine proteina zabilježene su zimi i u proljeće, dok su niže količine zabilježene tijekom ljeta. Sadržaj proteina u smeđim algama općenito je nizak (5 - 15 % suhe težine), dok je veći u zelenim i crvenim algama (10 - 47 % suhe težine). Općenito, alge sadrže proteine koji imaju visoku nutritivnu vrijednost, jer sadrže sve esencijalne aminokiseline u značajnim količinama. Iako *in vivo* probavljivost proteina algi nije dobro dokumentirana, nekoliko je istraživanja opisalo da je visoka stopa razgradnje proteina algi *in vitro* djelovanjem proteolitičkih enzima. No, neki drugi spojevi prisutni u algama, poput fenolnih spojeva ili polisaharida, ograničavaju probavljivost proteina algi (Ibanez i Cifuentes, 2013).

### 2.3.4. Vitamini

**Tablica 2.** Sadržaj vitamina u wakame (*U. pinnatifida*). Rezultati su izraženi u suhoj težini uzorka (Taboada i sur., 2012).

Vitamin	
Vitamin A (UI kg <sup>-1</sup> )	4,729 ± 23,3
Vitamin B1 (mg kg <sup>-1</sup> )	0,30 ± 0,03
Vitamin B2 (mg kg <sup>-1</sup> )	0,68 ± 0,03
Vitamin B5 (mg kg <sup>-1</sup> )	2,0 ± 0,11

**Tablica 2.** Sadržaj vitamina u wakame (*U. pinnatifida*). Rezultati su izraženi u suhoj težini uzorka (Taboada i sur., 2012).- nastavak

Vitamin B8 ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	$0,22 \pm 0,01$
Vitamin B12 ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )	$0,16 \pm 0,01$
Vitamin B6 ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	$1,5 \pm 0,02$
Vitamin B3 ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	<5
Folna kiselina ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	$0,79 \pm 0,08$
Vitamin C ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ )	$3,10 \pm 0,11$
Vitamin E ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	$6,3 \pm 0,12$

### 2.3.5. Aminokiseline

**Tablica 3.** Sastav aminokiselina u  $\text{mg g}^{-1}$  proteina wakame (*U. pinnatifida*) (Taboada i sur., 2012).

Aminokiselina	$\text{mg aminokiseline g}^{-1}$ proteina sušene alge <i>Undaria pinnatifida</i>
Asparaginska kiselina	$75,60 \pm 12,12$
Serin	$33,96 \pm 3,04$
Glutaminska kiselina	$120,85 \pm 20,26$
Glicin	$65,75 \pm 7,8$
Histidin	$17,11 \pm 1,17$
Arginin	$88,19 \pm 8,49$
Treonin	$29,22 \pm 1,24$
Alanin	$97,57 \pm 8,20$
Prolin	$44,26 \pm 3,89$
Cistin	$3,26 \pm 0,30$
Tirozin	$20,99 \pm 0,64$
Valin	$58,48 \pm 4,77$
Metionin	$1,41 \pm 0,21$
Lizin	$39,96 \pm 3,40$
Izoleucin	$50,82 \pm 4,36$
Leucin	$86,14 \pm 7,39$
Fenilalanin	$48,46 \pm 3,93$

### 2.3.6. Minerali

*U. pinnatifida* obiluje natrijem i kalijem, makromineralima koji u ravnoteži s kalcijem i magnezijem, pomažu u smanjenju visokog krvnog tlaka (Garicano Vilar i sur., 2020; Cofrades i sur., 2010).

**Tablica 4.** Sadržaj minerala (mg 100 g<sup>-1</sup> suhe težine) u wakame (*U. pinnatifida*) (Taboada i sur., 2012).

Mineral	mg minerala 100 g <sup>-1</sup> suhe težine sušene alge <i>Undaria pinnatifida</i>
Kalcij	693,2 ± 7,6
Fosfor	1070,0 ± 7,0
Željezo	7,94 ± 0,80
Magnezij	630,2 ± 8,2
Cink	3,86 ± 0,27
Jod	9,6 ± 0,73
Natrij	3511,0 ± 26,0
Kalij	5,679,0 ± 22,3
Mangan	0,69 ± 0,02
Bakar	0,19 ± 0,01

## 2.4. UTJECAJ DODATKA MORSKIH ALGI NA KVALITETU KOBASICA

Korištenjem algi u mesnim proizvodima otvaraju se brojne mogućnosti u formuliranju zdravijih mesnih proizvoda za prevladavanje tehnoloških problema povezanih s niskim udjelom soli proizvoda, uključujući probleme u vezi sa svojstvima i teksturom vezanja vode i masti. Postoji sve veći interes među potrošačima i prerađivačima za smanjenje upotrebe soli (minimiziranje natrija) u preradi mesa, jer ima negativan učinak na zdravlje ljudi (López-López i sur., 2009; Desmond, 2006; Jimenez-Colmenero i sur., 2001). Smanjenje soli i masti u prerađenom mesu dodatkom morske trave može doprinijeti dodatnim funkcionalnim svojstvima, kao što su nutritivna (manje kalorija i zasićenih masnih kiselina), fizikalno-kemijska i teksturna svojstva. No, dodavanje morske trave može rezultirati smanjenom prihvatljivošću za potrošače, zbog specifičnog okusa morske trave (Roohinejad i sur., 2017). Dodatak jestivih morskih algi miješanjem ili zamjenom sastojaka istraženo je samo u manjem dijelu prerađenih mesnih proizvoda. Nutricionistički i tehnološki gledano, to je relativno jednostavan proces i pruža učinkovitu mjeru za poboljšanje kvalitete mesa. U istraživanju koje su proveli Garicano Vilar i sur. (2020) kobasice koje su sadržavale dodanu morsku algu imale su manje pepela, više vlage,

proteina i bile su tamnije boje. Također, imale su izmijenjena svojstva teksture (bile su tvrđe) u usporedbi s kontrolnom skupinom. Hlapljivi i osjetilni profili kobasica s dodatkom morske alge su se također razlikovale od kontrole. U tom istom istraživanju je provedena i mikrobiološka analiza. Rezultati te analize su pokazali kako je rok trajanja kobasica s dodatkom 1 % *U. pinnatifida* kraći od roka trajanja kontrole. Sol ima konzervansni učinak u preradi mesa tako što smanjuje aktivitet vode, što pomaže u inhibiranju rasta mikroorganizama te smanjenje količine soli može imati negativan utjecaj na rok trajanja proizvoda. Dodatak morskih algi može smanjiti lipidnu oksidaciju, jer sadrže antioksidanse i polinezasićene masne kiseline. Rezultati senzorske analize su pokazali kako su kobasice s dodatkom *U. pinnatifida* bile donekle prihvaćene od strane senzornih panelista. Na prihvatljivost je uglavnom utjecao okus morske trave, a ne smanjenje udjela soli. Kontrolni uzorci su ocijenjeni višom ocjenom od onih koji su sadržavali morske alge. Razlog tome je negativan utjecaj dodatka morskih algi na izgled i percepciju arome. Kobasice s dodatkom morske alge su bile tamnije boje od kontrole te je intenzitet boje bio vrlo snažan čimbenik vezano za odobravanje izgleda, što je na kraju i negativno utjecalo na ukupnu prihvatljivost. Neka istraživanja su otkrila da smeđe morske alge proizvode spojeve sumpora, C11-ugljikovodike i diterpene. Kobasice s dodatkom *U. pinnatifida* su imale veći udjel terpena, kao i još nekih hlapivih spojeva (benzen, alkohola, aldehidi). Prema Moroney i sur. (2015), dodatak polisaharida smeđe morske alge smanjuje oksidaciju lipida zahvaljujući stvaranju potencijalnih antioksidativnih melanoidina (produkti Maillardove reakcije). Mali proteinski doprinos morskih algi u kobasicama je posljedica njihovog niskog sadržaja proteina (<5 %). Povećanje razine pepela je uočeno u uzorcima koji su sadržavali smeđe morske alge. Neke smeđe morske alge mogu sadržavati preko 50% ukupnih dijetalnih vlakana (Cofrades i sur., 2008). Redoviti unos dijetalnih vlakana ima niz blagotvornih učinaka: pomaže kod regulacije razine glukoze u krvi i smanjuje rizik od dijabetesa, pomaže u regulaciji lipida u krvi i sprječava kardiovaskularne bolesti, rak debelog crijeva i zatvor te regulira rad crijeva. Europljani općenito konzumiraju oko 20 g/dan dijetalnih vlakana naspram preporučenih više od 25 g/dan (WHO, 2003). Uključivanje dijetalnih vlakana u hranu koja se često konzumira, kao što su mesni proizvodi, mogli bi pomoći u ispravljanju ovog nedostatka. Dijetalna vlakna iz morskih algi imaju nekoliko korisnih fizioloških učinaka za ljude, uključujući hipokolesterolemiju, antihipertenzivno djelovanje, antioksidacijsku zaštitu te imunološko antivirusno i antitumorsko djelovanje (Chew i sur., 2008; Amano i sur., 2005; Fujimura i sur., 2004; Maruyama i sur.,

2003). Konzumacija 100 g kobasica s dodatkom algi bi mogla osigurati oko 10 % preporučenog dnevnog unosa dijetalnih vlakana (López-López i sur., 2009).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

##### 3.1.1. Uzorci

Kobasice su proizvedene prema internim standardima kvalitete u laboratoriju pilot postrojenja CZ 22067 (odobren od Državne veterinarske uprave) Sveučilišta Mendel u Brnu.

Korišteni su standardni strojevi koji se koriste u industrijskoj proizvodnji:

- Mlin za mljevenje (TMP 32-98),
- Vakuumsko punilo (HTS 95),
- Pušnica (Bastramat MC-500),
- Komora (KRA-Gen3 M).

Proizvedene su ukupno tri skupine suhih kobasica u dvije vrste (DF –fermentirane i DC -kuhane kobasice) s različitim udjelom morskih algi i računato na 2 % udjela soli (C – kontrola za 0 % smeđe morske alge; 1 % – smeđe morske alge zajedno sa smanjenim udjelom soli na 1,83 % NaCl u receptu; 3 % – smeđe morske alge zajedno sa smanjenim udjelom soli na 1,50% NaCl u receptu). DF recept se temelji na Dunajská klobása, a DC recept na Spišská klobása. Oba recepta za mesne proizvode (kobasice) obično se nalaze na policama čeških trgovina. Nazivi nisu vezani za regiju, već su nastali kao oznaka tipa za državno podrijetlo (Češka mesna industrija) u kontroliranom gospodarstvu Čehoslovačke Socijalističke Republike 1960-ih i 1970-ih kao ČSN 57 7270 Spišská klobása i ČSN 57 7265 Dunajská klobása. Kultura označena SR-SC 01 za fermentirane mesne proizvode (DF – Dunajská klobása), isporučuje tvrtka MASOPROFIT lit. (porijeklo Christian Hansen) korištena je za fermentaciju u dozi od 0,25 g kulture (prah) po kilogramu mesnog tijesta.

Za DC kobasice (slika 2) je korišteno meso iz lokalnih farmi i začini količinski navedeni u tablici 5. Za kobasice s 1 % sušene smeđe morske alge je u smjesu dodano i 60 g izmljevene suhe smeđe

morske alge, a za kobasice s 3 % sušene smeđe morske alge 190 g izmljevene suhe smeđe morske alge.

Sirovo meso je držano na 2 °C, a drugi dan je grubo samljeveno kako bi se dobila mesna emulzija u mlinu. U mlinu za mljevenje je izmljeveno nemasno svinjsko meso koristeći nastavak od 30 mm i nemasno goveđe meso koristeći nastavak od 3 mm te stavljeno u uređaj za miješanje. Dodana je sol, malo promiješana te su dodani ostali začini i opet promiješani. Zatim je stavljena svinjska mast i promiješano. Dobivena smjesa je prebačena u mlin za mljevenje te izmljevena koristeći nastavak od 8 mm. Smjesa je prebačena u uređaj za punjenje kobasica i punjena u svinjska crijeva (30/32 mm promjera). Kobasice su stavljene na toplinsku obradu u pušnicu koja traje do kada je 70 °C 10 minuta u središtu kobasice. Kobasice su izvađene iz uređaja za toplinsku obradu i ohlađene koristeći hladnu vodu. Tako ohlađene kobasice su stavljene u rashladnu komoru 24 sata na 4 °C. Zatim su ponovo stavljene na sušenje na temperaturu od 16 °C i vlažnost od 75 % do kada se aktivitet vode ne smanji do 0,93.

Za DF kobasice (slika 3) je korišteno meso iz lokalnih farmi i začini količinski navedeni u tablici 6. Korištena je još i starter kultura: STARTER SR-SC01 MASOPROFIT lit. (porijeklo Christian Hansen) u dozi od 0,25 g kulture (prah) po kilogramu mesnog tijesta. Za kobasice s 1 % sušene smeđe morske alge je u smjesu dodano i 60 g izmljevene suhe smeđe morske alge, a za kobasice s 3 % sušene smeđe morske alge 190 g izmljevene suhe smeđe morske alge.

Sirovo meso je držano na 2 °C, a drugi dan je grubo samljeveno kako bi se dobila mesna emulzija u mlinu. Nemasno goveđe meso, nemasno svinjsko meso, svinjska mast i začini su stavljani u uređaj za miješanje te promiješani. Dobivena smjesa je stavljena u mlin za mljevenje te izmljevena koristeći nastavak od 6 mm. Smjesa je prebačena u uređaj za punjenje kobasica te punjena u svinjska crijeva (30/32 mm promjera). Kobasice su stavljene u rashladnu komoru na 6 °C 24 sata. Zatim su stavljene na toplinsku obradu pri temperaturi od 20 °C 21 sat. Kobasice su tada stavljene na sušenje na temperaturu od 16 °C i vlažnost od 75 % do kada se aktivitet vode nije smanjio do 0,93.





**Slika 2.** Sušene kuhane kobasice s dodatkom 0 %, 1 % i 3 % smeđe morske alge (*vlastita fotografija*).



**Slika 3.** Sušene fermentirane kobasice s dodatkom 0 %, 1 % i 3 % smeđe morske alge (*vlastita fotografija*).

**Tablica 5.** Recept za DF (fermentiranu kobasicu).

Sastojci	DF - Dunajska klobasa (kg)
Nemasno govede meso	0,59
Nemasno svinjsko meso	2,25
Svinjska mast	2,96
Voda/ led	0,00
Mješavina nitritne soli	0,12
Mljeveni crni papar (Piper nigrum)	0,012
Mljeveni kumin (Carum carvi L.)	0,004
Mljevena crvena slatka paprika (Capsicum annuum)	0,024
Kajenski papar (Capsicum annuum 'Cayenne')	0,024
Saharoza (bijeli rafinirani šećer)	0,004
Tekući češnjak (Allium sativum)	0,018
<b>Ukupno</b>	<b>6,008</b>

**Tablica 6.** Recept za DC (kuhanu kobasicu).

Sastojci	DC - Spiška klobasa (kg)
Nemasno govede meso	2,10
Nemasno svinjsko meso	1,00
Svinjska mast	2,37
Voda/ led	0,33
Mješavina nitritne soli	0,11
Mljeveni crni papar (Piper nigrum)	0,030
Korijander (Coriandrum sativum)	0,005
Mljevena crvena slatka paprika (Capsicum annuum)	0,040
Saharoza (bijeli rafinirani šećer)	0,004
Tekući češnjak (Allium sativum)	0,018
<b>Ukupno</b>	<b>6,007</b>

### 3.1.2. Kemikalije

- Mješavina dvaju organskih otapala: heksan /propan-2-ol u omjeru 3:2 (označeno kao HIP 1) i u omjeru 7:2 (označeno kao HIP 2) (VWR, Češka Republika)
- Vodena otopina natrijevog sulfata (66,7 g bezvodne soli na 1000 mL vode) (VWR, Češka Republika)
- Bezvodni natrijev sulfat (VWR, Češka Republika)
- Izooktan s internim standardom (pentadekanska kiselina - 1 mg mL<sup>-1</sup>) (VWR, Češka Republika)
- Natrijev metoksid (11,5 g L<sup>-1</sup> natrija u metanolu) (VWR, Češka Republika)
- Otopina bor trifluorida (14 %) (VWR, Češka Republika)
- Zasićena otopina natrijevog klorida (VWR, Češka Republika)
- Kjeldahl tablete (Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Sumporna kiselina (96 %) (Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Borna kiselina (4 %) u koju su dodana dva indikatora (bromokresol zeleno i metil crveno) (Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Natrijev hidroksid (40 %) (VWR, Češka Republika)
- Klorovodična kiselina (c = 0,1 mol L<sup>-1</sup>) (Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Otopina srebrovog nitrata (c = 0,1 mol L<sup>-1</sup>) (Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Otopina kalijevog kromata (w = 5 %) (Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Destilirana voda (VWR, Češka Republika)
- PCAM agar (Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Fiziološka otopina (VWR, Češka)
- Otopina etanol-eter (1:1) (VWR, Češka)

### 3.1.3. Aparatura

- Liofilizator Alpha 1-2 LD (Christ, Njemačka)
- Analitička vaga Pioneer (Ohaus, Švicarska)
- Homogenizator Universal 32 (Heidolph, Njemačka)
- Ultrazvučna kupelj PS 10000 (Power Sonic, SAD)
- Digestor Cimpacd line DCL-12.00 LM (POL-EKO, Poljska)

- Rotacijski isparivač EV400H (LabTech, SAD)
- Dušik u boci (SAID, Češka Republika)
- Aparatura za refluks
- Plinski kromatograf Master fast GC (DANI, Italija) s kapilarnom kolonom Lion LN FAME stupaca (30 m × 0,25 mm × 0,20 μm; Chromservis). Kao vanjski standard za FAME identifikaciju je korišten NU-CHECK 455—16 FAME (NU-CHECK Prep, Inc., Elysian, MN, SAD)
- Destilacijska jedinica Kjeltex sustava, Kjeltex 8200 (FOSS, Danska)
- Vodena kupelj WTB (Mettler, Njemačka)
- Termostat TDB-120 (Biosan, Latvija)
- Spectrophotometer CM-3500d (Konica Minolta, Japan)
- Vaga 440-45 N (Kern, Njemačka)
- Sušionik UN30 (Mettler, Njemačka)

#### 3.1.4. Pribor

- Aluminijske posudice (VWR, Češka Republika)
- Laboratorijske čaše volumena 50, 100 i 150 mL (VWR, Češka Republika)
- Menzure volumena 100 mL (VWR, Češka Republika)
- Erlenmeyerove tikvice volumena 250 mL (VWR, Češka Republika)
- Stakleni lijevci (VWR, Češka Republika)
- Naborani filter papiri (VWR, Češka Republika)
- Lijeveći za odjeljivanje volumena 500 mL (VWR, Češka Republika)
- Tikvice od brušenog stakla volumena 50 mL (VWR, Češka Republika)
- Mikropipete od 1000 μL (VWR, Češka Republika)
- Bočice od 1 mL (VWR, Češka Republika)
- Kivete za Kjeltex sustav volumena 500 mL (VWR, Češka Republika)
- Erlenmeyerove tikvice volumena 250 mL (VWR, Češka Republika)
- Titracijska tikvica volumena 250 mL (VWR, Češka Republika)
- Petrijeve zdjelice (VWR, Češka Republika)
- Mikropipeta od 1000 μL (VWR, Češka Republika)

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Analiza masnih kiselina

Princip određivanja:

Za određivanje profila masnih kiselina plinskom kromatografijom potrebno je hidrolizirati mast i derivatizirati (esterificirati) oslobođene masne kiseline. U alkalnom okruženju nastaju soli masnih kiselina koje reagiraju s metanolom i nastaju MK metil esteri (FAME - metil esteri masnih kiselina). Metil esteri masnih kiselina (FAME) odvojeni su pomoću plinskog kromatografa (slika 4).

Postupak određivanja:

Uzorak je izrezan na komade veličine oko 0,5 cm koji su stavljeni na zamrzivanje pri temperaturi od -30 °C te zatim u aluminijske posude i u Christ Alpha 1-2 LD liofilizator. Liofilizacija se odvija pod sljedećim uvjetima: glavno sušenje na -46 °C tijekom 24 sata i konačno sušenje na -46 °C najmanje 3 sata. Uzeta su tri uzorka iz svake grupe kobasica. Ukupni lipidi su ekstrahirani iz svakog uzorka smjesom heksan/2-propanola te je svaki ekstrakt analiziran u duplikatu.

Oko 5 g liofiliziranog uzorka homogenizirano je oko 2 minute s homogenizatorom Heidolf Universal 32 u 30 mL HIP 1 (mješavina otapala heksan/ propan-2-ol u omjeru 3:2). Svrha homogenizacije je temeljito samljati materijal i olakšati kontakt analita s otapalom. Homogenizirana smjesa je zatim kvantitativno prenesena u Erlenmeyerovu tikvicu od 250 mL (posuda za homogenizaciju je isprana otopinom HIP 1 sve do kada više nije ostalo uzorka u posudi) te se zatim stavlja u ultrazvučnu kupelj PS 10000 na 15 minuta. Razlog tome je što ultrazvuk potiče otpuštanje sadržaja stanica u otapalo. Smjesa je zatim filtrirana gravitacijom u digestoru preko naboranog filter papira te je filtratu dodano 24 mL 0,5 mol L<sup>-1</sup> vodene otopine natrijevog sulfata. Uzorak je kvantitativno prenesen u lijevak za odvajanje u kojem je polagano miješan 3 minute (učestalost preokreta približno 13 puta u minuti). Uspostavila se ravnoteža između dviju faza - vodene i organske te se smjesa tako podijelila na dvije faze koje se ne miješaju. Gornja heksanska faza sastoji se od lipida i heksana, a donja vodena faza se sastoji od propan-2-ola i vodenog natrijevog sulfata. Nakon odvajanja heksanskog sloja u odmjernu tikvicu od 50 ml, vodeni sloj je ponovno ekstrahiran s 10 mL HIP 2 (mješavina otapala heksan/ propan-2-ol 7:2). Ponovno je uspostavljena ravnoteža između dviju faza te se novonastali sloj heksana

ulio u odmjernu tikvicu od 50 mL sa slojem heksana iz prve ekstrakcije. Zatim je ova smjesa filtrirana kroz 0,5 g bezvodnog natrijevog sulfata u prethodno izvaganu tikvicu za ekstrakciju od brušenog stakla. Otapalo je ispareno na rotacijskom isparivaču (slika 4) na 55 °C i 60 o/min sve do kada se sav heksan nije evaporizirao. Ostaci otapala su upareni u struji dušika. Ukupni sadržaj lipida u uzorku određuje se gravimetrijski (vaganjem tikvice sa sadržajem do konstantne mase).

Za određivanje profila masnih kiselina plinskom kromatografijom potrebno je esterificirati oslobođene masne kiseline (slika 5).

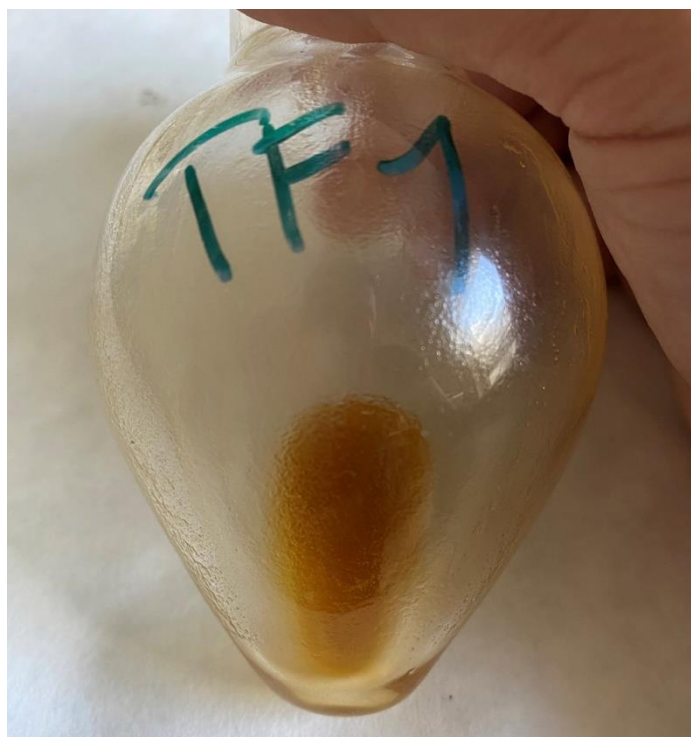
50 mg ekstrahiranih lipida je stavljeno u tikvicu od brušenog stakla od 50 mL. Zatim je dodano 3 mL izooktana s internim standardom (pentadekanska kiselina - 1 mg mL<sup>-1</sup>)

Uzorak je promiješan, dok nije otopljen u dodanom izooktanu. Zatim je dodano 3 mL natrijevog metanolata (otopljeno 11,5 g L<sup>-1</sup> natrija u metanolu). Smjesa je zagrijavana do refluksa na 65 °C 15 minuta. U alkalnom okruženju nastaju soli masnih kiselina koje reagiraju s metanolom i nastaju MK metil esteri (FAME – metil esteri masnih kiselina).

Zatim je dodano 3 mL 14 % otopine bor trifluorida (BF<sub>3</sub>) u metanol kroz refluks kondenzator i zagrijavano dodatnih 5 minuta.

Nakon zagrijavanja smjesa je ostavljena da se ohladi na sobnu temperaturu te je dodano 2 mL izooktana. Smjesa je pomiješana miješanjem u gradiranoj tikvici i dodano je 5 mL zasićene otopine natrijevog klorida te je promiješano 15 sekundi. U tom procesu nastaje natrijeva sol glicerola, koja se istaloži u smjesi organskog otapala i metanola. Organski dio je prebačen u epruvetu s 0,5 g bezvodnog natrijevog sulfata. Miješanjem se dehidrira organski dio. Nakon bistrenja uzorka, bistri organski dio se skupio u bočice i čuvao u zamrzivaču na -20 °C do analize na plinskom kromatografu (slika 6).

Metil esteri masnih kiselina (FAME) odvojeni su pomoću plinskog kromatografa. Temperature injektora i detektora (plamen ionizacijski detektor) su bile 240 °C. Temperaturni program je bio: početna temperatura je bila 60 °C, držana jednu minutu; zatim 15 °C /min do 140 °C; 3 °C /min do 180 °C držano jednu minutu; 2,5 °C /min do 190 °C, držano dvije minute; 20 °C /min do 240 °C držano tri minute. Brzina protoka plina nosača (H<sub>2</sub>) je bila 1 mL/min, a omjer podjele bio je 1:30.



**Slika 4.** Oslobođene masne kiseline iz uzorka sušene fermentirane kobasice s dodatkom 1 % sušene smeđe morske alge (Jan Slovák, 2022).



**Slika 5.** Plinski kromatograf Master fast GC (*vlastita fotografija*).

### 3.2.2. Određivanje udjela proteina

Princip određivanja:

Metoda po Kjeldahl-u se zasniva na određivanju proteina preko dušika. Proteini sadrže prosječno 16 % dušika te se indirektno preko dušika odredi količina ukupnih proteina.

Princip metode se sastoji od tri faze: vlažno spaljivanje (oksidacija), destilacija i titracija. Organski spojevi iz uzorka se razore zagrijavanjem sa sumpornom kiselinom (uz katalizator) te dolazi do oslobađanja dušika u obliku amonijevog sulfata. Zatim je potrebno osloboditi amonijak destilacijom, odnosno dodatkom koncentriranog natrijeva hidroksida. Amonijak se apsorbira u bornoj kiselini. Destilat amonijaka u boru se zatim titrira klorovodičnom kiselinom. Dobiveni rezultat analize predstavlja količinu ukupnih proteina u uzorku tako što se udio dušika izračuna po formuli te se pomnoži s faktorom za meso kako bi se dobio ukupni postotak proteina u uzorku.

Postupak određivanja:

1,00 g uzorka je kvantitativno prebačen u veliku epruvetu te su stavljene dvije tablete Kjeldahl katalizatora i 16 mL  $H_2SO_4$  (96 %). Stalak s epruvetama je stavljen u digestijsku jedinicu za mineralizaciju na temperaturu od 420 °C 1 sat. Epruvete s poklopcem su stavljene na hlađenje do sobne temperature. Dobivena tekućina u epruvetama je prozirna i svjetlo tirkizne boje.

Jedna po jedna epruveta je stavljena u uređaj Kjeltec 8200 (slika 7) i u nju uronjena cjevčica za mineralizaciju uređaja. 30 mL borne kiseline u koju su dodana dva indikatora je stavljena u Erlenmeyerovu tikvicu koja se stavi na postolje uređaja te je destilacijska cjevčica uronjena u kiselinu. Zatim se pokrene postupak destilacije. Uređaj automatski doda 80 mL destilirane vode, a zatim 70 ml 40% NaOH u epruvetu. Destilacija se odvija 5 minuta. Destilat je proziran, tamno zelene boje što ukazuje na prisutnost amonijaka.

Destilat je ohlađen i titriran klorovodičnom kiselinom. Titracija je gotova kada uzorak promijeni boju u prozirno ljubičastu.

Račun:

Udio ukupnog dušika:

$$\% N = \frac{(T-B) \times 14,007 \times 100}{m} \quad [1]$$



Udio ukupnih proteina:

$$\% \text{ protein} = \%N \times F$$

gdje je : T- volumen HCl utrošen za titraciju uzorka (mL)

B- volumen HCl utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

N- molaritet kiseline

m- masa uzorka (mg)

F- faktor za preračunavanje % dušika u proteine; za meso i mesne proizvode iznosi 6,25



**Slika 6.** Destilacijska jedinica Kjeltac sustava, Kjeltac 8200 (*vlastita fotografija*).

### 3.2.3. Određivanje udjela soli

Princip određivanja:

Sol je određena ispiranjem uzorka vodom i zatim određivanjem svih klorida metodom po Mohru, koji su pretvoreni u natrijev klorid. Koncentracija kloridnih iona u otopini se odredi titracijom sa srebrovim nitratom. Kod ove metode postepenim

dodavanjem otopine srebrovog nitrata u ispitivanu otopinu, nastaje bijeli talog srebrovog klorida. Završna točka titracije očitava se kada se istalože svi kloridni ioni, a detektira se tako da naknadno dodani ioni srebra reagiraju s kromatnim ionima iz indikatora, kalijevog kromata, pri čemu nastaje crveno-smeđi talog srebrovog kromata.

Postupak određivanja:

Odvagano je 1 do 2 g uzorka u titracijsku tikvicu volumena 250 mL. Zatim je dodano 100 mL tople destilirane vode. Uzorak je raspršen i ispiran 30 minuta uz povremeno miješanje te je dodano 2 mL kalijevog kromata. Nakon hlađenja uzorka na oko 40 °C, uzorak je titriran otopinom srebrnog nitrata do trajnog crvenog obojenja.

Račun:

$$\% NaCl = \frac{a \times f \times 0,005846 \times 100}{m} \quad [2]$$

gdje je: a- volumen 0,1 M srebrovog nitrata utrošen za titraciju uzorka (mL)

f- faktor otopine srebrovog nitrata korištene za titraciju (1)

m- masa uzorka (g)

#### 3.2.4. Mikrobiološka analiza

Princip određivanja:

Utvrđivanje ukupnog broja bakterija u uzorku se utvrdilo se direktnom metodom brojanjem bakterija na čvrstoj podlozi. Također, korištene su i kvalitativne i kvantitativne metode. Kvalitativnim metodama se dokazuje samo prisustvo određenih bakterijskih vrsta, a kvantitativnim se utvrđuje broj prisutnih bakterija.

Postupak određivanja:

Uzorci su homogenizirani i u svakog je dodano 90 mL fiziološke otopine na 10 g uzorka. Tako dobivena smjesa je homogenizirana jednu minutu. Uzorci su stavljeni u vodenu kupelj (85 °C, 10 min) kako bi se odredili termorezistentni mikroorganizmi.

1 mL svakog uzorka je otpipetiran u Petrijevu zdjelicu i preliven vrućim agarom. Posude su nakon skrućivanja stavljene u termostat s idealnim temperaturama i uvjetima uzgoja (tablica 7).

**Tablica 7.** Mikroorganizmi i uvjeti uzgoja.

Skupina mikroorganizama	Podloga	Temperatura (°C)	Vrijeme uzgoja (h)
Ukupan broj stanica	PCAM agar	30	72
Bakterije otporne na temperaturu	PCAM agar	30	48

### 3.2.5. Određivanje boje

Princip određivanja:

Spektrofotometar služi za precizno definiranje boje različitih materijala. Uređaj mjeri cijeli vidljivi spektar, odnosno od 380 do 780 nm te se tada uz numeričke podatke i spektar emisije određuje boja. Spektrofotometar je spojen na računalo sa softverom CMS-100w Spectramagic NX. Boja se opisuje u prostoru boja  $L^*a^*b^*$  (koji se naziva i CIELab). CIELab prostorni model boja je trodimenzionalni sustav boja temeljen na percepciji standardnog promatrača kojeg predstavlja statistički podatak dobiven nizom mjerenja i najbliži je vizualnoj percepciji. Koordinate CIELab sustava boja se temelje na Heringovoj teoriji suprotnih parova boja koje predstavljaju i osi sustava. Mjeri se cijelo područje vidljivog spektra i zatim se dodjeljuju vrijednosti u sustavu  $L^*a^*b^*$ . Vrijednost  $L^*$  predstavlja specifičnu svjetlinu i poprima vrijednosti od 0 (crno) do 100 (bijelo). Kromatske osi  $a^*$  (od zelene do crvene) i  $b^*$  (od plave do žute) postaju pozitivne ili negativne vrijednosti. Ispitani uzorci mogu se mjeriti na dva načina: refleksijom ili transmitantnosti (koristi se za tekuće uzorke) (Slovaček, 2020; Zmeškal i sur., 2002).

Postupak određivanja:

Uzorak je prerezan uzdužno i stavljen na leću uređaja te preko programa na računalu poslikan. Slika se površina i rez, za svaku stranu tri puta. Odabrano je mjerenje refleksijom. Korištena je geometrija d/8 (uređaj mjeri reflektirano svjetlo pod kutom od 8°), način osvjetljenja D65 (6500 Kelvina), uklanjanje bliještanja (SCE) i veličina proreza od 8 mm.

Račun:

Ukupna promjena boje između standarda i ostalih uzoraka se izračunava formulom:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad [3]$$

$$\Delta L^* = L_1^* - L_2^* \quad [4]$$

$$\Delta a^* = a_1^* - a_2^* \quad [5]$$

$$\Delta b^* = b_1^* - b_2^* \quad [6]$$

gdje se veličine  $L_1^*$ ,  $a_1^*$  i  $b_1^*$  odnose na boju kojoj se mjeri odstupanje, odnosno uzorak, a veličine  $L_2^*$ ,  $a_2^*$  i  $b_2^*$  na referentnu boju, odnosno standard. Pozitivne vrijednosti pojedinih razlika ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  i  $\Delta b^*$ ) upućuju na to da uzorak ima više te varijable u odnosu na standard. Vrijednost  $\Delta L^*$  je odstupanje svjetline, a vrijednosti  $\Delta a^*$  i  $\Delta b^*$  predstavljaju odstupanja kromatskih koordinata. Za lakše snalaženje uvedena je ljestvica za određivanje razlika u boji (tablica 8.) (Zmeškal i sur. 2002).

**Tablica 8.** Stupnjevi neusklađenosti dviju boja (Zmeškal i sur. 2002).

$\Delta E$	Razlika u boji
0,0 - 0,2	Neprijetna
0,2 - 0,5	Vrlo slaba
0,5 - 1,5	Slaba
1,5 - 3,0	Jasno uočljiva
3,0 - 6,0	Srednje uočljiva

**Tablica 8.** Stupnjevi neusklađenosti dviju boja (Zmeškal i sur. 2002).- nastavak

6,0 - 12,0	Značajno različita
12,0 - 16,0	Vrlo istaknuta
>16,0	Uznemirujuće različita

### 3.2.6. Određivanje udjela suhe tvari

Princip određivanja:

Za određivanje udjela suhe tvari je korištena standardna laboratorijska metoda određivanja suhe tvari/vlage sušenjem do konstantne mase koja se bazira na uklanjanju vode iz malih količina uzorka evaporacijom. Vaganjem uzorka prije i nakon sušenja dobiva se postotak vode u uzorku, a suha tvar se utvrđuje kao razlika između početne težine uzorka i izračunate težine vode.

Postupak određivanja:

Homogenizirani uzorak težine 10,00 g je izvagan u aluminijsku posudicu. Uzorak je navlažen otopinom etanol-eter (1:1) te je sušen 30 minuta na temperaturi od 105 °C, nakon čega je uzorak osušen do konstantne težine. Uzorak se ostavi da se ohladi te se izvaže.

Račun:

$$\% \text{ vode} = \frac{100 \times a}{b} \quad [4]$$

gdje je: a- gubitak mase uzorka (g)

b- masa uzorka (g)

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada je bio istražiti kako će dodatak sušene smeđe morske alge wakame (*Undaria pinnatifida*) utjecati na boju, profil masnih kiselina, mikrobiološku stabilnost, udjel proteina, soli, masti i suhe tvari u trajnim sušenim kobasicama. Napravljene su dvije vrste sušenih kobasica, sušene kuhane (slika 7) i sušene fermentirane kobasice (slika 8). Svaka analiza je ponovljena tri puta, a dobiveni rezultati su obrađeni u Microsoft Office Excel i STATISTIKA 14 te prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna pogreška, osim mikrobiološke analize koja je ponovljena dva puta, a prikazana je prosječna vrijednost rezultata mjerenja. Također, rezultati su prikazani slikovno i tablično.

Osnovna kemijska analiza (udjel suhe tvari, proteina, masti i soli) kobasica nakon sušenja s različitim udjelom sušene smeđe morske alge (1 % i 3 %), kao i kontrolna skupina kobasica koja nije sadržavala morsku algu je prikazana u tablici 9. Primjenom plinske kromatografije je određen profil izrađenih kobasica te su rezultati prikazani u tablici 10. Boja kobasica s različitim udjelom morske alge je određena kolorimetrijskom analizom i prikazana je u tablici 11. Mikrobiološka analiza je rađena kako bi se utvrdio ukupan broj živih mikroorganizama, ali prisutnost i nekih patogenih (tablica 12).



**Slika 7.** Sušene kuhane kobasice s dodatkom 0 %, 1 % i 3% sušene smeđe morske alge (površina i rez) (vlastita fotografija).



**Slika 8.** Sušene fermentirane kobasice s dodatkom 0 %, 1 % i 3% sušene smeđe morske alge (površina i rez) (*vlastita fotografija*).

#### 4.1. OSNOVNA KEMIJSKA ANALIZA KOBASICA

Pošto je pretjerano uzimanje natrija povezano je s pojavom hipertenzije i s povećanim rizikom od kardiovaskularnih bolesti i moždanog udara (Inguglia i sur., 2017), sve se više proizvođača odlučuje na reformulaciju svojih mesnih proizvoda, odnosno smanjena udjela soli. Ti proizvodi imaju i sve veći interes potrošača. Jedan od tih trendova je i dodatak morskih algi u proizvode (López-López i sur., 2009). Kobasice koje sadrže dodanu morsku algu imaju manje soli, a više vlage i proteina u odnosu na kontrolnu skupinu (Garicano Vilar i sur., 2020).

Udjel suhe tvari je manji u kobasicama u koje je dodana morska alga (osim uzorka DF-3) što je u skladu s rezultatima istraživanja kojeg su proveli Garicano Vilar i sur. (2020). Udjel proteina se smanjuje dodatkom morske alge, što je suprotno od rezultata istraživanja koje su proveli Garicano Vilar i sur. (2020). No, morske alge imaju niskog sadržaja proteina (<5 %) te zbog toga imaju mali proteinski doprinos (Cofrades i sur., 2008). Udjel soli u kobasicama se smanjuje što se dodaje veći postotak morske alge (osim kod uzorka DC-3) što je i očekivano. Odstupanja rezultata u odnosu na prethodno provedena istraživanja se može povezati s time da u proizvodnji mesnih proizvoda, nije moguće jamčiti isti sastav proizvodnog mesa. Svako meso ima pojedini sastav, koji ovisi o stanju životinje za klanje. Meso koje se koristi za proizvodnju kobasica ne može biti savršeno standardizirano. Zbog toga se mogu uočiti razlike u sadržaju suhe tvari, masti i bjelančevina u gotovim mesnim proizvodima.

**Tablica 9.** Osnovna kemijska analiza kobasica s različitim udjelom morske alge.

Nakon sušenja	Suha tvar	Proteini	Mast	Sol
	%	%	%	%
DC-0	67,68 ± 1,2	32,19 ± 0,20	29,87 ± 0,9	4,26 ± 0,15
DC-1	66,32 ± 1,1	31,17 ± 0,64	30,14 ± 1,0	4,27 ± 0,18
DC-3	64,73 ± 1,3	28,52 ± 0,95	27,57 ± 1,1	4,41 ± 0,21
DF-0	62,75 ± 0,7	29,24 ± 0,25	28,20 ± 0,8	3,88 ± 0,10
DF-1	59,81 ± 0,6	25,38 ± 0,96	28,21 ± 0,7	3,62 ± 0,08
DF-3	62,01 ± 0,8	24,56 ± 0,95	28,77 ± 0,8	3,43 ± 0,12

#### 4.2. PROFIL MASNIH KISELINA

Morske alge sintetiziraju omega-3 i -6 masne kiseline, polinezasićene masne kiseline (PUFA) i visoko nezasićene masne kiseline (HUFA), kao i mononezasićene masne kiseline (MUFA) (Galloway i sur., 2012). To su esencijalne masne kiseline (EFA) koje su uključene u rast stanica i metaboličke puteve (Ibanez i sur., 2012). 3/1 do 5/1 omjer  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 masnih kiselina smanjuje rizik od raka dojke, prostate, debelog crijeva i bubrega. 2/1 do 3/1 omjer  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 masnih kiselina minimizira upalu kod pacijenata s reumatoidnim artritisom. Omjer 5/1 se pokazao učinkovitim u pacijenata s astmom. Nasuprot tome, omjer masnih kiselina od 10/1 i viši, je povezan s negativnim ishodom (Zarate i sur., 2017; Simopoulos i sur., 2002).

99 %, odnosno, 97 % masti je od zapravo svinjska mast te ovih 1 % i 3 % masti od morskih algi je premalo da bi utjecalo na čitav proizvod. Udjel masnih kiselina se nije promijenio u odnosu na kontrolu te je stoga omjer omega 6/omega3 masnih kiselina uglavnom isti za sve vrste kobasica, između 11 i 12 što je povezano s negativnim posljedicama na zdravlje ljudi.

**Tablica 10.** Profil masnih kiselina u kobasicama s dodatkom algi.

Masna kiselina	DC-0	DC-1	DC-3	DF-0	DF-1	DF-3
C14:0	1,37 ± 0,01	1,30 ± 0,04	1,29 ± 0,04	1,24 ± 0,04	1,21 ± 0,01	1,30 ± 0,04
C16:0	23,56 ± 0,11	23,40 ± 0,06	23,36 ± 0,17	23,66 ± 0,18	23,20 ± 0,03	23,50 ± 0,10



**Tablica 10.** Profil masnih kiselina u kobasicama s dodatkom algi.- nastavak

C17:0	0,46 ± 0,02	0,48 ± 0,00	0,45 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,42 ± 0,01	0,43 ± 0,02
C18:0	15,27 ± 0,07	15,45 ± 0,03	14,68 ± 0,09	15,55 ± 0,18	14,95 ± 0,28	14,34 ± 0,08
C20:0	1,03 ± 0,01	1,03 ± 0,01	0,93 ± 0,11	0,91 ± 0,03	0,97 ± 0,07	1,01 ± 0,08
C16:1	1,45 ± 0,08	1,32 ± 0,00	1,42 ± 0,05	1,32 ± 0,03	1,33 ± 0,05	1,48 ± 0,03
C18:1	34,15 ± 0,96	33,14 ± 0,26	34,04 ± 0,05	33,49 ± 0,53	33,68 ± 0,08	33,97 ± 0,56
C18:2n-6	19,29 ± 0,90	20,29 ± 0,12	20,26 ± 0,17	19,94 ± 0,04	20,70 ± 0,11	20,52 ± 0,55
C18:3n-6	0,05 ± 0,07	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,0	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,00
C20:2n-6	0,90 ± 0,04	0,96 ± 0,01	0,98 ± 0,02	0,96 ± 0,01	0,96 ± 0,07	0,95 ± 0,01
C20:3n-6	0,14 ± 0,00	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,00
C20:4n-6	0,36 ± 0,06	0,36 ± 0,03	0,36 ± 0,02	0,28 ± 0,04	0,32 ± 0,03	0,31 ± 0,10
C22:4n-6	0,14 ± 0,01	0,12 ± 0,12	0,13 ± 0,02	0,21 ± 0,13	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,00
C18:3n-3	1,63 ± 0,07	1,74 ± 0,04	1,68 ± 0,03	1,67 ± 0,04	1,76 ± 0,05	1,67 ± 0,07
C20:5n-3	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,01
C22:5n-3	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,01
C22:6n-3	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,0	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,0	0,03 ± 0,00
ω-6/ω-3	11,47	11,25	11, 60	11,53	11,43	11,94

### 4.3. BOJA

Boja igra vrlo bitnu ulogu za potrošače kod sve hrane pa tako i kod mesnih proizvoda. Ona je često i pokazatelj kvalitete proizvoda te može ukazati na neke neželjene procese u samom proizvodu. Ako se boja nekog proizvoda promijeni, to može negativno rezultirati na prihvaćanje tog proizvoda od strane potrošača.

U istraživanju koje su proveli Cofrades i sur. (2008), kobasice s dodatkom morske alge su bile tamnije boje od kontrole te je intenzitet boje bio vrlo snažan čimbenik vezano za odobravanje izgleda, što je na kraju i negativno utjecalo na ukupnu prihvatljivost kobasica s dodatkom morske alge.

Pozitivne vrijednosti pojedinih razlika ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  i  $\Delta b^*$ ) upućuju na to da uzorak ima više te varijable u odnosu na standard. Vrijednost  $\Delta L^*$  označava odstupanje svjetline, odnosno, što je on veći to je uzorak svjetliji. Rezultati pokazuju da gotovo sve kobasice imaju negativnu vrijednost  $\Delta L^*$ , što upućuje na to da je uzorak tamniji u odnosu na kontrolnu skupinu kobasica. Vrijednosti  $\Delta a^*$  su negativne, što znači da su kobasice zelenije u odnosu na kontrolnu skupinu. Što je veći udjel morske alge, to je vrijednost  $\Delta a^*$  niža. Vrijednosti  $\Delta b^*$  također ima negativan predznak, što upućuje na to da kobasice s dodatkom morske alge poprimaju plavu nijansu.

**Tablica 11.** Kolorimetrijska analiza razlika boje kobasica s obzirom na udjel morske alge.

Mjesto mjerenja	Parametar	DC-1	DC-3	DF-1	DF-3
Površina	$\Delta L^*$	$-3,26 \pm 0,18$	$-5,46 \pm 0,29$	$0,59 \pm 0,41$	$0,34 \pm 0,42$
	$\Delta a^*$	$-9,02 \pm 0,24$	$-11,26 \pm 0,44$	$-6,36 \pm 0,53$	$-9,83 \pm 0,04$
	$\Delta b^*$	$-4,54 \pm 0,30$	$-7,06 \pm 0,38$	$-3,05 \pm 0,41$	$-4,58 \pm 0,44$
	$\Delta E^*$	10,61	14,37	7,07	10,85
Rez	$\Delta L^*$	$-3,31 \pm 0,41$	$-0,29 \pm 0,18$	$-4,30 \pm 0,42$	$-7,16 \pm 0,43$
	$\Delta a^*$	$-9,35 \pm 0,29$	$-6,55 \pm 0,24$	$-7,72 \pm 0,40$	$-9,97 \pm 0,17$
	$\Delta b^*$	$-3,16 \pm 0,43$	$-0,89 \pm 0,36$	$-2,82 \pm 0,31$	$-1,03 \pm 0,37$
	$\Delta E^*$	10,41	6,61	9,28	12,32

#### 4.4. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA

U kobasice u koje se dodavala morska alga se stavljalo i manje soli. Sol ima konzervansni učinak u preradi mesa tako što smanjuje aktivitet vode, što pomaže u inhibiranju rasta mikroorganizama te smanjenje količine soli može imati negativan utjecaj na rok trajanja proizvoda (López-López i sur., 2009). Triki i sur. (2017) su proveli istraživanje kako će zamjena soli (NaCl) ekstraktom morske alge utjecati na mikrobiološku kvalitetu. Kao rezultat su dobili kobasice koje su imale sličan učinak konzervansa u usporedbi s kontrolni uzorci koji sadrže NaCl.

Mikrobiološka analiza je u granici normale. Fermentirane kobasice imaju dosta veći broj živih mikroorganizama, no to je očekivano, jer sadrže starter kulturu. Ujedno, nisu bile toliko toplinski tretirane kao kuhane kobasice, već su bile dimljene na temperaturi od 20 °C što nije dovoljno visoka temperatura da bi se uništili neki mikroorganizmi.

Tablica 12. Rezultati mikrobiološke analize.

Broj uzorka	Uzorak	CFU/g	<i>E. coli</i> i koliformne bakterije		Enterococcus	Mikromicete			<i>Salmonella</i>
			<i>E. coli</i>	Ostale koliformne bakterije		Ukupno	Kvasci	Plijesni	
1	DC 0 % a	373	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	10	ND u 10 <sup>-1</sup>	10	
2	DC 0 % b	364	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	5	ND u 10 <sup>-1</sup>	5	
	<b>Prosjeak</b>	<b>368,5</b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>7,5</b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>7,5</b>	<b>ND</b>
3	DC 1 % a	241	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	5	ND u 10 <sup>-1</sup>	5	
4	DC 1 % b	3055	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	0	ND u 10 <sup>-1</sup>	0	
	<b>Prosjeak</b>	<b>1648</b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>2,5</b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>2,5</b>	<b>ND</b>
5	DC 3 % a	968	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	
6	DC 3 % b	745	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	
	<b>Prosjeak</b>	<b>856,5</b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND</b>
7	DF 0 % a	2752000	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	200	15	15	ND u 10 <sup>-1</sup>	
8	DF 0 % b	3040000	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	159	10	10	ND u 10 <sup>-1</sup>	
	<b>Prosjeak</b>	<b>2896000</b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>179,5</b>	<b>12,5</b>	<b>12,5</b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND</b>
9	DF 1 % a	3072000	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	25	20	20	0	
10	DF 1 % b	3168000	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	145	15	10	5	
	<b>Prosjeak</b>	<b>3120000</b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>ND u 10<sup>-1</sup></b>	<b>85</b>	<b>17,5</b>	<b>15</b>	<b>2,5</b>	<b>ND</b>
11	DF 3 % a	3296000	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	155	10	5	5	
12	DF 3 % b	2336000	ND u 10 <sup>-1</sup>	ND u 10 <sup>-1</sup>	255	10	5	5	

ND – nije detektirano

## 5. ZAKLJUČCI

1. Rezultati osnovne kemijske analize kobasica ukazuju na to da udjel suhe tvari, proteina i soli pada, a masti raste proporcionalno dodatku morske alge, no razlika je vrlo mala.
2. Udjel ZMK, MUFA, PUFA HUFA se nije promijenio u odnosu na kontrolu. Omjer omega 6/omega 3 masnih kiselina je uglavnom isti za sve vrste kobasica.
3. Dobiveni rezultati boje ukazuju na značajno smanjenje vrijednosti kromatskih parametara  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$  te  $\Delta E^*$ , odnosno na vidljivu promjenu boje što se dodaje više morske alge.
4. Mikrobiološka analiza je pokazala da smanjenje udjela soli nije utjecalo na mikrobiološku kvalitetu kobasica.

## 6. LITERATURA

Amano H, Kakinuma M, Coury DA, Ohno H, Hara T (2005) Effect of seaweed mixtures on serum lipid level and platelet aggregation in rats. *Fisheries Sci* **71**, 1160 - 1166. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2005.01076.x>

Araujo R, Vazquez Calderon F, Sanchez Lopez J, Azevedo IC, Bruhn A, Fluch S i sur. (2021) Current Status of the Algae Production Industry in Europe: An Emerging Sector of the Blue Bioeconomy. *Front Mar Sci* **7**, 1 - 24. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.626389>

Balboa EM, Gallego-Fabrega C, Moure A, Domínguez H (2016) Study of the seasonal variation on proximate composition of oven-dried *Sargassum muticum* biomass collected in Vigo Ria, Spain. *J Appl Phycol* **28**, 1943 - 1953. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0727-x>

Benelhadj S, Gharsallaoui A, Degraeve P, Attia H, Ghorbel D (2016) Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira (Spirulina) platensis* protein isolate. *Food Chem* **194**, 1056 - 1063. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.133>

Berteau O, Mulloy B (2003) Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology* **13**, 29 - 40. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwg058>

Bernaerts TMM, Gheysen L, Foubert I, Hendrickx ME, Van Loey AM (2019) The potential of microalgae and their biopolymers as structuring ingredients in food: A review. *Biotechnol Adv* **37**, 107419 - 107419. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107419>

Billakanti JM, Catchpole OJ, Fenton TA, Mitchell KA, MacKenzie AD (2013) Enzyme-assisted extraction of fucoxanthin and lipids containing polyunsaturated fatty acids from *Undaria pinnatifida* using dimethyl ether and ethanol. *Process Biochem* **48**, 1999 - 2008. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.09.015>

Bleakley S, Hayes M (2017) Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. *Foods* **6**, 33. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>

Brown EM, Allsopp PJ, Magee PJ, Gill CI, Nitecki S, Strain CR i sur. (2014) Seaweed and human health. *Nutr Rev* **72**, 205 - 216. <https://doi.org/10.1111/nure.12091>

Chapman VJ, Chapman DJ (1980) Seaweeds and Their Uses, 3. izd., Chapman and Hall, London.

Chew YL, Lim YY, Omar M, Khoo KS (2008) Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *Lebensmitten Wiss Technology* **41**, 1067 - 1072. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.013>

Cofrades S, López-López I, Solas MT, Bravo L, Jiménez-Colmenero F (2008) Influence of different types and proportions of added edible seaweeds on characteristics of low-salt gel/emulsion meat systems. *Meat Sci* **79**, 767 - 776. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.11.010>

Cofrades S, López-Lopez I, Bravo L, Ruiz-Capillas C, Bastida S, Larrea MT i sur. (2010) Nutritional and Antioxidant Properties of Different Brown and Red Spanish Edible Seaweeds. *Food Sci Technol Int* **16**, 361 - 370. <https://doi.org/10.1177%2F1082013210367049>

Das AK, Nanda PK, Madane P, Biswas S, Das A, Zhang W, Lorenzo JM (2020) A comprehensive review on antioxidant dietary fibre enriched meat-based functional foods. *Trends Food Sci Tech* **90**, 323 - 336. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.010>

Dawczynski C, Schubert R, Jahreis G (2007) Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chem* **103**, 891 - 899. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.041>

Dellatorre FG, Avaro MG, Commendatore MG, Arce L, Diaz de Vivar ME (2020) The macroalgal ensemble of Golfo Nuevo (Patagonia, Argentina) as a potential source of valuable fatty acids for nutritional and nutraceutical purposes. *Algal Res* **45**, 101726.

<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101726>

Desmond E (2006) Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Sci* **74**, 188 - 196.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.014>

Duarte C, Boccardi V, Amaro Andrade P, Souza Lopes AC, Jacques PF (2021) Dairy versus other saturated fats source and cardiometabolic risk markers: Systematic review of randomized controlled trials. *Food Sci Nutr* **61**, 450 - 461. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1736509>

Fan X, Bai L, Mao X, Zhang X (2017) Novel peptides with anti-proliferation activity from the *Porphyra haitanensis* hydrolysate. *Process Biochem* **60**, 98 - 107.  
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.018>

Ferdouse F, Løvstad Holdt S, Smith R, Murua P, Yang Z (2018) The global status of seaweed production, trade and utilization. *FAO Globefish Res Program* **124**, 120.

Toldra F (2010) Handbook of Meat Processing, Blackwell Publishing, Iowa, str. 313 - 314.

Fomenko SE, Kushnerova NF, Sprygin VG, Drugova ES, Lesnikova LN, Merzlyakov VY i sur. (2019) Lipid Composition, Content of Polyphenols, and Antiradical Activity in Some Representatives of Marine Algae. *Russ J Plant Physiol* **66**, 942 - 949.  
<https://doi.org/10.1134/S1021443719050054>

Fujimura N, Suzuki A, Nagai T, Mizumoto I, Itami T, Hatate H (2004) Antioxidative activity of animal and vegetable dietary fibers. *Biofactors* **21**, 329 - 333.  
<https://doi.org/10.1002/biof.552210164>

Gacesa E, Squire A, Winterburn EJ (1983) The determination of the uronic acid composition of alginates by anion-exchange liquid chromatography. *Carbohydr Res* **118**, 1 - 8.

Galloway AWE, Britton-Simmons KH, Duggins DO, Gabrielson PW, Brett MT (2012) Fatty acid signatures differentiate marine macrophytes at ordinal and family ranks. *J Phycol* **48**, 956 -



965. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01173.x>

Garicano Vilar E, Ouyang H, O'Sullivan MG, Kerry JP, Hamill RM, O'Grady MN i sur. (2020) Effect of salt reduction and inclusion of 1% edible seaweeds on the chemical, sensory and volatile component profile of reformulated frankfurters. *Meat Sci* **161**, 1 - 11. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108001>

Geadá P, Moreira C, Silva M, Nunes R, Madureira L, Rocha CMR i sur. (2021) Algal proteins: Production strategies and nutritional and functional properties. *Bioresource Technol* **332**, 125. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125125>

Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF i sur. (2010) Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science* **327**, 812 - 818. [10.1126/science.1185383](https://doi.org/10.1126/science.1185383)

Gomez-Zavaglia A, Prieto Lage MA, Jimenez-Lopez C, Mejuto JC, Simal-Gandara J (2019) The Potential of Seaweeds as a Source of Functional Ingredients of Prebiotic and Antioxidant Value. *Antioxidants* **8**, 1 - 30. <https://doi.org/10.3390/antiox8090406>

Gonçalves AMM, Azeiteiro UM, Pardal MA, De Troch M (2012) Fatty acid profiling reveals seasonal and spatial shifts in zooplankton diet in a temperate estuary. *Estuar Coast Shelf Sci* **109**, 70 - 80. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2012.05.020>

Gosch BJ, Paul NA, de Nys R, Magnusson M (2015) Seasonal and within-plant variation in fatty acid content and composition in the brown seaweed *Spatoglossum macrodontum* (Dictyotales, Phaeophyceae). *J Appl Phycol* **27**, 387 - 398. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0308-4>

Grossmann L, Ebert S, Hinrichs J, Weiss J (2018) Effect of precipitation, lyophilization, and organic solvent extraction on preparation of protein-rich powders from the microalgae *Chlorella protothecoides*. *Algal Res* **29**, 266 - 276. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.019>

Grossmann L, Hinrichs J, Weiss J (2020) Cultivation and downstream processing of microalgae

and cyanobacteria to generate protein-based technofunctional food ingredients. *Food Sci Nutr* **60**, 2961 - 2989. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1672137>

Gullon B, Gagaoua M, Barba FJ, Gullon P, Zhang W, Lorenzo JM (2020) Seaweeds as promising resource of bioactive compounds: Overview of novel extraction strategies and design of tailored meat products. *Trends Food Sci Tech* **100**, 1 - 18. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.039>

Gullon P, Astray G, Gullon B, Franco D, Campagnol PCB, Lorenzo JM (2021) Inclusion of seaweeds as healthy approach to formulate new low-salt meat products. *Curr Opin Food Sci* **40**, 20 - 25. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.05.005>

Gupta UC, Gupta SC (2020) Sources and Deficiency Diseases of Mineral Nutrients in Human Health and Nutrition: A Review. *Pedosphere* **24**, 13 - 38. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(13\)60077-6](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(13)60077-6)

Ibanez E, Herrero M, Mendiola JA, Castro-Puyana M (2012) Extraction and Characterization of Bioactive Compounds with Health Benefits from Marine Resources: Macro and Micro Algae, Cyanobacteria, and Invertebrates. In *Marine Bioactive Compounds*, Springer, Boston, str. 55 - 98.

Ibanez E, Cifuentes A (2013) Benefits of using algae as natural sources of functional ingredients. *J Sci Food Agric* **93**, 703 - 709. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6023>

Inguglia ES, Zhang Z, Tiwari BK, Kerry JP, Burgess CM (2017) Salt reduction strategies in processed meat products – A review. *Trends Food Sci Technol* **59**, 70 - 78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.016>

Iwamoto K, Shiraiwa Y (2005) Salt-regulated mannitol metabolism in algae. *Mar Biotechnol* **7**, 407 - 415. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-0029-4>

Jimenez-Colmenero F, Carballo J, Cofrades S (2001) Healthier meat and meat products: Their

role as functional foods. *Meat Sci* **59**, 5 - 13. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00053-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00053-5)

Khotimchenko SV, Vaskovsky VE, Titlyanova TV (2002) Fatty Acids of Marine Algae from the Pacific Coast of North California. *Bot Mar* **45**, 17 - 22. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.003>

Kim JH, Kang HM, Lee SH, Lee JY, Park LY (2015) Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity of seaweed extracts. *Korean J Food Preserve* **22**, 290 - 296. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2015.22.2.290>

Kuhlisch C, Pohnert G (2015) Metabolomics in chemical ecology. *Nat Prod Rep* **32**, 937 - 955. DOI: [10.1039/C5NP00003C](https://doi.org/10.1039/C5NP00003C)

Kumari P, Kumar M, Reddy CRK, Jha B (2014) Nitrate and phosphate regimes induced lipidomic and biochemical changes in the intertidal macroalga *Ulva lactuca* (ulvophyceae, chlorophyta). *Plant Cell Physiol* **55**, 52 - 63. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct156>

Leandro A, Pacheco D, Cotas J, Marques JC, Pereira L, Gonçalves AMMM (2020) Seaweed's Bioactive Candidate Compounds to Food Industry and Global Food Security. *Life* **10**, 140. <https://doi.org/10.3390/life10080140>

Liepe HU (1983) Starter cultures in meat production. U: Toldra F (ured.) Handbook of Meat Processing, Blackwell Publishing, Iowa, str. 379.

López-López I, Cofrades S, Ruiz-Capillas C, Jiménez-Colmenero F (2009) Design and nutritional properties of potential functional frankfurters based on lipid formulation, added seaweed and low salt content. *Meat Sci* **83**, 255 - 262. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.05.014>

Lorenzo JM, Munekata PES, Sant'Ana AS, Carvalho RB, Barba FJ, Toldra F i sur. (2018) Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. *Trends Food Sci Technol* **77**, 1 - 10. [10.1016/j.tifs.2018.04.007](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.007)

Li Y, Lammi C, Boschini G, Arnoldi A, Aiello G (2019) Recent Advances in Microalgae Peptides: Cardiovascular Health Benefits and Analysis. *J Agric Food Chem* **67**, 11825 - 11838. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03566>

Maruyama H, Tamauchi H, Hashimoto M, Nakano T (2003) Antitumor activity and immune response of Mekabu fucoidan extracted from Sporophyll of *Undaria pinnatifida*. *In Vivo*, **17**, 245 - 249.

Mena F, Wijesinghe PAUI, Thiripuranathar G, Uzair B, Iqbal H, Khan BA i sur. (2020) Ecological and Industrial Implications of Dynamic Seaweed-Associated Microbiota Interactions. *Mar Drugs* **18**, 641 - 665. <https://doi.org/10.3390/md18120641>

Michalak I, Chojnacka K (2015) Algae as production systems of bioactive compounds. *Eng Life Sci* **15**, 160 - 176. <https://doi.org/10.1002/elsc.201400191>

Michel G, Tonon T, Scornet D, Cock JM, Kloareg B (2010a). Central carbon metabolism of the brown alga *Ectocarpus siliculosus*: insight into the origin and evolution of storage carbohydrates in Eukaryotes. *New Phytol* **188**, 67 - 81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03345.x>

Michel G, Tonon T, Scornet D, Cock JM, Kloareg B (2010b) The cell wall polysaccharide metabolism of the brown alga *Ectocarpus siliculosus*. Insights into the evolution of extracellular matrix polysaccharides in Eukaryotes. *New Phytol* **188**, 82 - 97. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03374.x>

Miles EA, Calder PC (1998) Modulation of immune function by dietary fatty acids. *Proc Nutr Soc* **57**, 277 - 292. <https://doi.org/10.1079/PNS19980042>

Moroney N C, O'Grady MN, Lordan S, Stanton C, Kerry JP (2015) Seaweed Polysaccharides (Laminarin and Fucoidan) as Functional Ingredients in Pork Meat: An Evaluation of Antioxidative Potential, Thermal Stability and Bioaccessibility. *Mar Drugs* **13**, 2447 - 2464. <https://doi.org/10.3390/md13042447>

Murata M, Ishihara K, Saito H (1999) Hepatic fatty acid oxidation enzyme activities are stimulated in rats fed the brown seaweed, *Undaria pinnatifida* (wakame). *J Nutr* **129**, 146 - 151. <https://doi.org/10.1093/jn/129.1.146>

Partearroyo T, Samaniego-Vaesken M de L, Ruiz E, Aranceta-Bartrina J, Gil Á, González-Gross M i sur. (2019) Sodium intake from foods exceeds recommended limits in the spanish population: The ANIBES study. *Nutrients* **11**, 2451 - 2468. <https://doi.org/10.3390/nu11102451>

Pereira H, Barreira L, Figueiredo F, Custodio L, Vizetto-Duarte C, Polo C i sur. (2012) Polyunsaturated Fatty Acids of Marine Macroalgae: Potential for Nutritional and Pharmaceutical Applications. *Mar Drugs* **10**, 1920 - 1935. <https://doi.org/10.3390/md10091920>

Peñalver R, Lorenzo JM, Ros G, Amarowicz R, Pateiro M, Nieto G (2020) Seaweeds as a Functional Ingredient for a Healthy Diet. *Mar Drugs* **18**, 301 - 328. <https://doi.org/10.3390/md18060301>

Pimentel FB., Alves RC, Harnedy PA, FitzGerald RJ, Oliveira MBPP (2019) Macroalgal-derived protein hydrolysates and bioactive peptides: Enzymatic release and potential health enhancing properties. *Trends Food Sci Technol* **93**, 106 - 124. [10.3390/molecules25122838](https://doi.org/10.3390/molecules25122838)

Riccardi G, Giacco R, Rivellese A (2004) Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clin Nutr* **23**, 447 - 456. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.02.006>

Rioux LE, Turgeon SL, Beaulieu M (2010) Structural characterization of laminaran and galactofucan extracted from the brown seaweed *Saccharina longicuris*. *Phytochemistry* **71**, 1586 - 1595. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.05.021>

Rocha CP, Pacheco D, Cotas J, Marques JC, Pereira L, Gonçalves AMM (2021) Seaweeds as Valuable Sources of Essential Fatty Acids for Human Nutrition. *Int J Environ Res Public Health* **18**, 4968 - 4985. <https://doi.org/10.3390/ijerph18094968>

Roh MK, Uddin MS, Chun BS (2008) Extraction of fucoxanthin and polyphenol from *Undaria pinnatifida* using supercritical carbon dioxide with co-solvent. *Biotechnol Bioproc E* **13**, 724 - 729. <https://doi.org/10.1007/s12257-008-0104-6>

Rohani-Ghadikolaei K, Abdulalian E, Ng WK (2012) Evaluation of the proximate, fatty acid and mineral composition of representative green, brown and red seaweeds from the Persian Gulf of Iran as potential food and feed resources. *J Food Sci Technol* **49**, 774 - 780. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0220-0>

Roohinejad S, Koubaa M, Barba F J, Saljoughian S, Amid M, Greiner R (2017) Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res Int* **99**, 1066 - 1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.016>

Salomonsen T, Jensen HM, Larsen FH, Steuernagel S, Engelsen SB (2009) Direct quantification of M/G ratio from <sup>13</sup>C CP-MAS NMR spectra of alginate powders by multivariate curve resolution. *Carbohydr Res* **344**, 2014 - 2022. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.06.025>

Sanchez- Machado D, Lopez- Hernandez J, Paseiro- Losada P, Lopez- Cervantes J (2004) An HPLC method for the quantification of sterols in edible seaweeds. *Biomed Chromatogr* **18**, 183 - 190. <https://doi.org/10.1002/bmc.316>

Schmid M, Guiheneuf F, Stengel DB (2016) Fatty acid contents and profiles of 16 macroalgae collected from the Irish Coast at two seasons. *J Appl Phycol* **26**, 451 - 463. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0132-2>

Schwenzfeier A, Helbig A, Wierenga PA, Gruppen H, (2012) Emulsion properties of algae soluble protein isolate from *Tetraselmis* sp. *Food Hydrocolloid* **30**, 258 - 263. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.06.002>

Shannon E, Abu-Ghannam N (2019) Seaweeds as nutraceuticals for health and nutrition. *Phycologia* **58**, 563 - 577. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1640533>

Simopoulos AP (2002) The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* **56**, 365 - 379. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00253-6)

Simopoulos AP (2016) An increase in the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients* **8**, 128 - 145. <https://doi.org/10.3390/nu8030128>

Slovaček J (2020) Vyhodnocení jakostních charakteristik vybraného masného výrobku v závislosti na obsahu hovězího masa (diplomski rad), Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Brno.

Stiger-Pouvreau V, Bourgoignon N, Deslandes E (2016) Carbohydrates From Seaweeds, U: Fleurence J, Levine I (ured) Seaweed in Health and Disease Prevention, Academic Press, Cambridge, str. 223 - 274.

Suetsuna K, Nakano T (2000) Identification of an antihypertensive peptide from peptic digest of wakame (*Undaria pinnatifida*). *J nutr biochem* **11**, 450 - 454. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(00\)00110-8](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(00)00110-8)

Taboada MC, Millan R, Miguez MI (2012) Nutritional value of the marine algae wakame (*Undaria pinnatifida*) and nori (*Porphyra purpurea*) as food supplements. *J Appl Phycol* **25**, 1271 - 1276. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9951-9>

Taboada C, Millan R, Miguez I (2013) Evaluation of marine algae *Undaria pinnatifida* and *Porphyra purpurea* as a food supplement: Composition, nutritional value and effect of intake on intestinal, hepatic and renal enzyme activities in rats. *J Sci Food Agric* **93**, 1863 - 1868. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5981>

Triki M, Khemakhem I, Trigui I, Ben Salah R, Jaballi S, Ruiz-Capillas Cc i sur. (2017) Free-sodium salts mixture and AlgySalt® use as NaCl substitutes in fresh and cooked meat products intended for the hypertensive population. *Meat Sci* **133**, 194 - 203. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.07.005>

Verpoorte R, Contin A, Memelink J (2002) Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochem Rev* **1**, 13 - 25. <https://doi.org/10.1023/A:1015871916833>

Wang L, Park YJ, Jeon YJ, Ryu BM (2018) Bioactivities of the edible brown seaweed, *Undaria pinnatifida*: A review. *Aqua* **495**, 873 - 880. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.079>

WHO (2003) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO-World Health Organization, WHO Technical Report Series 916, 1 - 160.

Vural H, Özvural E (2007) Fermented sausages from other meats. U: Toldra F (ured.) Handbook of Meat Processing, Blackwell Publishing, Iowa, str. 381.

Yone Y, Furuichi M, Urano K (1986) Effects of wakame *Undaria pinnatifida* and *Ascophyllum nodosum* on absorption of dietary nutrients, and blood sugar and plasma free amino-N levels of red sea bream. *B Jpn Soc Sci Fish* **52**, 1817 - 1819. DOI:10.2331/suisan.52.1817

Zarate R, Jaber-Vazdekis N, Tejera N, Perez JA, Rodríguez C (2017) Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health. *Clin Transl Med* **6**, 25 - 44. <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0153-6>

Zheng JX, Yin H, Shen CC, Zhang L, Ren DF, Lu J (2020) Functional and structural properties of Spirulina phycocyanin modified by ultra-high-pressure composite glycation. *Food Chem* **306**, 125615. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125615>

Zmeškal O, Čeppan M, Dzik P (2002) Barevné prostory a správa barev. <https://docplayer.cz/16462229-Barevne-prostory-a-sprava-barev.html>. Pristupljeno 30. kolovoza 2022.



## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Mihaela Sačić izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Vlastoručni potpis