

Uticaj vremena skladištenja na tok lipidne oksidacije u zamrznutom svinjskom mesu*

Petrović Ljiljana¹, Ivanović Snežana³, Šojić Branislav¹, Mandić Anamarija², Tasić Tatjana², Džinić Natalija¹, Tomović Vladimir¹

S a d r ž a j: U našoj zemlji ne postoji standard kojim se propisuje dužina skladištenja zamrznutog mesa u zavisnosti od vrste mesa, temperature skladištenja ili tehnološke obrade. Tokom skladištenja zamrznutog mesa odigravaju se oksidativne promene na lipidima.

U ovom radu prikazani su rezultati praćenja oksidativnih promena na lipidima i sadržaja masnih kiselina i holesterola u klasiranom mesu III, IV i V kategorije skladištenom na temperaturi od -20°C nakon zamrzavanja na -30°C , tokom godinu dana skladištenja. Oksidativne promene na lipidima praćene su preko koncentracije malonildialdehida (MDA). Tokom tri meseca skladištenja ne dolazi do oksidativnih promena na lipidima, a nakon šest meseci, u svim ispitanim uzorcima došlo je do porasta MDA vrednosti (0,41–0,54 mg/kg). Uočene oksidativne promene do šest meseci skladištenja su prihvatljive, a stepen lipidne peroksidacije povećava se značajno ($p < 0,001$) daljim skladištenjem. Nakon devet meseci, uzorci mesa III kategorije su sadržali 0,75 mg/kg, IV kategorije 0,83 mg/kg, a V kategorije 1,36 mg/kg MDA, što je visoko statistički značajno ($p < 0,001$) više nego u uzorcima mesa III i IV kategorije. Odnos nezasićenih i zasićenih masnih kiselina u zamrznutom svinjskom mesu se značajno ($p < 0,001$) smanjuje tokom skladištenja. Sadržaj holesterola u uzorcima pre zamrzavanja nije u uskoj vezi sa sadržajem slobodne masti. U mesu III kategorije je nađen najniži sadržaj holesterola (59,5 mg/100 g), a najveći u mesu IV kategorije (61,1 mg/100 g). Tokom 12 meseci skladištenja sadržaj holesterola se značajno ($p < 0,001$) smanjuje u svim kategorijama mesa.

Dobijeni rezultati potvrđuju da stepen lipidne peroksidacije zavisi od dužine skladištenja zamrznutog mesa i sadržaja masti u mesu, te ukazuju na potrebu usaglašavanja nacionalnih propisa sa međunarodnim.

Ključne reči: zamrznuto svinjsko meso, vreme skladištenja, oksidativne promene, masne kiseline, holesterol.

Uvod

Ohlađeno svinjsko meso može da se zamrzava, a potom skladištiti u zamrznutom stanju tokom kraćeg ili dužeg vremenskog perioda, radi potrošnje nakon kulinarske obrade ili može da se koristi za dalju industrijsku preradu. U našoj zemlji ne postoji standard kojim se propisuje moguća dužina skladištenja zamrznutog mesa u zavisnosti od vrste mesa, temperature skladištenja ili prethodne tehnološke obrade. Skladištenjem zamrznutog mesa dolazi do oksidativnih promena na lipidima, a dugotrajno skladištenje uzorkuje značajno umanjjenje kvaliteta mesa i proizvoda od mesa (Petrović, 1989).

Oksidacija masti je jedan od češćih uzroka gubitka kvaliteta i kvara mesa i proizvoda od mesa, a praćena je diskoloracijama, promenama mirisa i ukusa i smanjenjem nutritivne vrednosti (Milanović-Stevanović i dr., 2006).

Oksidativna razgradnja lipida mesa obuhvata oksidaciju nezasićenih masnih kiselina, naročito polinezasićenih masnih kiselina.

Polinezasićene masne kiseline koje imaju tri ili više dvostrukih veza su pre svega vezane za fosfolipide i bitne su za razvoj karakterističnog stadijuma ukusa hrane. Oksidacija nezasićenih masnih kiselina odvija se preko sledećeg mehanizma po tipu radikala (Bastić, 1986):

***Napomena:** Rad je realizovan u okviru projekta „Razvoj tehnologije sušenja i fermentacije petrovačke kobasice (Petrovská klobasá – oznaka geografskog porekla) u kontrolisanim uslovima“, ev. broj TR 20037 koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

¹Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Republika Srbija;

²Univerzitet u Novom Sadu, Institut za prehrambene tehnologije, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Republika Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Naučni institut za veterinarstvo, Autoput za Zagreb 3, 11000 Beograd, Republika Srbija.

Inicijalni period	$RH + O_2 \rightarrow R^\bullet + \bullet OH$
Razvoj	$R^\bullet + O_2 \rightarrow RO_2^\bullet$ $RO_2^\bullet + RH \rightarrow RO_2H + R^\bullet$
Završetak	$R^\bullet + R^\bullet \rightarrow RO_2R$ $RO_2^\bullet + RO_2^\bullet \rightarrow RO_2R + O_2$

Rezultujući slobodni radikali lipida (R^\bullet) reaguju sa kiseonikom pri čemu se stvaraju peroksidiradikali (ROO^\bullet). U tom početnom procesu, ROO^\bullet reaguje sa više RH i nastaju hidroperoksidi lipida ($ROOH$) koji su osnovni primarni proizvodi oksidacije. Primarni proizvodi oksidacije estara masnih kiselina, hidroperoksidi, izgleda da su bez ukusa i mirisa. Međutim, njihovim daljim razlaganjem nastaje veliki broj karbonilnih jedinjenja, kiselina i drugih proizvoda. Mnogi od sekundarnih produkata oksidacije imaju relativno malu molekulsku masu, a sva ta jedinjenja doprinose neželjenim promenama ukusa i mirisa (Bastić, 1986).

Prisustvo produkata oksidacije masnih kiselina i holesterola u hrani sve više je predmet interesovanja ljudske populacije. Produkti oksidacije holesterola povezani su sa razvojem ateroskleroze i koronarnih bolesti, utiču na oštećenja ćelijskih membrana i promene njihove permeabilnosti. Holesterol je relativno stabilno jedinjenje, ali može da se oksiduje pod ekstremnim uslovima. Na oksidaciju holesterola u hrani utiču faktori kao što su temperatura i vreme skladištenja, način pakovanja kao i struktura lipida (Hur i dr., 2007).

Hidroperoksidi polinezasićenih masnih kiselina nastali za vreme lipidne oksidacije ubrzavaju oksidaciju holesterola. O autooksidaciji holesterola dosta je raspravljano, ali tek sa razvojem uređaja GC–MS kombinacije izolovani su i identifikovani proizvodi oksidacije holesterola (Bastić, 1986).

Količina i sastav produkata oksidacije holesterola u mesu znatno varira u zavisnosti od vrste životinje i vremena skladištenja. Produkti oksidacije holesterola 7α -hidroksiholesterol, 7β -hidroksiholesterol, 7-ketoholesterol i α -epoksid pronađeni su i u svežem svinjskom mesu na samom početku skladištenja (Nam i dr., 2001).

Prema važećem *Pravilniku o kvalitetu i drugim zahtevima za proizvode od mesa* (2004), meso papkara i kopitara za preradu razvrstava se prema količini masnog i vezivnog tkiva na četiri kategorije. Predlog za izmenu *Pravilnika* dat na osnovu izučavanja u okviru projekta „Proizvodnja i priprema svinjskog mesa za veleprodaju, maloprodaju, industriju gotove hrane i preradu“ (Petrović, 2005) svinjsko meso za preradu, prema količini masnog tkiva i sadržaju proteina, razvrstava na šest kategorija te su istim preciznije definisani zahtevi kvaliteta.

Iz činjenice da ne postoji propis o dužini skladištenja zamrznutog mesa, što je od posebnog značaja kada je zamrznuto meso namenjeno izradi fermentisanih suvih kobasica, čija izrada dugo traje, a potom se gotovi proizvodi mogu i duže vremena skladištiti, na relativno visokoj temperaturi (+15°C) (Vuković, 2006), a uzimajući u obzir predlog *Pravilnika* za kategorizaciju mesa za preradu (Petrović, 2005), proistekao je cilj ovog rada, tj. da se ispituju oksidativne promene na lipidima u klasiranom zamrznutom svinjskom mesu za preradu tokom dugotrajnog skladištenja. Za ispitivanje su korišćeni uzorci sa većim sadržajem masti (III, IV i V kategorija), skladišteni na –20°C, nakon zamrzavanja na temperaturi od –30°C, tokom perioda od godinu dana. Kao indikator oksidativnih promena na lipidima u ovim uzorcima korišćen je TBARS test, odnosno promena sadržaja masnih kiselina i holesterola.

Materijal i metode

Rasecanje i otkoštavanje svinjskih polutki, klasiranje mesa za preradu, te zamrzavanje i skladištenje smrznutog mesa obavljeno je u pogonu Industrije mesa „Carnex“ u Vrbasu, a sva hemijska ispitivanja su obavljena na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu. Rasecanje polutki je obavljeno na osnovne anatomske delove, prema proceduri rasecanja polutki opisanoj u *Pravilniku* (1985).

Nakon utvrđivanja mase dobijenih osnovnih delova polutke obavljeno je otkoštavanje buta, plečke, trbušno-rebarnog dela, karea, vrata, glave i špic rebra. Sa svakog osnovnog anatomskeg dela koji je otkošten, pažljivo je skinuto masno tkivo sa kožom, potom su razdvojene grupe mišića, a pri tome je izdvojeno meko masno tkivo.

Izdvojeni mišići buta i plečke, te kare su dalje prema vizuelnoj proceni udela masti u njima razvrstani u jednu od tri kategorije (I kategorija: meso buta bez potkolenice, slabina i leđa, očišćeno od masnog i vezivnog tkiva < 5% masti; II kategorija: meso očišćeno od masnog i vezivnog tkiva < 10% masti; III kategorija: meso grubo očišćeno od masnog i vezivnog tkiva < 20% masti).

Trbušno-rebarni deo, vrat, miškulatura glave i špic rebra su obrađeni tako da su sa osnovnih delova bez kostiju i kože sa masnim tkivom skinuti mesni i masni obresci, koji su pripojeni odgovarajućoj kategoriji mesa ili masnog tkiva, a osnovni deo je prema proceni sadržaja masnog i vezivnog tkiva, takođe, ali u celosti svrstan u odgovarajuću kategoriju mesa, te su formirane i IV, V i VI kategorija mesa (IV kategorija: meso trbu-

šno-rebarne regije svinja bez kože < 35% masti; V kategorija: meso trbušno-rebarne regije svinja bez kože < 50% masti; VI kategorija: meso sa pripadajućim masnim i vezivnim tkivom).

Nakon što su svi osnovni delovi jedne polutke otkošteni (otkošteno je 13 polutki), a dobijeno meso razvrstano po kategorijama sjedinjeno, obavljena je dalja homogenizacija propuštanjem celokupne mase izdvojenog mesa po kategorijama kroz vuk sa pločom otvora \varnothing 20 mm. Ovako homogenizovano klasirano meso III, IV i V kategorije je pakovano u PVC foliju, pri čemu je formiran pravilan blok dimenzija $30 \times 20 \times 10$ cm, mase cca 6 kilograma i to po tri bloka za svaku kategoriju mesa i sva vremena ispitivanja. Blokovi su postavljeni na ravnu paletu, uneti u tunel za zamrzavanje na temperaturi od -30°C . Nakon zamrzavanja blokovi su razvrstani u četiri kartonske kutije prema vremenu skladištenja (3, 6, 9 i 12 meseci), a kutije su potom smeštene u komoru za skladištenje zamrznutog mesa na -20°C . Posle isteka planiranog vremena skladištenja, zamrznuto svinjsko meso u blokovima je delimično odmrznuto na temperaturi od 4°C tokom 12 časova. Potom je pripremljen reprezentativni uzorak od svakog bloka (cca 0,5 kg), koji je dobro homogenizovan i dalje korišćen za sva određivanja.

Za određivanje sadržaja slobodne masti, proteina i vode u svinjskom mesu razvrstanom na kategorije korišćene su standardne SRPS ISO metode (SRPS ISO 1444:1998; SRPS ISO 937:1992; SRPS ISO 1442:1998).

Za utvrđivanje stepena lipidne peroksidacije u zamrznutim uzorcima mesa korišćen je TBARS test (Botsoglou i dr., 1994).

Masno-kiselinski sastav određen je GC-MS metodom (Bannon i dr., 1982). Iz delimično odmrznutog i homogenizovanog uzorka obavljena je ekstrakcija masnih frakcija petrol-etrom (SRPS ISO 1443:1973).

Izdvojene masne frakcije su saponifikovane, a masne kiseline su oslobađane i esterifikovane u prisustvu BF₃ katalizatora za dalju analizu GC-MS-om (Bannon i dr., 1982).

Sadržaj ukupnog holesterola određen je metodom tečne hromatografije visoke rezolucije (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Homogenizovani uzorak je najpre saponifikovan sa kalijum-hidroksidom, a zatim je izvedena ekstrakcija holesterola sa heksanom i diizopropil etrom (Indyk, 1990). Za HPLC određivanje holesterola korišćen je aparat Liquid Chromatograph HP 1090 (Hewlett-Packard, USA). Određivanje holesterola je obavljeno pri sledećim uslovima HPLC hromatografije: Kolona Hypersil

ODS, 5 μm ; Protok: 0,2 ml/min; Mobilna faza: Metanol; DAD detektor: 212/4 nm. Masno-kiselinski sastav i sadržaj holesterola ispitan je u uzorcima pre zamrzavanja (0) i nakon 6, 9 i 12 meseci skladištenja. Sva određivanja su obavljena na tri uzorka u dva ponavljanja, a rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost.

Radi pravilne interpretacije rezultata istraživanja obavljena je i statistička obrada dobijenih podataka (Hadživuković, 1991), tako što je izračunata standardna devijacija, kao merilo apsolutne disperzije osnovnog skupa i utvrđena značajnost razlika između aritmetičkih sredina, primenom jednodimenzionalne klasifikacije analize varijanse i višestrukog testa intervala (Duncanov test), između više aritmetičkih sredina. Za izračunavanja je korišćen programski paket STATISTIKA 8.0 (StatSoft, Inc., 2008).

Rezultati i diskusija

Iz podataka predočenih u tabeli 1 vidi se da je vizuelna procena sadržaja masti u mesu klasiranom za prerađu, uglavnom bila objektivna, odnosno meso I, II, III i V kategorije je gotovo idealno razvrstano u te kategorije po očekivanom sadržaju masti (do 5%, 10%, 20% i 50% respektivno), dok je samo nešto manje masti nađeno u mesu IV kategorije (27,79%, u odnosu na zahtevanih ne više od 35%). Ovaj nalaz ukazuje da se u industrijskim uslovima za kategorizaciju mesa, zbog ekonomske valorizacije, ipak mora da koristi savremena oprema sa odgovarajućim mernim instrumentima koji omogućavaju precizniju standardizaciju klasiranog mesa ne samo prema sadržaju masti već i proteina (Rede i Petrović, 1997).

Za praćenje oksidativnih promena u zamrznutom svinjskom mesu tokom dugotrajnog skladištenja odabrano je meso III, IV i V kategorije, odnosno meso sa većim sadržajem masti, jer može da se očekuje da sa porastom sadržaja masti u mesu i oksidativne promene budu izraženije (Bastić, 1986). Tok oksidativnih promena praćen je na osnovu promene koncentracije malonildialdehida (grafikon 1) i indirektno masno-kiselinskog sastava (tabele 2, 3 i 4), odnosno promene sadržaja holesterola u ispitivanim uzorcima (tabela 5).

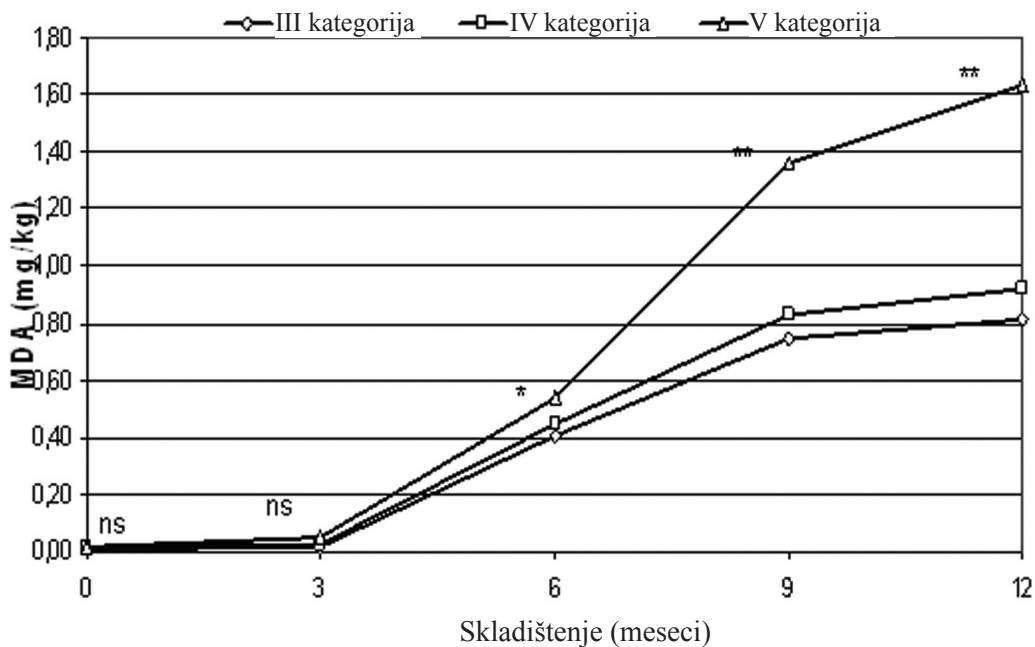
Malonildialdehid (MDA), glavni degradacioni proizvod lipidnih peroksida, korišćen je kao marker za određivanje stepena lipidne peroksidacije. Rezultati TBARS testa izraženi kao sadržaj MDA (mg/kg) su prikazani na grafikonu 1.

MDA vrednost u svim uzorcima mesa na početku eksperimenta bila je mala i kretala se u inter-

Tabela 1. Osnovni hemijski sastav svinjskog mesa (%) razvrstanog po kategorijama na osnovu vizuelne procene**Table 1.** Basic chemical composition of pork (%) separated into different categories according to visual evaluation

Kategorija mesa/ Category of meat	Sadržaj/Content of		
	Masti/Fat (%)	Vode/Moisture (%)	Proteina/Proteins (%)
I	1,52 ± 0,02 ^E	75,4 ± 0,15 ^A	20,4 ± 0,28 ^A
II	9,53 ± 0,06 ^D	70,0 ± 0,40 ^B	18,7 ± 0,13 ^B
III	18,3 ± 0,30 ^C	62,4 ± 0,20 ^C	17,7 ± 0,20 ^C
IV	27,8 ± 0,25 ^B	56,9 ± 0,18 ^D	14,3 ± 0,14 ^D
V	49,1 ± 0,27 ^A	41,2 ± 0,20 ^E	8,72 ± 0,11 ^E

^{ABCDE} Vrednosti u istoj koloni se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/^{ABCDE} The values in the same column are significantly different with 99,9% probability ($p < 0,001$)



^{ns}Razlike nisu statistički značajne sa 95% verovatnoće ($p > 0,001$)/The differences are not statistically significant with 95% probability ($p > 0,001$)

*Razlike su statistički značajne sa 95% verovatnoće ($p < 0,05$)/The differences are statistically significant with 95% probability ($p < 0,05$)

**Razlike su statistički značajne sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/The differences are statistically significant with 99,9% probability ($p < 0,001$)

Grafikon 1. MDA vrednosti ispitivanih uzoraka zamrznutog svinjskog mesa III, IV i V kategorije tokom skladištenja**Graph 1.** MDA values of frozen pork samples of categories III, IV and V during the long term storage

valu od 0,01 do 0,02 mg/kg. Nakon isteka tri meseca skladištenja, MDA vrednost u ispitivanim uzorcima nije se statistički značajno ($p > 0,05$) promenila i iznosila je 0,01–0,06 mg/kg. Nakon isteka šest meseci skladištenja, u svim ispitanim uzorcima mesa došlo je do porasta MDA vrednosti, a one su se nalazile u intervalu od 0,41 do 0,54 mg/kg. Nakon

devet meseci skladištenja, uzorci mesa III kategorije su sadržali 0,75 mg/kg, IV kategorije 0,83 mg/kg, a V kategorije 1,36 mg/kg MDA. Dalji porast MDA vrednosti zabeležen je nakon 12 meseci skladištenja, a dobijene vrednosti iznosile su 0,82, 0,92 i 1,63 mg/kg za III, IV i V kategoriju mesa, po navedenom redosledu. Nakon 6 meseci skladištenja na -20°C ,

oksidativne promene na mastima, izražene preko sadržaja malonildialdehida (mg/kg), su statistički značajno ($p < 0,001$) veće u odnosu na ispitane uzorke skladištene tokom tri meseca. Oksidativne promene nakon 9 i 12 meseci su statistički značajno ($p < 0,001$) veće u odnosu na promene tokom šest meseci skladištenja u svim ispitanim uzorcima. Najizraženije su promene u uzorcima mesa sa najvećim sadržajem masti, odnosno u mesu V kategorije, nakon šest meseci skladištenja oksidativne promene su značajno ($p < 0,05$) veće, a u periodu od 9 do 12 meseci visoko značajno ($p < 0,001$) veće u odnosu na te promene u mesu III i IV kategorije.

Količina od 0,5 mg/kg MDA u sirovom mesu se smatra graničnom vrednosti na kojoj se senzornom analizom može da uoči nepoželjna aroma kao posledica užeglosti (Lanari i dr., 1995). Lipidna peroksidacija kao posledica oksidativnih promena na mastima više je izražena kod uzoraka sa većim sadržajem masti. Osim toga, peroksidi, primarni proizvodi lipidne peroksidacije koji se akumuliraju u zamrznutom mesu skladištenjem, nakon odmrzavanja mesa mogu da iniciraju slobodne radikalske reakcije koje vode do stvaranja sekundarnih proizvoda lipidne peroksidacije (Hansen i dr., 2004a). Intenzitet ovih procesa veoma zavisi od anatomske dela (vrste mesa) (Erickson, 1987; Hansen i dr., 2004b).

Pored ukupnog sadržaja lipida, sastav masnih kiselina je veoma bitan za niz osobina koje ispo-

ljavaju namirnice u čiji sastav ulaze (na primer palatabilnost, ponašanje pri skladištenju, itd.). Bitno je za namirnicu koja sadrži lipide, da ukoliko je veća količina i stepen nezasićenja masnih kiselina, lipidni sistem je podložniji oksidaciji (Bastić, 1986).

Na osnovu prikazanih rezultata u tabelama 2, 3 i 4 zapaža se da je udeo oleinske kiseline najveći ($p < 0,001$) u masno-kiselinskom sastavu svežeg svinjskog mesa III, IV i V kategorije, a da je udeo nezasićenih masnih kiselina visoko značajno ($p < 0,001$) veći od udela zasićenih masnih kiselina u svim ispitanim uzorcima svežeg svinjskog mesa pre zamrzavanja i skladištenja, što je u saglasnosti sa podacima iz literature (Teye, 2009).

Nakon zamrzavanja i skladištenja u trajanju od šest meseci dolazi do promena masno-kiselinskog sastava uzoraka svinjskog mesa III, IV i V kategorije. Smanjenje udela nezasićenih i istovremeno povećanje udela zasićenih masnih kiselina u uzorcima zamrznutog svinjskog mesa tokom skladištenja posledica je oksidativnih promena na lipidima. Pod uticajem hemijske i enzimske oksidacije polinezasićene masne kiseline dugih lanaca (C18:2, C18:3, C20:4 i druge) generišu zasićene masne kiseline nižih molekularnih masa (Woods i Fearon, 2009). Dugi lanci oleinske i stearinske kiseline nastali hidrolizom masti i ulja pod anaerobnim uslovima se sporo razgrađuju do lanaca nižih masnih kiselina. Tako degradacijom oleinske kiseline nastaju stearinska

Tabela 2. Promene masno-kiselinskog sastava (%) zamrznutog svinjskog mesa III kategorije tokom skladištenja do 12 meseci

Table 2. Changes in fatty acid content (%) in frozen pork of III category during storage up to 12 months

Masno-kiselinski sastav/ Fatty acid content	Vreme skladištenja/Storage time			
	0 meseci/ 0 month	6 meseci/ 6 months	9 meseci/ 9 months	12 meseci/ 12 months
C14:0	1,53 ± 0,02 ^{FP}	1,28 ± 0,01 ^{FQ}	1,26 ± 0,02 ^{FQ}	1,28 ± 0,01 ^{FQ}
C16:0	25,6 ± 0,10 ^{BP}	21,5 ± 0,20 ^{BS}	22,5 ± 0,10 ^{BR}	23,1 ± 0,20 ^{BQ}
C18:0	14,4 ± 0,10 ^{CS}	19,2 ± 0,06 ^{CR}	20,1 ± 0,30 ^{CQ}	21,5 ± 0,05 ^{CP}
C16:1	2,60 ± 0,10 ^E	2,54 ± 0,02 ^E	2,52 ± 0,02 ^E	2,54 ± 0,01 ^E
C18:1	43,6 ± 0,20 ^{AP}	39,7 ± 0,30 ^{AQ}	38,8 ± 0,10 ^{AR}	37,8 ± 0,10 ^{AS}
C18:2	9,03 ± 0,01 ^{DpP}	8,99 ± 0,01 ^{DqP}	8,82 ± 0,02 ^{DrQ}	8,62 ± 0,02 ^{DsR}
ZMK/SFA*	41,5 ± 0,18 ^{YsR}	42,0 ± 0,24 ^{YrQ}	43,8 ± 0,23 ^{YqP}	45,9 ± 0,19 ^{YpP}
NMK/UFA*	55,2 ± 0,31 ^{XP}	51,2 ± 0,33 ^{XQ}	50,1 ± 0,14 ^{XR}	49,0 ± 0,07 ^{XS}
NMK/ZMK-UFA/SFA	1,33 ^P	1,22 ^Q	1,14 ^R	1,07 ^S

*ZMK/SFA – zasićene masne kiseline/saturated fatty acids; NMK/UFA – nezasićene masne kiseline/unsaturated fatty acids
^{ABCDEFXY} Vrednosti u istoj koloni se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/The values in the same column are significantly different with 99.9% probability ($p < 0,001$)

^{pqrs} Vrednosti u istom redu se značajno razlikuju sa 95% verovatnoće ($p < 0,05$)/The values in the same row are significantly different with 95% probability ($p < 0,05$)

^{PQRS} Vrednosti u istom redu se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/The values in the same row are significantly different with 99.9% probability ($p < 0,001$)

Tabela 3. Promene masno-kiselinskog sastava (%) zamrznutog svinjskog mesa IV kategorije tokom skladištenja do 12 meseci**Table 3.** Changes in fatty acid content (%) in frozen pork of IV category during storage up to 12 months

Masno-kiselinski sastav/ Fatty acid content	Vreme skladištenja/Storage time			
	0 meseci/ 0 month	6 meseci/ 6 months	9 meseci/ 9 months	12 meseci/ 12 months
C14:0	1,38 ± 0,01 ^{FrQ}	1,36 ± 0,01 ^{FsR}	1,49 ± 0,01 ^{FqP}	1,51 ± 0,01 ^{FpP}
C16:0	24,9 ± 0,10 ^{BrQR}	27,0 ± 0,20 ^{BpP}	23,8 ± 0,10 ^{BsS}	25,2 ± 0,02 ^{BqQR}
C18:0	13,8 ± 0,10 ^{CS}	18,9 ± 0,10 ^{CR}	19,6 ± 0,20 ^{CQ}	20,9 ± 0,25 ^{CP}
C16:1	2,62 ± 0,01 ^{EP}	2,24 ± 0,01 ^{ES}	2,36 ± 0,02 ^{EQ}	2,30 ± 0,01 ^{ER}
C18:1	43,1 ± 0,10 ^{AP}	41,2 ± 0,15 ^{AQ}	41,2 ± 0,10 ^{AQ}	40,2 ± 0,20 ^{AR}
C18:2	10,2 ± 0,20 ^{DpP}	9,49 ± 0,02 ^{DqQ}	9,21 ± 0,02 ^{DrQ}	9,05 ± 0,05 ^{DsR}
ZMK/SFA	40,1 ± 0,01 ^{YR}	47,3 ± 0,31 ^{YP}	44,9 ± 0,31 ^{YQ}	47,6 ± 0,26 ^{YP}
NMK/UFA	55,9 ± 0,29 ^{XP}	53,0 ± 0,16 ^{XQ}	52,6 ± 0,11 ^{XQ}	51,6 ± 0,26 ^{XR}
NMK/ZMK-UFA/SFA	1,39 ^P	1,12 ^Q	1,17 ^R	1,08 ^S

ZMK/SFA – zasićene masne kiseline/saturated fatty acids; NMK/UFA – nezasićene masne kiseline/unsaturated fatty acids

^{ABCDEF,XY} Vrednosti u istoj koloni se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/The values in the same column are significantly different with 99.9% probability ($p < 0,001$)

^{pqrs} Vrednosti u istom redu se značajno razlikuju sa 95% verovatnoće ($p < 0,05$)/The values in the same row are significantly different with 95% probability ($p < 0,05$)

^{PQRS} Vrednosti u istom redu se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/The values in the same row are significantly different with 99.9% probability ($p < 0,001$)

Tabela 4. Promene masno-kiselinskog sastava (%) svinjskog mesa V kategorije tokom skladištenja do 12 meseci**Table 4.** Changes in fatty acid content (%) in frozen pork of V category during storage up to 12 months

Masno-kiselinski sastav/ Fatty acid content	Vreme skladištenja/Storage time			
	0 meseci/ 0 month	6 meseci/ 6 months	9 meseci/ 9 months	12 meseci/ 12 months
C14:0	1,58 ± 0,01 ^{FS}	2,15 ± 0,01 ^{ER}	2,35 ± 0,01 ^{EQ}	2,41 ± 0,02 ^{EP}
C16:0	25,8 ± 0,10 ^{BsR}	27,7 ± 0,06 ^{BrQ}	28,0 ± 0,20 ^{BqQ}	29,0 ± 0,10 ^{BpP}
C18:0	14,1 ± 0,10 ^{CS}	18,7 ± 0,20 ^{CR}	19,2 ± 0,10 ^{CQ}	20,5 ± 0,10 ^{CP}
C16:1	2,68 ± 0,01 ^{EP}	2,02 ± 0,01 ^{EQ}	1,88 ± 0,01 ^{FR}	1,81 ± 0,01 ^{FS}
C18:1	42,8 ± 0,20 ^{AP}	40,1 ± 0,10 ^{AR}	40,5 ± 0,10 ^{AQ}	37,1 ± 0,10 ^{AS}
C18:2	9,42 ± 0,01 ^{DP}	8,46 ± 0,01 ^{DQ}	8,09 ± 0,01 ^{DR}	8,12 ± 0,03 ^{DR}
ZMK/SFA	41,4 ± 0,21 ^{YS}	48,6 ± 0,14 ^{YR}	49,6 ± 0,30 ^{YQ}	51,9 ± 0,22 ^{XP}
NMK/UFA	54,9 ± 0,22 ^{XP}	50,6 ± 0,12 ^{XQ}	50,5 ± 0,12 ^{XQ}	47,0 ± 0,14 ^{YR}
NMK/ZMK-UFA/SFA	1,33 ^P	1,04 ^Q	1,02 ^R	0,91 ^S

^{ABCDEF,XY} Vrednosti u istoj koloni se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/The values in the same column are significantly different with 99.9% probability ($p < 0,001$)

^{pqrs} Vrednosti u istom redu se značajno razlikuju sa 95% verovatnoće ($p < 0,05$)/The values in the same row are significantly different with 95% probability ($p < 0,05$)

^{PQRS} Vrednosti u istom redu se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/The values in the same row are significantly different with 99.9% probability ($p < 0,001$)

(C18:0), palmitinska (C16:0) i miristinska kiselina (C14:0) (Lalman i Bagley, 2001). U odnosu na zasićene, nezasićene masne kiseline su reaktivnije, zbog prisustva dvostrukih veza i lako podležu oksidativnim promenama (Bastić, 1986), te tokom 12 meseci skladištenja nastaje kontinualno smanjenje odnosa NMK/ZMK. Odnos NMK/ZMK zamrznutog svinjskog mesa III, IV i V kategorije u periodu skladištenja od šest meseci je visoko zna-

čajno manji ($p < 0,001$) od odnosa NMK/ZMK u uzorcima pre zamrzavanja. Nakon 9 i 12 meseci skladištenja uočava se da je odnos NMK/ZMK visoko značajno ($p < 0,001$) manji od NMK/ZMK uzoraka skladištenih tokom šest meseci. Kod uzoraka zamrznutog svinjskog mesa III i IV kategorije odnos NMK/ZMK bio je 1,08, odnosno 1,07, dok je odnos NMK/ZMK zamrznutog mesa V kategorije bio 0,91 (tabele 2, 3 i 4). Dakle, oksidativne promene na uzor-

cima smrznutog svinjskog mesa V kategorije su naj-intenzivnije, što je i potvrđeno rezultatima TBARS testa, odnosno sadržajem malonildialdehida u tim uzorcima (grafikon 1). Skladištenjem zamrznutog svinjskog mesa III, IV i V kategorije nastaju promene sadržaja ukupnog holesterola (tabela 5).

i 21,41% proteina), koje odgovara mesu I kategorije po predloženom Standardu (Petrović, 2005) ipak ima nešto manje holesterola nego u masnijem mesu, a što nije utvrđeno u ovim istraživanjima.

Sadržaj holesterola u svim ispitanim uzorcima nakon šest meseci skladištenja je visoko značajno

Tabela 5. Promene sadržaja holesterola (mg/100 g) u smrznutom svinjskom mesu III, IV i V kategorije tokom skladištenja do 12 meseci

Table 5. Changes of cholesterol content (mg/100g) in frozen pork of III, IV and V category during storage up to 12 months

Kategorija mesa/ Category of meat	Vreme skladištenja/Storage time			
	0 meseci/ 0 month	6 meseci/ 6 months	9 meseci/ 9 months	12 meseci/ 12 months
III	59,5 ± 0,20 ^{cBP}	58,1 ± 0,10 ^{bBQ}	55,3 ± 0,20 ^{cBR}	53,7 ± 0,20 ^S
IV	61,1 ± 0,20 ^{aAP}	59,4 ± 0,40 ^{aAQ}	56,8 ± 0,10 ^{bAR}	54,1 ± 0,40 ^S
V	60,6 ± 0,20 ^{bAP}	58,5 ± 0,40 ^{bABQ}	57,1 ± 0,30 ^{aAR}	54,2 ± 0,30 ^S

^{abc} Vrednosti u istoj koloni se značajno razlikuju sa 95% verovatnoće ($p < 0,05$)/The values in the same column are significantly different with 95% probability ($p < 0,05$)

^{ABC} Vrednosti u istoj koloni se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($p < 0,001$)/The values in the same column are significantly different with 99.9% probability ($p < 0,001$)

^{pqrs} Vrednosti u istom redu se značajno razlikuju sa 95% verovatnoće ($p < 0,05$)/The values in the same row are significantly different with 95% probability ($p < 0,05$)

^{PQRS} Vrednosti u istom redu se značajno razlikuju sa 99,9% verovatnoće ($P < 0,001$)/The values in the same row are significantly different with 99.9% probability ($p < 0,001$)

Oksidacija lipida u hrani se smatra faktorom rizika za ljudsko zdravlje. Oksidacija holesterola u mesu i proizvodima od mesa se ubrzava kada se u proizvodnji koristi meso koje je prethodno bilo zamrznuto u poređenju sa proizvodima dobijenim od svežeg mesa (Hur i dr., 2007). Zamrznuto svinjsko meso skladišteno do šest meseci ne sadrži oksisterole štetne po ljudsko zdravlje, prema podacima iz literature (citirajući Tomović, 2009). Iz rezultata predloženih u tabeli 5 vidi se da sadržaj holesterola u uzorcima pre zamrzavanja nije u uskoj vezi sa sadržajem slobodne masti. Naime, u mesu IV kategorije (27,79% slobodne masti i 14,30% proteina) utvrđeni sadržaj holesterola (61,1 mg/100 g) je značajno ($p < 0,05$) veći od sadržaja holesterola utvrđenog u mesu III kategorije (18,34% slobodne masti i 17,73% proteina) (59,5 mg/100 g), i mesu V kategorije (60,6 mg/100 g) koje sadrži znatno više slobodne masti (49,09% slobodne masti i 8,72% proteina). Dobijeni rezultati su samo delimično u saglasnosti sa podacima koje je dobio Tomović (2009), koji je utvrdio da je sadržaj holesterola u *M. semimembranosus* svinja nešto niži (55,98 mg/100g) od količina holesterola nađenih u ovom radu, odnosno može da se kaže da u potpuno obezmašćenom krtom mesu (ispitani *M. semimembranosus* sadržao je 2,16% slobodne masti

($p < 0,001$) manji u odnosu na sadržaj holesterola u uzorcima pre zamrzavanja. U uzorcima mesa III, IV i V kategorije tokom skladištenja od 12 meseci nastavljen je trend smanjenja sadržaja holesterola za sve kategorije mesa (tabela 5), odnosno sadržaj holesterola u svim ispitanim uzorcima nakon 9 i 12 meseci skladištenja je visoko značajno ($p < 0,001$) manji u odnosu na sadržaj holesterola u uzorcima pre zamrzavanja, kao što je i sadržaj holesterola u ispitanim uzorcima nakon šest meseci skladištenja visoko značajno ($p < 0,001$) veći u odnosu na sadržaj u uzorcima ispitanim nakon 9 i 12 meseci skladištenja. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa podacima iz literature (Erickson, 1987; Nam i dr., 2001), da se tokom hlađenja i skladištenja mesa na niskim temperaturama primarni produkti oksidacije holesterola prevode u sekundarne, što utiče na smanjenje ukupnog holesterola u svinjskom mesu. Tok oksidacije holesterola, može da se prati preko rezultata TBARS testa. Sadržaj produkata oksidacije holesterola u korelaciji je sa koncentracijom MDA u lipidima svinjskog mesa ($r = 0,704$), odnosno sa povećanjem sadržaja MDA nastaje povećanje koncentracije produkata oksidacije holesterola u lipidima, što se direktno reperkutuje na smanjenje ukupnog holesterola (Cayuela i dr., 2002). Na sadržaj holesterola i stepen oksidacije holesterola ne

utiče sadržaj masti u ispitanim uzorcima. Dobijeni rezultati u ovim ispitivanjima su u saglasnosti sa podacima iz literature (Hansen i dr., 2004a).

Na osnovu svega izloženog, uočava se neophodnost definisanja vremena skladištenja zamrznutog mesa, a na osnovu predočenih rezultata može da se zaključi da je granica od šest meseci skladištenja svinjskog mesa na -18°C , definisana slovenačkim Pravilnikom (1995) objektivna, te da bi i naš predlog za budući standard mogao da bude sličan, polazeći od ovde predočenih rezultata.

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može da se zaključi:

- da oksidativne promene na mastima tokom prva tri meseca skladištenja zamrznutog svinjskog mesa na temperaturi od -20°C nisu statistički značajne ($p > 0,05$) u odnosu na sve ispitane uzorke pre zamrzavanja,

- da su uočene oksidativne promene do šest meseci skladištenja prihvatljive ($\text{MDA} < 0,5 \text{ mg/kg}$),
- da je stepen lipidne peroksidacije visoko značajno ($p < 0,001$) veći u mesu V u odnosu na meso III i IV kategorije u periodu od 6 do 12 meseci skladištenja,
- da se odnos NMK/ZMK zamrznutog svinjskog mesa tokom skladištenja značajno smanjuje ($p < 0,001$),
- da sadržaj masti u mesu ne utiče značajno ($p > 0,05$) na količinu holesterola i brzinu njegove destrukcije,
- da je sadržaj holesterola u svim ispitanim uzorcima nakon 6, 9 i 12 meseci skladištenja visoko značajno ($p < 0,001$) manji u odnosu na sadržaj holesterola pre smrzavanja,
- da celokupno dobijeni rezultati ukazuju na potrebu usaglašavanja postojećih nacionalnih propisa sa međunarodnim, u vezi dužine trajanja skladištenja zamrznutog mesa.

Literatura

- Bannon C. D., Craske J. D., Hai N. T., Harper N. L., O'Rourke K. L., 1982.** Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability II Methylation of oils and fats with boron trifluoride-methanol. *Journal of Chromatography*, 247, 63–70.
- Bastić Lj., 1986.** Sastav i termičko ponašanje intramuskularnih lipida M. Semimembranosus svinja. Doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd.
- Botsoglou N. A., Fletouris D. J., Papageorgiou G. E., Vassilopoulos V. N., Mantis A. J., Trakatellis A. G., 1994.** Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for meat lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agriculture & Food Chemistry*, 42, 9, 1931–1937.
- Cayuela J. M., Gil M. D., Banon S. J., Alvarez D., Garrido M. D., 2002.** Effect of dietary vitamin E supplementation and packing methods on oxidative stability in raw pork meat. 48th ICoMST-Rome, 2.
- Erickson M. C., 1987.** Lipid Oxidation: Flavor and Nutritional Quality Deterioration in Frozen Foods, in *Quality in Frozen Foods*. Eds. M. J. Erickson and Y. C. Hung. International Thomson Publishing, USA.
- Hadživuković S., 1991.** Statistički metodi. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Hansen E., Juncher D., Henckel P., Karlsson A., Bertelsen G., Skibsted L. H., 2004a.** Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science*, 68, 2, 185–191.
- Hansen E., Lauridsen L., Skibsted L. H., Moawad R. K., Andersen M. L., 2004b.** Oxidative stability of frozen pork patties: Effect of fluctuating temperature on lipid oxidation. *Meat Science*, 68, 2, 185–191.
- Hur S. J., Park G. B., Joo G. T., 2007.** Formation of cholesterol oxidation products (Cops) in animal products. *Food Control*, 18, 8, 939–947.
- Indyk H. E., 1990.** Simultaneous liquid chromatographic determination of cholesterol, photosterols and tocopherols in foods. *Analyst*, 115, 12, 1525–1530.
- Lalman A. J., Bagley M. D., 2001.** Anaerobic degradation and methanogenic inhibitory effects of oleic and stearic acids. *Water Research*, 35, 12, 2975–2983.
- Lanari M. C., Schaefer D. M., Scheller K. K., 1995.** Dietary vitamin E supplementation and discoloration of pork bone and muscle following modified atmosphere packaging. *Meat Science*, 41, 3, 237–250.
- Milanović-Stevanović M., Vuković I., Kočovski T. M., 2006.** Uticaj začinskog bilja na promene masti tokom zrenja i skladištenja fermentisanih kobasica. *Tehnologija mesa*, 47, 1–2, 38–44.
- Nam K. C., Du M., Jo C., Ahn D. U., 2001.** Cholesterol oxidation products in irradiated raw meat with different packaging and storage time. Department of Animal Science, Iowa State University, Ames, IA 50011–3150, USA.
- Petrović Lj., 1989.** Smrzavanje mesa. Monografija, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Petrović Lj., 2005.** Završni izveštaj o radu na projektu: „Proizvodnja i priprema svinjskog mesa za veleprodaju, maloprodaju, industriju gotove hrane i preradu“ (BTN 351008). Rukovodilac projekta: Lj. Petrović, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Pravilnik o kakovosti zaklanih prašičev in kategorizaciji svinjskega mesa, 1995.** Uradni list RS, 68/1995.
- Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za proizvode od mesa, 2004.** Službeni list SCG, broj 33.
- Pravilnik o kvalitetu zaklanih svinja i kategorizaciji svinjskog mesa sa dopunama, 1985.** Službeni list SFRJ, broj 2 i 12.
- Rede R. R., Petrović Lj. S., 1997.** Tehnologija mesa i nauka o mesu. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- SRPS ISO 1442:1998.** Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja vlage (Referentna metoda).
- SRPS ISO 1443:1998.** Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja ukupne masti.
- SRPS ISO 1444:1998.** Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja slobodne masti.

- SRPS ISO 937:1992.** Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja azota (Referentna metoda).
- StatSoft, Inc., 2008.** STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. Available at : <http://www.Statsoft.com>.
- Teye G. A., 2009.** Effects of age/weight and castration on fatty acids composition in pork fat and the qualities of pork and pork fat in meishan x large white pigs. African journal of food agriculture nutritional and development, 9, 8, 1697–1711.
- Tomović V., 2009.** Uticaj brzine hlađenja polutki, vremena otkoštavanja post mortem i postupka salamurenja na kvalitet i bezbednost kuvane šunke. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Vuković I., 2006.** Osnove tehnologije mesa. Veterinarska komora Srbije, Beograd.
- Woods V. B., Fearon A. M., 2009.** Dietary sources of unsaturated fatty acid for animals and their transfer into meat, milk and eggs. Livestock Science, 126, 1–3, 1–20.

The influence of storage time on lipids oxidation processes in frozen pork

Petrović Ljiljana, Ivanović Snežana, Šojić Branislav, Mandić Anamarija, Tasić Tatjana, Džinić Natalija, Tomović Vladimir

S u m m a r y: Standards for storage time of frozen meat in relation to types of meat, storage temperature or meat pretreatment are lacking in our country. Meat storage induces oxidative changes of lipids.

In this study, pork was classified into categories followed by determination of oxidative changes in lipids and fatty acids and content of cholesterol of classified meats with higher fat content. Frozen at -30 °C, and stored at -20 °C, these categories were monitored during one year period. The oxidative changes were monitored through the concentration of malonildialdehyde (MDA). After 3 months of storage, MDA value has not significantly changed. After the 6 months period of storage, MDA value increased in all samples in the interval of 0.41-0.54 mg/kg. After 9 months, samples of category III, IV and V contained 0.75 mg/kg, 0.83 mg/kg and 1.36 mg/kg of MDA respectively. Oxidative changes observed up to the 6th month of storage are considered as acceptable, however, the longer storage period resulted in increase ($p < 0.001$) of lipid peroxydation.

During storage the ratio of unsaturated and saturated fatty acids decreased significantly ($p < 0.001$) in all investigated samples.

Cholesterol content in the samples before freezing is not closely related to the content of free fat. The lowest cholesterol content (59.5 mg / 100g) was found in the meat category III, while the highest cholesterol content (61.1 mg / 100g) was determined in the meat category IV. During 12 months of storage, content of cholesterol decreased significantly ($p < 0.001$), in all investigated samples.

The obtained results confirm that the degree of lipid peroxydation depends on the storage time and fat content of meat and points to the necessity for harmonization of national regulations with the international ones.

Key words: frozen pork meat, storage time, oxydative changes, fatty acids, cholestertol.

Rad primljen: 9.03.2010.

Rad ispravljen: 8.04.2010.

Rad prihvaćen: 15.04.2010.