

ISSN 0494-9846
UDK 664.9:614.31: 637.5(05)

tehnologija mesa

meat technology

God.

50

Vol.

Br.

3-4

No.

Beograd,

2009

Belgrade,

Osnivač i izdavač – FOUNDER AND PUBLISHER
INSTITUT ZA HIGIJENU I TEHNOLOGIJU MESA, BEOGRAD
INSTITUTE OF MEAT HYGIENE AND TECHNOLOGY

TEHNOLOGIJA MESA je naučni časopis koji objavljuje rezultate osnovnih i primenjenih istraživanja u oblasti biotehničkih nauka, odnosno grana: veterinarstvo, prehrambeno inženjerstvo i biotehnologija.

Meat Technology is the scientific journal that publishes results of basic and applied research in the field of biotechnical sciences i.e. the following subcategories: veterinary sciences, food engineering and biotechnology.

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD

Prof. dr Milan Ž. Baltić

Fakultet veterinarske medicine, Beograd, RS
Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, Republic of Serbia

Ph. D. Andrzej Borys

Institut za istraživanje mesa i masti, Varšava, Poljska
Meat and Fat Research Institute, Warsaw, Poland

Prof. dr Sava Bunčić

Poljoprivredni fakultet, Katedra za veterinarsku medicinu,
Novi Sad, RS
Faculty of Agriculture, Department for Veterinary Medicine,
Novi Sad, Republic of Serbia

Prof. dr Luca Cocolin

Poljoprivredni fakultet, Katedra za eksploataciju i zaštitu
agrikulturalnih i šumskih resursa, Sektor za mikrobiologiju,
Torino, Italija
Faculty of Agriculture, DIVAPRA, Turin, Italy

Prof. dr Radoslav Grujić

Tehnološki fakultet, Banja Luka, Bosna i Hercegovina
Faculty of Technology, Banja Luka, Republika Srpska

Prof. dr Andrej B. Lisicin

Sveruski istraživački institut za meso, Moskva, Rusija
The All-Russian Meat Research Institute, Moscow, Russia

Dr Vesna Matekalo-Sverak

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, RS
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade,
Republic of Serbia

Prof. dr Dragojlo Obradović

Poljoprivredni fakultet, Katedra za tehnološku mikrobiologiju,
Beograd, RS
Faculty of Agriculture, Department for Technological
Microbiology, Belgrade, Republic of Serbia

Prof. dr Radomir Radovanović

Poljoprivredni fakultet, Katedra za tehnologiju animalnih
proizvoda, Beograd, RS
Faculty of Agriculture, Department for Technology of Animal
Products, Belgrade, Republic of Serbia

Dr Apostolos Rantsios

Konsultant EBTE, Ltd; Marousi, Grčka
EBTE Consultant, Ltd; Marousi, Greece

Dr Aurelija Spirić

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, RS
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade,
Republic of Serbia

Prof. dr Mitre Stojanovski

Fakultet za biotehničke nauke, Bitolj, BJRM
Faculty of Biotechnical Sciences, Bitola,
FYROM

Prof. dr Marija Škrinjar

Tehnološki fakultet, Novi Sad, RS
Faculty of Technology, Novi Sad, Republic of Serbia

Prof. dr Klaus Troeger

Institut za tehnologiju, Savezni istraživački zavod za ishranu i
životne namirnice, Kulmbach, Nemačka
Institute of Technology, Federal Research Centre for Food and
Nutrition, Kulmbach, Germany

Dr Lazar Turubatović

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, RS
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Republic
of Serbia

Dr Slavica Vesković-Moračanin

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, RS
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade,
Republic of Serbia

Prof. dr Ilija K. Vuković

Fakultet veterinarske medicine, Beograd, RS
Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, Republic of Serbia

Prof. dr Božidar Žlender

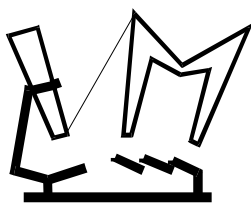
Biotehnički fakultet, Katedra za hranu, istraživanja i tehnologiju,
Ljubljana, Republika Slovenija
Faculty of Biotechnology, Department of Food, Science and
Technology, Ljubljana, Republic of Slovenia

Rukopisi prispeli za štampanje obavezno podležu recenziji. Redakcija časopisa „Tehnologija mesa“ zadržava pravo da rukopise prilagodi usvojenom stilu časopisa ili da ih vrati autorima radi ispravke. Institut ne preuzima bilo kakvu odgovornost za postavke navedene u člancima „Tehnologije mesa“. Rukopisi se ne vraćaju. Časopis se objavljuje u tri broja godišnje. Reprodukovanje časopisa nije dozvoljeno.

Manuscripts submitted for publishing are subject to reviewing. The Editorial staff of the journal „Tehnologija mesa“ reserves the right of editing manuscripts in order to conform with the adopted style of the journal or to return them to authors for revision. The Institute is not responsible for the statements and opinions expressed in the articles published in the „Tehnologija mesa“ journal. The manuscripts are not sent back. Journal is published three times a year. Reprinting of the Journal is not permitted.

Časopis „Tehnologija mesa“ je u vidu apstrakta dat u FSTA (Food Science and Technology Abstracts), SCIndeksu i na www.inmesbgd.com, a u celini u CABI bazi podataka.

Journal „Tehnologija Mesa“ is abstracted in FSTA (Food Science and Technology Abstracts), SCIndex (Serbian Citation Index) and www.inmesbgd.com. Full text is available in CABI Database.



tehnologija mesa

naučni časopis

Tehnologija mesa God. 50 Br. 3-4 Str. 179-260 Beograd 2009

OSNIVAČ I IZDAVAČ

**Institut za higijenu i
tehnologiju mesa**

11000 Beograd, Kačanskog 13
P. fah 33-49
Tel. 011/ 2650-655
Telefax 011/ 2651-825
e-mail: institut@inmesbgd.com
www.inmesbgd.com

DIREKTOR
Dr Lazar Turubatović

GLAVNI I ODGOVORNI
UREDNIK
Dr Aurelija Spirić

UREDNICI TEMATSKIH OBLASTI
Dr Slobodan Lilić – tehnologija, kvalitet
i bezbednost mesa, proizvoda od mesa,
hrane za životinje i sl.

Dr Slavica Vesković-Moračanin – opšta i
tehnološka mikrobiologija

Dr Vesna Matekalo-Sverak – aditivi,
začini, dodatni sastojci i sl.

Dr Aurelija Spirić – hemijske metode
ispitivanja

LEKTOR ZA SRPSKI JEZIK
Vlada Janković

LEKTOR ZA ENGLJSKI JEZIK
Srđan Stefanović

TEHNIČKO UREĐENJE
Danijela Šarčević
Radmila Zdravković

Na osnovu mišljenja Ministarstva za
nauku i tehnologiju Republike Srbije (br.
413-00-00416/2000-01), ova publikacija
je od posebnog interesa za nauku.

Cena godišnje pretplate za časopis za
Republiku Srbiju iznosi 4500,00 din.
Pretplate mogu da se uplate na tekući
račun Instituta broj 205-7803-56 kod
Komerijalne banke AD Beograd, sa
naznakom „pretplata za časopis“.

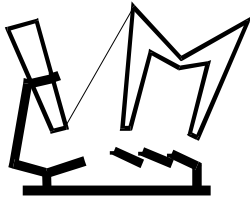
Cena godišnje pretplate za časopis za
inostranstvo iznosi: 100 eura. Naručuje
se na adresu: Institut za higijenu i
tehnologiju mesa, P.O. Box 33-49,
Kačanskog 13, 11000 Beograd, R. Srbija.

Komputerska obrada i štampa
Beoknjiga, Beograd
beobook@drenik.net
Tiraž 250 primeraka

SADRŽAJ

- **Uticao masnih kiselina u hrani na sastav masnih kiselina i količinu holesterola kod kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*)**
Spirić Aurelija, Trbović Dejana, Vranić Danijela, Đinović Jasna, Petronijević Radivoj, Milijašević Milan, Janković Saša, Radičević Tatjana..... 179–188
 - **Primena enrofloksacina u živinarstvu kao potencijalni rizik za bezbednost hrane – rezidue veterinarskih lekova u jestivim tkivima**
Petrović Jelena, Stefanović Srđan, Baltić Ž. Milan, Ratajac Radomir, Rackov Olga..... 189–194
 - **Uticao selena i vitamina E na kvalitet i prinos trupova brojlera**
Marković Radmila, Baltić Ž. Milan, Petrujković Branko, Šefer Dragan, Todorović Ema..... 195–200
 - **Ispitivanje uticaja zeolita na sadržaj vitamina B₆ u mesu brojlera – validacija metode**
Basić Zorica, Kilibarda Vesna, Resanović Radmila, Maksimović Milan..... 201–204
 - **Proizvodne i klanične karakteristike jarića domaće balkanske koze**
Memiši Nurgin..... 205–210
 - **Karakterizacija lipidnog sastava i sadržaja masnih kiselina u mlevenom junećem mesu**
Nikolić Nada, Todorović Zoran, Radulović Niko, Lazić Miodrag..... 211–217
 - **Promene frakcionog sastava sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina svinjskog mesa tokom dužeg čuvanja pri niskim temperaturama**
Čeruha M. Irina, Usanova E. Oksana, Griščenko M. Valerij..... 223–226
 - **Dominantna mikroflora izolovana iz tradicionalno fermentisane „sremske“ kobasice**
Borović Branka, Vesković Slavica, Velebit Branko, Baltić Tatjana, Spirić Danka..... 227–231
 - **Uticao odabranih aditiva na poboljšanje kvaliteta i stabilnosti boje fino usitnjenih barenih kobasica od pilećeg mesa**
Grujić Slavica, Grujić Radoslav, Savanović Danica, Odžaković Božana, Dejanović Mario..... 232–237
 - **Uticao različitih biljnih masti i ulja na instrumentalno merenu boju i teksturu pilećih kobasica**
Pejkovski Zlatko, Silovska-Nikolova Aleksandra, Belichovska Katerina, Gasperlin Lea, Polak Tomaž, Žlender Božidar, Lilić Slobodan, Ockerman Herbert..... 238–242
 - **Oksidi holesterola u pilećoj jetrenoj pašteti sa dodatkom koenzima Q₁₀ i askorbinske kiseline**
Polak Tomaž, Žlender Božidar, Gašperlin Lea..... 243–248
 - **Studija o sadržaju natrijum-hlorida i natrijuma u nekim proizvodima od mesa sa tržišta Srbije**
Vranić Danijela, Saičić Snežana, Lilić Slobodan, Trbović Dejana, Janković Saša..... 249–255
 - **Prikaz monografije – „Bakteriocini BMK – Mogućnosti primene u proizvodnji fermentisanih kobasica“, dr Slavice Vesković.....** 256
- Uputstvo autorima za pisanje radova 257–258

U FINANSIRANJU ČASOPISA UČESTVUJE:
Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije



meat technology scientific journal

Meat Technology Vol. 50 No. 3-4 P. 179-260 Belgrade 2009

FOUNDER AND PUBLISHER

**Institute of Meat Hygiene and
Technology**

11000 Belgrade, Kačanskog 13
P.O. Box 33-49
Phone 381 11 2650-655
Fax 381 11 2651-825
e-mail: institut@inmesbgd.com
www.inmesbgd.com

DIRECTOR
Lazar Turubatović, PhD

EDITOR IN CHIEF
Aurelija Spirić, PhD

EDITORS OF SCIENTIFIC FIELDS

Dr Slobodan Lilić – Technology, quality
and safety of meat, meat products,
feedingstuffs et sim.

Dr Slavica Vesković-Moračanin – basic
and technological microbiology

Dr Vesna Matekalo-Sverak – food
additives, spices, food components et
sim.

Dr Aurelija Spirić – analytical
methodology

PROOFREADER FOR
SERBIAN LANGUAGE
Vlada Janković

PROOFREADER FOR
ENGLISH LANGUAGE
Srđan Stefanović

TECHNICAL EDITION
Danijela Šarčević
Radmila Zdravković

Based on the opinion issued by the
Ministry of Science and Technology of
the Republic of Serbia (No. 413-00-
00416/2000-01), this publication is of
special interest for the science.

Annual subscription rate is: 100 EUR.
Orders should be sent to the Institute of
Meat Hygiene and Technology, P.O. Box
33-49, Kačanskog 13, 11000 Belgrade,
Serbia.

Computer processing and printing
„Beoknjiga“- Belgrade
beobook@drenik.net
Circulation 250 copies

CONTENTS

- **Fatty acid composition, cholesterol and total fat content in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) as influenced by fatty acids in diets**
Spirić Aurelija, Trbović Dejana, Vranić Danijela, Đinović Jasna, Petronijević Radivoj, Milijašević Milan, Janković Saša, Radičević Tatjana..... 179–188
- **Usage of enrofloxacin in poultry production as a potential risk for food safety – veterinary drugs residues in edible tissues**
Petrović Jelena, Stefanović Srđan, Baltić Ž. Milan, Ratajac Radomir, Rackov Olga..... 189–194
- **Influence of selenium and vitamin E on broiler meat quality and yield**
Marković Radmila, Baltić Ž. Milan, Petrujkić Branko, Šefer Dragan, Todorović Ema..... 195–200
- **Investigation of zeolites influence on vitamin B₆ content in broilers' chicken meat – method validation**
Basić Zorica, Kilibarda Vesna, Resanović Radmila, Maksimović Milan..... 201–204
- **Production properties and slaughtering parameters of domestic Balkan goat's kids**
Memiši Nurgin..... 205–210
- **Evaluation of lipid composition and fatty acid content of minced beef**
Nikolić Nada, Todorović Zoran, Radulović Niko, Lazić Miodrag..... 211–217
- **Изменения фракционного состава саркоплазматических и миофибрилярных белков свинины в процессе длительного хранения при низких положительных температурах**
Čerņuha M. Irina, Usanova E. Oksana, Grišćenko M. Valerij..... 218–222
- **Dominant microflora isolated from traditionally fermented „sremska“ sausage**
Borović Branka, Vesković Slavica, Velebit Branko, Baltić Tatjana, Spirić Danko..... 227–231
- **The effect of selected food additives on quality improvement and colour stability of finely chopped boiled chicken sausages**
Grujić Slavica, Grujić Radoslav, Šavanović Danica, Odžaković Božana, Dejanović Mario..... 232–237
- **Impact of different vegetable fats and oils on instrumentally measured color and texture of processed chicken sausages**
Pejkovski Zlatko, Silovska-Nikolova Aleksandra, Belichovska Katerina, Gasperlin Lea, Polak Tomaž, Žlender Božidar, Lilić Slobodan, Ockerman Herbert..... 238–242
- **Cholesterol oxides in chicken liver pâté supplemented with coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid**
Polak Tomaž, Žlender Božidar, Gašperlin Lea..... 243–248
- **Study on the content of sodium chloride and sodium in some meat products from Serbian market**
Vranić Danijela, Saičić Snežana, Lilić Slobodan, Trbović Dejana, Janković Saša..... 249–255
- **Monograph review – „Bacteriocins of LAB – possibilities of application in the production of fermented sausages“, Slavica Vesković** 256
- Guidelines for the authors** 259–260

PUBLICATION OF THIS JOURNAL IS FINANCIALLY SUPPORTED BY:
Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia

Uticaj masnih kiselina u hrani na sastav masnih kiselina i količinu holesterola kod kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*)*

Spirić Aurelija¹, Trbović Dejana¹, Vranić Danijela¹, Đinović Jasna¹, Petronijević Radivoj¹, Milijašević Milan¹, Janković Saša¹, Radičević Tatjana¹

S a d r ž a j: Nekomolirana i dugotrajna eksploatacija morskih resursa, kao i saznanja o povoljnom uticaju n-3 polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) na zdravlje čoveka, doprinela su, u poslednje vreme, povećanoj potražnji ribe iz akvakulture, što nameće i određene zahteve u pogledu njenog kvaliteta i nutritivnog sastava, odnosno sadržaja n-3 PNMK.

Imajući to u vidu, cilj ovog rada bio je da se ispituju osnovni hemijski sastav, sadržaj holesterola i masnokiselinskog sastava kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*) u fazi uzgoja, u zimskom periodu (decembar 2008. i mart 2009. godine), kao i osnovni hemijski i masnokiselinski sastav hrane. Za utvrđivanje korelacionih odnosa dobijenih rezultata za ribu i hranu, korišćene su savremene metode statističke obrade podataka. Uzorci su sakupljeni u punosistemnom odgajalištu kalifornijske pastrmke sa nezavisnim snabdevanjem vode koji je situiran u brdsko-planinskom delu centralne Srbije.

Korelacionom analizom sastava masnih kiselina u uzorcima hrane i pastrmke, dobijene su vrednosti Pearsonovog korelacionog koeficijenta za merenja koja se odnose na mart i decembar; redom: $r = 0,9422$ i $r = 0,9584$. Vrednosti koje odgovaraju vrednostima parametra t iznose 11,933 i 14,253 ($t_{crit} = 2,10$), koje ukazuju na statističku značajnost oba korelaciona koeficijenta na nivou signifikantnosti $p = 0,05$. Dobijeni rezultati ukazuju da postoji statistički značajna korelacija između masnokiselinskog sastava hrane i masnokiselinskog sastava ispitanih uzoraka ribe, iako statistički podaci za hranu (uporedni t -test) pokazuju da ne postoji statistički značajna razlika u sastavu hrane.

Analizom glavne komponente (PCA, Principal Component Analysis) dobijene su dve grupe rezultata za masnokiselinski sastav fileta pastrmke, prema vremenu ispitivanja (decembar i mart). Urađen je Hottelingov T^2 test za poređenje dve populacije multivarijantnih objekata, da bi se objektivno potvrdilo postojanje razlike između ove dve grupe rezultata. Dobijena vrednost parametra T^2 je 331,6, dok kritična vrednost za nivo značajnosti od $p = 0,05$ iznosi 15,3, što jasno ukazuje na statistički značajnu razliku između dve grupe uzoraka.

Na osnovu dobijenih rezultata za masnokiselinski sastav ispitanih uzoraka izračunat je sadržaj n-3 i n-6 PNMK kao i odnos n-3/n-6. Odnos n-3/n-6 masnih kiselina u uzorcima hrane u decembarskom periodu bio je 0,87, a u martu 1,58. Kod fileta pastrmke n-3/n-6 odnos je bio 1,13 u decembru, odnosno 2,41 u martu. Sadržaj holesterola u filetima pretkonzumne pastrmke, uzorkovanim u decembru i martu, bio je 43,84 mg/100 g i 46,02 mg/100 g respektivno.

Ključne reči: kalifornijska pastrmka, hrana, ukupna mast, holesterol, masne kiseline.

Uvod

Promene navika populacije u konzumiranju ribe, kao i sve veća potrošnja ribe iz akvakulture, nameću dilemu koja se odnosi na kvalitet i kvantitet dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) u ribi iz akvakulture, a koje su od interesa za javno zdravlje. Sve je više studija u literaturi koje se sprovode radi ispitivanja masnokiselinskog sastava ribe iz akvakulture sa namerom da se ukaže na njen nutritivni značaj, u odnosu na iste vrste riba iz slobodnog izlova (Weaver i dr., 2008). Kon-

statovano je da, od 30 vrsta riba iz akvakulture i slobodnog izlova, najveće količine n-3 PNMK sadrže gajeni losos i gajena pastrmka (više od 4 g/100 g). Najveće varijacije u sadržaju n-3 masnih kiselina ustanovljene su kod pastrmke kao posledica različitih načina uzgoja i ishrane ribe, u različitim akvakulturnim uslovima.

Povoljan uticaj n-3 PNMK iz mesa ribe na zdravlje čoveka dokazan je u mnogim studijama (Von Shacky, 2001; Mozaffarian i dr., 2004), kojima se potvrđuje povezanost potrošnje ribe sa njenim uticajem na sprečavanje nastanka koronarnih obo-

* **Napomena:** predstavljeni rezultati su proistekli iz rada na realizaciji Projekta „Monitoring vodenih ekosistema u cilju dobijanja higijenski ispravnih i kvalitetnih akvakulturnih ptoizvoda, konkurentnih na tržištu EU“, ev. br. 20122, koji, u okviru Programa istraživanja u oblasti tehnološkog razvoja, finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

¹ Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

Autor za kontakt: Spirić Aurelija, aurelija@inmesbgd.com

ljenja, posebno infarkta miokarda, arterioskleroze, hipertenzije i drugih oboljenja kardiovaskularnog sistema. Neki podaci iz literature ukazuju da povećano unošenje ribe (20 g/dan) smanjuje rizik od nastanka kardiovaskularnih bolesti sa fatalnim ishodom za 7 procenata (He i dr., 2004). Stav američkog udruženja za srce (American Heart Association) je da bi zdrava populacija trebalo da jede ribu najmanje dva puta nedeljno, a populacija koja pati od kardiovaskularnih bolesti dnevno bi trebalo da unese u organizam, ukupno, 1 g EPA (eicosapentaenoic acid, pentaen-eikozonska kiselina, C20:5 n-3) i DHA (docosahexaenoic acid, heksaen-dokozonska kiselina, C22:6 n-3), (Lichtenstein i dr., 2006). Mehanizam koji je odgovoran za povoljan uticaj n-3 PNMK na organizam čoveka je višestruk i njegovo sagledavanje prevazilazi okvire ovog rada. Osim sprečavanja koronarnih oboljenja (Yaqoob, 2004; Mozaffarian i dr., 2005) i smanjenja pojave hipertenzije (Calder, 2001), povoljan uticaj n-3 PNMK ogleda se i u prevenciji inflamatornih (Moreno i Mitjavila, 2003), autoimunih (Zamaria, 2004) i malignih oboljenja (Terry i dr., 2004), dijabetesa (Nettleton i Katz, 2005) i drugo.

Nekontrolisana i dugotrajna eksploatacija morskih resursa kao i saznanja o povoljnom uticaju n-3 PNMK iz mesa ribe na zdravlje čoveka, doprinela su, u poslednje vreme, značajnim ulaganjima u akvakulturu i njenoj ekspanziji u mnogim zemljama sveta. Sve veća potrošnja ribe iz akvakulture nameće i određene zahteve u pogledu njenog nutritivnog sastava, odnosno sadržaja polinezasićenih masnih kiselina. Istraživanja Cahu i dr., 2004. ukazuju da se slatkovodna riba ne sme da zanemaruje kao nosilac n-3 PNMK, zbog činjenice da ta vrsta ribe poseduje veću sposobnost desaturacije kraćih masnih kiselina i njihove transformacije u duže, EPA i DHA, u odnosu na morsku ribu. Na taj način se hrana manje nutritivne vrednosti pretvara u hranu koja ima veći značaj u ishrani čoveka. Poznata je činjenica da slatkovodna riba iz slobodnog izlova, u odnosu na gajenu ribu iste vrste, sadrži manje masti i veće količine EPA i DHA, kada se ove vrednosti izražavaju kao procentualni udeo ukupnih masnih kiselina. Međutim, treba da se ima u vidu činjenica da riba iz akvakulture sadrži veći procenat ukupne masti i da je, kada se vrednosti za PNMK izražavaju na 100 g ribe, unos EPA i DHA u organizam čoveka veći kada se konzumira gajena riba.

Rezultati koje su dobili Cahu i dr., 2004. ukazuju da riba iz akvakulture, iako ima veći sadržaj masti, ima isti sadržaj holesterola (izražen kao g/100 g) kao i ista vrsta ribe iz slobodnog izlova. Međutim, drugi izvori iz literature (Moreira i dr., 2001) ukazuju da se sadržaj holesterola u slatkovodnoj ribi iz slo-

bodnog izlova i akvakulture razlikuje i da zavisi od vrste ribe. Kod nekih vrsta riba nema značajnijih razlika, a kod drugih se sadržaj holesterola razlikuje i za 10 mg/100 g. Mathew i dr., 1999. i Luzia i dr., 2003. konstatuju da je za ljudsko zdravlje pogodnija ishrana rečnom ribom, nego morskom i da je sadržaj holesterola u rečnoj ribi niži u odnosu na morsku ribu. S obzirom na klinička i epidemološka ispitivanja koja ukazuju na vezu između holesterola unetog hranom, holesterola u plazmi i arterioskleroze (Orban i dr., 2006) relativno nizak sadržaj holesterola, pored PNMK, čini pastrmku pogodnom za ishranu.

Neosporna je činjenica, što mnogobrojni podaci u literaturi i ukazuju, da ishrana ribe ima veliki uticaj na hemijski sastav, posebno na masnokiselinski sastav mesa ribe, ali na masnokiselinski sastav ribe utiču i mnogobrojni drugi činioci. Sadržaj lipida i sastav masnih kiselina kod ribe variraju unutar i između vrsta (Haliloglu i dr., 2002; Celik i Ali Gökçe, 2003), a mnogobrojni činioci, kao što su temperatura, kvalitet vode, vrsta i dostupnost hrane, sezona, uzrast i individualne razlike smatraju se značajnim činiocima koji doprinose ovim varijacijama (Grigorakis i dr., 2002; Skalli i Robin, 2004; Skalli i dr., 2006; Valente i dr., 2007; Robin i Skalli, 2007). Mnoga istraživanja ukazuju da masnokiselinski sastav hrane utiče na sastav masnih kiselina u mesu ribe (Caballero i dr., 2002; Tocher i dr., 2004; Valente i dr., 2007). Hrana bogatija n-3 masnim kiselinama, pri istim uslovima uzgoja, značajno utiče na povećanje odnosa n-3/n-6 PNMK u tkivima ribe (Bell i dr., 2001; Grisdale-Helland i dr., 2002; Person-Le Ruyet i dr., 2004; Skalli i dr., 2006). Unutar iste vrste masnokiselinski sastav jedinki može da varira u zavisnosti od pola, stanja ekosistema, uslova sredine i drugih činilaca. Rezultati nekih istraživanja ukazuju da temperatura vode značajno utiče na masnokiselinski sastav mesa kalifornijske pastrmke, ali i na masnokiselinski sastav mesa drugih vrsta riba iz akvakulture, a najznačajniji uticaj temperature se ogleda u desaturaciji masnih kiselina i njihovoj beta-oksidaciji, tako da sa smanjenjem temperature raste udeo nezasićenih masnih kiselina (Cordier i dr., 2002; Tocher i dr., 2004).

Akvakultura, kao privredna grana u Srbiji, nije dovoljno razvijena i obuhvata, najvećim delom, gajenje ribe (više od 95 posto) u šaranskim i pastrmskim ribnjacima. Pastrmka je, posle šarana, riba koja je najviše zastupljena u ishrani stanovništva, a proizvodnja ove ribe u akvakulturi postaje sve intenzivnija. Proizvodnja pastrmke čini oko 15 posto od ukupne proizvodnje ribe i odvija se u ribnjacima sa hladnom vodom, u brdsko-planinskim delovima zemlje. Najvećim delom se gaji kalifornijska pastrmka (*Oncorhynchus mykiss*), u malim,

intenzivnim ili poluintenzivnim sistemima, bez prateće dokumentacije i zvaničnog nadzora. Na nacionalnom nivou je započet proces sagledavanja neophodnih aktivnosti za registraciju objekata u akvakulturi, a proizvođači izražavaju spremnost za uvođenje dobre proizvođačke prakse (GMP) u objekte i, time, steknu uslove za izvoz ribe iz akvakulture na inostrana tržišta. Prisutna je i podrška Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj kroz finansiranje naučnoistraživačkih projekata.

Cilj ovog rada bio je da se u pretkonzumnoj fazi uzgoja kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*), u zimskom periodu (decembar 2008. i mart 2009. godine), ispita osnovni hemijski i masnokiselinski sastav hrane, odnosno fileta ribe i sadržaj holesterola u mesu ribe. Na osnovu dobijenih rezultata za masnokiselinski sastav uzoraka pretkonzumne pastrmke i relevantne hrane predviđeno je da se izračuna sadržaj n-3 i n-6 polinezasićenih masnih kiselina, kao i n-3/n-6 odnos u filetima pastrmke i hrani, i da se, statističkom analizom, ustanovi da li postoji značajna korelacija između masnokiselinskog sastava hrane i sastava masnih kiselina u mesu ribe. Takođe je predviđeno i da se utvrdi da li postoji značajna razlika u masnokiselinskom sastavu ribe u različitom periodu uzgoja.

Materijal i metode

Uzimanje uzoraka

Pretkonzumna kalifornijska pastrmka uzorkovana je početkom decembra 2008. i marta 2009. godine, u punosistemnom odgajalištu kalifornijske pastrmke sa nezavisnim snabdevanjem vode, koji je situiran u brdsko-planinskom delu centralne Srbije. Na dan uzimanja uzoraka temperatura vode je bila 10°C (decembar) i 14°C (mart). Pastrmka je hranjena kompletnom hranom za ribe (proizvođač „Aller Aqua“, Poljska), koja je sadržala: riblje brašno, sojinu pogaču, riblje ulje, repičinu pogaču i repičino ulje, suncokretovu pogaču i pšenicu.

Uzorci pretkonzumne pastrmke uzeti su i početkom marta 2009. godine iz istog ribnjaka. Temperatura vode u ribnjaku na dan uzimanja uzoraka bila je 14°C. Pastrmka je hranjena smešom sličnog sastava, istog proizvođača, kao i decembra meseca.

Uzorci su, do laboratorijskih ispitivanja, čuvani na -18°C. Posle odmrzavanja, riba je eviscerirana i uklonjeni su glava, rep i peraja, zatim koža i kičmeni stub. Za potrebe ispitivanja, fileti ribe su homogenizovani, a ispitivanje osnovnog hemijskog sastava započeto je odmah posle odmrzavanja i homogenizacije ribe. Za određivanja masnih kiselina i holesterola uzorci su čuvani u tamnim plastičnim kesama, na -18°C do instrumentalnog određivanja.

Analiza hemijskog sastava ribe i hrane za ribe

Sadržaj proteina (N x 6,25) određen je metodom po Kjeldahlu, na aparatu Kjeltex Auto 1030 Analyzer (Manual book, Tecator, Sweden). Sadržaj vode određen je sušenjem na 103 ± 2°C, do konstantne mase (SRPS ISO metode). Ukupna mast određena je ekstrakcijom petroletrom po Soxhletu, nakon kisele hidrolize uzorka (SRPS ISO metode). Sadržaj pepela određen je merenjem mase ostatka nakon žarenja na 550 ± 25°C (SRPS ISO metode).

Ekstrakcija ukupnih lipida za određivanje masnih kiselina

Ukupni lipidi, za određivanje masnih kiselina, ekstrahovani su metodom ubrzane ekstrakcije rastvaračima (Accelerated solvent extraction, ASE) na aparatu Dionex ASE 200. Homogenizovani uzorak, pomešan sa dijetomejskom zemljom, ekstrahovan je smešom n-heksana i izo-propanola (60:40 v/v) u 33 ml ekstrakcionoj ćeliji, na temperaturi od 100°C i pod pritiskom azota od 10,3 MPa. Dobijeni ekstrakti su upareni u struji azota, na aparatu Dionex SE 500, na 50°C, do suvog ostatka masti. Ekstrahovana mast dalje je korišćena za određivanje masnih kiselina.

Analiza sastava masnih kiselina

Metilestri masnih kiselina pripremljeni su transesterifikacijom sa trimetilsulfonijum-hidroksidom, prema metodi SRPS EN ISO 5509:2007. Metilestri su razdvojeni na polarnoj cijanopropil-aril koloni HP-88 (dužina kolone 100 m, unutrašnji prečnik 0,25 mm, debljina filma 0,20 μm, Agilent, USA), u programiranom temperaturnom opsegu, na kapilarnom gasnom hromatografu Shimadzu 2010 (Kyoto, Japan), sa plameno-jonizujućim detektorom. Temperatura injektora bila je 250°C, a detektora 280°C. Kao noseći gas korišćen je azot, sa protokom 1,33 ml/min i odnosom splita 1:50. Injektovana zapremina iznosila je 1 μl, a ukupno vreme trajanja analize 50,50 minuta. Metilestri masnih kiselina su identifikovani na osnovu retencionih vremena, poređenjem sa retencionim vremenima smeše metilestara masnih kiselina u standardu, Supelco 37 Component FAME Mix (Supelco, Bellefonte, USA).

Određivanje sadržaja holesterola u mesu ribe

Određena masa mišićnog tkiva ribe je, bez prethodne ekstrakcije lipida, saponifikovana, prema metodi *Maraschiella i dr.*, 1996. Nakon saponifikacije i ekstrakcije lipida, ekstrakti su upareni u struji azota. Suvi ostatak je rekonstituisan u odgovarajućoj smeši rastvarača i, određena zapremina injektovana u HPLC/PDA sistem.

Sadržaj holesterola je određen na aparatu HPLC Waters 2695 Separation modul, sa Waters 2996 Photodiodearray detektorom (PDA). Hromatografsko razdvajanje je postignuto na Phenomenex Luna C₁₈₍₂₎ koloni (150 mm × 3,0 mm, veličina čestice 5 μm), sa odgovarajućom pretkolonom, izokratno, sa mobilnom fazom izopropanol-acetonitril, 20 posto : 80 posto v/v. Injektovana zapremina bila je 10 μl. Holesterol je određivan apsorpcijom na talasnoj dužini 210 nm. Analitički prinos (Recovery) za ispitivane količine bio je od 66,30 posto do 74,80 posto. Sadržaj holesterola izračunat je eksternom kalibracijom. Za kontrolu sistema, akviziciju podataka i njihovu obradu korišćen je Empower Pro softver.

Metode statističke obrade podataka

Srednje vrednosti dveju serija podataka koji se odnose na masnokiselinski sastav hrane za pretkonzumnu pastrmku, za period decembar 2008, odnosno mart 2009, poređene su uporednim (paired) *t*-testom.

Za statističko izračunavanje korelacije sastava masnih kiselina u uzorcima hrane sa masnokiselinskim sastavom uzoraka pastrmke, u odgovarajućem periodu uzimanja uzoraka, korišćen je softverski paket Microsoft Office Excell 2007 i njegov standardni dodatak za analizu podataka, Data Analysis ToolPack.

Da bi se utvrdilo postojanje razlike između masnokiselinskog sastava za dvanaest uzoraka fileta pastrmke, šest iz decembra i šest iz marta, urađena je analiza glavne komponente (PCA, Principal Component Analysis). Pri tome je korišćena probna verzija softverskog paketa NCSS (www.ncss.com).

Kako bi se objektivno potvrdilo postojanje razlika masnokiselinskog sastava između dve grupe uzoraka fileta pastrmke urađen je Hottelingov *T*² test za poređenje dve populacije multivarijantnih objekata.

Rezultati i diskusija

U tabeli 1 prikazan je hemijski sastav fileta pastrmke, sadržaj holesterola, kao i hemijski sastav hrane za uzgoj pretkonzumne pastrmke. Dobijeni rezultati ukazuju da je hemijski sastav hrane bio približno isti u decembru i martu mesecu. Hemijski sastav fileta pastrmke se, takođe, bitno ne razlikuje, sa izuzetkom sadržaja masti koji je u martu, u odnosu na decembar, veći za oko jedan posto, a sadržaj vode je za isti iznos manji.

Sadržaj holesterola u filetima pretkonzumne pastrmke, uzorkovanim u decembru i martu, iznosi $43,84 \pm 0,77$ mg/100 g, odnosno $46,02 \pm 7,86$ mg/100 g i u martu je veći za 2,18 mg/100 g u odnosu na decembar mesec. Vrednosti koje su dobijene u okviru naših istraživanja su nešto veće od vrednosti koje su dobili Kopicova i Vavreanova, 2007 (41 mg/100 g, za pastrmku *Salmo trutta*), a znatno veće od vrednosti za jezersku pastrmku u Turskoj, 35,04 mg/100 g (Celik i dr., 2008). Prema podacima USDA, 2005, sadržaj holesterola u mesu pastrmke *S. gairdneri* je znatno veći (59 mg/100 g) od naših vrednosti. Studija sprovedena na mnogim rečnim ribama (Moreira i dr., 2001), pokazala je da je sadržaj holesterola između 40,99 i 52,79 mg/100 g, a može da bude i veći, 60–65 mg/100 g (pastrmka *Salmo gairdneri*), (Piironen i dr., 2002).

Tabela 1. Hemijski sastav i sadržaj holesterola u filetima pastrmke i hemijski sastav hrane za uzgoj pretkonzumne pastrmke (srednja vrednost ± standardna devijacija), n = 6

Table 1. Chemical composition and cholesterol content of trout filets and chemical composition of feed (mean value ± standard deviation), n = 6

Parametri/ Parameters	Decembar/December		Mart/March	
	Pastrmka/Trout	Hrana/ Feed	Pastrmka/Trout	Hrana/ Feed
Sadržaj proteina, %/ Protein content %	17,56 ± 0,28	41,45 ± 0,10	17,67 ± 0,36	39,70 ± 0,11
Sadržaj vlage, %/ Moisture content %	78,68 ± 0,53	6,80 ± 0,02	77,59 ± 0,45	7,83 ± 0,01
Sadržaj masti, %/ Fat content%	2,01 ± 0,63	20,44 ± 0,21	2,94 ± 0,31	20,82 ± 0,08
Sadržaj pepela, %/ Ash content %	1,38 ± 0,06	6,03 ± 0,03	1,35 ± 0,06	6,00 ± 0,02
Sadržaj ugljenih hidrata (računski), %/ Carbohydrates content (calculated), %	0,37	25,28	0,45	25,65
Sadržaj holesterola, mg/100g / Cholesterol content mg/100g	43,84 ± 0,77	–	46,02 ± 7,86	–

U tabeli 2 prikazane su srednje vrednosti ($n = 6$) masnokiselinskog sastava fileta pastrmke i hrane za njen uzgoj, izražen kao procenat od ukupnih masnih kiselina, uzorkovano decembra 2008. i marta 2009. godine.

Sastav masnih kiselina u uzorcima hrane i fileta pastrmke u decembru i martu shematski je prikazan na grafikonu 1. Korelacijom sastava masnih kiselina u uzorcima hrane sa sadržajem masnih kiselina u uzorcima pastrmke dobijene su navedene

Tabela 2. Sastav masnih kiselina (% od ukupnih masnih kiselina) u filetima pastrmke i hrani za ishranu pastrmke (srednja vrednost \pm standardna devijacija), $n = 6$

Table 2. Fatty acids composition (% of total fatty acids) in trout filets and feed (mean value \pm standard deviation), $n = 6$

Masne kiseline, %/ Fatty acids %	Decembar/December		Mart/March	
	Pastrmka/Trout	Hrana/ Feed	Pastrmka/Trout	Hrana/ Feed
14:0	3,69 \pm 0,11	4,44 \pm 0,20	4,03 \pm 0,25	4,28 \pm 0,02
15:0	0,33 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	–	–
16:0	18,94 \pm 0,30	13,87 \pm 0,77	16,45 \pm 1,32	13,06 \pm 0,06
16:1	4,76 \pm 0,01	4,29 \pm 0,04	4,70 \pm 0,27	4,74 \pm 0,04
17:0	–	0,22 \pm 0,02	–	–
17:1	–	–	0,58 \pm 0,05	0,77 \pm 0,01
18:0	4,33 \pm 0,10	2,72 \pm 0,18	3,30 \pm 0,33	2,63 \pm 0,03
18:1 n-9	29,72 \pm 0,89	33,21 \pm 0,58	27,72 \pm 1,64	34,71 \pm 0,03
18:1 n-11	3,22 \pm 0,05	2,82 \pm 0,06	3,12 \pm 0,15	3,12 \pm 0,02
18:2 n-6	11,05 \pm 0,46	12,79 \pm 0,20	9,51 \pm 0,45	12,18 \pm 0,08
18:3 n-6	–	0,37 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02	–
18:3 n-3	1,86 \pm 0,09	–	2,97 \pm 0,21	5,10 \pm 0,05
20:1 n-9	3,40 \pm 0,22	5,41 \pm 0,08	2,27 \pm 0,17	1,45 \pm 0,02
20:2 n-6	0,49 \pm 0,02	0,15 \pm 0,01	0,42 \pm 0,06	0,13 \pm 0,01
20:3 n-6	0,52 \pm 0,05	0,25 \pm 0,01	0,44 \pm 0,07	0,53 \pm 0,03
20:3 n-3	3,13 \pm 0,06	–	2,12 \pm 0,23	1,34 \pm 0,01
22:1+20:4	0,99 \pm 0,04	3,26 \pm 0,01	0,93 \pm 0,04	0,62 \pm 0,01
20:5 n-3	2,33 \pm 0,30	7,18 \pm 0,11	5,54 \pm 0,86	8,66 \pm 0,01
22:5 n-3	1,28 \pm 0,12	0,14 \pm 0,01	1,97 \pm 0,23	1,10 \pm 0,01
22:6 n-3	6,16 \pm 1,04	4,43 \pm 0,05	11,69 \pm 2,24	3,89 \pm 0,01
ZMK/SFA	24,72 \pm 2,55	21,54 \pm 1,19	23,78 \pm 1,86	20,32 \pm 0,11
MNMK/MUFA	39,52 \pm 2,98	45,74 \pm 0,75	38,69 \pm 1,96	44,80 \pm 0,07
PNMK/PUFA	30,15 \pm 1,41	28,59 \pm 0,33	34,83 \pm 3,11	32,96 \pm 0,15
Σ n-6	13,06 \pm 0,53	13,57 \pm 0,19	10,09 \pm 0,49	12,72 \pm 0,11
Σ n-3	14,77 \pm 1,51	11,76 \pm 0,15	24,31 \pm 3,04	20,11 \pm 0,04
Σ n-3/ Σ n-6	1,13 \pm 0,08	0,87 \pm 0,01	2,41 \pm 0,32	1,58 \pm 0,01

Legenda/Legend:

ZMK/SFA – zasićene masne kiseline/saturated fatty acids

MNMK/MUFA – mononezasićene masne kiseline/monounsaturated fatty acids

PNMK/PUFA – polinezasićene masne kiseline/polyunsaturated fatty acids

Za poređenje srednjih vrednosti dveju serija podataka koji se odnose na masnokiselinski sastav hrane za pretkonzumnu pastrmku, za period decembar, odnosno mart, primenjen je uporedni (paired) t -test. Pri tome je dobijena vrednost parametra $t_{eksp} = 0,316$, dok je tablična vrednost $t_{crit} = 2,093$, za nivo značajnosti $p \leq 0,05$. Kako je izračunata vrednost (0,316) niža od kritične (2,093) može da se zaključi da ne postoji statistički značajna razlika u sastavu hrane koja je korišćena za ishranu ribe u navedena dva vremenska perioda.

vrednosti Pearsonovog korelacionog koeficijenta, za merenja koja se odnose na mart i decembar, redom: $r = 0,9422$ i $r = 0,9584$. Njima odgovarajuće vrednosti parametra t iznose 11,933 i 14,253 ($t_{crit} = 2,10$), koje ukazuju na statističku značajnost oba korelaciona koeficijenta na nivou signifikantnosti $p \leq 0,05$. Drugim rečima, postoji statistički značajna korelacija između masnokiselinskog sastava hrane i masnokiselinskog sastava ispitanih uzoraka ribe, iako navedeni statistički podaci za hranu uka-

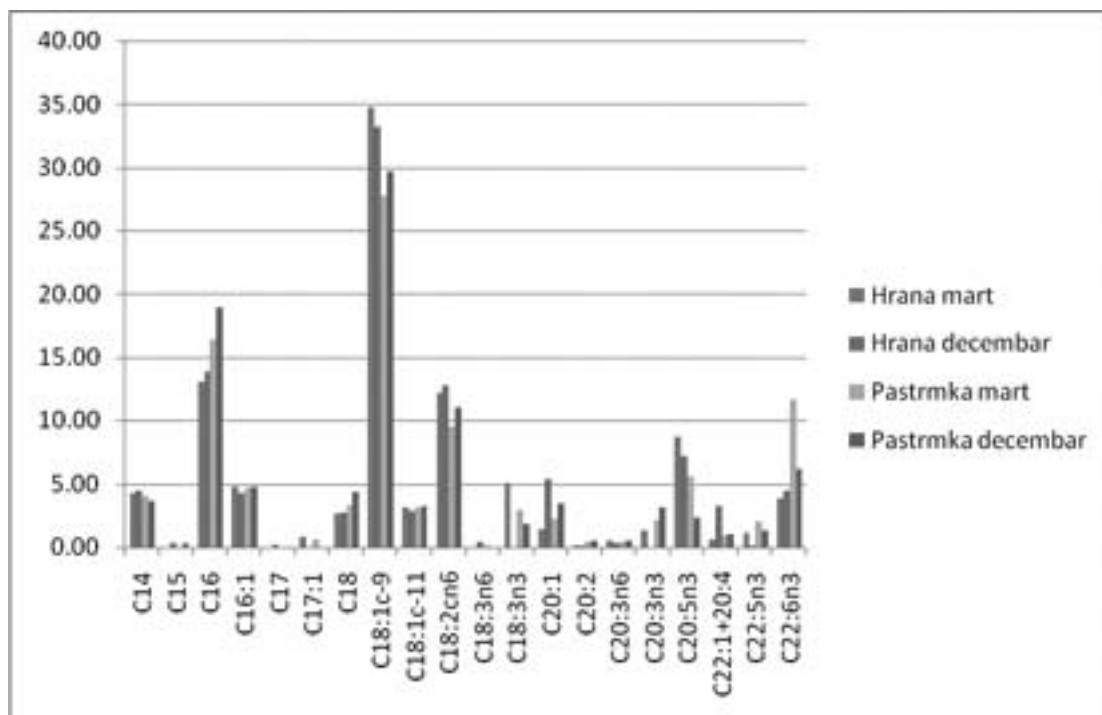
zuju da ne postoji statistički značajna razlika u sastavu hrane koja je korišćena za ishranu ribe u navedena dva vremenska perioda.

Dobijeni rezultati za statističku značajnost korelacije između masnokiselinskog sastava hrane i masnokiselinskog sastava ispitanih uzoraka ribe su u saglasnosti sa rezultatima velikog broja autora (Caballero i dr., 2002; Tocher i dr., 2004; Valente i dr., 2007), koji su ustanovili da masnokiselinski sastav hrane utiče na sastav masnih kiselina u mesu ribe i da hrana bogatija n-3 masnim kiselinama, pri istim uslovima uzgoja, utiče na povećanje odnosa n-3/n-6 PNMK u tkivima ribe (Bell i dr., 2001; Grisdale-Helland i dr., 2002; Person-Le Ruyet i dr., 2004; Skalli i dr., 2006).

Iako se na grafikonu 1 jasno uočava pravilnost kojom sastav ribe prati sastav hrane, uočavaju se

đeno je da tri glavne komponente obuhvataju ukupnu varijabilnost podataka sa 97,79 posto, od toga prva komponenta 90,11 posto, a kumulativno sa drugom 94,64 posto. Vrednosti skorova, odnosno njihove uzajamne projekcije, prve dve glavne komponente za ispitivane uzorke prikazane su na grafikonu 2. Na grafikonu se jasno uočavaju dve grupe koje odvajaju uzorke prema vremenu ispitivanja (mart i decembar). Uzorci od 1 do 6 potiču iz meseca marta, dok su uzorci od 7 do 12 locirani u mesecu decembru.

Grafički prikaz uzajamne projekcije dvaju svojstvenih vektora (grafikon 3) ukazuje da promenljive 5, 10, 11, 16, 18, 19 (što odgovara masnim kiselinama C17:1, C18:3 n-6, C18:3 n-3, C20:5 n-3, C22:5, C22:6 n-3) najviše doprinose sa pozitivnim predznakom varijabilitetu skorova prve komponente, dok je promenljiva 7 (C18:1 n-9) dominantna sa



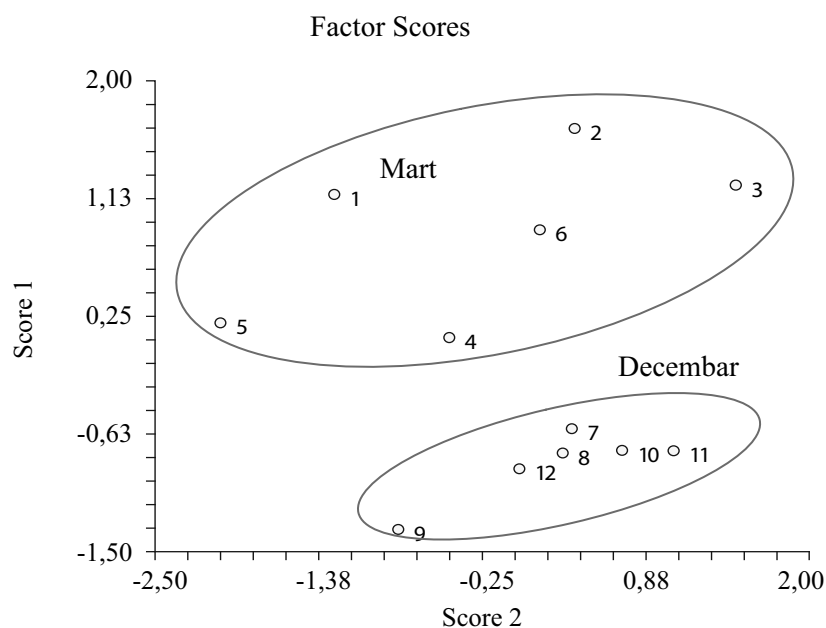
Grafikon 1. Sastav sadržaja masnih kiselina u filetima pastrmke i hrani, u decembru 2008. i martu 2009. godine.

Graph 1. Fatty acids composition in trout filets and feed in December 2008 and March 2009

i neke razlike. Naime, većina masnih kiselina u filetima ribe ima veći sadržaj u decembru u odnosu na mart mesec. Od ovoga odstupa masna kiselina C22:6 n-3, (DHA), kod koje je situacija obrnuta, tj. njena procentualna zastupljenost je upola manja u decembru nego u martu, iako ne postoji razlika u sadržaju pomenute kiseline u hrani. Da bi se utvrdilo postojanje razlike između masnokiselinskog sastava za dvanaest uzoraka fileta pastrmke, šest iz decembra i šest iz marta, urađena je analiza glavne komponente (PCA, Principal Component Analysis). Utvr-

negativnim predznakom. Drugim rečima, veći sadržaj ukupnih PNMK (34,83 posto) u filetima pastrmke uzorkovane u martu, u odnosu na decembar (30,15 posto), upravo potiče od većeg sadržaja esencijalnih masnih kiselina, linolenske (2,97 posto), EPA (5,54 posto) i DHA (11,69 posto) u odnosu na sadržaj istih u decembru mesecu (tabela 2).

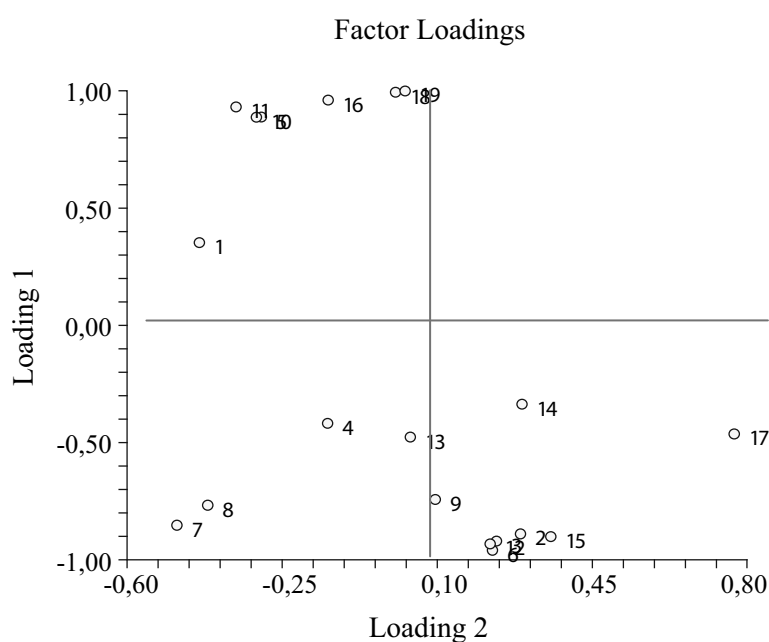
Kako bi se razlika između ove dve grupe objektivno potvrdila, urađen je Hottellingov T^2 test za poređenje dve populacije multivarijantnih objekata (uzoraka fileta pastrmke), pri čemu su kao



Grafikon 2. Vrednosti skorova prve i druge glavne komponente za 12 uzoraka fileta pastrmke
Graph 2. Score values of the first and second principal component for 12 samples of trout filets

promenljive uzete vrednosti skorova prve tri glavne komponente. Vrednost parametra T^2 , pri tome, iznosi 331,6, dok kritična vrednost za nivo značajnosti od $p \leq 0,05$ iznosi 15,3, što jasno ukazuje na statistički značajnu razliku između dve grupe uzoraka. Rasipanje uzoraka u prostoru glavnih komponenti znatno je veće kod grupe iz marta u odnosu na decembar mesec, na šta ukazuju vrednosti standardne zapremine podataka, koje redom iznose: $9,44 \cdot 10^{-7}$ i $1,47 \cdot 10^{-7}$.

Istraživanja *Cordier i dr.*, 2002; *Tocher i dr.*, 2004. ukazuju da unutar iste vrste, masnokiselinski sastav jedinki može da varira u zavisnosti od pola, stanja ekosistema, uslova sredine i drugih činilaca, što, u našem slučaju, objašnjava rasipanje uzoraka u prostoru glavnih komponenti koje je znatno veće kod grupe iz marta (izdiferencirane jedinke, veća polna zrelost) u odnosu na decembar mesec.



Grafikon 3. Projekcije svojstvenih vektora koji odgovaraju prvim dvema glavnim komponentama
Graph 3. Projections of proprietary vectors corresponding to two major components

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može da se zaključi da ne postoji statistički značajna razlika u sastavu hrane koja je korišćena za ishranu ribe u ispitivana dva vremenska perioda (decembar 2008. i mart 2009).

Između masnokiselinskog sastava hrane i masnokiselinskog sastava ispitanih uzoraka fileta ribe postoji statistički značajna korelacija, ali, s obzirom da ne postoji statistički značajna razlika u glavnim komponentama hrane za ishranu ribe, u dva vremenski odvojena perioda, razlike u masnokiselinskom sastavu ribe su, verovatno, uslovljene promenama u stanju ekosistema (temperatura, pH, količina kiseonika i drugo).

Odnos n-3/n-6 masnih kiselina u uzorcima hrane u decembarskom periodu bio je 0,87, a u martu 1,58. Kod fileta pastrmke n-3/n-6 odnos je bio 1,13 u decembru, odnosno 2,41 u martu.

Sadržaj holesterola u filetima pretkonzumne pastrmke, uzorkovanim u decembru i martu, iznosio je $43,84 \pm 0,77$ mg/100 g, odnosno $46,02 \pm 7,86$ mg/100 g, tj. u martu je bio veći za 2,18 mg/100 g u odnosu na decembar mesec.

Dalja istraživanja u akvakulturi treba da budu usmerena ka proučavanju potrebnih količina energetskih komponenti, kao i masnih kiselina u hrani za ribu, koje će doprineti dostizanju optimalnih proizvodnih rezultata, kao i količina n-3 masnih kiselina u mesu ribe koje su neophodne za očuvanje zdravlja potrošača.

Literatura

- Bell J. G., McEvoy J., Tocher D. R., McGhee F., Campbell P. J., Sargent J. R., 2001. Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition*, 131, 1535–1543.
- Caballero M. J., Obach A., Rosenlund G., Montero D., Gisvold M., Izquierdo M. S., 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Agriculture*, 214, 253–271.
- Cahu C., Salen P., de Lorgeril M., 2004. Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible differences in lipid nutritional values. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 14, 34–41.
- Calder P. C., 2001. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Lipids*, 36, 1007–1024.
- Celik M., Ali Gökçe M., 2003. Determination of fatty acid compositions of five different tilapia species from the Çukurova (Adana/Turkey) region. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 75–79.
- Celik M., Gökçe M. A., Basusta N., Kucuekguelmez A., Tasbozan O., Tabakoglu, S. S., 2008. Nutritional quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) caught from the Atatürk Dam Lake in Turkey. *Journal of Muscle Foods*, 19, 1, 50–61.
- Cordier M., Brichon G., Weber J. M., Zwingelstein G., 2002. Changes in the fatty acid composition of phospholipids in tissues of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during an annual cycle. Roles of environmental temperature and salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 133, 281–288.
- Grigorakis K., Alexis M. N., Taylor K. D. A., Hole M., 2002. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 477–484.
- Grisdale-Helland B., Ruyter B., Rosenlund G., Obach A., Helland S. J., Sandberg M. G., Standal H., Rosjo C., 2002. Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar*) raised at two temperatures. *Aquaculture*, 207, 311–329.
- Haliloğlu H. I., Aras N. M., 2002. Comparison of muscle fatty acids of three trout species (*Salvelinus alpinus*, *Salmo trutta fario*, *Oncorhynchus mykiss*) raised under the same conditions. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26, 1097–1102.
- He K., Song Y., Daviglus M. L., Liu K., Van Horn L., Dyer A. R., Grenland P., 2004. Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality: A meta-analysis of cohort studies. *Circulation*, 109, 2705–2711.
- Kopicova Z., Vavreinova S., 2007. Occurrence of squalene and cholesterol in various species of Czech freshwater fish. *Czech Journal of Food Sciences*, 25, 4, 195–201.
- Lichtenstein A. H., Appel L. J., Brands M., Carnethon M., Daniels S., Franch H. A., Franklin B., Kris-Etherton P., Harris W. S., Howard B., Karanja N., Lefevre M., Rudel L., Sacks F., Van Horn L., Winston M., Wylie-Rosett J., 2006. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114, 82–96.
- Luzia L. A., Sampaio G. R., Castellucci C. M. N., Torres E. A. F. S., 2003. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry*, 83, 93–97.
- Maraschiello C., Diaz I., Regueiro J. A. G., 1996. Determination of cholesterol in fat and muscle of pig by HPLC and capillary gas chromatography with solvent venting injection. *Journal of High Resolution Chromatography*, 19, 165–168.
- Mathew S., Amnu K., Nair P. G. V., Devadasan K., 1999. Cholesterol content of Indian fish and shellfish. *Food Chemistry*, 66, 455–461.
- Moreira A. B., Visentainer J. V., de Souza N. E., Matsushita M., 2001. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian *Brycon* freshwater fishes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 565–574.
- Moreno J. J., Mitjavila M. T., 2003. The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis (review). *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 182–195.
- Mozaffarian D., Psaty B. M., Rimm E. B., Lemaitre R. N., Burke G. L., Lyles M. F., Lefkowitz D., Siscovick D.

- S., 2004. Fish intake and risk of incident atrial fibrillation. *Circulation*, 110, 368–373.
- Mozaffarian D., Ascherio A., Hu F. B., Stampfer M. J., Willett W. C., Siscovick D. S., Rimm E. B., 2005.** Interplay between different polyunsaturated fatty acids and risk of coronary heart disease in men. *Circulation*, 111, 157–164.
- Nettleton J. A., Katz R., 2005.** n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: a review *Journal of the American Dietetic Association*, 105, 428–440.
- Orban E., Masci M., Nevigato T., Di Lena G., Casini I., Caproni R., Gambelli L., De Angelis P., Rampacci M., 2006.** Nutritional quality and safety of whitefish (*Coregonus lavaretus*) from Italian lakes. *Journal of Food Composition Analysis*, 19, 737–746.
- Person-Le Ruyet J., Skalli A., Dulau B., Le Bayon N., Le Delliou H., Robin J. H., 2004.** Does dietary n-3 highly unsaturated fatty acids level influence the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) capacity to adapt to a high temperature? *Aquaculture*, 242, 571–588.
- Piironen V., Toivo J., Lampi A. M., 2002.** New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 6, 705–713.
- Robin J. H., Skalli A., 2007.** Incorporation of dietary fatty acid in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) – A methodological approach evidencing losses of highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 263, 227–237.
- Skalli A., Robin J. H., 2004.** Requirement of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: growth and fatty acid composition. *Aquaculture*, 240, 399–415.
- Skalli A., Robin J. H., Le Bayon N., Le Delliou H., Person-Le Ruyet J., 2006.** Impact of essential fatty acid deficiency and temperature on tissues' fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 255, 223–232.
- Terry P. D., Terry J. B., Rohan T. E., 2004.** Long-chain (n-3) fatty acid intake and risk of cancers of the breast and the prostate recent epidemiological studies, biological mechanisms, and directions for future research. *Journal of Nutrition*, 134, 3412S–3420S.
- Tocher D. R., Fonseca-Madrigal J., Dick J. R., Ng W.-K., Bell J. G., Campbell P. J., 2004.** Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 137, 49–63.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference., 2005.** Release 18 from the nutrient data laboratory home page on the World Wide Web. http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl (accessed October 8, 2006).
- Valente L. M. P., Bandarra N. M., Figueiredo-Silva A. C., Rema P., Vaz-Pires P., Martins S., Prates J. A. M., Nunes M. L., 2007.** Conjugated linoleic acid in diets for large-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, chemical composition and sensory attributes. *British Journal of Nutrition*, 97, 289–297.
- Von Shacky C., 2001.** Clinical trials, not n-6 to n-3 ratios, will resolve whether fatty acids prevent coronary heart disease. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103, 423–427.
- Weaver K. L., Ivester P., Chilton J. A., Wilson M. D., Pandey P., Chilton F. H., 2008.** The content of favorable and unfavorable polyunsaturated fatty acids found in commonly eaten fish. *Journal of the American Dietetic Association*, 108, No. 7, 1178–1185.
- Yaqoob P., 2004.** Fatty acids and the immune system: from basic science to clinical applications. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63, 89–104.
- Zamaria N., 2004.** Alteration of polyunsaturated fatty acid status and metabolism in health and disease. *Reproduction Nutrition Development*, 44, 273–282.

Fatty acid composition, cholesterol and total fat content in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as influenced by fatty acids in diet

Spirić Aurelija, Trbović Dejana, Vranić Danijela, Đinović Jasna, Petronijević Radivoj, Milijašević Milan, Janković Saša, Radičević Tatjana

S u m m a r y: Long-term and uncontrolled exploitation of sea resources, as well as awareness of positive influence of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) on humans' health, contributed recently to increased demand for aquaculture which resulted in certain demands in respect to fish quality and nutritive value, i.e. n-3 PUFA composition.

The aim of this paper was to investigate basic chemical parameters, cholesterol content and fatty acids content of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during the breeding in winter season (December 2008 and March 2009) as well as to investigate basic chemical composition and fatty acids content of feed. In order to determine correlations of obtained results for fish and feed, we used modern statistical methods. The samples were collected in full-system breeding facility with independent water supply, situated in the mountainous area of central Serbia.

Using correlational analysis of fatty acids composition in food and trout samples, Pearson's correlation coefficient was calculated for measurements carried out in March and December: $r=0.9422$ and $r=0.9584$. Respective values of t-parameter were 11.933 and 14.253 ($t_{crit}=2.10$), which point to the statistical significance of both correlation coefficients at the significance level of $p=0.05$. Obtained results show that there is statistically significant correlation between fatty acids composition of feed and fatty acids composition of trout samples, although statistical data for feed (comparative t-test) show no statistical difference in feed composition.

By applying principal component analysis (PCA), two groups of results for fatty acids composition of trout filets were obtained, depending on time of experiment (December and March). Hotelling's T^2 test for comparison of two populations of multivariate objects was performed in order to objectively confirm the difference between the two groups of results. Value of T^2 is 331.6, while critical value for significance level of $p=0.05$ is 15.3. This clearly indicates significant difference between two groups of samples.

On the basis of obtained results for fatty acids composition in investigated samples, we calculated the content of n-3 and n-6 PUFA as well as n-3/n-6 ratio. This ratio was 0.87 in December and 1.58 in March for feed samples, while n-3/n-6 ratio for trout filet samples was 1.13 in December and 2.41 in March. Cholesterol content in trout filets samples taken in December and March was 43.84 mg/100g and 46.02 mg/100g respectively.

Key words: *Rainbow trout, feed, total fat, cholesterol, fatty acids.*

Rad primljen: 21.08.2009.

Rad prihvaćen: 5.10.2009.

Primena enrofloksacina u žvinarstvu kao potencijalni rizik za bezbednost hrane – rezidue veterinarskih lekova u jestivim tkivima*

Petrović Jelena¹, Stefanović Srđan², Baltić Ž. Milan³, Ratajac Radomir¹, Rackov Olga¹

S a d r Ź a j: Danas su u nauci o bezbednosti hrane definisane dve glavne opasnosti koje nastaju kao direktna posledica primene antimikrobnih lekova: rezidue u jestivim tkivima i razvijanje rezistencije zoonotskih patogena. Enrofloksacin, antimikrobni lek iz grupe fluorohinolona, u Srbiji je registrovan za upotrebu kod živine. Cilj naših ispitivanja bio je eliminisanje rizika za zdravlje potrošača na osnovu praćenja količina rezidua enrofloksacina i njegovog glavnog metabolita ciprofloksacina u tkivima lečenih brojlera. U ogledu je ispitano prisustvo rezidua u mesu i jetri pilića koji su tretirani propisanim, terapijskim dozama enrofloksacina. Sadržaj rezidua je ispitano mikrobiološkom inhibitornom i HPLC/FL metodom. Tokom pet dana aplikovanja leka i prva tri dana karence, koncentracije enrofloksacina i ciprofloksacina su bile veće od MDK vrednosti (MDK – maksimalno dozvoljene količine), propisanih u EU. Nakon propisanog aplikovanja enrofloksacina, sadržaj rezidua u jestivim tkivima smanjuje se do dozvoljenih količina (manje od MDK), tokom propisanog perioda karence od sedam dana. Međutim, i posle isteka karence rezidue se zadržavaju u jestivim tkivima u dužem vremenskom periodu. Rezidue enrofloksacina mogu da se dokažu u mesu sve do devetog dana nakon prekida terapije, dok se u jetri zadržavaju mnogo duže. Tek 22. dana posle prekida terapije nije potvrđeno prisustvo rezidua u jetri.

Ključne reči: bezbednost hrane, enrofloksacin, živina, rezidue, rizik.

Uvod

Sa upotrebom antimikrobnih lekova u humanoj medicini započeto je tridesetih godina prošloga veka. Nedugo zatim, počelo se sa primenom ovih lekova u veterinarskoj medicini, u terapiji mastitisa. Od tada je upotreba antimikrobnih lekova tako učestala, da se smatra da današnja intenzivna stočarska proizvodnja bez njih ne bi bila moguća. Fluorohinoloni su jedini potpuno sintetički antimikrobni lekovi koji se, po učestalosti upotrebe, mogu da takmiče sa beta-laktamima. Za dvadeset pet godina, od kako su uvedeni u kliničku upotrebu, razvili su se, od relativno malo važne grupe lekova za terapiju urinarnih infekcija, u grupu koja se široko koristi u celom svetu (Appelbaum i Hunter, 2000). Oni se smatraju skoro idealnim antimikrobnim lekovima, poseduju širok spektar antimikrobne aktivnosti, nisku toksičnost i odlične kliničke farmakokinetičke osobine, što predstavlja značajnu prednost u odnosu na ostale grupe antimikrobnih lekova. Fluorohinoloni (enrofloksacin, flumekvin, norfloksacin) zakonom su odobreni lekovi za lečenje živine u našoj

zemlji (Jezdimirović, 2002). U žvinarstvu se, najčešće, koriste u lečenju salmoneloze, kolibaciloze i pastereloze.

Bezbednost je osnovni prioritet u proizvodnji hrane u celom svetu. Bezbedna hrana je slobodna od rezidua, kontaminirana i patogenih mikroorganizama. Sagledavanje problema vezanih za namirnice otvara pitanje uticaja primarne proizvodnje na bezbednost hrane. Preterana upotreba antimikrobnih lekova u intenzivnom stočarstvu je realnost i samo je pitanje na koji način i u kojoj meri se odražava na ispravnost namirnica životinjskog porekla. Kao posledica upotrebe veterinarskih lekova kod životinja, u mesu se, kao i u ostalim namirnicama životinjskog porekla, mogu da nađu ostaci (rezidue) lekova i njihovih metabolita, koji namirnice čine higijenski neispravnim, jer mogu štetno da deluju na zdravlje ljudi. Mnogobrojna istraživanja ukazuju na ovu mogućnost i, pri tom, ističu značaj antimikrobnih lekova. Upotreba mesa, kao i drugih namirnica sa reziduama ovih lekova, često kod ljudi može da prouzrokuje nastajanje određenih neželjenih efekata. Promene u CNS-u (centralni nervni sistem) i

*Kratak sadržaj rada je objavljen u „Zborniku kratkih sadržaja“ sa Međunarodnog 55. savetovanja industrije mesa, održanog na Tari od 15. do 17. juna 2009.

¹ Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad, Rumenački put 2, 21 000 Novi Sad, Republika Srbija;

² Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11 000 Beograd, Republika Srbija;

³ Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

Autor za kontakt: Petrović Jelena, jelenap@niv.ns.ac.rs

gastrointestinalnom traktu, fototoksičnost, hondrotoksičnost, zapaljenje i pucanje tetiva, disbalans u humanoj digestivnoj mikroflori su neželjeni efekti vezani za fluorohinolone (Kidd i dr., 2000; Ouédraogo i dr., 2000; Stahlman i dr., 2000; Nagai i dr., 2002; Stahlmann, 2002; Hsiao i dr., 2005; Owens i Ambrose, 2005; Iannini, 2007). Posle terapijske primene ciprofloksacina, u SAD je ustanovljeno više od 30 slučajeva alergijskih reakcija kod ljudi, dok je u Evropi ustanovljeno 15 slučajeva alergijskih reakcija na ofloksacin i moksifloksacin. Neki od ovih slučajeva su se javili i prilikom prve aplikacije leka (Ho i Song, 2003). Upravo zato se meso sa ostacima antimikrobnih lekova proglašava higijenski neispravnim, odnosno neupotrebljivim za ishranu ljudi. Zbog rizika od pojavljivanja rezidua lekova u tkivima, u svetu su, danas, propisane vrednosti za maksimalno dozvoljene količine (MDK – engl. maximum residue limit – MRL) fluorohinolona u tkivima životinja koja se koriste za ishranu ljudi.

S obzirom da su fluorohinoloni antimikrobni lekovi od velikog značaja za živinarstvo, ne mogu da se isključe iz upotrebe i stoga ne mogu da se eliminišu kao izvor opasnosti za pojavljivanje rezidua. Procenom rizika, tj. kvalitativnom i kvantitativnom analizom verovatnoće da nastane rizik, dobija se polazna osnova za upravljanje rizikom i mogu da se eliminišu, ili smanje nepoželjni efekti upotrebe fluorohinolona. Cilj ovog rada bio je ispitivanje mogućnosti pojavljivanja potencijalnog hazarda za zdravlje potrošača posle tretiranja brojlera propisanom terapijskom dozom fluorohinolona, odnosno ispitivanje pojave i koncentracije rezidua u jestivim tkivima brojlera. Za praćenje pojavljivanja rezidua, postavljen je ogled na pilićima. Ispitano je pojavljivanje kao i količine rezidua enrofloksacina i njegovog glavnog metabolita ciprofloksacina u jetri i mesu, mikrobiološkom inhibitornom metodom, a potvrđivanje HPLC/Fl metodom.

Materijal i metode

Ogled

U ogled je uključeno 65 jednodnevnih pilića (*Arbor acres*). U starosti od 28 dana pilići su podeljeni u dve grupe. Grupa A (30 jedinki) bila je kontrolna grupa, koja nije tretirana antimikrobnim lekovima. Grupa B (35 jedinki) počev od 28. dana života, narednih pet dana, putem vode, tretirana je enrofloksacinom (10 mg/kg tt/dan). Za ogled je upotrebljen preparat Enrocin® 10% ad us. vet. (Hemovet, Srbija), koji sadrži 100 mg enrofloksacina u 1 ml rastvora. Pilići su žrtvovani dva dana pre početka terapije, tokom terapije, tokom trajanja

karence i nakon što je završen period karencije. Prilikom svakog uzorkovanja žrtvovana su po tri pileta i uzeti su uzorci grudnog mišića i jetre. Uzorci su čuvani na temperaturi od -20°C , do ispitivanja.

Kvalitativna analiza – mikrobiološka inhibitorna metoda

Standardi su nabavljeni od Sigma Company USA (enrofloksacin) i Bayer, Nemačka (ciprofloksacin). Za detekciju rezidua antimikrobnih lekova upotrebljena je mikrobiološka inhibitorna metoda na pločama sa test agarom pH 8,0 u koji je zasejan standardni soj *Escherichia coli* NCIMB 11595, prema postupku koji su opisali Petrović i dr., (2006). Uzorci mesa i jetre svih pilića koji su žrtvovani istog dana su ispitani odvojeno: tri uzorka mesa i tri uzorka jetre (svaki uzorak je ispitivan u 12 ponavljanja).

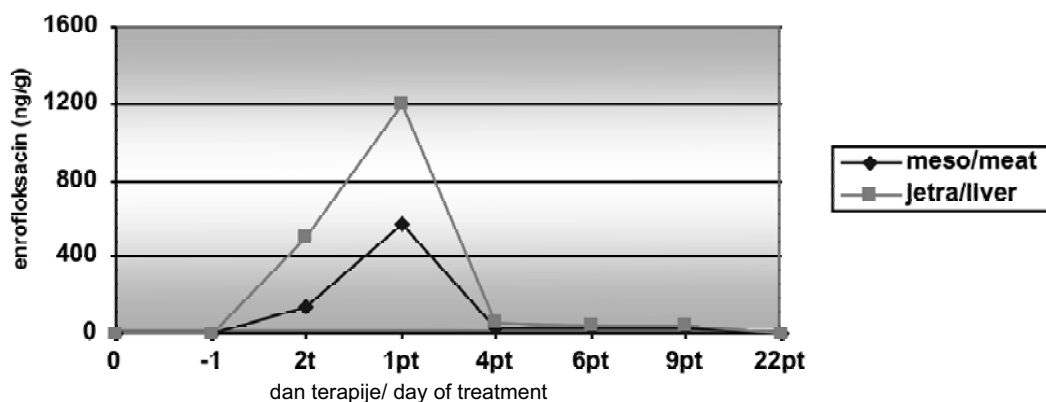
Kvantitativna analiza – HPLC sa fluorescentnom detekcijom

Hemikalije i analitički standardi za kvantitativnu analizu su nabavljeni od kompanija J. T. Baker, Holandija (metanol, acetonitril, n-hexan i fosforna kiselina) i Sigma, USA (enrofloksacin i ciprofloksacin). Za potvrđivanje rezidua enrofloksacina i ciprofloksacina u jetri i mesu korišćena je metoda tečne hromatografije (Ramos i dr., 2003) sa fluorescentnom detekcijom (ekscitaciona talasna dužina 280 nm i emisiona talasna dužina 455). Limit detekcije metode je 10 ng/g, a limit kvantifikacije 20 ng/g.

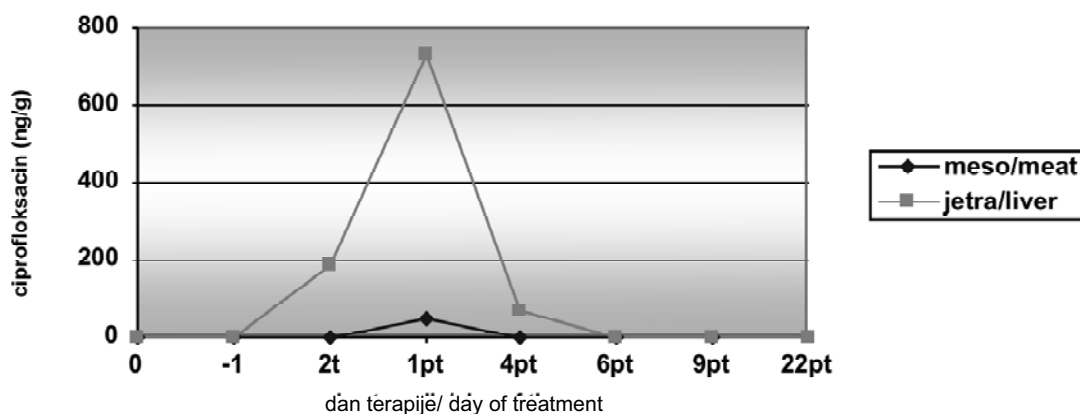
Za potrebe potvrđivanja, uzorci mesa i jetre svih pilića koji su žrtvovani istog dana, ispitani su kao dva uzorka: zbirni uzorak jetre i zbirni uzorak mesa.

Rezultati i diskusija

Rezultati ispitivanja količina rezidua su prikazani u grafikonima 1 i 2 i u tabelama 1–3. Tokom pet dana aplikovanja leka, koncentracija enrofloksacina u mesu i jetri je bila znatno viša od MDK vrednosti, a svi ispitani uzorci jetre i mesa su dali pozitivan rezultat mikrobiološkom inhibitornom metodom. Ciprofloksacin je glavni metabolit enrofloksacina, i sam poseduje antimikrobne osobine i proizvodi se kao gotov preparat za terapiju oboljenja i ljudi i životinja (Prescot i dr., 2000). Za procenu bezbednosti mesa, MDK vrednost je propisana kao zbir ova dva fluorohinolona (Council Regulation 2377/90). Ciprofloksacin je prvi put utvrđen u jetri, drugog dana terapije, dok ga u mesu nije bilo. Sadržaj rezidua je u svim merenjima bio statistički značajno veći u jetri ($p < 0,05$) u odnosu na meso, upravo zbog



Grafikon 1. Količina enrofloksacina u mesu i jetri pilića iz grupe B
Graph. 1. Enrofloxacin content in meat and liver of chickens from group B



Grafikon 2. Količina ciprofloksacina u mesu i jetri pilića iz grupe B
Graph. 2. Ciprofloxacin quantities in meat and liver of chickens from group B

Tabela 1. Rezidue enrofloksacina i ciprofloksacina (ng/g) u jetri i mesu pilića
Table 1. Enrofloxacin and ciprofloxacin residues (ng/g) in chicken muscle and liver

Dan/ day	ENROFLOKSACIN/ ENROFLOXACIN		CIPROFLOKSACIN/ CIPROFLOXACIN	
	Meso/meat	Jetra/liver	Meso/meat	Jetra/liver
-1	0,00	0,00	0,00	0,00
2 ^T	134,42	507,5	0,00	187,11
1 ^{PT}	577,78	1196,15	49,50	817,84
4 ^{PT}	28,19	54,67	0,00	68,36
6 ^{PT}	24,93	45,42	0,00	0,00
9 ^{PT}	24,79	45,24	0,00	0,00
22 ^{PT}	0,00	0,00	0,00	0,00
29 ^{PT}	/	0,00	/	0,00

^T – dan terapije, ^{PT} – dan posle prekida terapije, / – nije ispitivano;
^T – day of treatment, ^{PT} – post treatment day, / – not examined

Tabela 2. Određivanje prisustva rezidua mikrobiološkom metodom (zona inhibicije u mm)
Table 2. Determination of residues by microbiological method (inhibition zones in mm)

Dan/ day		\bar{x}	SD	SE	Cv	Iv	t	%pozit. %positive
-1	M	0,00	–	–	–	–	–	0,00
	J	0,00	–	–	–	–	–	0,00
2 ^T	M	12,62	1,088	0,272	8,62	3,00	–	100,00
	J	15,87	0,806	0,202	5,05	2,00	9,350*	100,00
1 ^{PT}	M	15,00	1,461	0,365	9,74	4,00	–	100,00
	J	16,19	1,276	0,319	7,88	3,00	3,721*	100,00
4 ^{PT}	M	1,42	–	–	–	9,00	–	16,67
	J	8,04	0,955	0,195	2,42	3,00	–	100,00
9 ^{PT}	M	0,00	–	–	–	–	–	0,00
	J	6,67	2,099	0,428	31,48	5,00	–	100,00
22 ^{PT}	M	0,00	–	–	–	–	–	0,00
	J	0,00	–	–	–	–	–	0,00

M – meso; J – jetra; ^T – dan terapije; ^{PT} – dan nakon terapije; * – statistički značajna razlika ($p < 0,05$);
M – meat; J – liver; ^T – treatment; ^{PT} – post treatment day; * – significant difference ($p < 0,05$)

Tabela 3. Statistički značajne razlike u širini zone inhibicije (mm) u jetri i mesu pilića

Table 3. Statistical significance of differences in inhibition zones width (mm) in chicken meat and liver

Dan/Day	Jetra/Liver			Meso/Meat
	9 ^{PT}	4 ^{PT}	1 ^{PT}	4 ^{PT}
2 ^T	16,73*	32,32*	1,32	2,25*
1 ^{PT}	21,64*	32,69*	–	11,22*
4 ^{PT}	3,48*	–	–	–

^T – dan terapije, ^{PT} – dan nakon terapije,
* – statistički značajna razlika ($p < 0,05$)
^T – treatment day, ^{PT} – post treatment day,
* – significant difference ($p < 0,05$)

intenzivnog metabolizma enrofloksacina u jetri, što je i dokazano HPLC/Fl merenjima. Koncentracija enrofloksacina i ciprofloksacina je statistički značajno rasla ($p < 0,05$) u tkivima do prvog dana karence, a zatim je naglo statistički značajno počela da opada ($p < 0,05$).

Nakon završetka terapije, koncentracije enrofloksacina i ciprofloksacina su bile više od MDK vrednosti sve do četvrtog dana karence. Do ovog dana koncentracija ciprofloksacina u mesu se smanjila ispod praga detekcije metode, dok ga je u jetri i dalje bilo u niskim koncentracijama sve do šestog dana posle prekida terapije.

Posle isteka karence detektovan je enrofloksacin u vrlo niskim koncentracijama. Tek 22. dana nakon prekida terapije nije potvrđeno prisustvo rezidua. Slični podaci o dugotrajnom zadržavanju rezidua u tkivima posle terapije enrofloksacinom su prijavljeni i u *EMEA izveštaju* (1998).

Bezbednost mesa se procenjuje na osnovu količine rezidua u tkivima i MDK vrednosti. MDK vrednosti za fluorohinolone nisu propisane u našoj zemlji, te su za procenu upotrebljene MDK vrednosti propisane u Evropskoj uniji. U Evropskoj uniji MDK vrednosti, propisane za zbir enrofloksacina i ciprofloksacina, su 100 ng/g, za meso i 200 ng/g, za jetru (*Council Regulation 2377/90*). Nakon pravilne, terapijske upotrebe enrofloksacina rezidui su prisutni u nedozvoljenim količinama do četvrtog dana karence u mesu i jetri živine. Slične podatke o padu koncentracije rezidua navode i drugi autori (*Schneider, 2001; Schneider i Donoghue, 2002; EMEA izveštaj, 1998*).

Izloženost opasnosti, u ovom slučaju rezidua, rezultat je uticaja mnogih činilaca na putu hrane od farme do trpeze. Poštovanje profilaktičkih mera u objektima za držanje živine smanjuju pojavljivanje oboljenja kod živine i potrebu za lečenjem fluorohinolonom. Ukoliko je terapija neophodna, poštovanjem propisanog načina tretiranja živine može da se kontroliše rizik od pojavljivanja rezidua. U našoj zemlji upotreba antimikrobnih lekova je liberalna i zato se javljaju različiti vidovi nepravilne upotrebe: angažovanje nestručnih lica, kod oboljenja

za koja nisu školovani, ili kod životinjskih vrsta za koje nisu namenjeni, predoziranje, a naročito subdoziranje, neadekvatna dužina aplikovanja leka i najrasprostranjeniji vid zloupotrebe – upotreba antimikrobnih lekova kao prečice za rešavanje uzgojnih problema. Kod nepravilne upotrebe antimikrobnih lekova nemoguće je da se prati period karence, a samim tim povećava se rizik od pojavljivanja zdravstveno neispravnog mesa na tržištu.

Mere za smanjenje opasnosti primenjuju se na svakom koraku, od proizvodnje životinja do upotrebe hrane. Pravilna primena ovih mera može značajno da umanja rizik. Na ovaj način se ističe pravi značaj primarne proizvodnje. Upravljanje rizikom počinje još na farmi, na kojoj se primenjuje pravilno držanje životinja i rukovanje antimikrobnim lekovima i time se obezbeđuje, ne samo dobro zdravlje životinja, već se smanjuje rizik od pojavljivanja rezidua. Da bi se očuvala efikasnost fluorohinolona u humanoj i veterinarskoj medicini i da bi se smanjio rizik po zdravlje ljudi, upotreba fluorohinolona mora da bude pod nadzorom. Prema *Van den Bogaard i Stobberingh* (2000), fluorohinoloni u veterinarskoj medicini ne bi trebalo da budu antimikrobni lekovi prvog, već trećeg izbora. Posledično, njih bi trebalo da prepisu životinjama za proizvodnju hrane samo veterinari, i to posle laboratorijske potvrde dijagnoze

i antibiograma. Ako je indikovana grupna terapija, fluorohinoloni bi smeli da se koriste samo ako je uzročnik oboljenja prema njima vrlo osetljiv. Na osnovu obavljenih ispitivanja može da se predloži da primena fluorohinolona bude odobrena samo na osnovu recepta veterinara, čime bi se sprečili svi nepravilni oblici upotrebe leka i bilo bi moguće ispoštovati period karence.

Zaključak

1. Hazard za zdravlje potrošača koji se javlja u jestivim tkivima posle tretiranja brojlera propisanom terapijskom dozom enrofloksacina su rezidue enrofloksacina i njegovog metabolita ciprofloksacina.
2. Četiri dana karence omogućuju da se koncentracije rezidua u mesu i jetri smanje do prihvatljivog nivoa pre klanja (niže od MDK vrednosti propisanih u EU za zbir enrofloksacina i ciprofloksacina).
3. Period karence može da se isprati samo ukoliko su životinje tretirane na propisan način, a u svim drugim slučajevima ne može da se predvidi kada će koncentracije rezidua u jestivim tkivima opasti na prihvatljiv nivo.

Literatura

- Appelbaum P., Hunter P., 2000.** The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16, 5–15.
- Council Regulation (EEC) No 2377/90, 1990.** Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. *Official Journal of the EU*, 224, 1–110.
- EMEA, Committee for veterinary medicinal products, 1998.** Enrofloxacin. Summary Report (2), EMEA/MRL/388/98-FINAL, 1–6.
- Ho D., Song J., Wang C., 2003.** Anaphylactoid reaction to ciprofloxacin. *The Annals of Pharmacotherapy*, 37, 7, 1018–1023.
- Hsiao S. H., Chang C. M., Tsao C. J., Lee Y. Y., Hsu M. Y., Wu T. J., 2005.** Acute rhabdomyolysis associated with ofloxacin/levofloxacin therapy. *Ann. Pharmacother.* 39, 1, 146–149.
- Iannini P. B., 2007.** The safety profile of moxifloxacin and other fluoroquinolones in special patient populations. *Curr Med Res Opin Journal* 23, 6, 1403–1413.
- Jezdimirović M., 2002.** Hinoloni (Kvinoloni), u: Jezdimirović M. B., urednik. *Osnovi farmakoterapije i gotovi lekovi ad us. vet.*, Beograd. Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 197–199.
- Kidd S., Meunier J. R., Traynor N., Marrot L., Agapakis-Causse C., Gibbs N., 2000.** The phototumorigenic fluoroquinolone, lomefloxacin, photosensitizes p53 accumulation and transcriptional activity in human skin cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 58, 1, 26–31.
- Nagai A., Miyazaki M., Morita T., Furubo S., Kizawa K., Fukumoto H., Sanzen T., Hayakawa H., Kawamura Y., 2002.** Comparative articular toxicity of garenoxacin, a novel quinolone antimicrobial agent, in juvenile beagle dogs. *The Journal of Toxicological Sciences*, 27, 3, 219–228.
- Ouedraogo G., Morlière P., Santus R., Miranda M. A., Castell J. V., 2000.** Damage to mitochondria of cultured human skin fibroblasts photosensitized by fluoroquinolones. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 58, 1, 20–25.
- Owens R. C., Ambrose P. G., 2005.** Antimicrobial safety: focus on fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases* 41, 2, 144–157.
- Petrović J., Baltić M., Čupić V., Stefanović S., Stojanović D., 2006.** Residues of enrofloxacin and its main metabolite ciprofloxacin in broiler chickens. *Acta Veterinaria*, 56, 5–6, 497–506.
- Prescott J., Baggot J., Walker R., 2000.** Fluoroquinolones, in: Prescott J. F., Baggot J. D., Walker R. D., *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. Third Edition, Ames: Iowa State University Press, 315–339.
- Ramos M., Aranda A., Garcia E., Reuvers T., Hooghuis H., 2003.** Simple and sensitive determination of five quinolones in food by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 789, 2, 373–381.
- Schneider M., 2001.** Multiresidue analysis of fluoroquinolone antibiotics in chicken tissue using automated microdialysis-liquid chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 39, 351–356.

Schneider M., Donoghue D., 2002. Multiresidue analysis of fluoroquinolone antibiotics in chicken tissue using liquid chromatography-fluorescence-multiple mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 780, 1, 83–92.

Stahlman R., Kuhner S., Shakibaei M., 2000. Chondrotoxicity of ciprofloxacin in immature beagle dogs: immunohistochemistry, electron microscopy and drug plasma concentrations. *Arch Toxicol*, 73, 10–11, 564–572.

Stahlmann R., 2002. Clinical toxicological aspects of fluoroquinolones. *Toxicology Letters*, 127,1–3, 269–277.

Van den Bogaard A., Stobberingh E., 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics: links between animals and humans. *International Journals of Antimicrobial Agents* 14, 4, 327–335.

Usage of enrofloxacin in poultry production as a potential risk for food safety – veterinary drugs residues in edible tissues

Petrović Jelena, Stefanović Srđan, Baltić Ž. Milan, Ratajac Radomir, Rackov Olga

Summary: Food safety is the basic priority in the process of food production. Safe food is free of residues, contaminants and pathogenic microorganisms, which poses the question of the influence of primary production on food safety. Excessive use of antimicrobial drugs in intensive animal husbandry is a fact and the only question is in what way and to what extent it reflects on safety of animal originating foodstuffs. Resulting from the use of veterinary drugs, their residues as well as residues of their metabolites can be detected in meat and animal originating foodstuffs, which make them unsafe for human consumption, because of their potential harmful effect on human health.

Current and most important side effects of antimicrobial drugs usage are occurrence of veterinary drug residues in edible animal tissues and development of resistance in food borne pathogens. Enrofloxacin is fluoroquinolone antimicrobial licensed in Serbia for use in poultry treatment. The aim of this study was to examine the target tissue residues of enrofloxacin and its main metabolite ciprofloxacin, to eliminate health risk for the consumers. The presence of residues in muscle and liver after prescribed administration of enrofloxacin to chickens was studied in experimental design. HPLC/Fl and microbiological inhibitory method were used for the detection of enrofloxacin and ciprofloxacin residues. During the 5-day dosing period, and first three days of withdrawal period, enrofloxacin and ciprofloxacin concentrations in breast muscle and liver exceeded the EU MRL values (MRL–maximum residue limit). After correct application of enrofloxacin, tissue residue levels decreased to permitted quantities (below MRL) in prescribed withdrawal period– seven days. But even after expiration of withdrawal period, residues were still present in edible animal tissues. Residues of enrofloxacin can be detected in meat nine days after the end of treatment, while residues in liver are present for much longer. Residues were detected in liver until 22 days after the treatment.

Key words: food safety, enrofloxacin, poultry, residues, risk.

Rad primljen: 22.04.2009.

Rad ispravljen: 21.07.2009.

Rad prihvaćen: 17.08.2009.

Uticaj selena i vitamina E na kvalitet i prinos trupova brojlera*

Marković Radmila¹, Baltić Ž. Milan², Petrujkić Branko¹, Šefer Dragan¹, Todorović Ema²

S a d r ŝ a j: U radu su ispitivani efekti suplementacije obroka brojlera organskim i neorganskim oblicima selena i različitim količinama vitamina E na kvalitet mesa i prinos trupova brojlera. Ogled je izveden na ukupno 240 jedinki podjeljenih u 4 grupe. Ogled je trajao 42 dana, a podjeljen je u tri faze. Prva faza trajala je 21, druga 14, a treća 7 dana.

Brojleri su hranjeni sa tri vrste potpunih smeša za ishranu pilića u tovu standardnog sirovinskog i hemijskog sastava, koje su, u potpunosti, zadovoljavale potrebe brojlera u različitim fazama tova. Potpuna smeša za početni tov pilića korišćena je od 1. do 21. dana, a potpuna smeša za završni tov od 21. do 35, odnosno 35. do 42. dana ogleđa. Tokom ogleđa kontrolna grupa brojlera hranjena je smešama sa dodatim neorganskim selenom (natrijum-selenit), u količini od 0,3 mg/kg + 20 IJ vitamina E, a ogleđne grupe, po redosledu (O-I, O-II, O-III), dobijale su hranu sa dodatkom organskog selena (Sel-Plex-a) + 20 IJ vitamina E, neorganskog selena (natrijum-selenit) + 100 IJ vitamina E, ili organskog selena (Sel-Plex-a) + 100 IJ vitamina E.

Na kraju ogleđa pojedinačno je merena masa brojlera. Brojleri su zaklani, trupovi obrađeni (pripremljeni za roštilj), ohlađeni, izmereni i rasečeni u osnovne delove. Uzeti su uzorci (meso grudi i jetra) za utvrđivanje sadržaja selena. Izmerena je masa osnovnih delova (merenja su obavljena na automatskoj vagi sa tačnošću $\pm 0,05$ g). Grudi su iskoštene, a zatim su pojedinačno merena tkiva (meso, koža i kosti). Na osnovu obavljenih merenja izračunat je prinos trupova (randman, %) iz mase brojlera pre klanja i mase obrađenog trupa, kao i odnosi meso:kosti:koža u grudima.

Na kraju tova, 42. dana, sadržaj selena u mesu grudi brojlera bio je od 0,34 mg/kg do 0,43 mg/kg. Koncentracija selena je kod O-III grupe bila značajno ($p < 0,01$) veća u odnosu na grupu koja je dobijala neorganski oblik selena, odnosno kontrolnu.

Koncentracija selena u jetri brojlera bila je, na kraju ogleđa (42. dan), od 0,50–0,63 mg/kg i značajno je ($p < 0,01$) veća u odnosu na kontrolnu grupu.

Prosečne mase trupova brojlera su bile od $1243,32 \pm 166,23$ g (K) do $1470,37 \pm 120,00$ g (O-III). Sve ogleđne grupe su imale značajno veću masu trupa u odnosu na kontrolnu, pri čemu je masa trupa O-III grupe bila veoma značajno veća ($p < 0,01$). Najmanji prinos trupova utvrđen je kod kontrolne grupe (65,31 posto), a najveći kod treće ogleđne grupe (69,24 posto). Kontrolna grupa je imala statistički veoma značajno ($p < 0,01$) manji prinos trupova u odnosu na O-III grupu, koja je hranom dobijala i organski oblik selena sa 100 IJ vitamina E.

Procentualna zastupljenost (72,85 posto) mišićnog tkiva u grudima bila je kod O-III grupe značajno veća ($p < 0,05$) u odnosu na zastupljenost (69,53 posto) mišićnog tkiva u grudima kontrolne grupe brojlera. Zastupljenost kože grudi je bila značajno veća ($p < 0,01$) kod kontrolne grupe (9,64 posto) u odnosu na ogleđne grupe (6,86 posto; 7,34 posto; 7,35 posto).

Dodavanje organskog oblika selena i povećane količine vitamina E u smešama za ishranu brojlera pruža mogućnosti postizanja boljeg kvaliteta mesa kao i boljih parametara prinosa mesa brojlera.

Ključne reči: selen, vitamin E, brojleri, proizvodni rezultati.

Uvod

Selen je rasprostranjen svuda u svetu, ali nije jednako raspoređen. Postoje područja koja su deficitarna u selenu i u kojima je koncentracija selena u zemljištu i biljkama niska (Oldfield, 2002). Srbija, kao i čitav region Balkanskog poluostrva, smatraju se deficitarnim područjem selena (Mihailović, 1996).

Mnogobrojna ispitivanja se bave otkrivanjem mogućnosti da se putem hrane (biljne ili životinjske) ishrana ljudi obogati selenom. Organski selen se apsorbuje kroz epitelne ćelije creva na isti način kao i amino-kiseline putem selektivnog transportovanja. On se skladišti u metaboličkim tkivima u obliku selenoproteina, pa su jetra, mišići i tkiva srca bogati selenom. Pokazalo se da je relativno lako da se po-

*Kratak sadržaj rada je objavljen u „Zborniku kratkih sadržaja“ sa Međunarodnog 55. savetovanja industrije mesa, održanog na Tari od 15. do 17. juna 2009.

¹Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za ishranu i botaniku, Bulevar oslobođenja 18, 11 000 Beograd, Republika Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica, Bulevar oslobođenja 18, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

Autor za kontakt: Marković Radmila, radmilam@vet.bg.ac.rs

veća sadržaj selena u mesu grudi, a, takođe, i nivo dostupnog minerala u žumancu jajeta putem dodavanja viška ovog minerala hrani.

Selen, zajedno sa vitaminom E, predstavlja multikomponentni sistem zaštite bioloških membrana od oksidativne degeneracije. Selen je aktivan sastojak enzima glutation peroksidaze (GSH-Px). U sistemu zaštite, vitamin E predstavlja prvu, a GSH-Px drugu liniju. Iako su uloge vitamina E i GSH-Px komplementne, samo do određenog nivoa su međusobno zamenljivi, dok supstitucija niža od određenih granica nema efekta.

Selen, zajedno sa vitaminom E, ima protektivnu ulogu kada su u pitanju teški metali, kao i pojedini lekovi i hemijske supstancije. Selen je vrlo efikasan u slučaju trovanja kadmijumom i živom (vitamin E je relativno efikasan); relativno efikasan u slučaju trovanja srebrom i arsenom (vitamin E je vrlo efikasan), a neefikasan u slučaju trovanja olovom (vitamin E je vrlo efikasan) (Schrauzer, 2000).

Osim navedenog, smatra se da selen ima i druge funkcije u organizmu. Iz srca je izolovan selenoprotein sličan citohromu c, a izolovan je i selenoenzim koji katalizuje dejodinaciju L-tiroksina do biološki aktivnog trijodtironina. U spermatozoidima, specifični selenoprotein služi kao strukturni protein ili enzim, koji može da se inkorporira u purinske ili pirimidinske baze (značajno za RNA). Takođe, selen poseduje specifičnu ulogu u sintezi prostanglandina i metabolizmu esencijalnih masnih kiselina, a potreban je za adekvatan imunski odgovor.

Količina selena u namirnicama životinjskog porekla najviše zavisi od količine selena koju domaće životinje unose hranom.

Najvažniji izvori selena u ishrani domaćih životinja su pašnjačke biljke i žitarice, a u ishrani ljudi to su žitarice i prehrambeni artikli životinjskog porekla.

Selen koji se koristi kao dodatak vitaminsko-mineralnim predmešama može da bude u jednom od dva osnovna oblika: organski vezan za amino-kiseline ili neorganska so (najčešće natrijum-selenit).

Veliki broj istraživača je potvrdio, u svojim ogledima, opravdanu zamenu neorganskog oblika selena organskim oblikom (Sel-Plex), što dokazuju bolji proizvodni rezultati (veća završna telesna masa, veći prirast i bolja konverzija) kod brojlera (Arruda i dr., 2004; Edens i Gowdy, 2004).

Castellini i dr. (2002) i Neylor i dr. (2000) utvrdili su povezanost između vitamina E i organskog selena i uticaj na povećanje prinosa trupova kod brojlera, kao i na udeo osnovnih delova u trupu brojlera.

Optimalna kombinacija selena i vitamina E doprinosi prevenciji peroksidacije masti, propadanja membrana, akumulacije peroksida i utiče na kvalitet

mesa i svežinu. Navedene činjenice ukazuju da selen i vitamin E obezbeđuju očuvanje kvaliteta mesa za vreme skladištenja, naročito zamrzavanja (Surai, 2002).

Povećavanje količine vitamina E (antioksidans) u hrani (u odnosu na potrebe) efikasan je način da se poboljša kvalitet mesa (produžava održivost) kod brojlera, ćuraka, goveda, svinja i jagnjadi (Guo i dr., 2001; Pešut, 2005; Marković, 2007).

Najnovija naučna dostignuća utiru put razvoju programa „funkcionalne hrane“. Proizvodi od živinskog mesa, u načelu, daju ljudskom zdravlju dodatnu podršku putem svoje sposobnosti da skladište vitalne antioksidativne supstancije u obliku koji je vrlo dostupan našem metabolizmu.

Stoga je razumljiv naš interes za proučavanje uloge, metabolizma selena, mogućnost suplementacije selena u njihovoj ishrani i uticaj na zdravstveno stanje i proizvodne karakteristike trupova brojlera.

Materijal i metode

U cilju ispitivanja uticaja različitih izvora selena u kombinaciji sa vitaminom E u ishrani brojlera, na proizvodne karakteristike trupova brojlera, organizovan je ogled po grupno-kontrolnom sistemu. Za ogled je korišćeno 240 jednodnevnih piladi Cobb 500 provenijencije. Ogled je trajao 42 dana, a podeljen je u tri faze. Prva faza trajala je 21, druga 14, a treća 7 dana.

Brojleri su hranjeni potpunim smešama za ishranu piladi u tovu, standardnog sirovinskog i hemijskog sastava. Korišćene su tri smeše koje su, u potpunosti, zadovoljavale potrebe brojlera u različitim fazama tova (AEC, 2006-2007; NRC, 1994). Potpuna smeša za početni tov pilića (1) korišćena je od 1. do 21. dana, a potpuna smeša za završni tov (2) od 21. do 35, odnosno 35. do 42. dana oglada (3) (tabela 1).

Tokom oglada, kontrolna (K) grupa brojlera hranjena je smešama sa dodatim neorganskim selenom (natrijum-selenitom) u količini od 0,3 mg/kg + 20 IJ vitamina E, a ogledne grupe su, po redosledu (O-I, O-II, O-III), dobijale hranu sa dodatkom organskog selena (Sel-Plex-a) + 20 IJ vitamina E, neorganskog selena (natrijum-selenita) + 100 IJ vitamina E i organskog selena (Sel-Plex-a) + 100 IJ vitamina E.

Vitamin E, koji je dodat smešama za brojlere, je bio u obliku dl-alfa-tokoferol acetata (Rovimix® E-50 Adsorbate, DSM Nutritional Products, Švajcarska), preparata koji je sadržao 500 IJ vitamina E/g.

Neorganski selen, koji je dodat smešama za brojlere, bio je u obliku natrijum-selenita (Micro-

Tabela 1. Sirovinski i hemijski sastav smeša za ishranu brojlera, %**Table 1.** Raw material and chemical composition of broilers' feeding mixtures, (%)

Hraniva/Feed	udeo u smešama, %/ % in mixtures		
	1	2	3
Kukuruz/Corn	48,82	58,20	64,10
Sojina sačma 44%/ Soy meal 44%	11,50	8,00	–
Sojin griz 35%/ Soy gritz 35%	25,60	20,00	22,50
Sunc. sačma 40%/ Sunflower meal 40%	10,00	10,00	10,00
Metionin/Methionin	0,13	0,05	0,10
Stočna so/ Common salt	0,30	0,30	0,30
MKF/Monocalcium phosphate	0,80	0,75	0,40
Kreda/Limestone	1,65	1,50	1,40
Minazel P plus	0,20	0,20	0,20
VMD/Vitamin- mineral supplement	1,00	1,00	1,00
Σ	100,0	100,0	100,0
Hemijski sastav/Chemical composition			
Vlaga/Moisture	11,15	11,2	11,2
Pepeo/Ash	5,97	5,43	4,70
Proteini/Proteins	22,31	19,39	17,35
Mast/Fat	6,73	6,05	6,64
Celuloza/Cellulose	5,09	5,01	4,93
BEM/Nitrogen-free extractives	48,75	52,92	55,18
ME/Methabolic energy	12,62	12,86	13,29
Lizin/Lysine	1,15	0,96	0,82
Metionin+cistin/ Methionine +Cystine	0,90	0,71	0,70
Ca	0,94	0,85	0,72
P	0,65	0,61	0,51

granTM Se 1 posto BMP, DSM Nutritional Products, Švajcarska), koji je sadržao 10 mg selena/kg.

Organski selen je bio u obliku kvasca obogaćenog selenom (Sel-Plex 2000, Alltech Inc®, USA), preparata koji je sadržao 2000 mg selena/kg.

Na kraju oglada (42. dan), obavljeno je pojedinačno merenje telesne mase brojlera, planirano je žrtvovanje po šest jedinki iz svake grupe, a prilikom žrtvovanja uzeti su uzorci jetre i grudni za utvrđivanje sadržaja selena.

Posle klanja, trupovi su obrađeni (pripremljeni za roštilj), ohlađeni, izmereni i rasečeni u osnovne

delove. Izmerena je masa osnovnih delova (grudi i batak sa karabatakom), i izračunat njihov udeo u masi trupa. Odnosi meso:koža:kosti izračunati su samo za meso grudi. Na osnovu obavljenih merenja (na automatskoj vagi sa tačnošću $\pm 0,05$ g) izračunat je prinos trupova (%) iz mase brojlera pre klanja i mase obrađenog ohlađenog trupa, kao i masa osnovnih delova i odnosi meso:kosti:koža u mesu grudi.

Uzorci grudne muskulature i jetre brojlera pripremljeni su za analizu i preliveni sa HNO_3 i H_2O_2 , a zatim je rađena mikrotalasna digestija na aparatu (MULTIWAVE 3000 ANTON PAAR).

Selen je određivan na aparatu ICP/MS ELAN DRC (PERKIN ELMER), u odnosu na odgovarajuću kalibracionu pravu.

Dobijeni rezultati oglada grupisani su u odgovarajuće statističke serije i obrađeni su uz primenu nekoliko matematičko-statističkih metoda, korišćenjem programa GraphPad Prism 5.0 i MS Excel 2003, kako bi bilo omogućeno objektivnije i egzaktnije zaključivanje. U radu su primenjene metode: mere varijacije, metoda analize varijanse sa odgovarajućim testom (*Lowry*, 1998–2007).

Metodom analize varijanse F testom obavljeno je međusobno poređenje svih tretmana. Naknadne analize značajnosti statističkih razlika između pojedinih tretmana izvedene su Tukey i t-testom. Svi testovi su korišćeni na nivou rizika od 5 posto i 1 posto pa su, prema tome, i zaključci dati sa odgovarajućom verovatnoćom (95 i 99 posto).

Rezultati i diskusija

Najpouzdanijim merilom statusa selena kod životinja smatra se određivanje koncentracije selena u krvi i tkivima brojlera.

Tokom obimnih istraživanja, *Kuricova i dr.* (2003) pokazali su da koncentracija selena u tkivima smanjuje prema sledećem redosledu: bubreg > jetra > mišići > plazma, što su potvrdili kasniji nalazi *Simsa i dr.* (2002). Ovaj odnos je isti za sve životinjske vrste, pa i za piliće.

Selenometionin i selenit imaju različite puteve intestinalne resorpcije i metabolizma. Selenometionin se resorbuje u duodenumu istovetnim mehanizmom aktivnog transportovanja amino-kiselina, dok za razliku od organski vezanog selena, selen oslobođen iz neorganske soli, kao što je natrijum-selenit, u tankom crevu se pasivno resorbuje. Portalnim krvotokom dospeva u jetru, gde se redukuje u selenid, i nakon enzimske reakcije sa cisteinom formira se selenocistein. Mehanizam sinteze selenocisteina u jetri dostiže zasićenje pri unošenju Na-selenita u količini većoj od 0,3 mg/kg. Preostali neresorbovani

selen se, uglavnom, izbacuje preko fecesa (Payne i Southerm, 2005).

Na kraju tova, 42. dana, sadržaj selena u mesu grudi brojlera bio je od 0,34 mg/kg do 0,43 mg/kg. Koncentracija selena je kod O-III grupe bila značajno ($p < 0,01$) viša u odnosu na grupu koja je dobijala neorganski oblik selena.

Payne i Southerm (2005) su u ogledima u kojima su ispitivali uticaj organskog i neorganskog selena u hrani (0,3 mg/kg), dobili koncentraciju selena u belom mesu od 0,545 (kod neorganskog selena) do 1,170 mg/kg (u slučaju dodavanja organskog oblika selena).

ogledne grupe ($401,38 \pm 51,05$ g, $396,79 \pm 39,74$ g i $410,96 \pm 58,00$ g).

Prinos trupova brojlera (randman) je izračunat na osnovu mase brojlera pre klanja i mase ohlađenih trupova. Iz dobijenih rezultata može da se vidi da je najniži prinos trupova utvrđen kod kontrolne grupe (65,31 posto), a najviši kod treće ogledne grupe (69,24 posto). Slične rezultate dobili su, u svojim ogledima, Payne i Southerm (2005) kada su poredili organske i neorganske oblike selena u hrani za brojlere.

Poređenjem rezultata koji pokazuju procentualnu zastupljenost i odnose meso:koža:kosti, uočava se

Tabela 2. Sadržaj selena u mesu grudi brojlera, (mg/kg)
Table 2. Selenium content in broilers' breast meat, (mg/kg)

Grupa/ Group	Dan/ Day	n	Belo meso, Se (mg/kg)/Breast meat, Se (mg/kg)		Jetra, Se (mg/kg)/ Liver, Se (mg/kg)	
			$\bar{x} \pm SD$	CV %	$\bar{x} \pm SD$	CV %
K	42	6	$0,34 \pm 0,05^{a,A}$	14,58	$0,50 \pm 0,06^B$	12,39
O-I		6	$0,40 \pm 0,01^a$	3,54	$0,57 \pm 0,05$	8,74
O-II		6	$0,38 \pm 0,02^b$	6,29	$0,55 \pm 0,55$	13,46
O-III		6	$0,43 \pm 0,04^{b,A}$	9,57	$0,63 \pm 0,63^B$	6,93
			Ista slova ^{a,b} za $p < 0,05$ / Same letters ^{a,b} for $p < 0,05$	Ista slova ^{A,B} za $p < 0,01$ / Same letters ^{A,B} for $p < 0,01$		

K: 0,3 mg neorganskog selena i 20 IJ vitamina E po kilogramu hrane/ **K:** 0,3 mg of inorganic selenium and 20 IU of vitamin E in kg of feed

O-I: 0,3 mg organskog selena i 20 IJ vitamina E po kilogramu hrane/ **O-I:** 0,3 mg of organic selenium and 20 IU of vitamin E in kg of feed

O-II: 0,3 mg neorganskog selena i 100 IJ vitamina E po kilogramu hrane/ **O-II:** 0,3 mg of inorganic selenium and 100 IU of vitamin E in kilogramu of feed

O-III: 0,3 mg organskog selena i 100 IJ vitamina E po kilogramu hrane/ **O-III:** 0,3 mg of organic selenium and 100 IU of vitamin E in kg of feed

Tabela 3. Prosečna masa trupova brojlera, (g)
Table 3. Average weight of broilers' carcasses, (g)

	Grupa/Group			
	K	O-I	O-II	O-III
Masa trupa/ Carcass weight	$1243,32 \pm 166,23^{a,b,A}$	$1404,22 \pm 143,63^a$	$1397,91 \pm 123,26^b$	$1470,37 \pm 120,00^A$
		Ista slova ^{a,b} za $p < 0,05$ / Same letters ^{a,b} for $p < 0,05$	Ista slova ^{A,B} za $p < 0,01$ / Same letters ^{A,B} for $p < 0,01$	

Između prosečnih masa mesa grudi brojlera, među grupama, nije bilo statistički značajnih razlika ($p > 0,05$). Prosečna masa bataka sa karabatakom brojlera kontrolne grupe ($356,39 \pm 46,13$ g) bila je statistički značajno manja od prosečne mase bataka sa karabatakom brojlera O-I, O-II, odnosno O-III

da je mesa bilo najviše, a kože i kostiju najmanje u O-III grupi, a procentualno najmanje mesa, a najviše kože i kostiju bilo je u kontrolnoj grupi. Slične rezultate o zastupljenosti važnijih delova trupa i njihovom odnosu dobio je, u svojim ogledima, Neylor i dr. (2000).

Tabela 4. Masa (g) i udeo (%) osnovnih delova u trupovima brojlera
Table 4. Weight (g) and share (%) of basic body parts in broilers' carcasses

Osnovni deo/ Body part		Grupa/Group			
		K	O-I	O-II	O-III
Grudi/Breast	Masa/ Weight	338,6 ± 59,19	377,53 ± 62,90	373,27 ± 60,87	380,73 ± 35,99
	%	27,14 ± 1,83	26,94 ± 3,96	26,60 ± 2,78	26,01 ± 2,78
Batak sa karabatakom/ Drumstick and thigh	Masa/ Weight	356,39 ± 46,13 ^{a,b,c}	401,38 ± 51,05 ^a	396,79 ± 39,74 ^b	410,96 ± 58,00 ^c
	%	28,74 ± 2,00	28,54 ± 1,31	28,36 ± 0,70	27,91 ± 2,87

Ista slova ^{a,b,c} za $p < 0,05$
 Same letters ^{a,b,c} for $p < 0,05$

Tabela 5. Prinos trupova brojlera, (%)
Table 5. Yield of broilers' carcasses, (%)

	Grupa/Group			
	K	O-I	O-II	O-III
Prinos trupova/ Carcasses yield	65,31 ± 2,41 ^{a,b,A}	67,44 ± 4,46	67,40 ± 2,42 ^a	69,24 ± 1,59 ^{b,A}

Ista slova ^{a,b} za $p < 0,05$ /
 Same letters ^{a,b} for $p < 0,05$

Ista slova ^{A,B} za $p < 0,01$
 Same letters ^{A,B} for $p < 0,01$

Tabela 6. Odnosi meso:koža:kosti u važnijim osnovnim delovima trupova brojlera
Table 6. Meat:skin:bones ratio in basic body parts of broilers

Grudi/Breast		Grupa/Group			
		K	O-I	O-II	O-III
Meso/Meat	%	69,53 ± 2,77 ^a	71,19 ± 2,81	72,59 ± 2,71	72,85 ± 1,94 ^a
Koža/Skin	%	9,64 ± 0,74 ^{A,B,C}	6,86 ± 0,98 ^A	7,34 ± 0,46 ^B	7,35 ± 13,9 ^C
Kosti/Bones	%	20,83 ± 2,34	21,96 ± 2,63	20,08 ± 2,37	19,80 ± 1,86

Ista slova ^a za $p < 0,05$
 Same letters ^a for $p < 0,05$

Ista slova ^{A,B,C} za $p < 0,01$
 Same letters ^{A,B,C} for $p < 0,01$

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja može da se zaključi da dodavanje organskog oblika selena (selenizirani kvasac) sa povećanom količinom vitamina E u smeše za ishranu brojlera dovodi do poboljšanja parametara prinosa mesa i kvaliteta mesa.

Upotrebom organskog selena i povećanjem količina vitamina E u tovu brojlera povećava se sadržaj

selena u mesu brojlera (belo meso i jetra), masa trupa, prinos trupova brojlera i dobija se povoljniji odnos koža:kosti:meso u mesu grudi.

Povećana količina selena u mesu brojlera povećava njegovu nutritivnu vrednost, s obzirom na značaj selena u ishrani ljudi. Takođe, i povećana količina vitamina E ima, ne samo nutritivni nego i protektivni značaj (produženje održivosti).

Literatura

- Arruda J. S., Rutz F., Pan E. A., 2004.** Influence of replacing dietary inorganic with organic selenium (Sel-Plex) on performance of broilers. *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry. Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl.1), May 22–26, 2006, Lexington, Kentucky, USA, 13.*
- Castellini C., Mugnai C., Dal B. A., 2002.** Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. *Meat Science, 60, 219–225.*
- Edens F. W., Gowdy K. M., 2004.** Field results with broilers fed selenium yeast. In: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry. Proceedings of the 20th Annual Symposium (Suppl. 1), May 22–26, 2004, Lexington, Kentucky, USA, 32.*
- Guo Z., Tang Q., Juan J., Jiang Z., 2001.** Effects of supplementation with vitamin E on the performance and tissue per oxidation of broiler chicks and the stability of thigh meat against oxidative deterioration. *Animal Feed Science and Technology, 89, 165–173.*
- Kuricova S., Boldizarova K., Gresakova L., Bobcek R., Lekvut M., Leng L., 2003.** Chicken selenium status when fed a diet supplemented with Se-yeast. *Acta Veterinaria Brno, 72, 339–346.*
- Lowry R., 1998-2007.** Vassarstats: Web Site for Statistical Computation, Vassar College, US.
- Marković R., 2007.** Uticaj selena organskog i neorganskog porekla i različite količine vitamina E na proizvodne rezultate i kvalitet mesa brojlera. Doktorska disertacija. Fakultet veterinarske medicine. Beograd, 1–125.
- Mihailović M., 1996.** Selen u ishrani ljudi i životinja. Veterinarska komora Srbije.
- Naylor A. J., Choct M., Jackues K. A., 2000.** Effects of selenium source and level on performance and meat quality in male broilers. *Poultry Science 79, 117.*
- Oldfield J. E., 2002.** Selenium world atlas. Selenium-Tellurium Development Association (STDA). Grimbergen, Belgium, 12–53.
- Payne R. L., Southern L. L., 2005.** Comparison of inorganic and organic selenium sources for broilers. *Poultry Science, 84, 898–902.*
- Pešut O., 2005.** Uticaj selena i vitamina E dodatog u hranu na sastav i oksidativnu stabilnost lipida u svežem i zamrznutom mesu brojlera. Doktorska disertacija, 2005. Beograd.
- Schrauzer G. N., 2000.** Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *Journal of Nutrition, 130, 1653–1656.*
- Sims M. D., White M. F., Weems R. E., 2002.** Selenium content of liver and edible tissue in turkeys fed Sel-Plex. *Poultry-Research Summaries. 1st annual poultry conference 2002. Alltech's 18th Annual Symposium. Lexington. USA.*
- Surai P. F., 2002.** Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press, Nottingham.

Influence of selenium and vitamin E on broiler meat quality and yield

Marković Radmila, Baltić Ž. Milan, Petrujkić Branko, Šefer Dragan, Todorović Ema

S u m m a r y: In this paper effects of broiler meal supplementation with organic and inorganic forms of selenium and different amounts of vitamin E on broiler meat quality and meat yield were monitored. The experiment was carried out on total number of 240 animals divided into 4 groups, lasted for 42 days and was divided into 3 phases. First phase lasted 21, second 14 and the third lasted seven days.

Broilers were fed with three types of complete feed mixtures of common raw material and chemical composition for broiler feeding that met or exceeded the nutrient recommendations for growing broilers (NRC, 1998). Complete starter feed mixture was used from the 1st to the 21st day, mixture for growth from the 21st till the 35th day and mixture for final growth from the 35th till the 42nd day respectively. During the experiment, control group of broilers (C) was fed with supplemented inorganic selenium (sodium selenite) 0,3 mg/kg with the addition of 20 IU of vitamin E, experimental group (E-I) was fed with meal supplemented with organic selenium (Sel-Plex) 0,3 mg/kg with 20 IU of vitamin E added while experimental group (E-II) was fed with meal supplemented with 0,3 mg/kg inorganic selenium (sodium selenite) and 100 IU of vitamin E.

Body mass of each broiler was checked at the end of the experiment, broilers were slaughtered, carcasses processed (barbecue ready) chilled, measured and cut into basic parts. At that time samples of breast meat and liver were collected for determination of selenium content. Breast meat was deboned and separate measurement of each tissue was done (meat, skin, and bones). Yield and meat:skin:bones ratio were calculated on the basis of body mass prior to slaughter and mass of processed carcass.

At the end of experiment (42nd day), content of selenium in breast meat was from 0,34 mg/kg to 0,43 mg/kg. Concentration of selenium in E-III group was significantly higher ($p < 0,01$) compared to group that was fed with inorganic selenium and the control group. Concentration of selenium in broiler liver ranged on the 42nd day of the experiment from 0,50 to 0,63 mg/kg, which was significant when compared between groups ($p < 0,01$).

Average mass of carcasses was lowest in the C group - 1243,32 ± 166,23 g and highest in E-III group - 1470,37 ± 120,00 g. All experimental groups had significantly higher mass of carcass compared to control, mass of E-III group was highly significant ($p < 0,01$).

The lowest meat yield was determined in control group (65,31%), and the highest in E-III group (69,24%). Control group had significantly lower meat yield ($p < 0,01$) compared to E-III group which was fed with organic (0,3 mg/kg) selenium and 100 IU of vitamin E.

Percentage of muscle tissue in E-III group was 72,85% which is significantly higher ($p < 0,05$) compared to control group of broilers (69,53%). Percentage of breast skin was significantly higher ($p < 0,01$) in control (9,64%) compared to experimental groups (E-I 6,86%; E-II 7,34%; E-III 7,35%).

Addition of organic selenium and high amounts of vitamin E in broiler feed mixtures gives the possibility for achievement of better quality meat and higher meat yield.

Key words: selenium, vitamin E, broilers, productive results.

Rad primljen: 9.04.2009.

Rad ispravljen: 13.08.2009.

Rad prihvaćen: 13.08.2009.

Ispitivanje uticaja zeolita na sadržaj vitamina B₆ u mesu brojlera – validacija metode*

Basić Zorica¹, Kilibarda Vesna², Resanović Radmila³, Maksimović Milan¹

Sadržaj: U veterinarskoj i humanoj medicini zeoliti nalaze sve širu primenu. Kao dijetetski suplementi nalaze se na tržištu Evrope od 1998. godine. Preparati na bazi zeolita koriste se radi adsorpcije aflatoksina i sprečavanja aflatoksikoze, kao i pojavljivanja rezidua aflatoksina u jajima i mesu živine, goveda, ovaca i svinja.

Cilj ovog rada je bio da se ustanovi da li zeolit utiče na resorpciju, odnosno koncentraciju vitamina B₆ u mesu nakon njegove primene u ishrani brojlera. U tu svrhu je dizajniran ogled na 30 brojlera. Tokom 6 nedelja brojleri kontrolne grupe hranjeni su komercijalnom smešom za tov brojlera, dok je eksperimentalna grupa brojlera dobijala komercijalnu smešu, uz dodatak 0,2 posto zeolita. Posle toga je određivan sadržaj vitamina B₆ u mesu primenom jonoizmenjivačke reverzno-fazne HPLC metode sa fluorescentnim detektorom, nakon kisele i enzimske hidrolize uzoraka mesa. Rezultati ukazuju da se nakon dodavanja 0,2 posto zeolita smešama za ishranu brojlera ne ispoljava statistički značajna razlika u sadržaju vitamina B₆ u mesu ogleadne u odnosu na meso kontrolne grupe brojlera.

Ključne reči: zeolit, vitamin B₆, HPLC.

Uvod

Zeoliti su kristalni, hidratizirani aluminosilikati alkalnih i zemnoalkalnih katjona, koji poseduju „beskonačnu“ trodimenzionalnu kristalnu strukturu. Karakterišu se sposobnošću da gube i primaju vodu i izmenjuju neke od svojih konstitucionih katjona, bez većih promena strukture (Dumić i dr., 1990). Kapacitet katjonske izmene prirodnih zeolita je funkcija stepena supstitucije silicijuma aluminijumom u mreži tetraedara, a zavisi i od dimenzije kanala, oblika i veličine jona, gustine naelektrisanja i valencije jona elektrolita.

Zeoliti su pogodni adsorbenti i karakteriše ih slobodna zapremina, od 20 do 50 posto i velika specifična površina. Velike šupljine i ulazni kanali zeolitskog minerala su popunjeni molekulima vode koji grade hidratacione sfere oko izmenljivih katjona. Reakcije jonske izmene su povratne reakcije, slede zakon o dejstvu masa i, kinetički posmatrano, ove reakcije su difuzioni procesi.

U praktičnim uslovima, na kapacitet izmene, koja se postiže između rastvora i zeolita, mogu da utiču mnogobrojni parametri: pH, temperatura, konkurentnost katjona, izbor rastvarača, vrste prisutnih

katjona i koncentracija rastvora. U upotrebi su i sintetski zeoliti i njihovo delovanje se proverava (Mohamed i dr., 2007).

Prisustvo mikotoksina u hrani za životinje ima značajan uticaj na njihov prirast (Resanović i Sinovec, 2006). Preparati na bazi zeolita u veterinarskoj medicini se koriste radi adsorpcije mikotoksina i sprečavanja pojavljivanja mikotoksikoza kao i pojavljivanja rezidua mikotoksina u jajima i mesu živine, goveda, ovaca i svinja (Nešić i dr., 2008).

Obavljena su ispitivanja o uticaju zeolita na redukciju aflatoksina u digestivnom traktu živine i uticaju na prirast i proizvodne rezultate brojlera, dodavanjem hrani u količini od 0,2 posto do 2,5 posto (Cabuk i dr., 2004). Zabeležen je veći dnevni i ukupni prirast u odnosu na grupu koja nije bila zaštićena zeolitom, odnosno gde je manji uticaj mikotoksina. Utvrđeno je da korišćenje zeolita ne utiče značajno na sadržaj vitamina A i E u krvi goveda i ovaca (Ball, 2006). Izvedena su ispitivanja adsorptivnog efekta zeolita na vitamin B₆ u *in vitro* uslovima i ustanovljeno je da između različitih vrsta zeolita postoji značajna razlika u adsorpciji vitamina B₆ (Tomašević-Čanović i dr., 2000).

*Kratak sadržaj rada je objavljen u „Zborniku kratkih sadržaja“ sa Međunarodnog 55. savetovanja industrije mesa, održanog na Tari, od 15. do 17. juna 2009.

¹ Vojnomedicinska akademija, Institut za higijenu, Crnotravska 17, 11 000 Beograd, Republika Srbija;

² Vojnomedicinska akademija, Centar za kontrolu trovanja, Crnotravska 17, 11 000 Beograd, Republika Srbija;

³ Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11 000, Beograd, Republika Srbija.

Vitamini se u namirnicama nalaze u malim količinama, ali je njihov efekat uvek značajan. Neadekvatno unošenje vitamina B-kompleksa kod ljudi može da uzrokuje različita patološka stanja sa specifičnim ili nespecifičnim simptomima u vrlo kratkom roku. Cela zrna žitarica, pivski kvasac i meso su izvori tiamina, riboflavina i piridoksina. Biološka vrednost namirnica može da se poveća dodavanjem vitamina, ali i smanji zbog lošeg kvaliteta sirovina, upotrebe nekih aditiva, kontaminacije u toku procesa prerade sirovina ili loše tehnologije. Iz tih razloga neophodna je kontrola sadržaja vitamina u namirnicama.

Zeolit, ili preparati dobijeni na bazi zeolita, se, sve češće, koriste u ishrani brojlera, ćuraka, goveda i svinja. Dodat u hranu za životinje, adsorbuje neke mikotoksine, što omogućava bolji prirast, pri čemu, ne utiče značajno na bioiskoristljivost vitamina A i E iz hrane (*Papaioannou i dr.*, 2002; *Al-Tahan i dr.*, 2006). Imajući u vidu sve širu upotrebu zeolita i preparata na bazi zeolita kao dodatka hrani za životinje i značaj vitamina u ishrani ljudi, nametnula se potreba da se ispita da li (u *in vivo* eksperimentu) zeoliti utiču na resorpciju, odnosno koncentraciju vitamina B u mesu.

Cilj ovog rada je bio da se, primenom HPLC metode sa fluorescentnom detekcijom, utvrdi sadržaj vitamina B₆ u mesu živine hranjene:

- komercijalnom hranom za tov brojlera;
- komercijalnom hranom za tov brojlera, uz dodatak 0,2 posto zeolita; odnosno, da se ispita, da li prisustvo zeolita u hrani utiče na resorpciju i ukupni sadržaj vitamina B₆ u mesu živine.

Materijal i metode

Trideset jednodnevnih brojlera *Hybro PG* + provenijencije, oba pola, poznatog porekla, podeljeni su u dve grupe. Prva grupa je dobijala komercijalnu hranu za tov brojlera sledećeg sastava: smeša broj jedan – starter HBS 22 posto proteina, od 1. do 21. dana tova; smeša broj dva – grover HBS 19 posto proteina, od 21. do 35. dana tova; smeša broj tri – finiše HBS 17 posto proteina, od 35. do 42. dana tova; vitaminsko-mineralni dodatak na jedan kilogram potpune krmne smeše (Vit. B₆ – 5 mg). Druga grupa je dobijala pomenutu hranu, uz dodatak 0,2 posto zeolita, sa više od 90 posto zeolitskog minerala klinoptilolita, komercijalnog naziva *MINAZEL plus*. Brojleri su hranjeni *ad-libitum* sve vreme tova (6 nedelja). Nakon tova pilići su žrtvovani omamljivanjem i presecanjem vene jugularis radi uzorkovanja mesa za analizu. Sadržaj vitamina B₆ određen

je u ohlađenom mesu grudi (belo meso) i bataka sa karabatakom (crveno meso).

Za analizu je korišćen analitički standard vitamina B₆ (proizvođač Sigma Co, St Louis, MO, USA), sertifikovani referentni materijal – *Infant formule NIST-1846*, LGC, metanol (HPLC čistoće, proizvođač Merck, Nemačka), voda HPLC čistoće (dobijena demineralizovana voda prečišćena na komercijalnom Millipore Milli Q sistemu), kiseline, baze i soli (p.a. čistoće).

Od svih predloženih metoda za detekciju vitamina B₆, HPLC metoda sa fluorescentnom detekcijom je jedina specifična i dovoljno osetljiva metoda za ispitivanje namirnica složenog sastava, sa prirodnim sadržajem vitamina. Kisela hidroliza je izvedena primenom 0,1 M HCl u autoklavu, 30 minuta na temperaturi od 120°C, a enzimska hidroliza primenom 10 posto takadiastaze, 4 časa na temperaturi 45°C. Separacija analita izvedena je na HPLC sistemu Waters M600 E, izokratsko eluiranje, Rheodyne 7125 injektor, na analitičkoj koloni Nucleosil 50-5 C18, a detekcija na fluorescentnom detektoru: RF-535 Shimadzu, na talasnim dužinama: 286 nm za ekscitaciju i 392 nm za emisiju. Ispitani su limit detekcije i limit kvantifikacije, specifičnost metode (zbog moguće interferencije vitamina sa reagensima), linearnost odnosa površine pika i koncentracije za standardne rastvore vitamina B₆ u opsegu koncentracija od 0,05 µg/mL do 2,0 µg/mL, preciznost za koncentraciju od 0,5 µg/mL vitamina, kao i analitički prinos metode.

Sadržaj vitamina B₆ u mesu određivan je metodom standardne prave.

Dijagrami zavisnosti površine pikova od koncentracije piridoksina određeni su za koncentracije: 0,10, 0,25, 0,50, 1,00, 1,50 i 2,00 µg/mL, nakon postupka kiselo-enzimske hidrolize. Vrednost površine pika za svaku koncentraciju izračunata je kao srednja vrednost četiri uzastopna merenja. Preciznost HPLC metode za određivanje vitamina B₆ ispitana je za koncentraciju 0,5 µg/mL, nakon šest injektiranja. Za određivanje prinosa metode izvedeno je deset nezavisnih ispitivanja rastvora standarda vitamina B₆ koncentracije 0,5 µg/mL.

Rezultati i diskusija

Određeni su limit detekcije i limit kvantifikacije, koji iznose 0,03 µg/mL, odnosno 0,05 µg/mL. Obavljeno je deset određivanja primenom postupka kiselo-enzimske hidrolize i izračunata srednja vrednost koncentracije vitamina B₆ u rastvorima pripremljenih uzoraka (0,492 µg/mL, Sd = 0,00799 µg/mL). Linearnost odnosa koncentracija i površina

odgovarajućih pikova je određena analizom šest standardnih rastvora vitamina B₆ koncentracija od 0,05 µg/ml do 2,0 µg/mL, koji su podvrgnuti postupcima kiselo-enzimske hidrolize. Tačke za kalibracionu pravu dobijene su kao rezultati četiri ušpricavanja za svaku koncentraciju i određen je koeficijent kalibracije $r = 0,99987$. Reproductivnost je ispitana za standardni rastvor koncentracije 0,5 µg/ml i iznosi 98,4 posto, kao i za uzorak sertifikovanog referentnog materijala koja je 97,7 posto.

Ispitan je sadržaj vitamina B₆ u mesu eksperimentalne i kontrolne grupe brojlera. Određen je sadržaj vitamina B₆ u belom mesu i batacima, primenom HPLC metode sa fluorescentnim detektorom, posle kisele i enzimske hidrolize uzoraka mesa. Rezultati su prikazani u tabeli 1.

šću u opsegu koji obuhvata očekivani sadržaj u uzorcima, a postupci hidrolize dovode uzorak u stanje koje je pogodno za određivanje sadržaja vitamina B₆ u mesu živine.

Zeolit bi mogao, zbog visokog adsorptivnog potencijala, da utiče na resorpciju mnogobrojnih nutrijenata, od kojih su neki, poput vitamina, neophodni za normalan rast i razvoj. Podaci iz literature sugerisu da njihova dugotrajna upotreba u hrani za životinje ne utiče značajno na bioiskoristljivost liposolubilnih vitamina A i E. Objavljeni su podaci da u *in-vitro* uslovima postoji reakcija jonske izmene zeolit-vitamin B₆. Rezultati dobijeni u ovom eksperimentu pokazuju da nakon primene 0,2 posto zeolita u ishrani pilića u tovu nema statistički značajne razlike u sadržaju vitamina B₆ u mesu brojlera koji su do-

Tabela 1. Sadržaj vitamina B₆ u mesu živine
Table 1. Vitamin B₆ content in poultry meat

Uzorak/ Sample	0,2 % zeolita u hrani/ 0,2% of zeolite in feed	Broj uzoraka/ No of samples	Sadržaj vitamina B ₆ (mg/100g)/ Vitamin B ₆ content (mg/100g)	Sd	t vrednost/ t-value	p vrednost/ p-value
Belo meso/ White meat	Ogledna grupa/ Experimental group	15	0,167	0,01465	-0,26719	0,79236
	Kontrolna grupa/ Control group	15	0,184	0,01003		
Batak/ Drumstick	Ogledna grupa/ Experimental group	15	0,229	0,00745	0,25018	0,80528
	Kontrolna grupa/ Control group	15	0,249	0,01465		

Razvojem separacionih tehnika, najčešće se pominje tečna hromatografija sa različitim detekcionim sistemima, i to ultravioletni (UV) detektor za obogaćene namirnice i farmaceutske preparate (*Pei i dr.*, 2007) i fluorescentni detektor za pojedinačne vitamine (*Albala-Hurtado i dr.*, 1997; *Ndaw i dr.*, 2000; *Vinas i dr.*, 2003; *Basić*, 2004; *Koning*, 2006), uz upotrebu različitih mobilnih faza i separacionih kolona. U namirnicama složenog biološkog sastava postoje mnogobrojne interferencije u UV oblasti. Fluorescencija piridoksina omogućava njegovu detekciju specifičnim i osetljivim fluorescentnim detektorom sa promenljivim talasnim dužinama. U prethodnim radovima obavljena je optimizacija ovih parametara za neke namirnice (*Basić i dr.*, 1999; *Basić i dr.*, 2002; *Basić*, 2004), međutim neophodno je bilo da se izvede validacija metode za određivanje vitamina B₆ u mesu živine. Svi ispitani parametri validuju primenjenu metodu kao specifičnu, preciznu i reproduktivnu, sa visokim prinosom, linearno-

bijali hranu sa zeolitom u odnosu na meso brojlera kontrolne grupe. Ovim istraživanjem dokazano je da zeolit u ovako formulisanoj hrani za tov brojlera, u koncentraciji od 0,2 posto, ne utiče na resorpciju vitamina B₆, odnosno da utiče na smanjenje količina vitamina B₆ u mesu brojlera.

Zaključak

Uzimajući u obzir obim primene zeolita i proizvoda na bazi zeolita u veterinarskoj praksi, od presudnog je značaja da se odrede njegove adsorpcione sposobnosti za mikroelemente i vitamine u hrani i hranivima za životinje. Ispitivanjem adsorpcione moći zeolita u odnosu na vitamin B₆ dat je značajan doprinos saznanjima o mogućnosti njegove primene u živinarskoj proizvodnji, sa aspekta dobijanja mesa koje zadovoljava sve higijensko-nutricionističke zahteve.

Literatura

- Albala-Hurtado S., Veciana-Nogués M. T., Izquierdo-Pulido M., Macine-Font A., 1997.** Determination of water-soluble vitamins in infant milk by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 778, 1–2, 247–253.
- Al-Tahan J., Gonzalez-Gross M., Pietrzik K., 2006.** B-vitamin status and intake in European adolescents. A Review of the Literature, *Nutrition Hospitalaria*, 21, 452–465.
- Ball F. M. G., 2006.** Vitamins in foods analysis, bioavailability and stability. Taylor&Francis, SAD, 149–199.
- Basić Z., 2004.** Procena metode kiselo-enzimske hidrolize za određivanje ukupnog sadržaja vitamina B₁, B₂ i B₆ u jetrenoj pašteti. Magistarski rad. Vojnomedicinska akademija, Beograd.
- Basić Z., Maksimović M., Jakovljević Lj., Obradović G., 1999.** The thiamin, riboflavin and pyridoxine contents in Yugoslav wines. Proceedings of Euro Food Chem X, FECS-Event No. 234, Budapest, 917–921.
- Basić Z., Ražić S., 2002.** Određivanje vitamina rastvorljivih u vodi u biskvitima sa dodatkom sušenog voća HPLC metodom. *Arhiv za farmaciju*, 4, 742–3.
- Cabuk M., Alcicek A., Bozkurt M., Akkan S., 2004.** Effect of yucca schidigera and natural zeolite on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*, 3, 10, 651–654.
- Dumić M., Vukićević O., 1990.** Prirodni zeoliti upotreba u stočarstvu, Beograd.
- Koning J. M. E., 2006.** Committee on food nutrition: water-soluble vitamins. General Referee Reports. *Journal of AOAC International*, 89, 1, 286–288.
- Mohamed M. M., Zidan F. I., Fodail M. H., 2007.** Synthesis of ZSM-5 zeolite of improved bulk and surface properties via mixed templates. *Journal of Materials Science*, 42, 4066–4075.
- Ndaw S., Bergaentzle M., Aoude W. D., Hasselmann C., 2000.** Extraction procedures for the liquid chromatographic determination of thiamin, riboflavin and vitamin B₆ in foodstuffs. *Food Chemistry*, 71, 1, 129–138.
- Nešić K., Resanović R., Nešić V., Sinovec Z., 2008.** Efficacy of mineral and organic adsorbent in alleviating harmful effects of zearalenone on pigs performance and health. *Acta Veterinaria*, 58, 2–3, 211–219.
- Papaioannou D. S., Kyriakis S. C., Papasteriadis A., Rombides N., Yannakopoulos A., Lexopoulos C., 2002.** Effect of in-feed inclusion of a natural zeolite (clinoptilolite) on certain vitamin, macro and trace element concentrations in the blood, liver and kidney tissues of sows. *Research in Veterinary Science*, 72, 61–68.
- Pei C., Wayne R. W., 2007.** LC/UV/MS-MRM for the simultaneous determination of water-soluble vitamins in multi-vitamin dietary supplements. *Anal Bioanal Chemistry*, 387, 2441–2448.
- Resanović R., Sinovec Z., 2006.** Effects of limited feeding of aflatoxin B₁ contaminated feed on the performance of broilers. *Mycotoxin Research*, 22, 3, 183–189.
- Tomašević-Čanović M., Daković A., Marković V., Radosavljević-Mihajlović A., Vukićević J., 2000.** Adsorption effects of mineral adsorbents, part III: adsorption behaviour in the presence of vitamin B₆ and microelements. *Acta Veterinaria*, 50, 1, 23–29.
- Vinas P., Lopez-Erroz C., Balsalobre N., Hernandez-Cordoba M., 2003.** Reversed-phase liquid chromatography on an amide stationary phase for the determination of the B group vitamins in baby foods. *Journal of Chromatography A*, 1007, 77–84.

Investigation of zeolites influence on vitamin B₆ content in broilers' chicken meat-method validation

Basić Zorica, Kilibarda Vesna, Resanović Radmila, Maksimović Milan

S u m m a r y: Zeolites are crystal, hydrated aluminosilicates of alkali-metal and alkaline-earth-metal cations which possesses "infinite" three-dimensional crystalline structure, and are characterized with an ability of losing and accepting water and interchanging some of their own constitutional cations. Zeolites are more and more used in veterinary and human medicine. As a dietary supplement, they have been present on the European market since 1998. Zeolite-based products are used to adsorb aflatoxins and prevent aflatoxicosis, as well as appearance of aflatoxins residues in eggs, poultry meat, beef, mutton and pork.

The aim of this paper was to determine, using HPLC method with fluorescent detection, the content of vitamin B₆ in meat of poultry fed with: commercial feed for broilers' fattening; commercial feed for broilers' fattening with the addition of 0,2% of zeolite, i.e. to investigate whether the presence of zeolite in feed has any influence on resorption and total vitamin B₆ content in poultry meat.

For this purpose an experiment on 30 broiler chicken was set. During 6 weeks, control group was fed with commercial broiler chicken fattening mixture, while 0,2% of zeolite was added to the experimental group's commercial mixture. After six weeks vitamin B₆ content was determined by ion-pair reverse-phase HPLC method with fluorescence detector; after acid and enzymatic meat samples hydrolysis. Results show that, after adding 0,2% of zeolite to chicken diet, there was no statistically significant difference in vitamin B₆ content in meat of experimental group, compared with the control group of broiler chicken. Investigation of zeolite adsorption ability of vitamin B₆ gave significant contribution to the studies of the possibilities of its application in poultry production from the aspect of obtaining meat that fulfills all hygienic and nutritional requirements.

Key words: zeolite, vitamin B₆, HPLC.

Rad primljen: 30.04.2009.

Rad prihvaćen: 1.07.2009.

Proizvodne i klanične karakteristike jarića domaće balkanske koze

Memiši Nurgin¹

S a d r Ź a j: U radu su prikazani rezultati ispitivanja uticaja ishrane na klanične rezultate, tj. proizvodnju mesa kod 96 jarića domaće balkanske koze (četiri stada, po 24 jareta u svakom stadu i odnosom polova 50:50), koji su zaklani u uzrastu od 90 dana, da bi se utvrdila razlika između ispitivanih stada koza i pola jarića (muška i ženska grla). Prosečan prinos toplog trupa sa glavom i iznutricama kod jarića svih ispitivanih stada je bio 58,19 posto. Relativan udeo mišićnog tkiva u trorebarnom isečku jarića, prosečno je za sva ispitivana stada 59,66 posto, masnog 13,01 posto, vezivnog 3,44 posto i kostnog tkiva 23,88 posto. Prosečno, za sve jariće ispitivanih stada, masa *Musculus longissimus dorsi* (MLD) je bila 0,111 kg, dužina 29,01 cm, dijametar „a” 3,94 cm, dijametar „b” 2,17 cm i odnos „a/b” – 1,81 cm. Rezultati analize varijanse pokazuju da je na masu trorebarnog isečka statistički signifikantan uticaj ($p < 0,01$) imalo samo stado, dok je uticaj pola jarića bio značajan samo na nivou $p < 0,05$.

Bolja ishrana jarića u tovu (drugo i četvrto stado) povoljnije je uticala na postizanje veće telesne mase jarića u uzrastu od 90 dana, kao i povoljnije komercijalne vrednosti trupa.

Ključne reči: jarići, pol jarića, klanični rezultati.

Uvod

Proizvodnja kozjeg mesa u svetu, iako je četiri puta manja od proizvodnje mesa ovaca, ima veliki značaj za mnoge zemlje, a naročito za zemlje Azije, Afrike i Južne Amerike. U zemljama Evropske zajednice proizvodnja kozjeg mesa je od manjeg značaja, naročito u zemljama u kojima se gaje mlečne rase koza i u kojima je meso „prateći” proizvod. Procenjuje se da na kozje meso u Evropi ima oko 1/10 ukupne količine mesa ovaca. Grčka, Španija i Francuska su najveći proizvođači ove vrste mesa, jer proizvode dve trećine ukupne količine kozjeg mesa u Evropi (Memiši i Bauman, 2002).

Usled dugogodišnje zabrane držanja koza, u Republici Srbiji nisu, vođeni bilo kakvi statistički podaci o brojnom stanju i proizvodnji koza. Broj jarića i koza koji se u našoj zemlji kolju na godišnjem nivou nije beznačajan. Međutim, ukupan broj nije na raspolaganju tržištu, jer se najviše jarića, pa i odraslih grla, kolje i koristi u okviru gazdinstava koja ih gaje (Memiši i Bauman, 2007). Zbog toga je, zasad, vrlo mala ponuda ove vrste mesa na tržištu. Međutim, poslednjih godina nastale su bitne promene u zainteresovanosti za uzgoj ovih vrlo korisnih domaćih životinja. Sve je više onih koji nastoje da zasnuju kozarsku proizvodnju ili povećaju postojeći broj grla u stada. Ova pojava nagoveštava da na tržištu treba da se očekuje povećanje priliva kozjeg

mesa svih kategorija. Međutim, u našim uslovima do sada još nije bilo organizovanog tova u bilo kojoj kategoriji koza, niti postoje bilo kakvi propisi koji daju potrebne parametre za procenu kozjeg mesa svih kategorija. Pored zvaničnih propisa o kvalitetu kozjeg mesa svih kategorija, kao i zaklanih životinja, bilo bi neophodno da se razrade i drugi detalji o pripremanju ove vrste životinja za tržište (Žujović i dr., 1984).

Mada će i u našim uslovima osnovni proizvod koza biti, uglavnom, mleko, proizvodnja mesa ne sme da se zanemari. Treba pravilno iskoristiti visoku potencijalnu mogućnost koza za dobru plodnost (Memiši i dr., 2001). Koza je poznata kao najplodniji preživar, što su mnogi odgajivači iskoristili za povećanje proizvodnje jarećeg mesa forsiranjem mnogoplodnosti koza i stvaranjem rasa koje godišnje, u jednom jarenju daju, prosečno dva do tri jareta. Ova sposobnost koza može veoma dobro da se iskoristi pri dvokratnom jarenju, i to tamo gde je proizvodnja jarećeg mesa rentabilnija od proizvodnje mleka i gde je, iz bilo kojih razloga, smanjeno interesovanje za proizvodnju mleka, ili pak nema uslova za organizovano unovčavanje većih količina mleka, niti za njegovu preradu (Memiši i Bauman, 2002; Memiši i dr., 2004).

S obzirom da je naša literatura oskudna u podacima koji se odnose na koze, odnosno jariće, koji se uzgajaju u Srbiji (Memiši, 2000), cilj ovog rada

¹AD Mlekara, Tolminska 10, 24 000 Subotica, Republika Srbija.

bio je da se ispituju neki proizvodni rezultati i klanične karakteristike jarića domaće balkanske koze. Razlog više je u tome što domaća balkanska koza u visokom procentu (oko 35 posto), učestvuje u rasnom sastavu ukupne populacije koza koje se odgajaju u Srbiji (Memiši i dr., 1998a; Memiši i Bauman, 2002).

Materijal i metode

Istraživanja su izvedena u stadima balkanskih koza (četiri stada) privatnih odgajivača, gde je ispitivana tovnost sposobnost, tj. proizvodnja mesa kod 96 jarića domaće balkanske koze (po 24 grla u svakom stadi i odnosom polova 50:50), koja su zaklana u uzrastu od 90 dana u klanici. Posle klanja i primarne obrade trupova, registrovana je masa toplog trupa sa glavom i iznutricama. Nakon hlađenja u trajanju od 24 časa pri temperaturi od 0 do +4°C, ustanovljena je masa ohlađenog trupa sa glavom i iznutricama kao i njegova masa bez glave i iznutrica. Odnos tkiva polutki ispitivan je u trorebarnom isečku (9, 10. i 11. rebro), disekcijom i merenjem mišićnog, masnog, kostnog i vezivnog tkiva. Nakon disekcije trorebarnog isečka, utvrđena je masa i dužina MLD, a na istom preseku uzet je otisak na paus papiru sa koga su izmereni dijometri u dva pravca: medio-lateralno (a) i dorzo-ventralno (b).

Statistička obrada podataka za klanične osobine jarića, urađena je na PC primenom programa LSMLMW (Harvey, 1990). U obradi podataka o klaničnim osobinama jarića domaće balkanske koze u zavisnosti od stada i pola jarića konačni model je imao sledeći oblik:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + P_k + e_{ijkl}$$

gde je:

Y_{ijkl} – Fenotipska vrednost pojedinih osobina uključenih u analizu,

μ – Opšta srednja vrednost,

S_i – Fiksni uticaj farme, tj. stada, ($i = 1, \dots, 4$),

P_k – Fiksni uticaj pola jarića ($k = 1, 2$),

e_{ijkl} – Ostali nedeterminisani uticaji (slučajna greška).

Pored utvrđivanja statističke značajnosti za ispitivani uticaj, efekat analizom varijanse na nivou $p = 0,05$ i $p = 0,01$ obavljeno je i testiranje razlika između pojedinačnih srednjih vrednosti primenom t-testa.

Osnovu ishrane jarića u dojnom periodu, koji je trajao 90 dana, činilo je kozje mleko. Do odlučanja, pored majčinog mleka jarići su na raspolaganju imali koncentrovanu hranu i livadsko seno. Koncentrovani deo obroka sastojao se od kukuruzne prekrupe

i pšeničnih mekinja, uz dodatak soli. Livadsko seno koje je korišćeno u ishrani jarića, bilo je iz drugog otkosa i poticalo je sa obližnjih seoskih livada, s tim što je kod jarića četvrtog stada ono poticalo sa sejanih livada (engleski ljulj + ježevica), a za jariće drugog stada nabavljeno je sa strane, odnosno na pijaci (seno crvene deteline). Ishrana jarića koncentratom i senom bila je po volji (*ad libitum*).

Rezultati i diskusija

Prosečne telesne mase jarića posle 90 dana tova za sva ispitivana stada bila je 13,62 kilograma (tabela 1), pri čemu su postignute telesne mase jarića bile na približno istom nivou i kretale su se od 13,21 (treće) do 14,07 kg (drugo stado). Utvrđene razlike između prvog i drugog, od 0,70 kg, i trećeg i drugog stada, od 0,85 kg, u korist drugog stada bile su statistički značajne ($t_{exp} = 2,57^*$ i $2,27^*$).

Najveći prosečni dnevni prirast ostvaren je kod jarića koji su pripadali drugom stadi (126,10 g), a najmanji kod jarića trećeg stada (116,70 g). U celini posmatrano, za ceo period tova prosečan dnevni prirast kod muških jarića bio je 123 g, a kod ženskih 120 g. Ostvarena razlika od 3 g u korist muških jarića nije bila i statistički značajna ($p > 0,05$).

Prosečan prinos toplog trupa sa glavom i iznutricama kod jarića svih ispitivanih stada bio je 58,19 posto. Uočljivo je da je najveći prinos toplog trupa ostvaren kod jarića četvrtog stada 58,36 posto, a najmanji kod jarića drugog stada 57,98 posto. Pregledom utvrđenih prinosa toplog trupa po stadima, primetno je da su veći prinos ostvarili jarići sa manjom masom pred klanje u odnosu na one jariće sa većom (drugo stado), što ide u prilog konstataciji da se sa smanjenjem telesne mase pred klanje tovnih jarića postiže veća vrednost prinosa trupa (*Bolacali i Kucuk, 2008*). Utvrđene razlike za visinu prinosa trupa, kako toplog, tako i ohlađenog, sa i bez glave i iznutrica, između ispitivanih stada i pola jarića, nisu bile i statistički značajne ($p > 0,05$).

Podaci o masi, kao i apsolutnom i relativnom odnosu tkiva u trorebarnom isečku, po stadima i polnoj pripadnosti jarića tovljenih do 90 dana uzrasta, prikazani su u tabeli 2.

Prosečna vrednost mase trorebarnog isečka kod jarića domaće balkanske koze bila je 111,52 grama. Rezultati analize varijanse ukazuju da je na masu trorebarnog isečka statistički signifikantan uticaj ($p < 0,01$) imalo samo stado, dok je uticaj pola jarića bio značajan samo na nivou $p < 0,05$. Manju masu trorebarnog isečka od opšteg proseka (111,52 g) imali su jarići u trećem stadi (103,8 g), dok je ona bila znatno veća kod jarića drugog stada (118,83 g),

Tabela 1. Srednje vrednosti pojedinih tovnih svojstava jarića domaće balkanske koze
Table 1. Mean and variability of carcass weight of fattened kids

Ispitivane osobine/ Investigated properties	K l a s a / C l a s s					
	S t a d o / F l o c k				P o l / S e x	
	S ₁ /F ₁	S ₂ /F ₂	S ₃ /F ₃	S ₄ /F ₄	M/M	Ž/F
	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 48)	LSM ± Sx (n = 48)
MPR/BWB kg	2,70 ± 0,07	2,71 ± 0,08	2,69 ± 0,07	2,69 ± 0,08	2,77 ± 0,06	2,62 ± 0,05
TM/BW 90, kg	13,37 ± 0,17	14,07 ± 0,21	13,21 ± 0,24	13,85 ± 0,22	13,83 ± 0,16	13,42 ± 0,14
PDP/ADG 0–90, g	118 ± 1,61	126 ± 1,72	116 ± 2,06	123 ± 1,96	123 ± 1,42	120 ± 1,32
RTTGI/DPWCHG %	58,10 ± 0,29	57,98 ± 0,25	58,34 ± 0,28	58,36 ± 0,26	58,26 ± 0,19	58,13 ± 0,19
MHTsGI/WCCHG kg	7,28 ± 0,07	7,62 ± 0,09	7,21 ± 0,12	7,54 ± 0,10	7,53 ± 0,07	7,29 ± 0,06
RHTsGI/DPCCHG %	55,71 ± 0,27	55,60 ± 0,24	55,94 ± 0,26	55,73 ± 0,24	55,83 ± 0,18	55,66 ± 0,17
MHTGI/WCCHG kg	5,93 ± 0,05	5,20 ± 0,06	5,84 ± 0,09	6,07 ± 0,07	6,10 ± 0,05	5,92 ± 0,04
RHTbGI/DPCC %	45,31 ± 0,26	45,22 ± 0,25	45,34 ± 0,28	44,89 ± 0,28	45,23 ± 0,19	45,15 ± 0,18

MPR – Masa pri rođenju/BWB – Body weight at birth;

TM – 90 – Telesna masa sa 90 dana uzrasta/BW – 90 – Body weight at 90 days;

PDP – 0–90 – Prosećan dnevni prirast 0–90 dana/ADG – 0–90 – Average daily gain 0–90 days;

RTTGI – Prinos toplog trupa sa glavom i iznutricama, %/ DPWCHG – Dressing yield of warm carcass with head and giblets;

MHTsGI – Masa hladnog trupa sa glavom i iznutricama, kg/WCCHG – Weight of cold carcass with head and giblets;

RHTsGI – Prinos hladnog trupa sa glavom i iznutricama, %/DPCCHG – Dressing yield of cold carcass with head and giblets %;

MHTGI – Masa hladnog trupa bez glave i iznutrica kg/WCCHG – Weight of cold carcass without head and giblets kg;

RHTbGI – Prinos hladnog trupa bez glave i iznutrica %/DPCC – Dressing yield of cold carcass, %.

Tabela 2. Prinos tkiva u trorebarnom isečku, g

Table 2. Yield of tissues in 3-rib cut, g

Ispitivane osobine/ Investigated properties	K l a s a / C l a s s					
	S t a d o / F l o c k				P o l / S e x	
	S ₁ /F ₁	S ₂ /F ₂	S ₃ /F ₃	S ₄ /F ₄	M/M	Ž/F
	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 48)	LSM ± Sx (n = 48)
MTI/WTRC	109,7 ± 3,26	118,8 ± 2,45	103,8 ± 4,74	113,7 ± 2,39	114,9 ± 2,02	108,1 ± 2,92
MMT/WMT	65,50 ± 1,93	70,83 ± 1,53	62,41 ± 3,04	67,41 ± 1,42	68,62 ± 1,19	64,50 ± 1,80
MMT/WFT	14,08 ± 0,50	15,17 ± 0,38	12,90 ± 0,54	15,87 ± 0,41	14,96 ± 0,36	14,05 ± 0,42
MVT/WCT	3,81 ± 0,12	4,49 ± 0,20	3,82 ± 0,16	3,26 ± 0,10	3,97 ± 0,12	3,71 ± 0,15
MKT/WBT	26,32 ± 0,74	28,34 ± 0,57	24,67 ± 1,02	27,22 ± 0,57	27,42 ± 0,49	25,84 ± 0,63

MTI – Masa trorebarnog isečka/WTRC – Weight of 3-rib cut;

MMT – Masa mišićnog tkiva/WMT – Weight of muscle tissue;

MMT – Masa masnog tkiva/WFT – Weight of fatty tissue;

MVT – Masa vezivnog tkiva/WCT – Weight of connective tissue;

MKT – Masa kostnog tkiva/WBT – Weight of bone tissue.

pri čemu je najveće unutar grupno variranje (Cv = 15,82 posto) evidentirano u trećem stadu.

Odnos mesa (mišićno i masno tkivo zajedno) i kostiju po stadima iznosi S₁ – 3,02:1, S₂ – 3,03:1, S₃ – 3,05:1 i S₄ – 3,06:1. Što se tiče odnosa mišićnog i masnog tkiva on je bio najpovoljniji kod jarića trećeg stada (4,84), za razliku od najnepovoljnijeg u četvrtom stadu (4,24). Jarići prvog i drugog stada su imali ujednačene vrednosti, koje su bile 4,65 i

4,67. Uticaj muškog pola na relativni udeo tkiva u trorebarnom isečku bio je izraženiji samo u pogledu količine mišićnog tkiva, dok je odnos ostalih tkiva kod oba pola jarića bio na sličnom nivou.

Prosečne vrednosti za prinos tkiva u trorebarnom isečku, koje su utvrđene u ovim istraživanjima, saglasne su sa vrednostima, koje u svojim istraživanjima, navode *Žujović i Josipović* (1983) za lake (10,38 kg) i srednje teške (16,05 kg) jariće domaće

bele koze kao i *Dhanda i dr.* (1999a,b) ispitujući kvalitet mesa i sastav trupa jarića koza rase Capretto i ševon koje se odgajaju u Italiji. Početne mase jarića pre klanja u ispitivanjima pomenutih autora bile su na nivou masa jarića koji su zaklani u ovim istraživanjima.

Podaci o prosečnim vrednostima mase, dužine i linearnih mera preseka *Musculus longissimus dorsi*

nosu na druga dva stada (treće i prvo). U prilog ovih tvrdnji idu i povoljnije komercijalne vrednosti u pogledu veće mase, dužine i oblika preseka MLD-a u trupu jarića ova dva stada.

Dobijeni rezultati za vrednosti mase toplog i ohlađenog trupa, sa i bez glave i iznutrica, odnosno vrednosti prinosa koje su ustanovljene kod jarića domaće balkanske koze, nalaze se na nivou onih koje

Tabela 3. Relativni odnos tkiva u trorebarnom isečku

Table 3. Relative ratio of basic tissue in 3-rib cut

K l a s a / C l a s s	V r s t a t k i v a / K i n d o f t i s s u e				Odnos mišićnog i masnog tkiva/ Meat and fat ratio
	Kosti, %/ Bones, %	Mišići, %/ Muscle, %	Mast, %/ Fat, %	Vez.tk., %/ Connec.t. %	
μ	100,00	249,87	54,49	14,42	4,58
Stado/Flock					
S ₁	100,00	248,86	53,49	14,47	4,65
S ₂	100,00	249,93	53,53	15,84	4,67
S ₃	100,00	252,98	52,29	15,48	4,84
S ₄	100,00	247,65	58,30	11,97	4,24
Pol/Sex					
Muški/Male	100,00	250,25	54,56	14,48	4,58
Ženski/Female	100,00	249,42	54,37	14,36	4,59

(MLD), kako po stadima, tako i po polnoj pripadnosti, prikazani su u tabeli 4. Rezultati analize varijanse ukazuju da utvrđene razlike u osobinama MLD-a, i po ispitivanim stadima i polu jarića, statistički nisu bile značajne (p < 0,05).

Na osnovu dosad navedenih rezultata ispitivanja prinosa mesa jarića domaće balkanske koze,

su u svojim istraživanjima utvrdili *Becerril-Herrera i dr.* (2006), kod jarića meksičke Creole rase koza, kao i *Marichal i dr.* (2003), za vrednost prinosa zaklanih jarića sa različitom telesnom masom (od 6 do 15 kg) i *Kor i Ertugrul* (2000), proučavajući klanične rezultate i kvalitet mesa kod jarića Akkeci rase koza. Slične vrednosti za prinos ohlađenog trupa

Tabela 4. Srednje vrednosti i varijabilnost osobina MLD-a utovljenih jarića

Table 4. Mean and variability properties of MLD in fattening kids

Ispitivane osobine/ Investigated properties	K l a s a / C l a s s					
	S t a d o / F l o c k				P o l / S e x	
	S ₁ /F ₁	S ₂ /F ₂	S ₃ /F ₃	S ₄ /F ₄	M/M	Ž/F
	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 24)	LSM ± Sx (n = 48)	LSM ± Sx (n = 48)
MMLD, g/WMLD, g.	109 ± 0,02	117 ± 0,01	106 ± 0,01	113 ± 0,01	113 ± 0,01	109 ± 0,01
DMLD/LMLD, cm	28,4 ± 1,94	30,0 ± 1,95	28,2 ± 1,84	29,3 ± 1,77	29,4 ± 1,88	28,6 ± 1,96
ML „a“ – cm	3,94 ± 0,25	4,0 ± 0,31	3,88 ± 0,19	3,92 ± 0,31	3,95 ± 0,26	3,92 ± 0,27
DV „b“ – cm	2,09 ± 0,20	2,26 ± 0,19	2,12 ± 0,21	2,19 ± 0,19	2,16 ± 0,21	2,17 ± 0,20
a/b	1,88 ± 0,09	1,77 ± 0,06	1,82 ± 0,19	1,79 ± 0,08	1,84 ± 0,11	1,79 ± 0,13

MMLD – Masa MLD-a/WMLD – Weight of MLD;
DMLD – Dužina MLD-a/LMLD – Length of MLD;
ML „a“ – medio-lateralno/ – medio-lateral
DV „b“ – dorzo-ventralno/ – dorso-ventral

između ispitivanih stada se, sa sigurnošću može da konstatuje da su jarići četvrtog i drugog stada, bili u većoj ili manjoj prednosti u pogledu skoro svih ispitivanih osobina proizvodnje jarećeg mesa, u od-

bez glave i iznutrica kod jarića muškog pola, koji su na nivou onih koji su dobijeni u ovim ispitivanjima (45,23 posto), utvrdili su, u svojim istraživanjima, *Daskiran i dr.* (2006), proučavajući klanične re-

zultate muških jarića lokalne Norduz rase koza koji se odgajaju u Turskoj, u intenzivnom (41,49 posto) i pašnjačkom sistemu uzgoja (44,63 posto), kao i *Bolacali* i *Kucuk* (2008), koji su kod 2 genotipa koza (Angora x Moher obojena i Moher obojena) dobili slične vrednosti prinosa trupa jarića (44,3 i 45,5 posto) ispitujući njihove tovnne karakteristike kao i kvalitet mesa.

Zaključak

Na osnovu sprovedenih ispitivanja proizvodnih i klaničnih rezultata kod jarića domaće balkanske koze mogu da se izvedu zaključci:

1. Prosečan prinos toplog trupa sa glavom i iznutricama kod jarića svih ispitivanih stada iznosi 58,19 posto, dok je prosečan prinos ohlađenog trupa bez glave i iznutrica kod jarića svih stada bio 45,19 posto. Razlike koje su utvrđene u masi toplog i

ohlađenog trupa, sa i bez glave i iznutrica, bile su statistički značajne ($p < 0,01$) između ispitivanih stada, dok su te razlike u odnosu na polnu pripadnost (muška i ženska grla) bile na nivou $p < 0,05$.

2. Relativni udeo mišićnog tkiva u trorebarnom isečku jarića, prosečno za sva ispitivana stada, iznosi 59,66 posto, masnog 13,01 posto, vezivnog 3,44 posto i kostnog tkiva 23,88 posto. Prosečno, za sve jariće ispitivanih stada masa MLD-a je bila 0,111 kg, dužina 29,01 cm, dijametar „a” 3,94 cm, dijametar „b” 2,17 cm i odnos „a/b” – 1,81 cm. Rezultati analize varijanse pokazuju da je na masu trorebarnog isečka statistički signifikantan uticaj ($p < 0,01$) imalo samo stado, dok je uticaj pola jarića bio značajan samo na nivou $p < 0,05$.

3. Bolja ishrana jarića u tovu (drugo i četvrto stado) povoljnije je uticala na postizanje veće telesne mase jarića u uzrastu od 90 dana, kao i na povoljnije komercijalne vrednosti trupa.

Literatura

- Becerril-Herrera M., Guzman-Pina O., Alonso-Spilsbury M., Dorsez-San Vicente E. V., Lemus-Flores C., Flore-Peinado S., Ramirez-Necoechea R., Mota-Rojas D., 2006.** Morphometry, carcass yield and traits of Mexican Creole goat kids slaughtered and packed in a Federal inspection plant. *Journal of Biological Sciences*, 6, 3, 604–609.
- Bolacali M., Kucuk M., 2008.** Fattening performance, slaughter and carcass characteristics of male kids of coloured Mohair goats and Angora goats x Coloured Mohair goats cross-breed F_1 . *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7, 4, 502–507.
- Daskiran I., Kor A., Bingol M., 2006.** Slaughter and carcass characteristics of Norduz male kids raised in either intensive or pasture conditions. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5, 3, 274–277.
- Dhanda J. S., Taylor T. G., Mc Cosker J. E., Murray P. J., 1999b.** The influence of goat genotype on the production of Capretto and Chevon carcasses. *Meat Science*, 52, 369–374.
- Dhanda J. S., Taylor T. G., Murray P. J., Mc Cosker J. E., 1999a.** The influence of goat genotype on the production of Capretto and Chevon carcasses. *Meat Science*, 52, 363–367.
- Harvey W. R., 1990.** Mixed model least squares and maximum likelihood computer program. User's Guide for LSMLMW and MIXMDL.
- Kor A., Ertugrul M., 2000.** Some slaughtering-carcass characteristics and meat composition of Akkeci male goats. Ankara University, *Journal of Agriculture Science*, 6, 86–91.
- Kumar P., Singh U. B., Ranjhan S. K., 1978.** Influence of type of ration on the growth rate and carcass quality of young goats. In: "Use of radiations and radioisotopes in studies of animal production", FSTA/1978/10,2 G 58, India, 40–47.
- Marichal A., Castro N., Capote J., Zamorano M. J., Arguello A., 2003.** Effects of live weight at slaughter (6, 10 and 15 kg) on kid carcass and meat quality. *Livestock Production Science*, 247–256.
- Memiši N., Bauman F., 2007.** Goat Nutrition. Admiralbooks, Belgrade, 230.
- Memiši N., 2000.** Quantitative analysis of body development and production traits of Domestic Balkan goats. Ph. D thesis, Faculty of Agriculture, Belgrade, 161.
- Memiši N., Bauman F., 2002.** Goat. Agriculture library, Belgrade, 75.
- Memiši N., Bauman F., Stojanović S., Pavlov B., Jovanović S., 2004.** Production characteristics of domestic Balkan goats. *Animal Genetic Resources Information*, Rome, Italy, 35, 87–94.
- Memiši N., Bauman F., Žujović M., 2001.** The influence of year and number of laktacion on domestic Balcan goat fertility. *International Symposium of Livestock Production*, Herceg Novi, Yugoslavia. *Contemporary Agriculture*, Novi Sad, 50, 3–4, 63–66.
- Memiši N., Božović V., Bauman F., Latinović D., 1998a.** Growth characteristics of kids of domestic Balcan goats. *Contemporary Agriculture*, Novi Sad, 46, 3–4, 83–85.
- Memiši N., Božović V., Bauman F., Latinović D., 1998b.** Variability of production traits of domestic Balcan goats from the mountain region of Sharplanina. *Contemporary Agriculture*, Novi Sad, 46, 3–4, 75–80.
- Žujović M., Čeranić V., Josipović S., 1984.** Značaj i osobine jarećeg mesa. VII republičko savetovanje, Banja Kovi-ljača.
- Žujović M., Josipović S., 1983.** Uticaj telesne mase jaradi pred klanje na prinos i kvalitet mesa. Kvalitet mesa i standardizacija, Zbornik radova, Bled, 238–247.

Production properties and slaughtering parameters of domestic Balkan goat's kids

Memiši Nurgin

S u m m a r y: Goats are known as the most fertile of ruminants which was used by many breeders to increase the production of kid's meat by forgoing the fertility of goats and creating the breeds that can produce 2-3 kids in one kidding. This property of the goats can be used also in the case of two kiddings a year, in the case where meat production is more payable than milk production or there is a decreased interest for milk production (lack of conditions for milk commutation or processing).

Since the available national literature is deficient in data related to goats and kids bred in Serbia, the aim of this paper was to investigate certain production results and slaughtering parameters of domestic Balkan goat's kids. One more reason for this is the fact that domestic Balkan goat makes 35% of total goat population raised in Serbia.

The paper presents the investigation of slaughtering parameters, i.e. meat production results, in 96 kids of the domestic Balkan goat (4 herds, 24 animal per herd, 50:50 sex ratio), slaughtered at 90 days of age in order to determine differences between investigated herds and sex of kids (male vs. female), pertaining to quantitative characteristics of meat. The average warm carcass dressing percentage including head and entrails for kids from all investigated herds was 58.19%. Relative share of muscle tissue in three rib cut for kids from all investigated herds was 59,66%, fatty tissue 13,01%, connective tissue 3,44% and bone tissue 23,88%. For all kids, from all investigated herds, the weight of MLD was 0,111 kg, length 29,01, diameter "a" 3,94 cm, diameter "b" 2,17 cm and ratio "a/b" – 1,81 cm. Analysis of variance show that differences established for the weight of MLD were statistically significant ($P < 0,01$) between investigated herds, while these differences for sexes (male and female) were at the $P < 0,05$. Established differences for dressing percentage, warm, cold, and cold with and without head and entrails, between investigated herds and sexes were not statistically significant ($P > 0,05$).

Better nutrition during fattening (Herd 2 and Herd 4) had a considerable favorable effect on achieving higher body weight at 90 days, as well as better commercial value of the carcass.

Key words: kids, sex of kids, slaughtering parameters.

Rad primljen 7.09.2009.

Rad prihvaćen 14.09.2009.

Evaluation of lipid composition and fatty acid content of minced beef*

Nikolić Nada¹, Todorović Zoran¹, Radulović Niko², Lazić Miodrag¹

Abstract: Meat and meat products quality depends on content and composition of the main meat components, proteins, lipids, minerals and water.

In this paper we investigated the kinetics of lipid extraction and lipids and fatty acid composition of minced beef from Leskovac region. Lipids fractions were determined by HPLC. Free fatty acids content in the tested samples ranged from 8.7% to 52.6%, monoacylglycerols ranged from 0.4 to 2.6%, and diacylglycerols from 0.7 to 3.0%, while the content of triacylglycerols was the highest and ranged from 36.9% to 89.6%. The content of fatty acids in acylglycerols was determined by GC. Oleic, palmitic and stearic fatty acid were present in the highest content and ranged from 37.1% to 41.8%, 23.5 to 30.4% and 15.7% to 19.0%, respectively. Some quantities of myristic, pentadecanoic, palmitoleic, margaric, linoleic and phtalic acid were detected in investigated samples too. Based on statistic analysis, samples were classified in two groups, one with high oleic acid content, associated with low palmitoleic acid content and the second one with high stearic acid content associated with low palmitic acid content. Based on *t*-test, content of oleic, stearic and linoleic acid of $39.59\% \pm 1.86\%$, $17.69\% \pm 1.28\%$ and $2.33\% \pm 1.03\%$, respectively, can be used for evaluating the lipid composition of the minced beef.

Key words: minced beef, lipid composition, HPLC, acylglycerols, fatty acids, GC.

Introduction

Deposits of fat in meat are adipose and intramuscular fatty tissue. Lipids in adipose tissue consist, primarily, of triacylglycerols, while in intramuscular tissues of both, triacylglycerols and membrane-bonded fats, such as phospholipids and lipoproteins. Fatty acids associated with these tissues are saturated or unsaturated (Pegg and Shaidi, 2005). Fat is the most variable component of meat and its content varies more than amino acids content. Fat content in meat depends on seasonal variations (Shirai et al., 2002), animal species, diet and meat storage conditions (Melton, 1990; Fennema, 1996) as well as breeding system, weaning and sex (Cividini et al., 2008). Lipids, or more precisely their fatty acid composition, contribute in a wide range to meat quality (Wood et al., 2004) influence on color stability, drip loss and development of oxidative rancidity (Enser et al., 1996a; Enser et al., 1996b;

Enser et al., 1998). The lipid thermal reactions of degradation (Mottram, 1994) and polyunsaturated fatty acids oxidation reactions (Elmore et al., 1999; Elmore et al., 2000), besides the Maillard reaction which occurs between amino acids and sugars, are the main source of volatiles in cooked meat. After oxidation of unsaturated fatty acids, the meat quality (flavor, color, nutritive value, protein functionality etc.) is changed (Pegg and Shaidi, 2005). Hornstein et al. (2006) extracted lipids from beef and pork muscle and fractionated them into triacylglycerols, cephalins and mixture of lecithin and sphingomyelins.

The aim of this paper was to investigate kinetics of lipid extraction, lipid and fatty acid composition of minced beef from region of Leskovac, as well as to determine the efficiency of lipid extraction and the time of total lipid extraction. Chemical composition of fat was given as content of free fatty acids (FFA), monoacylglycerols (MAG), diacylglycerols

***Note:** This work was supported by the project „Development of the formulations and technologies for pharmaceutical products and cosmetics based on liposomes, microspheres and inclusion complexes“ No 19048 of the Ministry of Science and Technological Development of Republic of Serbia.

*This abstract has been published in the Book of Abstracts from the International 55th Meat Industry Conference held on Tara mountain, 15–17th June 2009.

¹University in Niš, Faculty of Technology, Bulevar oslobođenja 124, 16 000 Leskovac, Republic of Serbia;

²University in Niš, Faculty of Matchematical – Department of Chemistry, Višegradska 33, 18 000 Niš, Republic of Serbia.

Corresponding author: Nikolić Nada, nadanikolic64@yahoo.com

(DAG) and triacylglycerols (TAG) and as free fatty acids composition. In order to evaluate the investigated samples and to determinate the correlation between lipid parameters and differences between means of samples' fatty acid content, the statistic analysis by determining the Euclidean linkage distances, correlation matrices and t-test was performed.

Material and method

Material

Samples (S1-S5) of minced beef, from Leskovac region were purchased in local stores.

Chemicals used for extractions were of high quality (carbon tetrachloride, methanol, potassium hydroxide, chloroform and sodium sulfate) and were purchased from Centrohem, Serbia. Chemicals for HPLC and GC analyses were analytical grade (methanol, 2-propanol, and *n*-hexane) and were purchased from Riedel-de Haën, Honeywell Specialty Chemicals, Germany.

Methods

a) The sample of minced meat (50 g) was put into Erlenmeyer flask, 500 ml of carbon tetrachloride was added and extracted during 30 minutes, under reflux, by mixing (200 rot. min⁻¹), at solvent boiling temperature. The extract was separated by Buchner funnel under weak vacuum. The residue of meat was extracted three more times by the same procedure. The extracts were pooled and rinsed with water in the separation funnel (3 x 10 ml H₂O). The volume of the extracts was recorded and an aliquot of 3 ml was taken for dry residue determination test and meat lipid content was calculated. The residue of lipid extract, after dry residue determination test, was evaporated under vacuum and the obtained lipid residue was used for HPLC and GC analyses.

b) Lipid extract (3 ml) was put into the disk plate analyzer (Scaltec SMO 01, Scaltec instruments, Germany) and dried at 110°C to a constant weight. The content of dry residue was read out on the analyzer display. The dry residue content determination test was performed in triplicate.

c) The samples of minced meat (5 g) were put into Erlenmeyer flask. 50 ml of carbon tetrachloride was added and sample was extracted during 10, 30, 45, 60 or 90 minutes, under reflux, by mixing (200 rot. min⁻¹) at solvent boiling temperature. For each extraction time a separate meat sample was used. The extract was separated by using Buchner funnel under weak vacuum. Dry residue content determination test was performed in triplicate and lipid content for each extraction time was calculated.

HPLC analysis

For HPLC analysis, Holčapek *et al.* (1999) modified HPLC method was used. The equipment consisted of Agilent 1100 High Performance Liquid Chromatograph, equipped with a degasser, a binary pump, a Zorbax Eclipse XDB-C18 column (4.4 mm x 150 mm x 5 µm) and a UV/Vis detector. The flow rate of binary solvent mixture (methanol, solvent A, and 2-propanol/*n*-hexane, 5:4 v/v, solvent B) was 1 ml/min, with a linear gradient from 100% A to 40% A+ 60% B in 15 min. Column temperature was held constant, at 40°C. The lipid components were detected at 205 nm. The MAG, DAG and TAG were identified by comparing retention times of lipid components with retention times of standards. Samples were dissolved into a mixture of 2-propanol: *n*-hexane (5:4 v/v) and filtered through 0.45 µm Millipore filters. All measurements were performed in triplicate.

GC analysis

For GC analysis, methyl-esters were prepared as follows: approximately 3 g of lipids were dissolved in 50 ml of anhydrous methanol, with slight stirring, and 1 ml of 1M KOH was added. The content was heated under reflux, by mixing (200 rot. min⁻¹), during 10 minutes. Then, 30 ml of water was added and the content was transferred into a separation funnel. After cooling, esters were extracted with 30 ml chloroform and chloroform extract (lower layer) was separated. The extraction of esters with 20 ml of chloroform was repeated two more times. The pooled chloroform extracts were washed with water, dried with anhydrous sodium sulfate and evaporated to dryness under vacuum.

For GC analysis, the HP 5890 Series II Gas Chromatograph, HP with FID detector, and integrator HP 3396 A was used. Column was ULTRA 2 (25m x 0.32 mm x 0.52 µm), injector temperature 320° C, and injected volume was 0.4 µl. The carrier gas was helium at a constant flow rate of 1 ml/min. Temperature flame ionization detector was set at 350° C and split ratio was 1:20. Oven temperature was initially set at 120° C, with hold time at 120° C of 1 min, then increased by 15° C/min to 200° C, increased by 3° C/min to 240° C, increased by 8° C/min to 300° C and hold at 300° C of 15 min. Fatty acids were identified by comparing retention times of the obtained peaks with the retention times fatty acid peaks in standards. GC analysis of the same lipid sample was performed in triplicate.

Statistical analysis

The mean, standard deviation, Euclidean distances (clustering method with single linkage) and

the correlation matrices were determined by program STATISTICA, version 5.0. Obtained data were tested by a single factor ANOVA, and the differences between means were determined by two samples assuming equal variances t-test, using EXCEL software. Significance of differences was defined at $p < 0.05$.

Results and discussion

The obtained results of the kinetics of lipids extraction for minced beef are presented in Figure 1 and Table 1. The results we obtained show that over 90% of the lipids from all samples were extracted

after 30 minutes. The efficiency of extraction (EE) was expressed as ratio of lipid content extracted from the sample after 30 minutes and lipid content in the sample. The lipids content in investigated samples had a wide range, from 5.06 (S1) to 21.02% (S4).

Table 1 shows the HPLC results of FFA, MAG, DAG and TAG content in five samples of baby beef meat.

Figure 2 and Table 1 present HPLC profile of lipids in the tested samples. The content of lipid fractions was determined by measuring peak area at 1.76 min for FFA; peaks area in the range of 3.44-4.58 min, for MAG; peaks area in the range of 5.28-8.68 min, for DAG and peaks area in the range of 10.91-15.81 min, for TAG (Holčapek, 1999). The

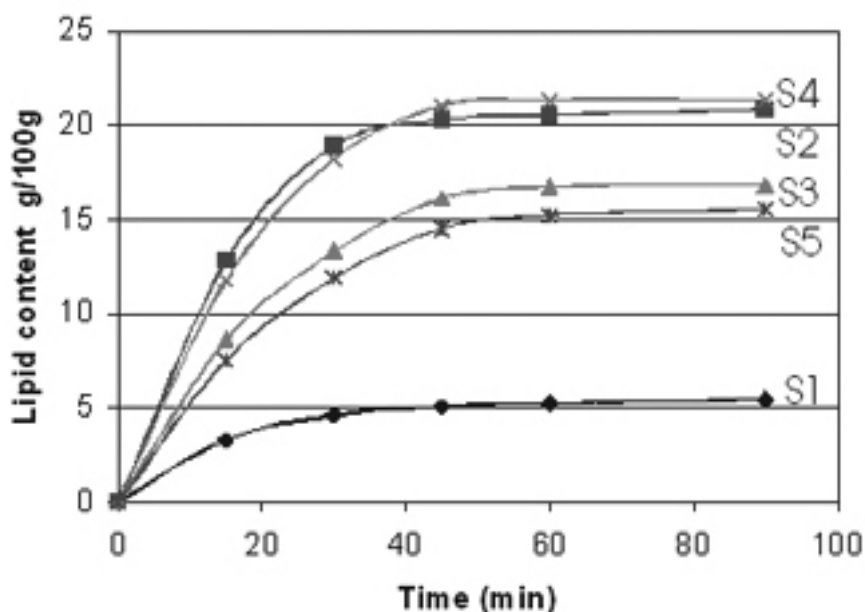


Figure 1. Kinetics of lipids extraction from five samples (S1–S5) of minced meat
Slika 1. Kinetika ekstrakcije lipida iz pet uzoraka (S1–S5) mlevenog junećeg mesa

Legenda/Legend:

Lipid content g/100g/Sadržaj masti g/100g;
Time (min)/Vreme (min)

Table 1. The lipids content (LC), efficiency of extraction (EE) and HPLC results for lipids in five samples of minced meat (S1–S5)

Tabela 1. Sadržaj lipida (LC), efikasnost ekstrakcije (EE) i rezultati HPLC analize lipida iz pet uzoraka mlevenog junećeg mesa (S1–S5)

Sample	LC (%)	EE (%)	FFA (%)	MAG (%)	DAG (%)	TAG (%)
S1	5.06 ± 0.8*	96.5 ± 1.9	40.2 ± 2.2	2.6 ± 0.1	2.0 ± 0.9	55.1 ± 3.4
S2	20.28 ± 2.4	94.7 ± 1.8	52.6 ± 1.9	1.3 ± 0.1	1.6 ± 1.3	64.4 ± 3.1
S3	16.33 ± 1.0	95.7 ± 1.0	61.1 ± 1.7	1.2 ± 0.2	0.8 ± 0.7	36.9 ± 2.7
S4	21.02 ± 1.6	94.9 ± 1.2	8.7 ± 0.4	1.0 ± 0.3	0.7 ± 0.4	89.6 ± 3.8
S5	15.09 ± 1.1	96.2 ± 1.3	18.9 ± 0.6	0.4 ± 0.2	3.0 ± 1.1	77.7 ± 2.8

*mean value followed by standard deviation/srednja vrednost i standardna devijacija

content of FFA is in a very wide range, from 8.7%, in sample 4, up to 61.1%, in sample 3. The content of MAG and DAG in all tested samples is low and the reason for that might be the freshness of meat samples. MAG content is in the range from 0.4%, in sample 5, to 2.6%, in sample 1. DAG content is in range of 0.7% in sample 4 to 3.0% in sample 5. The content of TGA is the highest and it is in range from 36.9%, in sample 3, to 89.6%, in sample 4.

(C_{18:2}), stearic (C_{18:0}) and phtalic (1,2 benzene-dicarboxylic) acid (C₆H₄(COOH)₂). Samples 3 and 4, besides these fatty acids, contained 0.82 % and 0.51%, of cholesterol respectively.

The oleic acid was detected in the highest content, which ranged from 37.1 % to 41.8%. It is followed by the content of palmitic acid, ranging from 23.5% to 30.4%, than the content of stearic acid, in the range from 15.7% to 19.0%. The content

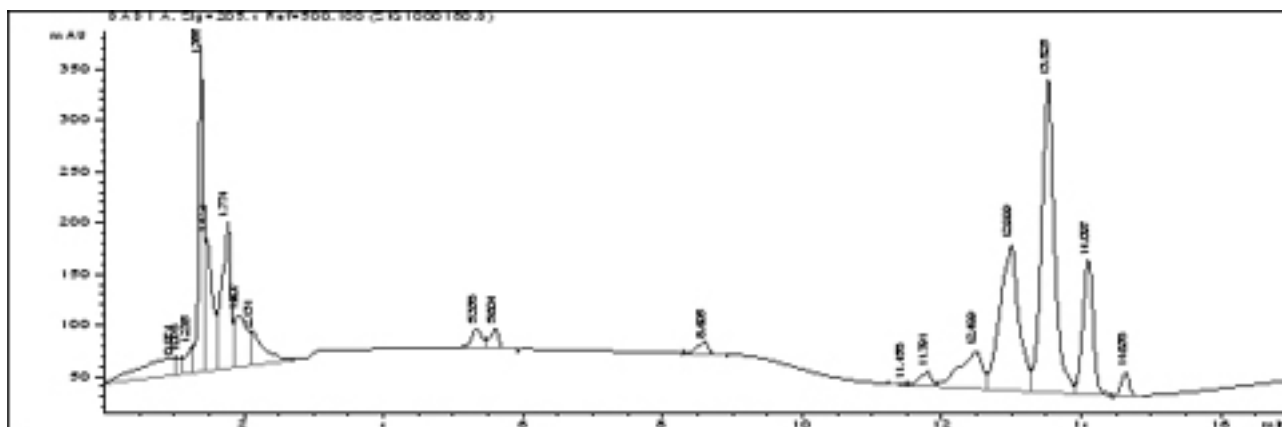


Figure 2. The HPLC profile of lipids in minced beef, sample 5

Slika 2. HPLC profil lipida u junećem mesu, uzorak 5

Results of GC analysis of fatty acid content of lipids in five samples of minced beef are presented in Table 2. Figure 3 shows is GC chromatogram of lipids from sample 1.

of other fatty acids in all samples was less than 5%. Based on these fatty acids content, the content of total saturated fatty acid (TS) in samples 1, 2, 3, 4 and 5 was 50.79%, 50.04%, 48.54%, 46.95% and

Table 2. Results of GC analysis of lipids obtained for five samples of minced beef (S1–S5), (%)

Tabela 2. Rezultati GC analize lipida u pet uzoraka junećeg mesa (S1–S5), (%)

Fatty acids	RT (min)	Sample/(%)				
		S1	S2	S3	S4	S5
Myristic acid (C _{14:0})	12.83	4.75 ± 0.24*	2.40 ± 0.23	2.34 ± 0.39	2.74 ± 0.31	2.26 ± 0.28
Pentadecanoic acid (C _{15:0})	14.29	0.74 ± 0.22	0.37 ± 0.04	0.33 ± 0.05	0.38 ± 0.07	0.13 ± 0.06
Palmitoleic acid (C _{16:1})	15.48	4.17 ± 0.21	3.72 ± 0.25	3.13 ± 0.23	3.93 ± 0.63	2.88 ± 0.32
Palmitic acid (C _{16:0})	15.86	23.46 ± 2.65	30.44 ± 1.37	26.00 ± 1.06	25.53 ± 2.04	25.61 ± 2.54
Margaric acid (C _{17:0})	16.61	2.84 ± 0.31	1.11 ± 0.17	1.57 ± 0.23	1.10 ± 0.11	0.62 ± 0.07
Linoleic acid (C _{18:2})	18.06	1.41 ± 0.11	1.69 ± 0.15	2.58 ± 0.13	1.97 ± 0.39	4.00 ± 0.43
Oleic acid (C _{18:1})	18.21	37.07 ± 2.38	38.85 ± 3.37	41.81 ± 1.57	39.25 ± 1.85	40.99 ± 1.99
Stearic acid (C _{18:0})	18.36	19.00 ± 1.95	15.72 ± 1.63	18.30 ± 0.81	17.21 ± 1.75	18.25 ± 0.83
Phtalic acid (C _{14:0}) (1.2 benzene-dicarboxylic acid)	18.55	0.06 ± 0.02	1.01 ± 0.18	0.26 ± 0.07	0.17 ± 0.03	1.20 ± 0.19
Cholesterol	23.47	–	–	0.82 ± 0.19	0.51 ± 0.12	–
TS (total saturated)		50.79 ± 2.65	50.04 ± 1.37	48.54 ± 1.06	46.95 ± 2.04	46.87 ± 2.54
TUS (total unsaturated)		42.65 ± 2.38	44.26 ± 3.37	44.52 ± 1.57	45.15 ± 1.85	45.12 ± 1.99

*mean value followed by standard deviation/ srednja vrednost i standardna devijacija

Lipids from all samples contained myristic (C_{14:0}), pentadecanoic (C_{15:0}), palmitoleic (C_{16:1}), palmitic (C_{16:0}), margaric (C_{17:0}), oleic (C_{18:1}), linoleic

46.87%. The content of total unsaturated fatty acids (TUS) was 42.65%, 44.26%, 44.52%, 45.15% and 45.12%, respectively. As the content of saturated

and unsaturated fatty acids is similar, it indicates that there is a balance between these groups of fatty acids. The content of saturated fatty acid was in the range from 46% to 51%, and the content of unsaturated fatty acids was in the range of 42% to 45%.

The dendrogram shows that lipids from sample 4 and sample 5 are joined at the shortest distance level of 17.0 and make the first meat group. The lipids from sample 1 and sample 3 were joined at the distance level of 18.0. On a very close distance level

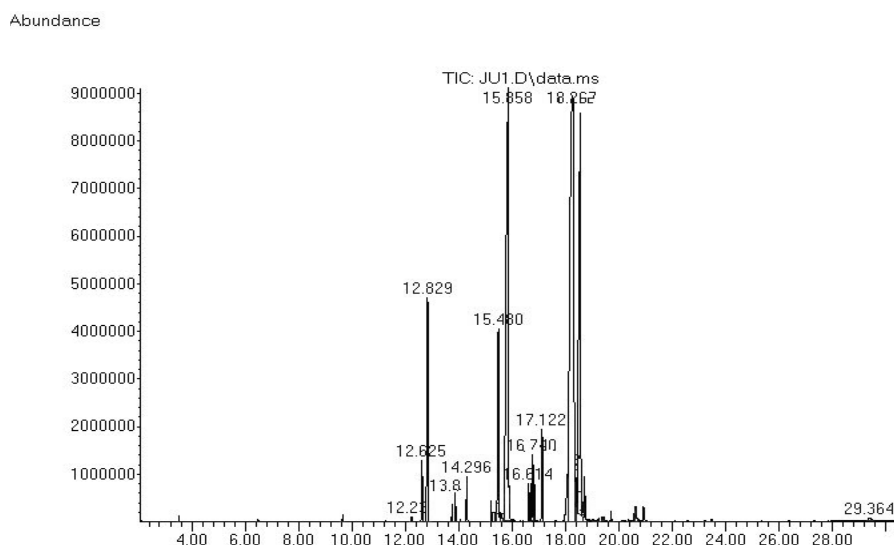


Figure 3. GC chromatogram of minced beef fatty acids pattern, sample 1
Slika 3. GC hromatogram profila masnih kiselina u mlevenom junećem mesu, uzorak 1

By cluster analysis, based on multiple variables, beef meat lipids of five samples were classified. Number of variables was five (five samples) and number of cases was eight: LC, FFA, TAG, palmitoleic, palmitic, linoleic, oleic and stearic acid content. Euclidean linkage distances were obtained and presented by dendrogram in Figure 4.

of 18.1 to these samples was sample 2, so they make the second meat group. Thus, based on similarity of set eight parameters, the investigated samples are different but classified only into two groups.

The correlation coefficients between fatty acids in acylglycerol lipid fraction of beef are presented in Table 3. The sample size was five (N=5, samples S1-S5). Only correlations above the absolute value of 0.8 are taken into consideration. Two correlations were determined and they were opposite: high oleic acid content, is associated with low palmitoleic acid content, while high stearic acid content goes with low palmitic acid content.

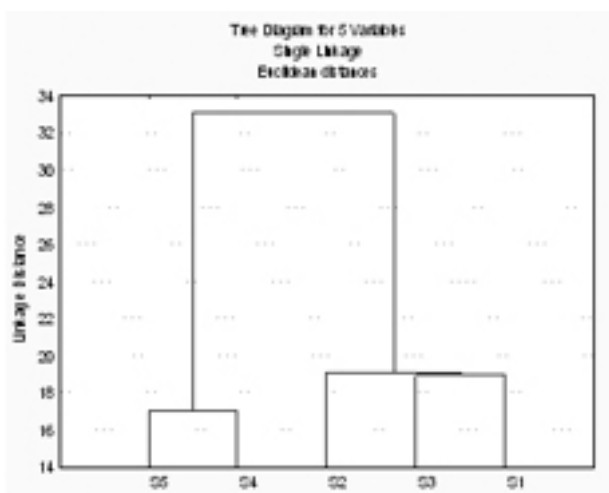


Figure 4. Dendrogram for lipids from five samples of minced beef meat (S1-S5)
Slika 4. Dendrogram lipida iz pet uzoraka mlevenog junećeg mesa (S1-S5)

Table 3. Correlation matrix for fatty acids acylglycerol lipid fraction of beef (N = 5)
Tabela 3. Korelaciona matrica za masne kiseline u frakciji lipida (acigliceroli)

	LC	TG	Palmitoleic acid	Palmitic acid	Oleic acid	Stearic acid
TG	0.40					
Palmitoleic	-0.26	0.14				
Palmitic	0.69	0.29	-0.13			
Oleic	0.47	-0.17	-0.91	0.14		
Stearic	-0.78	-0.32	-0.12	-0.92	0.46	
Linoleic	0.48	0.16	-0.72	0.66	0.51	-0.46

According to ANOVA results, the variances between groups were 13.03, 0.58, 3.54, 78.95, 8.62, 12.71, 41.71, 19.54 and 3.31 for myristic, pentadecanoic, palmitoleic, palmitic, margaric, linoleic, oleic, stearic and phtalic acid, versus variances within groups of 0.88, 0.58, 1.32, 41.19, 0.39, 0.49, 52.77, 21.72 and 0.16, respectively.

Results of t-test for means of all investigated fatty acids are shown in Table 4, where the same letter within a row indicates the means which do not significantly differ, i.e. observed t-value was less than t-critical and null hypothesis was accepted.

The highest number of means which do not significantly differ among samples of 20 is for oleic and stearic acid. For linoleic acid this number was 18. So, the five samples of beef meat for these fatty acids were from the same population and their content can be used for evaluating the lipid composition of minced beef samples. The mean values for oleic, stearic and linoleic acid content, based on means of five samples, are $39.59\% \pm 1.86\%$, $17.69\% \pm 1.28\%$ and $2.33\% \pm 1.03\%$, respectively.

Table 4. Results of t-test with hypothesis assuming equal variances for fatty acids in five samples of minced beef (S1–S5)

Tabela 4. Rezultati t-testa sa hipotezom o jednakosti varijanse za masne kiseline iz pet uzoraka junećeg mesa (S1–S5)

Components	Sample					Number of t-test with $t < t_{critical}$
	S1	S2	S3	S4	S5	
Myristic acid (C _{14:0})	–	abc*	ade	bdf	cef	12
Pentadecanoic acid (C _{5:0})	–	a	ade	bdf	cef	10
Palmitoleic acid (C _{16:1})	ab	ac	de	bcd	ef	11
Palmitic acid (C _{16:0})	abcd	a	bef	ceg	dfg	14
Margaric acid (C _{17:0})	–	ab	a	b	–	4
Linoleic acid (C _{18:2})	abcd	aefg	beh	cfi	dghi	18
Oleic acid (C _{18:1})	abcd	aefg	beh	cfhj	dgij	20
Stearic acid (C _{18:0})	abcd	aefg	beh	cfhj	dgij	20
Phtalic acid (C _{14:0})	abcd	ae	bfg	cfh	degh	16

* the same letter within a row indicates the means among samples which do not significantly different/isto slovo u nizu ukazuje na srednje vrednosti koje se značajno ne razlikuju

References

- Cividini A., Levart A., Zgur S., 2008. Fatty acid composition of lamb as affected by production system, weaning and sex. *Acta Agriculturae Slovenica*, 2, 47–52.
- Elmore S., Mottram S., Enser M., Wood J., 2000. The effect of diet and breed on the volatile compounds of cooked lamb. *Meat Science*, 55, 149–159.
- Elmore S., Mottram S., Enser M., Wood J., 1999. Effect of polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1619–1625.
- Enser M., Hallet K., Fursey A., Wood D., Harrington G., 1996b. Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Science*, 44, 443–458.
- Enser M., Hallet K., Fursey A., Wood D., Harrington G., 1998. Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production and implications for human nutrition. *Meat Science*, 49, 3, 329–341.
- Enser M., Hallet K., Hewitt B., Fursey G., Wood D., 1996a. Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Science*, 42, 443–456.
- Fennema O., 1996. *Food chemistry*. CRC Press, Third Edition, United States, 882.
- Holčapek M., Jandera P., Fisher J., Prokeš B., 1999. Analytical monitoring of the production of biodiesel by high-performance liquid chromatography with various detection methods. *Journal of Chromatography, A*, 858, 13–31.
- Hornstein I., Crowe F., Heimberg J., 2006. Fatty acid composition of meat tissue lipids. *Journal of Food Science*, 26/6, 581–586.
- Melton L., 1990. Effect of feeds on flavour of red meat a review. *Journal of Animal Science*, 68, 4421–4435.
- Mottram S., 1994. Some aspects of the chemistry of meat flavour. In *The Flavour of Meat and Meat Products*, Shahidi, F., Ed.; Blackie: Glasgow, 210–230.
- Pegg R., Shaidi F., 2005. *Nitrite curing of meat*. CRC Press, United States, 67.
- Shirai N., Suzuki H., Tokarin S., Ehara H., Wada S., 2002. Dietary and seasonal effect on the dorsal meat lipid composition of Japanese (*Silurus asotus*) and Thai catfish (*Claris macrocephalus* and hybrid *Claris macrocephalus* and *Claris galiphinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 132, 609–619.
- Wood D., Richardson I., Nute R., Fisher V., Campo M., Kasapidou E., Sheard R., Enser M., 2004. Effect of fatty acids on meat quality. *Meat Science*, 66, 21–32.

Karakterizacija lipidnog sastava i sadržaja masnih kiselina u mlevenom junećem mesu

Nikolić Nada, Todorović Zoran, Radulović Niko, Lazić Miodrag

R e z i m e: Kvalitet mesa i proizvoda od mesa zavisi od sadržaja i sastava glavnih komponenti mesa kao što su proteini, lipidi, mineralne materije i voda.

U ovom radu ispitana je kinetika ekstrakcije lipida kao i sastav lipida i masnih kiselina u mlevenom junećem mesu sa teritorije Leskovca. Lipidne frakcije su određivane HPLC tehnikom. Sadržaj slobodnih masnih kiselina u ispitivanim uzorcima se kretao od 8,7 posto do 52,6 posto, sadržaj monoacilglicerola od 0,4 posto do 2,6 posto, sadržaj diacilglicerola od 0,7 posto do 3 posto, dok je sadržaj triacilglicerola bio najviši, od 36,9 posto do 89,6 posto. Sadržaj masnih kiselina u acilglicerolima je određivan gasnom hromatografijom. Najzastupljenije su oleinska, palmitinska i stearinska kiselina čiji je sadržaj varirao od 37,1 posto do 41,8 posto, od 23,5 posto do 30,4 posto i od 15,7 posto do 19,0 posto respektivno. Takođe su utvrđene male količine miristinske, pentadekanoične, palmitoleinske, margarinske, linolne i ftalne kiseline. Na osnovu statističke analize, uzorci su klasifikovani u dve grupe – grupu sa visokim sadržajem oleinske kiseline i niskim sadržajem palmitoleinske kiseline, i grupu sa visokim sadržajem stearinske kiseline i niskim sadržajem palmitinske kiseline. Na osnovu t-testa, sadržaj oleinske, stearinske i linolne kiseline od $39,59\% \pm 1,86\%$, $17,69\% \pm 1,28\%$ i $2,33\% \pm 1,03\%$, respektivno, može da se uzme u obzir za karakterizaciju lipidnog sastava uzoraka mlevenog junećeg mesa.

Ključne reči: juneće meso, lipidi, acilgliceroli, masne kiseline.

Paper received: 11.05.2009.

Paper revised: 31.07.2009.

Paper accepted: 18.08.2009.

Изменения фракционного состава саркоплазматических и миофибриллярных белков свинины в процессе длительного хранения при низких положительных температурах*

Чернуха Ирина М.¹, Усанова Оксана Е.¹, Грищенко Валерий М.²

Р е з ю м е: Исследовали характер количественного и качественного определения изменений фракций саркоплазматических и миофибриллярных белков при длительном хранении охлажденного мяса (25 сут), упакованного под вакуумом при низких положительных температурах (+4°C).

Исследование супернатантов мышечной ткани показало относительно одинаковое количество растворимого белка (0.63 – 0.64 г белка/100 г мяса) на 12 – 15 сутки хранения и резкое увеличение растворимости (0.64 – 1.68 г белка/100 г мяса) на 15–25 сут холодильного хранения исследуемых образцов. При проведении электрофоретического разделения исследуемых экстрактов обнаружено значительное увеличение количества саркоплазматических и миофибриллярных фракций на 12–25 сутки хранения, что связано с расщеплением белковых молекул с большей молекулярной массой (300–150 kDa). При этом изменяется количественный состав экстрагируемых из мышечной ткани низкомолекулярных белковых фракций (молекулярная масса < 25 kDa).

Ключевые слова: фракции саркоплазматических и миофибриллярных белков, фракционный состав, длительное хранение, электрофоретическое разделение, молекулярная масса.

Введение

При охлаждении, и хранении охлажденного мяса при низких положительных температурах протекают биохимические процессы, оказывающие различное влияние на его качественные показатели. Самые незначительные, иногда еле уловимые изменения в составе или строении компонентов могут оказывать решающее воздействие на свойства мяса, возникающие в процессе созревания. Первостепенное значение имеет изменение белков, определяющих в значительной степени важнейшие качественные показатели мяса.

Фракция саркоплазматических белков, которая состоит из глобулярных белков (миоген, миоглобулин, миоальбумин, глобулин-х, нуклеопротеиды). Состояние саркоплазматических белков не может оказывать прямого непосредственного влияния на качественные характеристики мяса (Иванова и Сергеева, 1983; Соловьев, 1966). Однако изучение их превращений представляет интерес, так как эти белки имеют ферментатив-

ный характер и благодаря этому включаются в биохимические процессы, протекающие в мясе (Гааль и др., 1982; Дэвени и Гергей, 1976).

Содержание миофибриллярных белков (миозин, актин, актомиозин и др.) в мышечной ткани составляет более 50 % от общего содержания азотистых соединений. Их денатурация в целом протекает так же, как денатурация глобулярных белков, т.е. она сопровождается освобождением отдельных радикалов, агрегацией макромолекул белков, снижением их растворимости и другими изменениями.

В настоящее время не выявлены структурные различия распада тканей при созревании мяса под действием тканевых протеолитических ферментов и при длительном хранении при низких плюсовых температурах.

Поэтому очень важно определить, в каком направлении протекают биохимические процессы при автолизе, какие органолептические и физико-химические изменения они вызывают в мясе при его созревании и какие биохимические

*This abstract has been published in the Book of Abstracts from the International 55th Meat Industry Conference held on Tara mountain, 15-17th June 2009.

¹ГНУ ВНИИМП им. В. М. Горбатова Россельхозакадемии, Талалихина 26, 109316 Москва, Россия;

²Институт биологического приборостроения РАН, Пущино, 142290 Московская, Россия.

процессы протекают при дальнейшем длительном холодильном хранении при низких положительных температурах.

Целью данной работы являлось изучение состояния фракций саркоплазматических и миофибриллярных белков охлажденной свинины в процессе автолитического процесса и созревания охлажденного мяса, в зависимости от сроков хранения.

Материалы и методы

Во ВНИИМПе проводятся комплексные систематизированные биохимические исследования изменений фракционного состава белков мяса свинины при длительном хранении при низких плюсовых температурах. Объектом исследования являются образцы лопаточного отруба свинины в парном и охлажденном состоянии.

Для исследований были подготовлены образцы мышечной ткани, упакованной под вакуумом и заложенные на хранение в условиях низких плюсовых температур $4 \pm 1^\circ\text{C}$ (Лисицын и др., 2002; Остерман, 1981).

В ходе экспериментальной работы были проанализированы количественные значения фракций растворимого белка. Количественное содержание фракций белков и полипептидов определяли методом Бредфорда (Bradford, 1976).

Было проведено электрофоретическое разделение полученных в процессе экстракции белковых фракций по методу SDS-PAGE.

Электрофорез белковых фракций мышечной ткани свинины проводили в 10 % разделяю-

щем геле в трис-глициновом электродном буфере с pH 8,8 в присутствии SDS (Laemmli, 1970; Schagger и von Jagow, 1987).

Результаты и обсуждение

Проведены биохимические исследования количественного и качественного определения изменений фракций саркоплазматических и миофибриллярных белков, обусловленных процессом созревания, а затем хранением свинины при низких положительных температурах и связь этих показателей с консистенцией мяса.

Исходное содержание белка в мышечной ткани на 0, 5, 12, 15, 20 и 25 суток холодильного хранения свинины составил 18,0, 18,0, 17,0, 18,3, 17,4, 20,0 % соответственно.

Одновременно с денатурационными изменениями белки подвергаются протеолизу – ферментативному гидролитическому расщеплению. Этот процесс протекает под действием целой группы протеолитических ферментов.

Проведено изучение растворимости саркоплазматических и миофибриллярных белков, извлекаемых из мышечной ткани свинины различными по ионной силе буферными растворами (pH 6,8–8,7).

Исследования показали, что в процессе хранения наблюдаются изменения количества растворимого белка саркоплазматической и миофибриллярной фракции белков (рис. 1).

Исходная концентрация растворимых белков в мышечной ткани лопаточного отруба (0

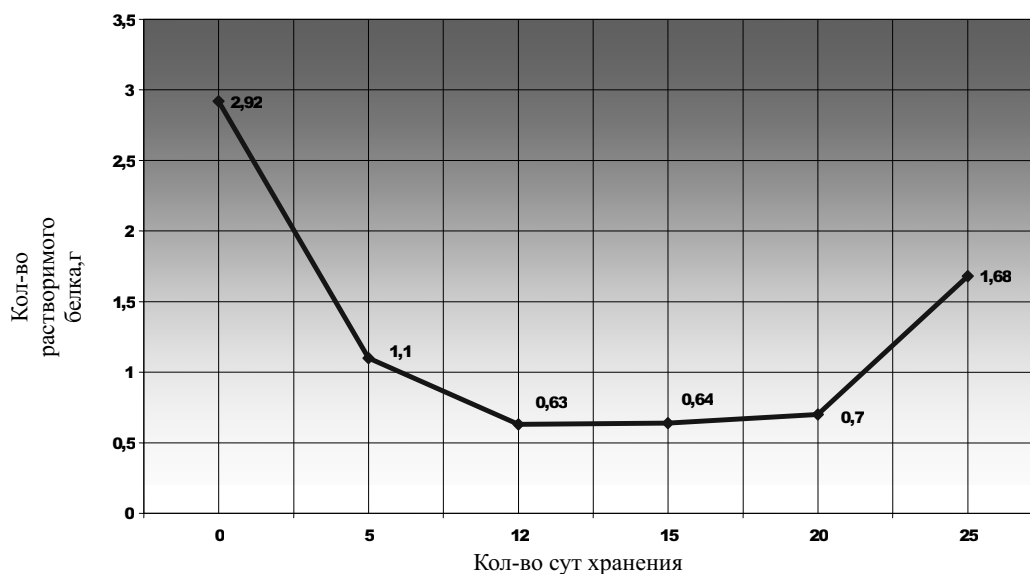


Рис. 1. Количество растворимых белков суммарной саркоплазматической и миофибриллярной фракций (г на 100 г мяса)

сут хранения) составляла 2,92 г в пересчете на 100 г мяса. Содержание в мясе переходящих в экстракт белков максимально сразу после убоя животных (парное мясо-0 сут). Однако в течение 5 сут хранения происходит резкое снижение уменьшение растворимости белка, т.е. переход фракций белка в нерастворимое состояние. Этот процесс усиливается до конца 5–6 сут хранения.

По истечении 5 сут хранения количество белка уменьшается с 2,92 г до 1,1 г, что составляет 48 % от количества в парном сырье.

После прохождения точки минимума начинается процесс разрешения растворимости. На этапе 12–15 сут хранения растворимость находится примерно на одном уровне 0,63 г на 100 г мяса.

На 20 сут холодильного хранения наблюдается небольшое снижение количества белка до 0,7 г.

Приведенные данные по растворимости белков свидетельствуют о том, что в процессе хранения происходят автолитические превращения белков под действием тканевых протеолитических ферментов, а так же происходит изменение соотношения между белками с различными молекулярными массами. Данные по растворимости проведенного исследования подтверждают и соотносятся с результатами изучения показателей седиментации, проведенного Кронманн и Уитерботтом (Kronmann и Winterbottom, 1960).

К окончанию хранения 25 сут количество белка резко возрастает и составляет 1,68 г. Данный процесс полностью связан с развитием микробиальной порчи.

Однако экстрагируемость и растворимость белков не может служить достаточно чувствительным критерием их изменчивости и установления полной картины изменений, происходящих в процессе длительного хранения при низких плюсовых температурах. Для достижения этих целей был применен метод электрофореза SDS-PAGE.

Результаты электрофоретического разделения мышечных белков, извлекаемых трисовым буферным раствором с pH 7.6, из парной и охлажденной свинины показали четкие различия по количественному и качественному составу белковых фракций саркоплазматических и миофибриллярных белков на различных сроках хранения.

Гистограмма гомогенатов мышечной ткани лопаточного отруба бескостного 0,5, 12,15,20, 25 суток хранения при + 4 °С приведена на рис 2.

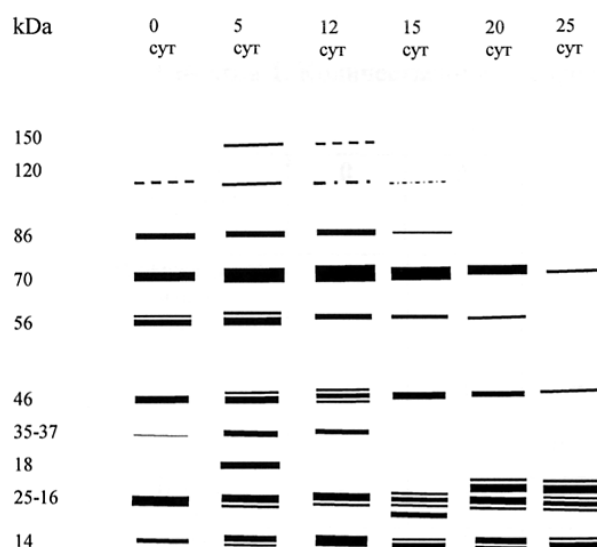


Рис. 2. Гистограмма гомогенатов мышечной ткани лопаточного отруба бескостного 0,5, 12,15,20, 25 суток хранения при +4 °С.

В ней показано распределение белковых фракций на разных этапах хранения охлажденного мяса (0–25 сут).

Количественное распределение белковых фракций описано в табл 1.

Таблица 1. Количественное распределение белковых фракций

Сутки хранения	0	5	12	15	20	25
Молекулярные массы (kDa)						
> 100	1 минор	2	2 минор	1 минор	–	–
100-25	6	7	7	4	3	2
< 25	2	5	3	5	7	8
Суммарное количество фракций	9	14	12	10	10	10

Исследование экстрактов мышечной ткани свинины показало наличие не четко выраженных (минорные полосы на 0, 12 и 15 сут хранения) белковых фракций с молекулярной массой 150 kDa – саркоплазматический белок глобулин-Х. Судя по полученным результатам, также наблюдается увеличение количества белка фракции к 12 сут хранения, а затем последовательное уменьшение в экстракте белковой фракции с молекулярной массой 70 kDa, что

соответствует миофибриллярному белку тропониону. Такие изменения связаны с увеличением растворимости белковых фракций и, следовательно, большим количеством белкового материала, наносимого на дорожку геля при проведении электрофоретического разделения.

Предполагается, что выявленная фракция с молекулярной массой 35–37 kDa – саркоплазматический белок тропонин-Т.

В процессе созревания и дальнейшего хранения появляются новые белковые фракции (< 25 kDa), обнаруживаемые на электрофореграммах и которые характеризуются более высокой электрофоретической подвижностью.

На электрофореграммах уменьшение количества фиксируемых белковых полос, по-видимому, связано с имеющими место конформационными превращениями саркоплазматических и миофибриллярных белков. В образцах 20,25 сут происходит резкое снижение высокомолекулярных белковых фракций, что связано с выраженным проявлением ферментативной активности ферментов мяса в сочетании с микробиальной порчей и как следствие происходит образование низкомолекулярных фракций белков и пептидов.

В области низкомолекулярных фракций, характеризующихся относительно высокой электро-

форетической подвижностью, обнаруживается значительно большее количество полос на последних сроках хранения охлажденной свинины 8 полос–25 сут.

Анализируя общую картину электрофоретического разделения, можно сделать вывод о том, что определение сроков хранения охлажденной свинины возможно лишь при комплексном изучении растворимости белков с проведением электрофоретического исследования.

Выводы

Проведенные исследования позволили выявить различия в изменении растворимости и состояния фракций мышечных белков охлажденной свинины при длительном хранении при низких плюсовых температурах, что позволит:

- осуществлять определение сроков хранения охлажденного сырья в зависимости от фракционного состава сырья;

- осуществлять рациональную переработку мясного сырья в соответствии с его функционально-технологическими свойствами, определяемыми состоянием белков мышечной ткани.

Библиография

- Bradford M. M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Kronmann M. I., Winterbottom R. I., 1960.** Meat aging and freezing. Post-mortem changes in the water-soluble proteins of bovine skeletal muscle during aging and freezing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 8, 1, 67–72.
- Laemmli U. K., 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–683.
- Schagger H., von Jagow G., 1987.** Tricine-sodium dodecylsulfate electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*, 166, 368–379.
- Гааль Э., Медьши Г., Верецкеи Л., 1982.** Электрофорез в разделении биологических макромолекул. М.: Мир, 74–113, 212–365.
- Дэвени Т., Гергей Я., 1976.** Аминокислоты, пептиды и белки. М.: Мир, 7–45.
- Иванова Р. П., Сергеева Е. Л., 1983.** Изменения миофибриллярных белков в процессе холодильной обработки и хранения мяса. М.: Холодильная техника, 1, 30–32.
- Лисицын А. Б., Иванкин А. Н., Неклюдов А. Д., 2002.** Методы практической биотехнологии. М.: Изд-во „ВНИИМП“, 46–101.
- Остерман Л. А., 1981.** Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. М.: Наука, 285.
- Соловьев В. И., 1966.** Созревание мяса. М.: Пищевая промышленность, 7–160.

Promene frakcionog sastava sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina svinjskog mesa tokom dužeg čuvanja pri niskim temperaturama

Černuha M. Irina, Usanova E. Oksana, Griščenko M. Valerij

R e z i m e: Pri hlađenju i čuvanju ohlađenog mesa na niskim temperaturama dešavaju se biohemijski procesi koji različito utiču na pokazatelje kvaliteta mesa. Najmanje, nekad jedva uočljive, promene u sastavu ili građi komponenata nastalih u toku procesa zrenja mogu da imaju glavni uticaj na svojstva mesa. Najveći značaj imaju promene belančevina koje, u visokom stepenu, određuju važne parametre kvaliteta mesa.

Fraciju sarkoplazmatičnih proteina čine globularni proteini – miogen, mioglobilin, mioalbumin, globulin-x, nukleo-proteidi. Stanje sarkoplazmatičnih proteina ne utiče neposredno na kvalitativne karakteristike mesa. Međutim, ispitivanje njihovih promena je veoma značajno, jer pomenuti proteini imaju osobine fermentata, i zahvaljujući tome, učestvuju u biohemijskim procesima koji se odigravaju u mesu.

U radu je ispitan kvalitativni i kvantitativni karakter promena frakcija sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina, pri dužem čuvanju ohlađenog mesa (25 dana) u vakuum pakovanju, pri niskim temperaturama (+4°C).

Ispitivanja mišićnog tkiva pokazala su gotovo istu količinu rastvorljivih proteina (0,63–0,64 g belančevina na 100 g mesa) nakon dvanaest do petnaest dana čuvanja i naglo povećanje rastvorljivosti (0,64–1,68 g belančevina na 100 g mesa) u periodu od petnaest do dvadeset pet dana čuvanja uzoraka. Pri elektroforetskom razdvajanju ispitivanih ekstrakata utvrđeno je značajno povećanje količine sarkoplazmatične i miofibrilarne frakcije, posle dvanaest dana čuvanja, što je povezano sa cepanjem proteinskih molekula većih molekulske mase (300–350 kDa). Takođe, menja se i kvalitativni sastav niskomolekularnih proteinskih frakcija ekstrahovanih iz mišićnog tkiva (molekulska masa < 25 kDa).

Ključne reči: frakcije sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina, frakcioni sastav, dugotrajno čuvanje, elektroforeza, molekulska masa.

Changes in fractional composition of sarcoplasmic and myofibrillar pork proteins in the process of long-term storage at low positive temperatures

Chernukha Irina M., Usanova Oxana E., Grischenko Valeriy M.

S u m m a r y: The character of quantitative and qualitative determination of changes in sarcoplasmic and myofibrillar protein fractions during a long-term storage (25 days) of cooled meat packed in vacuum at low positive temperatures (+4°C) was investigated.

The equal quantity of soluble protein in samples being investigated (0.63–0.64 g of protein/100g of meat) on days 12–15 and considerable increase in solubility on days 15–25 (up to 1.68 g of protein/100 g of meat) during refrigerated storage was established.

In the process of electroforetic separation of extracts under investigation considerable increase in the quantity of sarcoplasmic and myofibrillar fractions on days 12–25 of storage was determined, what results from the splitting of protein molecules with a greater molecular mass (300–350 kDa). The quantitative composition of low-molecular protein fractions extracted from the muscular tissue (molecular mass < 25 kDa) changes therewith.

Key words: sarcoplasmic and myofibrillar protein fractions, fractional composition, long-term storage, electroforetic separation, molecular mass.

Статья получена: 12.05.2009.

Статья исправлена: 23.06.2009.

Статья принята: 19.08.2009.

Promene frakcionog sastava sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina svinjskog mesa tokom dužeg čuvanja pri niskim temperaturama*

Černuha M. Irina¹, Usanova E. Oksana¹, Griščenko M. Valerij²

S a d r ž a j: U radu je ispitan kvalitativni i kvantitativni karakter promena frakcija sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina, pri dužem čuvanju ohlađenog mesa (25 dana) u vakuum pakovanju, pri niskim temperaturama (+4°C).

Ispitivanja mišićnog tkiva pokazala su gotovo istu količinu rastvorljivih proteina (0,63–0,64 g belančevina na 100 g mesa) nakon dvanaest do petnaest dana čuvanja i naglo povećanje rastvorljivosti (0,64–1,68 g belančevina na 100 g mesa) u periodu od petnaest do dvadeset pet dana čuvanja uzoraka. Pri elektroforetskom razdvajanju ispitivanih ekstrakata utvrđeno je značajno povećanje količine sarkoplazmatične i miofibrilarne frakcije, posle dvanaest dana čuvanja, što je povezano sa cepanjem proteinskih molekula većih molekulske mase (300–350 kDa). Takođe, menja se i kvalitativni sastav niskomolekularnih proteinskih frakcija ekstrahovanih iz mišićnog tkiva (molekulska masa < 25 kDa).

ključne reči: frakcije sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina, frakcioni sastav, dugotrajno čuvanje, elektroforeza, molekulska masa.

Uvod

Pri hlađenju i čuvanju ohlađenog mesa na niskim temperaturama dešavaju se biohemijski procesi koji različito utiču na pokazatelje kvaliteta mesa. Najmanje, nekad jedva uočljive, promene u sastavu ili građi komponenata nastalih u toku procesa zrenja mogu da imaju glavni uticaj na svojstva mesa. Najveći značaj imaju promene belančevina koje, u visokom stepenu, određuju važne parametre kvaliteta mesa.

Frakciju sarkoplazmatičnih proteina čine globularni proteini – miogen, mioglobilin, mioalbumin, globulin-x i nukleoproteidi. Stanje sarkoplazmatičnih proteina ne utiče neposredno na kvalitativne karakteristike mesa (Иванова и Сергеева, 1983; Соловьев, 1966). Međutim, ispitivanje njihovih promena je veoma značajno, jer pomenuti proteini imaju osobine fermenta, i zahvaljujući tome učestvuju u biohemijskim procesima koji se odigravaju u mesu (Гааль и др., 1982; Дэвени и Гергей, 1976).

Sadržaj miofibrilarnih proteina (miozin, aktin, aktomiozin i drugi) u mišićnom tkivu čini više od 50 posto ukupnog sadržaja azotnih jedinjenja. Njihova denaturacija je globularna, odnosno sprovodi se oslobađanjem slobodnih radikala, agregacijom ma-

kromolekula belančevina, smanjenjem rastvorljivosti i drugim promenama.

U dostupnoj literaturi ne postoje podaci o strukturnim razlikama u toku procesa zrenja mesa pri delovanju proteolitičkih fermenta iz tkiva, tokom dužeg čuvanja na temperaturi od +4°C.

Iz tih razloga je veoma bitno da se odredi smer u kome idu biohemijski procesi pri autolizi; kakve organoleptičke i fizičko-hemijske promene izazivaju u mesu pri zrenju i kakvi se biohemijski procesi odvijaju pri daljem čuvanju na temperaturi od +4°C.

Cilj ovog rada je ispitivanje sastava frakcija sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina ohlađenog svinjskog mesa pri autolizi i zrenju, u zavisnosti od dužine čuvanja.

Materijal i metode

U Sveruskom naučnoistraživačkom institutu – VNIIMP obavljaju se kompleksna sistematska biohemijska ispitivanja promena frakcionog sastava belančevina mišićnog tkiva svinjskih plečki, u toplom i ohlađenom stanju, kao i pri dugotrajnom čuvanju na niskim temperaturama. Za ispitivanje su pripremljeni uzorci mišićnog tkiva u vakuum

*Kratak sadržaj rada je objavljen u „Zborniku kratkih sadržaja“ sa Međunarodnog 55. savetovanja industrije mesa, održanog na Tari od 15. do 17. juna 2009.

¹Sveruski naučnoistraživački institut – VNIIMP, Gorbatoj Roselholzakademi, Talalihinina 26, 109316 Moskva, Rusija;

²Ruska akademija za nauku, Biološki institut, Puščino, 14 2290 Moskva, Rusija.

pakovanju, koji su, zatim, čuvani na temperaturi od $4 \pm 1^\circ\text{C}$ (Лисицын i dr., 2002; Остерман, 1981).

Tokom eksperimentalnog rada analizirane su količine frakcija rastvorenih belančevina.

Frakcije belančevina i polipeptida određivane su metodom po Bredfordu (Bradford, 1976).

Elektroforetsko razdvajanje ekstrahovanih belančevina izvođeno je metodom SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, natrijum dodecil sulfat poliakrilamid gel elektroforeza).

Elektroforeza proteinskih frakcija mišićnog tkiva svinja rađena je na desetopostotnom gelu sa tris-glicinskim elektrodnim puferom (pH 8,8) u prisustvu natrijum dodecil sulfata (Laemmli, 1970; Schagger i von Jagow, 1987).

Rezultati i diskusija

Sprovedena su biohemijska ispitivanja kvalitativnih i kvantitativnih promena frakcija sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina uslovljenih procesom zrenja, a zatim čuvanjem mesa na niskoj temperaturi i ispitana je veza tih pokazatelja sa konzistencijom mesa.

Sadržaj proteina u mišićnom tkivu posle 0, 5, 12, 15, 20 i 25 dana čuvanja na temperaturi od $4 \pm 1^\circ\text{C}$ bio je 18,0, 18,0, 17,0, 18,3, 17,4, i 20,0 posto respektivno.

Istovremeno sa denaturacijom, belančevine podležu i proteolizi – enzimskom hidrolitičkom raspadu. Taj proces se odvija delovanjem grupe proteolitičkih enzima.

Ispitivana je rastvorljivost sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina dobijenih iz svinjskog mi-

šićnog tkiva u rastvorima pufera (pH 6,8–8,7) različite jonske jačine.

Tokom čuvanja mesa zapažene su promene sarkoplazmatične i miofibrilarne frakcije rastvorljivih proteina (slika 1).

Početa količina rastvorljivih belančevina u mišićnom tkivu svinjske plećke bila je 2,92 g/100 g mesa. Sadržaj belančevina koje su prešle u ekstrakt maksimalan je odmah posle klanja. Istovremeno, tokom pet dana čuvanja nastaje naglo smanjenje rastvorljivosti, odnosno belančevine intenzivno prelaze u nerastvorljivo stanje. Taj proces se povećava do kraja petog dana.

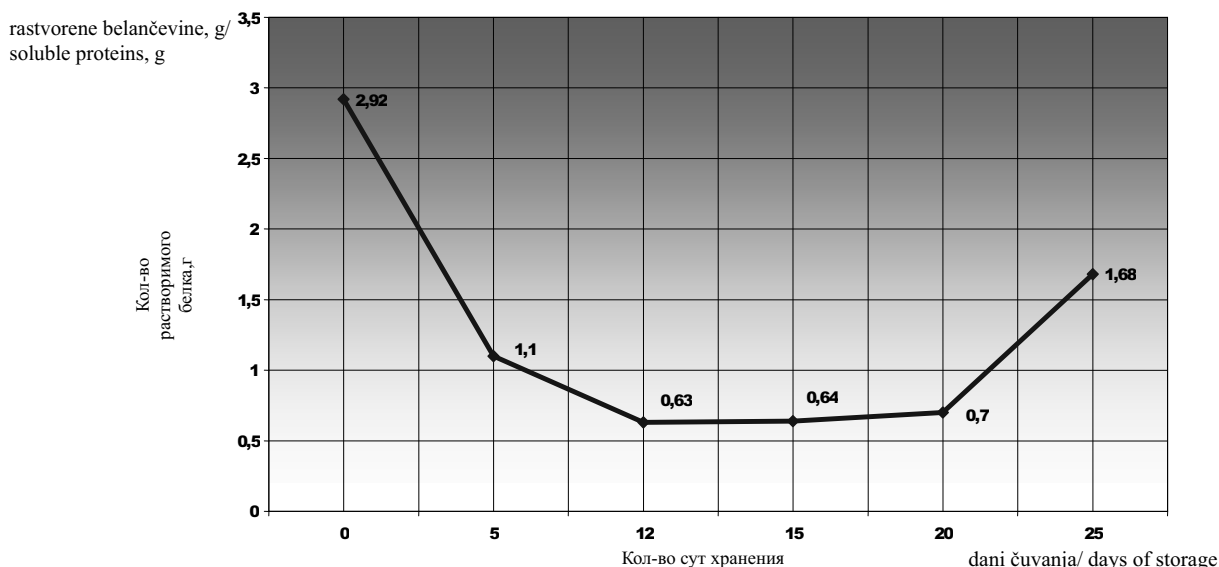
Posle petog dana količina belančevina se smanjuje sa 2,92 na 1,1 g, što predstavlja 48 posto belančevina u toplom mesu nakon klanja.

Posle dostignutog minimuma rastvorljivost proteina raste i u periodu između 12. i 15. dana nalazi se približno na istom nivou – 0,63 g/100 g mesa. Posle 20. dana nastaje nezatno smanjenje količine belančevina koja iznosi 0,7 grama.

Dobijeni podaci o rastvorljivosti belančevina ukazuju na to da se u procesu čuvanja dešavaju autolitičke promene belančevina delovanjem tkivnih proteolitičkih fermenta, a, takođe, menja se i odnos belančevina različitih molekulskih masa. Dobijeni podaci o rastvorljivosti saglasni su sa rezultatima proučavanja pokazatelja sedimentacije koje su izveli Kronman i Viterbotom (Kronmann i Winterbottom, 1960).

Na kraju eksperimenta, 25. dana, količina belančevina naglo raste i iznosi 1,68 g/100 g mesa. Ovaj proces je, u potpunosti, povezan sa razvojem mikrobiološkog kvara.

I ekstraktabilnost i rastvorljivost belančevina ne mogu da budu dovoljno osetljiv pokazatelj za

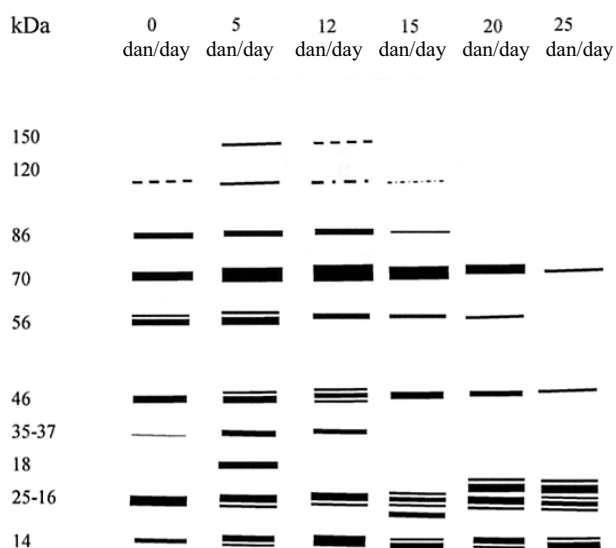


Slika 1. Količina rastvorenih proteina sarkoplazmatične i miofibrilarne frakcije (g u 100 g mesa)
Figure 1. Quantity of soluble proteins of sarcoplasmic and myofibrillar fraction (g in 100g of meat)

njihove promene i da prikažu pravu sliku promena koje su se desile tokom čuvanja na temperaturi od $4 \pm 1^\circ\text{C}$. Za postizanje tih ciljeva primenjena je SDS-PAGE elektroforeza.

Rezultati elektroforetskog razdvajanja mišićnih belančevina ekstrahovanih tris puferom (pH 7,6) iz toplog i ohlađenog svinjskog mesa pokazali su jasne razlike u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu proteinskih frakcija sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina, u zavisnosti od dužine čuvanja.

Histogram homogenata mišićnog tkiva svinjske plečke bez kostiju posle 0, 5, 12, 15, 20 i 25 dana čuvanja na temperaturi od $4 \pm 1^\circ\text{C}$ prikazan je na slici 2.



Slika 2. Elektroforetsko razdvajanje homogenata mišićnog tkiva svinjske plečke bez kostiju posle 5, 12, 15, 20 i 25 dana na temperaturi od $4 \pm 1^\circ\text{C}$

Figure 2. Electroforetic separation of muscle tissue homogenates (deboned pork shoulder) after 5, 12, 15, 20 and 25 days of storage at $4 \pm 1^\circ\text{C}$

Na histogramu su prikazane razdvojene frakcije belančevina u raznim etapama čuvanja ohlađenog mesa (od 0 do 25 dana).

Broj razdvojenih frakcija prikazan je u tabeli 1.

Ispitivanje ekstrakata mišićnog tkiva svinjskog mesa pokazalo je da postoje nejasno izražene proteinske frakcije molekulske mase 150 kDa (slabo izražene trake posle dvanaest i petnaest dana čuvanja), koje čini sarkoplazmatični protein globulin-x. Takođe, zapaža se i povećanje količine proteinske frakcije molekulske mase 70 kDa do 12. dana, a zatim postepeno smanjenje te frakcije, što odgovara miofibrilarnom proteinu tropomiozinu. Takve promene su povezane sa povećanjem rastvorljivosti proteinske frakcije i sledstveno većom količinom materijala nanetog na gel pri izvođenju elektroforetskog razdvajanja.

Pretpostavlja se da je frakcija molekulske mase 35–37 kDa sarkoplazmatični protein troponin-T.

U procesu zrenja i čuvanja javljaju se nove frakcije proteina (< 25 kDa), koje, na elektroforegramu, karakteriše visoka elektroforetska pokretljivost.

Smanjenje količine fiksiranih proteinskih traka, po svoj prilici, povezano je sa konformacionim promenama sarkoplazmatičnih i miofibrilarnih proteina. U uzorcima, posle 20. dana, nastaje naglo snižavanje frakcija velike molekulske mase, što je povezano sa izraženom enzimskom aktivnošću i mikrobiološkim kvarom, pri čemu nastaju frakcije proteina i polipeptida male molekulske mase.

U frakcijama male molekulske mase koje karakteriše visoka elektroforetska pokretljivost, primećuje se značajno veći broj traka u poslednjim danima čuvanja.

Analizirajući izgled elektroforegrama može da se zaključi da je određivanje vremenskog perioda čuvanja ohlađenog svinjskog mesa moguće samo kompleksnim proučavanjem rastvorljivosti belančevina primenom elektroforetskih ispitivanja.

Tabela 1. Broj proteinskih frakcija
Table 1. Number of protein fractions

Dani čuvanja/ Days of storage	0	5	12	15	20	25
Molekulske mase (kDa)/ Molecular mass (kDa)						
> 100	1 slabo izražena/ Weak intensity	2	2 slabo izražene/ Weak intensity	1 slabo izražena/ Weak intensity	–	–
100–25	6	7	7	4	3	2
< 25	2	5	3	5	7	8
Ukupno/Total	9	14	12	10	10	10

Zaključak

Ispitivanja su ukazala na razliku u promeni rastvorljivosti i sastava frakcija mišićnog tkiva ohlađenog svinjskog mesa pri čuvanju 25 dana na temperaturi od $4 \pm 1^\circ\text{C}$ što omogućava:

– određivanje vremena čuvanja ohlađene sirovine, u zavisnosti od frakcionog sastava belančevina;

– racionalnu preradu mesa u saglasnosti sa njegovim frakciono-tehnološkim svojstvima, određenim proteinskim sastavom proteina mišićnog tkiva.

Literatura

- Bradford M. M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Kronmann M. I., Winterbottom R. I., 1960.** Meat aging and freezing. Post-mortem changes in the water-soluble proteins of bovine skeletal muscle during aging and freezing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 8, 1, 67–72.
- Laemmli U. K., 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–683.
- Schagger H., von Jagow G., 1987.** Tricine-sodium dodecyl-sulfate electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*, 166, 368–379.
- Гааль Э., Медьши Г., Верецки Л., 1982.** Электрофорез в разделении биологических макромолекул. М.: Мир, 74–113, 212–365.
- Дэвени Т., Гергей Я., 1976.** Аминокислоты, пептиды и белки. М.: Мир, 7–45.
- Иванова Р. П., Сергеева Е. Л., 1983.** Изменения миофибрилярных белков в процессе холодильной обработки и хранения мяса. М.: Холодильная техника, 1, 30–32.
- Лисицын А. Б., Иванкин А. Н., Неклюдов А. Д., 2002.** Методы практической биотехнологии. М.: Изд-во „ВНИИМП“, 46–101.
- Остерман Л. А., 1981.** Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. М.: Наука, 285.
- Соловьев В. И., 1966.** Созревание мяса. М.: Пищевая промышленность, 7–160.

Changes in fractional composition of sarcoplasmic and myofibrillar proteins of pork during a long-term storage at low temperatures

Čeruha M. Irina, Usanova E. Oksana, Griščenko M. Valerij

S u m m a r y: During the processes of chilling and storage of meat at low temperatures, biochemical processes occur. These processes have different influence on meat quality parameters. Minor, sometimes barely detectable changes in composition and structure of components can produce significant influence on meat properties during the ripening process. The most important are changes in proteins that predominantly determine important meat quality parameters.

The fraction of sarcoplasmic proteins consists of globular proteins – myogen, myoglobin, myoalbumin, globulin-x, nucleoproteids. The condition of sarcoplasmic proteins does not have direct influence on quality properties of meat. However, investigation of these changes is very important since these proteins have enzymatic activity and therefore take part in biochemical processes that occur in meat.

The character of quantitative and qualitative determination of changes in sarcoplasmic and myofibrillar protein fractions during a long-term storage (25 days) of cooled meat packed in vacuum at low positive temperatures ($+4^\circ\text{C}$) was investigated.

We established equal quantity of soluble protein in investigated samples (0.63–0.64 g of protein/100 g of meat) on days 12–15 and considerable increase in solubility on days 15–25 (up to 1.68 g of protein/100 g of meat) during refrigerated storage.

In the process of electroforetic separation of extracts under investigation, considerable increase in the quantity of sarcoplasmic and myofibrillar fractions on days 12–25 of storage was determined. This results from the splitting of protein molecules with a greater molecular mass (300–350 kDa). The quantitative composition of low-molecular protein fractions extracted from the muscular tissue (molecular mass < 25 kDa) changes therewith.

Key words: sarcoplasmic and myofibrillar protein fractions, fractional composition, long-term storage, electroforetic separation, molecular mass.

Rad primljen: 12.05.2009.
Rad ispravljen: 23.06.2009.
Rad prihvaćen: 19.08.2009.

Dominantna mikroflora izolovana iz tradicionalno fermentisane „sremske“ kobasice*

Borović Branka¹, Vesković Slavica¹, Velebit Branko¹, Baltić Tatjana¹, Spirić Danko¹

S a d r Ź a j: U „sremskoj“ kobasici proizvedenoj na tradicionalan način praćena je promena epifitne mikroflora i sakupljena je kolekcija izolata autohtonih sojeva bakterija mlečne kiseline (BMK). Izolati BMK prikupljeni su tokom procesa dimljenja, fermentacije, sušenja i zrenja (0, 2, 4, 7, 14. i 21. dan) „sremske“ kobasice. Identifikacija BMK obavljena je klasičnim mikrobiološkim metodama, uz ispitivanje osnovnih morfoloških i biohemijskih osobina izolata (sposobnost produkcije gasa iz glukoze, osobina stvaranja sluzi, rast na različitim temperaturama i katalaza reakcija). Konačna identifikacija obavljena je upotrebom biohemijskog testa, API 50 CHL. Promena broja BMK bila je u skladu sa procesom mlečne fermentacije, pri čemu se broj povećavao do 7. dana, da bi nakon toga usledio blagi pad karakterističan za ovu vrstu proizvoda. Najzastupljeniji sojevi BMK izolovani iz „sremske“ kobasice su: *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. fermentum*, *Lb. cellobiosus* i *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides*. Oni čine 81,5 posto od svih izolovanih sojeva BMK.

Cljučne reči: „sremska“ kobasica, epifitna mikroflora, BMK, klasične mikrobiološke metode, API test.

Uvod

„Sremska“ kobasica je tipičan predstavnik fermentisanih kobasica uskog dijametra na našim prostorima i tradicionalno se proizvodi u domaćinstvima ili manjim zanatskim objektima Vojvodine, a naročito u području Srema. Proizvodi se od svinjskog mesa, slanine (čvrstog masnog tkiva) i začina. Specifični začini koji se koriste za izradu „sremske“ kobasice su slatka i ljuta mlevena paprika i beli luk.

Na kvalitet tradicionalno fermentisanih kobasica utiče mnogo činilaca kao što su: izbor sirovine, metaboličke aktivnosti prisutne epifitne mikroflora i fizičko-hemijske promene nastale u toku procesa dimljenja, zrenja i sušenja nadeva (Vesković, 2007). Mikroflora tradicionalno fermentisanih kobasica potiče iz sirovina koje ulaze u njihov sastav ili iz sredine u kojoj se izrađuju (Mauriello i dr., 2004; Rantsiou i dr., 2005). Mikroorganizmi odgovorni za promene koje se dešavaju u procesu fermentacije su BMK, koagulaza negativne koke i neke vrste kvasaca (Hutkins, 2006).

Da bi se očuvala izvorna svojstva kobasica fermentisanih na tradicionalan način, neophodno

je da se upozna ekologija epifitne mikroflora tokom fermentacije i izoluju autohtoni sojevi koji mogu da se koriste kao starter kulture (Rantsiou i dr., 2006). Na korisnim efektima koje ispoljavaju slučajno prisutni, epifitni mikroorganizmi, zasniva se i upotreba selekcionisanih i posebno dodatih mikroorganizama. Upotrebom starter kultura postiže se suzbijanje nepoželjnih mikroorganizama, nastaju brža acidifikacija, denitrifikacija i omogućava se standardizacija završnog proizvoda (Leroy i dr., 2006). Njihovom primenom utiče se na higijensku bezbednost proizvodnje, ujednačava se i poboljšava kvalitet i postiže bolja održivost proizvoda (Vesković, 2007). Neke komercijalno značajne bakterije mlečne kiseline (BMK) proizvode antimikrobne supstance, polimere šećera, aromatična jedinjenja i vitamine ili imaju probiotska svojstva (Leroy i De Vuyst, 2004). Ove osobine BMK su od velikog značaja pri izradi fermentisanih proizvoda i funkcionalne hrane.

Cilj ovog rada je da se prate promene epifitne mikroflora, dobijanje izolata autohtonih sojeva BMK iz „sremske“ kobasice, kao i ispitivanje njihovih morfoloških i biohemijskih osobina.

***Napomena:** Navedena ispitivanja je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, u okviru Projekta: „Tehnološke i protektivne osobine autohtonih sojeva bakterija mlečne kiseline izolovanih iz tradicionalnih fermentisanih kobasica i mogućnosti njihove primene u industriji mesa“, ev. br. 20127.

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kaćanskog 13, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

Materijal i metode

Autohtona „sremska“ kobasica izrađivana je u industrijskim uslovima, prema osnovnim načelima tradicionalne proizvodnje, u skladu sa odredbama propisanim Pravilnikom o kvalitetu proizvoda od mesa (Sl. list SCG 33/2004).

„Sremska“ kobasica proizvedena je od svinjskog mesa i čvrstog masnog tkiva (u odnosu 70% : 30%), koji su usitnjeni do granulacije od oko 5 mm, uz dodatak prirodnih začina (slatka i ljuta mlevena paprika i mleveni beli luk). Ovako pripremljen nadev, punjen je u svinjska tanka creva. Posle temperiranja nadeva i sušenja omotača, kobasice su dimljene po hladnom postupku (pri 18°C), u trajanju od četiri dana, a zatim su podvrgnute sušenju i fermentaciji (pri 14–16°C), u trajanju od 21 dan.

Mikrobiološka ispitivanja

Mikrobiološki su ispitivani uzorci „sremske“ kobasice koji su uzimani u različitim fazama proizvodnje (0, 2, 4, 7, 14. i 21. dan zrenja). Ogljed je ponovljen tri puta u tri vremenski odvojene fermentacije.

Od svakog uzorka odmereno je po 25 grama i stavljano u sterilne Stomaher kese u koje je dodato 225 mililitara slanog pepton rastvora (8 g/L NaCl, 1 g/L bakteriološkog peptona, Oxoid). Uzorci su zatim usitnjavani u Stomaher aparatu (AES, Mix 2) 1 min i 30 s. Na ovaj način dobijeno je osnovno razređenje. Obavljena su sledeća ispitivanja:

a) Ukupan broj bakterija određivan je prema metodi ISO 4833:2003. Iz osnovnog razređenja, kao i serije decimalnih razređenja, uzeto je po 1 mL i preneto u po dve Petrijeve ploče, a zatim nalivano sa Plate Count Agarom (PCA, Merck) i inkubirano pri temperaturi od 30°C u trajanju od 48 do 72 h;

b) Broj BMK određivan je prema metodi ISO 15214:1998. Iz osnovnog i serije decimalnih razređenja uzeto je po 1 mL i preneto u Petrijeve ploče, a zatim dvostruko nalivano sa De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agarom (Oxoid), i inkubirano 72 h pri temperaturi od 30°C;

c) Broj bakterija familije *Micrococcaceae* određivan je tako što je iz osnovnog i serije decimalnih razređenja prenet po 1 ml u po dve Petrijeve ploče, a zatim su ploče nalivane sa Manitol Salt Agarom (MSA, Merck) i inkubirane pri temperaturi od 30°C tokom 48 časova;

d) Broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* određivan je prema metodi ISO 21528-2:2004. Iz osnovnog i serije decimalnih razređenja, uzeto je po 1 mL i preneto u po dve Petrijeve ploče, a zatim dvostruko nalivano sa Violet Red Bile Glucose

Agarom (VRBG, Merck) i inkubirano 24 h pri temperaturi od 37°C;

e) Broj bakterija familije *Enterococcaceae* određen je prema metodi ISO 7899-2:2000. Iz osnovnog i serije decimalnih razređenja, uzeto je po 1 mL i preneto u po dve Petrijeve ploče, a zatim nalivano sa Bile-Esculin-Azide Agarom (Merck) i inkubirano 24 h pri temperaturi od 37°C;

f) Broj kvasaca i plesni određivan je prema metodi ISO 21257-2:2008. Iz osnovnog i serije decimalnih razređenja, uzet je 0,1 mL i zasejan na površinu Dichloran 18 posto (mass concentration) Glycerol Agara (DG 18) i inkubirano 48 do 72 h pri temperaturi od 25°C.

Izolacija BMK obavljena je klasičnim mikrobiološkim metodama, a konačna identifikacija biohemijskim testom API 50CHL.

Ispitivane su sledeće metaboličke osobine izolata BMK: sposobnost produkcije gasa iz glukoze, osobina stvaranja sluzi, rast pri različitim temperaturama (4, 10, 15, 37 i 45°C), ćelijska morfologija i katalaza reakcija. Za proveru sposobnosti produkcije gasa iz glukoze pripremljena je osnovna podloga (pepton 10 g, mesni ekstrakt 1 g, natrijumhlorid 5 g, bromtimol-plavo 1 posto i destilovana voda 1000 mL) u koju je dodato 1 posto glukoze. Podloga je sterilisana i sipana u epruvete u koje su prethodno stavljene Durhamove cevčice. U ovako pripremljenu podlogu zasejavane su ispitivane kulture. Pojava gasa u Durhamovim cevčicama karakteristična je za heterofermentativne vrste BMK.

Za ispitivanje osobine stvaranja sluzi izolati su zasejavani u MRS bujon. Nakon inkubacije u trajanju od 72 h pri temperaturi od 30°C utvrđivana je pojava sluzi na površini MRS bujona. Kod određivanja sposobnosti rasta sojeva BMK pri temperaturi od 4°C, ispitivane kulture su zasejavane u MRS bujon i termostatirane 5 dana. Ispitivanje rasta sojeva BMK pri temperaturama od 10, 15, 37 i 45°C obavljeno je uz termostatiranje od 24 do 48 h.

Rezultati i diskusija

Promena epifitne mikroflore „sremske“ kobasice tokom fermentacije, sušenja i zrenja prikazana je u tabeli 1.

Uočljivo je da ukupan broj bakterija, kao i broj BMK, raste do 7. dana, a zatim opada do završetka procesa fermentacije (21. dan). Broj bakterija familije *Micrococcaceae* povećava se do drugog odnosno četvrtog dana, a broj *Enterococcaceae* počinje da opada od drugog odnosno četvrtog dana. *Enterobacteriaceae* ni kod jedne ispitivane fermentacije nisu utvrđene posle četvrtog dana proizvodnje.

Tabela 1. Epifitna mikroflora tokom proizvodnje „sremske“ kobasice
Table 1. Epiphytic microflora during the production of „sremska“ sausage

Vrsta ispitivanja/ Type of investigations	Dani fermentacije/Days of fermentation											
	0.		2.		4.		7.		14.		21.	
	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
Ukupan broj bakterija/ Total plate count	3,99	0,45	6,04	1,79	9,45	1,17	12,16	1,14	9,56	1,69	10,66	2,28
Bakterije mlečne kiseline/ Lactic acid bacteria	2,73	0,52	6,79	1,29	8,62	1,15	11,11	0,17	8,73	1,50	8,97	1,02
<i>Micrococcaceae</i>	3,24	0,57	3,57	1,06	3,01	0,42	3,57	0,62	1,94	0,60	1,62	0,24
<i>Enterococcaceae</i>	3,15	0,63	3,30	0,61	4,49	0,69	3,59	1,25	3,63	0,57	2,89	0,19
<i>Enterobacteriaceae</i>	3,33	0,85	1,93	0,81								
Kvasci i plesni/ Yeasts and moulds	3,04	0,12	1,81	0,75	< 1,45		< 2		< 1,7		< 1,3	

\bar{x} – \log_{10} cfu

SD – standardna devijacija/standard deviation

Kvasci i plesni nisu utvrđeni posle 14. dana (I fermentacija), tj. posle 4. dana (II i III fermentacija). Prisustvo ispitivanih patogenih bakterija nije utvrđeno ni u jednom uzorku „sremske“ kobasice.

Dominantnu mikrofloru, u toku procesa izrade „sremske“ kobasice čine sledeće vrste BMK: *Lactobacillus delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Leuconostoc mesenteroides ssp. mesenteroides*, *Lb. curvatus*, *Ln. mesenteroides ssp. cremoris*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lb. plantarum* i *Lb. brevis*. Od 150 izolata tokom tri fermentacije „sremske“ kobasice, ove vrste BMK učestvuju sa preko 86 posto.

Procentualna zastupljenost pojedinih vrsta BMK prikazana je u tabeli 2.

Odmah posle formiranja nadeva i njegovog punjenja u svinjsko tanko crevo, tj. 0. dana proizvodnje, najzastupljenije BMK su: *Pediococcus pentosaceus* (35,0 posto), *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii* (17,6 posto) i *Lc. lactis ssp. lactis* (17,6 posto). Broj izolata *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii* se 2. dana značajno povećava i održava na visokom nivou do kraja (21. dana) proizvodnje. Slična tendencija je utvrđena i kod *Lb. curvatus* i *Lb. plantarum*. Nasuprot tome, broj izolata *Pediococcus pentosaceus* pokazuje tendenciju postepenog pada (8,33 posto) do 7. dana procesa fermentacije. Njegovo prisustvo nije utvrđeno 14. i 21. dana, ni u jednoj fermentaciji. Slična ispitivanja tradicionalno fermentisanih kobasica obavljena su i u zemljama Evropske unije (Ammor i dr., 2005; Aymerich i dr., 2006; Urso i dr., 2006; Comi i dr., 2005; Rantsiou i dr., 2005; Drosinos i dr., 2005).

Na kraju procesa zrenja „sremske“ kobasice (21. dana) najzastupljeniji sojevi BMK su bili: *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. fermentum*,

Tabela 2. Zastupljenost BMK tokom proizvodnje „sremske“ kobasice

Table 2. LAB strains during the production of „sremska“ sausage

Broj izolata–dani/No of isolates–days 0. 2. 4. 7. 14. 21.	Broj izolata (%) / No of isolates (%)	API identifikacija/ API identification
3 9 6 5 10 6	39 (26,0)	<i>Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii</i>
1 5 1 3 4 6	20 (13,3)	<i>Lb. curvatus</i>
0 2 3 3 4 4	16 (10,6)	<i>Lb. plantarum</i>
6 4 3 2 0 0	15 (10)	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
1 2 2 3 2 3	13 (8,6)	<i>Lb. fermentum</i>
0 1 2 3 3 2	11 (7,3)	<i>Lb. cellobiosus</i>
1 3 2 2 1 0	9 (6,0)	<i>Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides</i>
0 0 1 1 2 3	7 (4,6)	<i>Lb. brevis</i>
2 3 0 0 0 1	6 (4,0)	<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i>
0 1 2 1 0 0	4 (2,6)	<i>Ln. mesenteroides ssp. cremoris</i>
3 0 0 0 0 0	3 (2,0)	<i>Lc. lactis ssp. lactis</i>
0 1 0 1 0 0	2 (1,3)	<i>Lb. helveticus</i>
0 0 1 0 1 0	2 (1,3)	<i>Lb. collinoides</i>
0 1 1 0 0 0	2 (1,3)	<i>Lb. acidophilus</i>
0 1 0 0 0 0	1 (0,6)	<i>Lb. fructivarians</i>

Lb. cellobiosus i *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides*. Oni su činili 81,5 posto od svih izolovanih sojeva BMK.

S obzirom da je identifikacija izolata BMK obavljena klasičnim mikrobiološkim metodama, uz konfirmativnu potvrdu biohemijskim kitom API 50CHL, rezultati dobijeni u ovoj fazi ispitivanja ne mogu da se porede sa rezultatima drugih autora.

Predviđeno je da u nastavku ispitivanja dobijenih 150 izolata BMK bude podvrgnuto genotipskoj identifikaciji PCR tehnikom.

Posle identifikacije API 50CHL testom, utvrđeno je da su morfološke osobine izolata tipične za svaku vrstu BMK. Morfološke i biohemijske karakteristike ispitivanih BMK prikazane su u tabeli 3.

proizvodnji na tradicionalan način fermentisanih kobasica.

Zaključak

Sa mikrobiološkog stanovišta „sremska“ kobasica predstavlja zdravstveno bezbedan proizvod.

Tabela 3. Najvažnije morfološke i biohemijske karakteristike BMK izolovanih iz „sremske“ kobasice u toku procesa zrenja

Table 3. The most significant morphological and biochemical properties of LAB isolated from „sremska“ sausage during the ripening process

Broj izolata/ No of isolates	Identifikacija/ Identification (API 50CHL)	Ćelijska morfoloģija/ Cell morphology	CO ₂ iz glukoze/ CO ₂ from glucose	Katalaza/ Katalase	Rast na: /Growth at:					Formacija sluzi/ Slime formation
					4°C	10°C	15°C	37°C	45°C	
39(26,0)	<i>Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii</i>	R	0	–	0	27(69,2)	32 (82)	38(97,4)	16(41)	0
20(13,3)	<i>Lb. curvatus</i>	R	0	–	6(30)	12(60)	12(60)	13(65)	0	0
16(10,6)	<i>Lb. plantarum</i>	R	0	–	6(37,5)	7(43,7)	10(62,5)	11(68,7)	0	0
15(10,0)	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	C	0	–	1(6,7)	5(33,3)	15(100)	1(6,7)	1(6,7)	0
13(8,6)	<i>Lb. fermentum</i>	R	0	–	9(69,2)	11(84,6)	12(92,3)	12(92,3)	2(15,3)	0
11(7,3)	<i>Lb. cellobiosus</i>	R	0	–	3(27,2)	8(72,7)	8(72,7)	6(54,5)	0	0
9(6,0)	<i>Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides</i>	CB	4(34,4)	–	7(77,7)	5(55,5)	8(88,8)	8(88,8)	0	9(100)
7(4,6)	<i>L. brevis</i>	R	0	–	3(42,8)	7(100)	7(100)	7(100)	3(42,8)	0
6(4,0)	<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	R	0	–	0	3(50)	3(50)	5(83,3)	2(33,3)	0
4(2,6)	<i>Ln. mesenteroides ssp. cremoris</i>	CB	4(100)	–	4(100)	4(100)	4(100)	4(100)	0	4(100)
3(2,0)	<i>Lc. lactis ssp. lactis</i>	C	0	–	2(66,6)	3(100)	3(100)	2(66,6)	0	0
2(1,3)	<i>Lb. helveticus</i>	R	0	–	0	0	1(50)	2(100)	1(50)	0
2(1,3)	<i>Lb. collinoides</i>	R	0	–	0	2(100)	2(100)	2(100)	0	0
2(1,3)	<i>Lb. acidophilus</i>	R	0	–	0	0	2(100)	2(100)	2(100)	0
1(0,6)	<i>Lb. fructivorans</i>	R	0	–	0	0	1(100)	1(100)	0	0

R – štapići; C – coce; CB – cocobacilli

Ispitane BMK ne poseduju osobinu stvaranja CO₂ iz glukoze niti formiraju sluz, osim sojeva *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides* i *Ln. mesenteroides ssp. cremoris* koji stvaraju sluz, a 47 posto odnosno 100 posto ovih izolata formiraju gas iz glukoze. Svi ispitani sojevi dobro rastu pri temperaturama od 10°C do 37°C. Pri temperaturi od 4°C dobro rastu sledeći sojevi: *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides*, *Ln. mesenteroides ssp. cremoris*, *Lb. fermentum* i *Lc. lactis ssp. lactis*. Pri temperaturi od 10°C ne raste *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* i *Lb. fructivorans*. Svi ispitani sojevi slabo ili uopšte ne rastu pri temperaturi od 45°C, izuzev *Lb. acidophilus*, i *Lb. helveticus*. Ove osobine ispitivanih sojeva BMK su važne pri njihovom izboru za dalju tehnološku primenu u

Dominantnu mikrofloru čine bakterije mlečne kiseline čiji broj se intenzivno povećava do 7. dana proizvodnje, što je u skladu sa prirodom procesa mlečne fermentacije koji se dešava u ovim proizvodima. Pri tome sojevi *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii* i *Lb. curvatus* čine 60 posto svih izolata identifikovanih biohemijskim testom API 50CHL. Izolovane BMK iz tradicionalno fermentisane „sremske“ kobasice imaju poželjne tehnološke osobine i predstavljaju potencijalne kandidate za stvaranje domaćih starter kultura. Formiranje sopstvene „banke“ izolata i odgovarajući odabir sojeva BMK, omogućilo bi dobijanje fermentisanih kobasica ujednačenog kvaliteta sa dobrim higijenskim i senzornim osobinama, uz očuvanje tradicionalnosti proizvoda.

Literatura

- Ammor S., Rachman C., Chaillou S., Prévost H., Dousset X., Zagorec M., Dufour E., Chevallier I., 2005.** Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiology*, 22, 373–382.
- Aymerich T., Martín B., Garriga M., Vidal-Carou M.C., Bover-Cid S., Hugas M., 2006.** Safety properties and molecular strain typing of lactic acid bacteria from slightly fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 40–49.
- Comi G., Urso R., Iacumin L., Rantsiou K., Cattaneo P., Cantoni C., Cocolin L., 2005.** Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*, 69, 381–392.
- Drosinos E. H., Mataragas M., Xiraphi N., Moschonas G., Gaitis F., Metaxopoulos J., 2005.** Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*, 69, 307–317.
- Hutkins R. W., 2006.** Microorganisms and metabolism. In R. Hutkins (Ed.) *Microbiology and technology of fermented foods*. In R. Hutkins (Ed.) Oxford, UK: Blackwell, Publishing Professional, 15–66.
- ISO 15214:1998.** Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique of 30°C.
- ISO 4833:2003.** Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30°C.
- ISO 21528-2:2004.** Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of *Enterobacteriaceae*. Part 2: Colony-count method.
- ISO 21257-2:2008.** Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds. Part 2: Colony-count technique in products with water activity less or equal to 0.95.
- ISO 7899-2:2000.** Water quality – detection and enumeration of intestinal enterococci. Part 2: Membrane Filtration Method.
- Leroy F., De Vuyst L., 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 67–78.
- Leroy F., Verluyten J., De Vuyst L., 2006.** Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 270–285.
- Mauriello G., Casaburi A., Blaiotta G., Villani F., 2004.** Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of southern Italy. *Meat Science*, 67, 1, 149–158.
- Pravilnik o kvalitetu proizvoda od mesa 2004.** Službeni list SCG, br. 33/2004.
- Rantsiou K., Drosinos E. H., Gialitaki M., Urso R., Krommer J., Reichardt J. G., Toth S., Metaxopoulos J., Comi G., Cocolin L., 2005.** Molecular characterization of *Lactobacillus* species isolated from naturally fermented sausages produced in Greece, Hungary and Italy. *Food Microbiology*, 22, 19–28.
- Rantsiou K., Cocolin L., 2006.** New developments in the study of the microbiota of naturally fermented sausages as the determined by molecular methods: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 108, 255–267.
- Urso R., Comi G., Cocolin L., 2006.** Ecology of lactic acid bacteria in Italian fermented sausages: isolation, identification and molecular characterization. *Systematic and Applied Microbiology*, 29, 8, 671–690.
- Vesković S., 2007.** Bacteriocin *Leuconostoc mesenteroides* E 131 and *Lactobacillus sakei* I 154 i MAP on shelflife of Sremska sausage. Ph. D. dissertation, Faculty of Agriculture, Zemun– Belgrade.

Dominant microflora isolated from traditionally fermented „sremska“ sausage

Borović Branka, Vesković Slavica, Velebit Branko, Baltić Tatjana, Spirić Danko

S u m m a r y: „Sremska“ sausage is a typical representative of narrow diameter fermented sausage in our country. It is produced in traditional way in households or small manufactures in Vojvodina, especially in „Srem“ region. Its main ingredients are pork, firm fatty tissue and spices. Quality of traditionally fermented sausages is influenced by many factors such as: selection of raw material, metabolic activity of epiphytic microflora and physico-chemical changes during the processes of smoking, ripening and drying. Microflora of traditionally fermented sausages originates from the raw material or from the environment. Microorganisms responsible for changes that occur during fermentation are lactic acid bacteria (LAB), coagulase-negative cocci and some species of yeasts.

In traditionally produced „sremska“ sausage variations in epiphytic microflora was observed and collection of isolates of autochthonous LAB strains was obtained. LAB strains were acquired during the processes of smoking, fermentation, drying and ripening of „sremska“ sausage on the 0th, 2nd, 4th, 7th, 14th and 21st day of production. Identification of LAB was carried out using classical microbiological methods along with the investigation of basic morphological and biochemical properties of the isolates (ability of gas production from glucose, production of slime, growth at different temperatures and katalase reaction). Final identification was obtained with biochemical test API 50 CHL. Variation of LAB count was in accordance with the process of lactic fermentation, the number of bacteria increased up to the 7th day, followed by the slight decrease which is characteristic for this type of products. The most frequent strains isolated from «sremska» sausage are: *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. fermentum*, *Lb. cellobiosus* i *Ln. mesenteroides* ssp. *mesenteroides*. These strains represent 81.5% of all LAB isolates.

Key words: „sremska“ sausage, epiphytic microflora, LAB, classical microbiological methods, API test.

Rad primljen: 30.09.2009.

Rad prihvaćen: 9.10.2009.

Uticaj odabranih aditiva na poboljšanje kvaliteta i stabilnosti boje fino usitnjenih barenih kobasica od pilećeg mesa*

Grujić Slavica¹, Grujić Radoslav², Savanović Danica¹, Odžaković Božana¹, Dejanović Mario¹

Sadržaj: U ovom radu, ispitan je uticaj različitih smeša aditiva na kvalitet i stabilnost boje, kao i na ukupnu prihvatljivost fino usitnjenih barenih kobasica od pilećeg mesa. Uzorci su proizvedeni u industrijskim uslovima, na osnovu proizvođačke specifikacije: kontrolni uzorak i pet eksperimentalnih grupa proizvoda. Boja uzoraka je analizirana senzornim i instrumentalnim metodama, na poprečnom preseku proizvoda, 7. i 35. dana nakon proizvodnje. U senzornom ocenjivanju, korišćene su intervalne skale, dok je instrumentalna analiza boje zasnovana na merenju vrednosti parametara boje L^* (svetlina), a^* (intenzitet crvene nijanse boje), b^* (intenzitet žute nijanse boje) u CIE (1978) $L^*a^*b^*$ sistemu boja. Uzorci kobasica proizvedeni sa 0,04 posto ekstrakta ruzmarina imali su zadovoljavajuću stabilnost i relativno malu promenu prosečnih vrednosti parametara boje L^* i a^* izmerenih 7. i 35. dana nakon proizvodnje. Uzorci kobasica proizvedeni sa 0,3 posto stabilizatora (E466) imali su relativno male promene prosečnih vrednosti parametara boje L^* i b^* izmerenih 7. dana i 35. dana nakon proizvodnje, kao i najbolju ukupnu prihvatljivost kvaliteta proizvoda, u poređenju sa svim proizvedenim, kao i sa kontrolnim uzorcima fino usitnjenih barenih kobasica od pilećeg mesa tipa „parizer“.

Ključne reči: fino usitnjene barene kobasice od pilećeg mesa, aditivi, boja, senzorna analiza.

Uvod

Napori da se poveća ukupna proizvodnja i smanje troškovi u proizvodnji pilećeg mesa imaju kao posledicu smanjivanje kvaliteta mesa koje se nudi na tržištu. Gubitak kvaliteta mesa se naročito manifestuje u smanjenoj sposobnosti zadržavanja i vezivanja dodate vode ili u previše svetloj boji mesa (Liu i dr., 2007). Niži kvalitet sirovina, koje se koriste tokom izrade različitih proizvoda od mesa, značajno utiče na kvalitet proizvoda u koje su one ugrađene. Pronalazak odgovarajućih preciznih i brzih metoda za definisanje i ispitivanje pokazatelja kvaliteta sirovina namenjenih za preradu i ispitivanje kvaliteta gotovih proizvoda od mesa ima kako tehnološku tako i ekonomsku važnost (Koniczny i dr., 2006; Valous, 2009).

Barene kobasice se ubrajaju u grupu proizvoda od mesa i imaju crvenoružičastu boju i odgovarajuće stabilnosti, specifičnu aromu i nutritivnu vrednost. Postizanje stabilne boje barenih kobasica je za proizvođače veoma važno, jer njihovi proizvodi na taj način lakše dolaze do kupaca. Stabilnost boje proizvoda od mesa se postiže salamurenjem. Nitriti tokom salamurenja mesa utiču na nastanak boje

i arome mesa, služe kao antioksidansi za zaštitu aromatičnih materija i jak antimikrobni agens za sprečavanje razvoja *Clostridium botulinum*. U poslednje vreme na tržištu se iskazuje sve veća zainteresovanost za prirodnom hranom, koja ne sadrži konzervanse, a time i nitrite/nitrate. To je dalo podsticaj za istraživanja usmerena na pronalazak materija koje mogu da zamene nitrite u proizvodima od mesa ili barem delimično smanje količinu nitrita koja se dodaje u proizvode (Sindelar i dr., 2007).

Oksidacija pigmentata i lipida je jedan od značajnih problema sa kojima se suočavaju proizvođači kobasica i drugih proizvoda od mesa. Ove promene direktno utiču na zdravstvenu bezbednost i kvalitet proizvoda, a najpre se ispoljavaju preko gubitka željene boje, mirisa i arome proizvoda kao i u skraćivanju roka trajanja proizvoda. Poznato je da zagrevanje proizvoda u prisustvu kiseonika pospešuje proces oksidacije lipida i razvoj nepoželjne arome u proizvodima tretiranim toplotom (Serdaroglu i Yildiz-Turp, 2004; Nowak i dr., 2007). Kako bi se sprečila oksidacija pigmentata i lipida u proizvodima od mesa proizvođači su prinuđeni da koriste prehrambene aditive sa funkcionalnim svojstvima antioksidanasa.

*Kratak sadržaj rada je objavljen u „Zborniku kratkih sadržaja“ sa Međunarodnog 55. savetovanja industrije mesa, održanog na Tari, od 15. do 17. juna 2009.

¹Univerzitet u Banjoj Luci, Tehnološki fakultet, Vojvode Stepe Stepanovića 73, 78 000 Banja Luka, Republika Srpska

²Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Tehnološki fakultet, Karakaj bb, 76 300 Zvornik, Republika Srpska

Upotreba prirodnih antioksidanasa pruža prednosti u smislu smanjenja količine, odnosno delimične ili potpune zamene sintetičkih antioksidacionih supstancija u izradi kobasica (Grujić, 2005; Duda-Chodak i dr., 2008; Kazimierczak i dr., 2008). Potrošači sve više pokazuju interesovanje za kupovinu proizvoda tokom čije izrade su korišćeni antioksidansi biljnog porekla (na primer, ekstrakt ruzmarina). Sprovedena su i određena ispitivanja radi poređenja antioksidacionog delovanja askorbinske kiseline, ekstrakta ruzmarina i alfa-tokoferola na masti u proizvodima od mesa (Serdaroglu i Yildiz-Turp, 2004). Tom prilikom je ustanovljeno da se zadovoljavajuća stabilnost kvaliteta proizvoda može da postigne tokom šestomesečnog skladištenja uzoraka. Slična istraživanja na proizvodima od mesa sprovedli su i drugi autori (Nowak i dr., 2007; Soyer i Ertas, 2007; Bhattacharyya i dr., 2007).

Samo mali broj proizvođača ima mogućnost da za senzornu analizu i ocenu dostignutog kvaliteta svojih proizvoda može da angažuje stručnjake – ocenjivače. Ova činjenica predstavlja problem kada treba da se utvrdi stepen zadovoljenja definisanog kvaliteta, pre svega odabranih senzornih svojstava proizvoda. Sa druge strane, u nekim situacijama senzornom ocenom nije moguće da se precizno definiše boja proizvoda. U tom slučaju se, za proveru usaglašenosti postignute propisanom nijansom boje proizvoda, može da upotrebi neka od instrumentalnih metoda za merenje boje (Nowak i dr., 2007). U ovom slučaju, pokazatelji kvaliteta boje se najčešće izražavaju u CIELab sistemu preko brojevanih vrednosti za svetloću ili sjajnost (L^*), udeo crvene boje (pozitivne vrednosti veličine a^*), udeo zelene boje (negativne vrednosti veličine a^*), udeo žute boje (pozitivne vrednosti veličine b^*), udeo plave boje (negativne vrednosti veličine b^*) (Lin i Liu, 2002; Yilmaz i dr., 2002; Škrlep i Čanak-Potokar, 2007). Instrumentalno merenje boje je naročito praktično u situaciji kada je potrebno da se sprovede brzo merenje u definisanim vremenskim razmacima i u situaciji kada je potrebno da se uporede sasvim male razlike u nijansama boje ispitivanih proizvoda (Bilska, 2007).

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj dodatka određenih vrsta prehrambenih aditiva na kvalitet barenih kobasica, pre svega intenzitet i stabilnost boje kobasica tokom izrade i skladištenja, kao i da se utvrde razlike koje postoje u boji gotovih proizvoda primenom instrumentalnih i senzornih metoda analize.

Materijal i metode

Ispitivanja su obavljena na model-uzorcima barenih kobasica od pilećeg mesa, u tipu „parizera”. Proizvodi su izrađeni prema proizvođačkoj speci-

fikaciji u pogonu za proizvodnju barenih kobasica. Model-uzorak izrađen je od navedenih sirovina (udeo prikazan opadajućim redosledom): mašinski otkoštено pileće meso (60 posto), pileće krto meso (15 posto), jestivo biljno ulje, voda, kuhinjska so, izolovani sojini proteini, dekstroza, začini, antioksidans (askorbinska kiselina E300), pojačivač arome (mononatrijum-glutaminat, E621), konzervans (natrijum-nitrit E250).

Radi postizanja boljeg kvaliteta proizvoda (prvenstveno veće stabilnosti boje) tokom proizvodnje su korišćeni različiti prehrambeni aditivi proizvođača DANISCO (Danska) i to:

- GUARDIAN Rosemary Extract 08 (prirodni ekstrakt ruzmarina, mono- i digliceridi masnih kiselina E471, estri sirćetne kiseline i mono- i diglicerida masnih kiselina E472a, propilen-glikol E1520);
- GRINDOX 539 Antioxidant (askorbilpalmitat E304, ekstrakt bogat tokoferolima E306, lecitini E322, repičino ulje);
- GRINDSTED Carrageenan CC 310 (karagenan E407, guma iz semena rogača E410);
- GRINDSTED MEATLINE 345 A Emulsifier and Stabiliser System (natrijum-alginat E401, kalcijum-sulfat E516, natrijumove soli masnih kiselina E470a, tetranatrijum-difosfat E450);
- GRINDSTED MEATLINE 333 Stabiliser System (brašno semena rogača, karboksimetilceluloza E466).

Izrađeno je pet model-proizvoda, pri čemu je u nadev svakog puta dodavana različita kombinacija prehrambenih aditiva (tabela 1). Šesti uzorak je bio kontrolni uzorak. Izrada svih šest uzoraka je ponovljena pet puta (paralelne probe). Nadev kobasica napunjen je u veštačke, nepropustljive omotače. Proizvodi su tretirani toplotom pri temperaturi pasterizacije, i do momenta ispitivanja čuvani na temperaturi od +4°C do +8°C.

Metode analize proizvoda

Za ocenu intenziteta i stabilnosti boje uzoraka, korišćene su senzorne i instrumentalna metoda.

Senzorna ocena boje

Senzorna ocena uzoraka je sprovedena u Laboratoriji za senzornu analizu namirnica na Tehnološkom fakultetu u Banjoj Luci, koja je izvedena prema zahtevima ISO standarda (ISO 2006; Antičić i dr., 2006; Grujić i dr., 2008; Savanović i Grujić, 2008). Ocenjivanje je sprovedeno u periodu između 9,00 i 12,00 časova. Senzornu analizu obavilo je 10 obučenih ocenjivača, u ocenjivačkim boksovima. Pre početka rada ocenjivači su bili upoznati sa ka-

Tabela 1. Vrsta i količina prehrambenih aditiva koji su korišćeni za izradu model-uzorka „parizera” od pilećeg mesa
Table 1. Type and quantity of food additives used for producing parizer model samples made of chicken meat

Aditivi/ Additives	Oznaka uzorka/Sample code					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
GUARDIAN Rosemary Extract 08 (%)	0,04	–	–	–	–	–
GRINDOX 539 Antioxidant (%)	–	0,10*	–	–	–	–
GRINDSTED Carrageenan CC 310 (%)	–	–	0,30	–	–	–
GRINDSTED MEATLINE 345 A Emulsifier and Stabiliser System (%)	–	–	–	0,30		–
GRINDSTED MEATLINE 333 Stabiliser System (%)	–	–	–	–	0,30	–

*količina izražena u odnosu na količinu masti u gotovom proizvodu/
 quantity expressed in relation to the amount of fat in the finished product

rakteristikama proizvoda i ciljem ispitivanja. Prilikom senzorne analize, ocenjivačima je dva puta dostavljano po šest različito označenih uzoraka (pet uzoraka kojima su dodavani odabrani aditivi i šesti kontrolni uzorak), a za senzornu analizu korišćene su ordinalne skale i rang test.

Instrumentalno određivanje boje

Instrumentalno određivanje boje proizvoda, obavljeno je merenjem količine reflektovane svetlosti sa površine preseka kobasice, neposredno posle narezivanja, pomoću SPEKTROFOTOMETRA CM-2600d (KONICA MINOLTA SENSING, INC, Japan). Na ovaj način su izmerene L^* , a^* i b^* vrednosti. Merenja su obavljena 7 i 35 dana nakon proizvodnje, kao i 30, 60, 90 i 120 minuta skladištenja na vazduhu na sobnoj temperaturi posle narezivanja proizvoda, pri čemu je merenje svakog parametra obavljeno na po 10 preseka iste kobasice, uz ponavljanje svakog merenja pet puta na različitim mestima istog preseka. Spektrofotometar je opremljen standardnim izvorom svetlosti D_{65} (10° ugao standardnog posmatrača). Za

standardizaciju spektrofotometra korišćena je bela porculanska ploča. Merenje boje na ovom aparatu se sastoji iz nekoliko faza: standardizacija aparata prema beloj ploči, zadavanje parametara za merenje boje, izbor i priprema uzorka, merenje vrednosti pokazatelja boje proizvoda (L^* , a^* , b^*).

Na osnovu eksperimentalnih rezultata izračunate su prosečne vrednosti i standardna devijacija (Hadživuković, 1991).

Rezultati i diskusija

Rezultati ispitivanja, prikazani su u dve tabele i jednom dijagramu. U tabeli 2, prikazani su rezultati senzorne ocene boje preseka proizvoda, neposredno posle narezivanja.

Boja preseka uzorka iz kontrolne grupe (P6) bila je svetloružičasta, sa приметnim različitim nijansama na preseku. Tom prilikom ocenjivači su dali prosečnu ocenu od $4,30 \pm 0,50$. Boja kontrolnog uzorka posle 35 dana skladištenja ocenjena je kao neznatno tamnija

Tabela 2. Prosečne vrednosti parametara boje model-uzoraka parizera od pilećeg mesa, dobijenih tokom senzorne ocene bazirane na petobalnoj skali bodovanja*

Table 2. Average colour parameter values for parizer model samples made of chicken meat, obtained during sensory analysis based on the five-point scale*

Oznaka uzorka/ Sample code	Boja preseka kobasica 7 dana nakon izrade/ Cut colour of sausages 7 days after production	Oznaka uzorka/ Sample code	Boja preseka kobasica 35 dana nakon izrade/ Cut colour of sausages 35 days after production
P1	$4,70 \pm 0,41$ SD	P1	$4,75 \pm 0,45$ SD
P2	$4,45 \pm 0,51$ SD	P2	$4,85 \pm 0,50$ SD
P3	$4,55 \pm 0,60$ SD	P3	$4,25 \pm 0,51$ SD
P4	$4,50 \pm 0,51$ SD	P4	$4,70 \pm 0,50$ SD
P5	$4,60 \pm 0,51$ SD	P5	$4,25 \pm 0,60$ SD
P6	$4,30 \pm 0,50$ SD	P6	$4,45 \pm 0,60$ SD

Broj ocenjivača = 10 /Number of panellists = 10

*Petobalna skala bodovanja: 1 = neprijatan, 2 = osrednji, 3 = prihvatljiv, 4 = dobar, 5 = izvanredan /
 Five-point scale: 1 = unacceptable, 2 = fair, 3 = acceptable, 4 = good, 5 = excellent

SD – standarda devijacija /SD – standard deviation

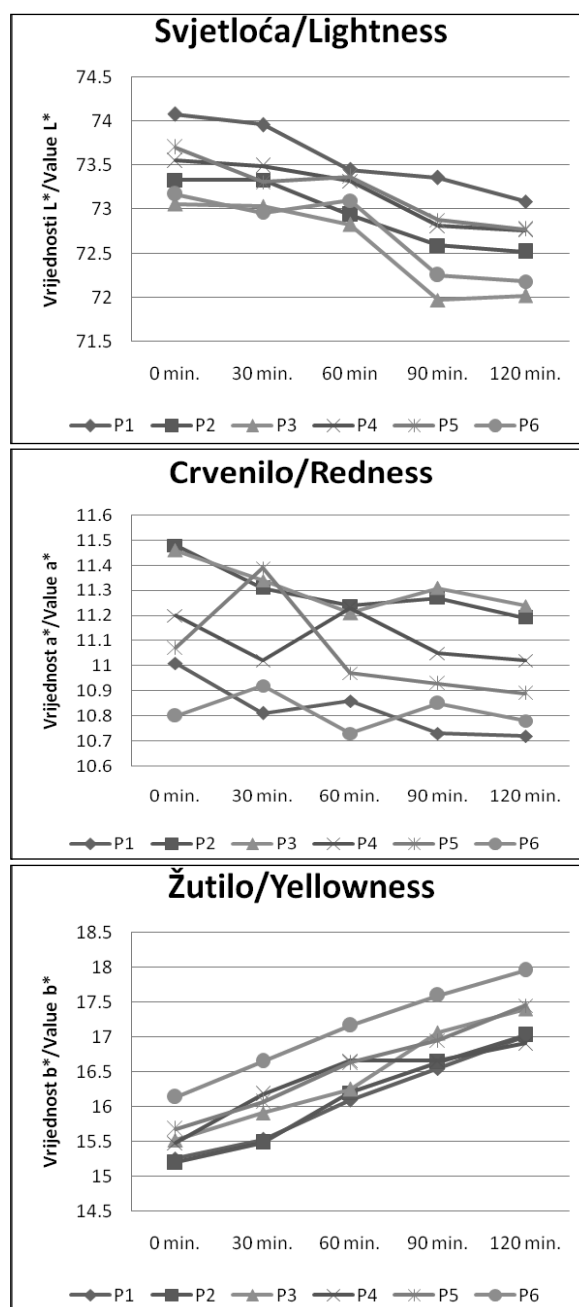
od očekivane ($4,45 \pm 0,60$). Uzorak označen kao P1 (izrađen uz dodatak 0,04 posto aditiva GUARDIAN Rosemary Extract 08) dobio je ocenu $4,70 \pm 0,41$, sedam dana nakon proizvodnje, pri čemu je boja opisana kao svetloružičasta sa blagom krem nijansom, odnosno kao nešto tamnija od očekivane. Posle 35 dana, boja je bila ujednačena, svetloružičasta i dobila je ocenu $4,75 \pm 0,45$ (tabela 2). I ostali proizvodi „parizera” u koje su dodavani aditivi sa funkcionalnim svojstvima humektanta, stabilizatora ili poboljšivača konzistencije, opisani su kao proizvodi svetloružičaste boje (prosečna ocena iznosila je od $4,45 \pm 0,51$ do $4,60 \pm 0,51$). Skladištenje od 35 dana nije negativno uticalo na boju, koja je ostala svetloružičasta ($4,25 \pm 0,51$ do $4,85 \pm 0,45$). U tri slučaja ocenjivači su dali veću ocenu boje kobasicama 35. dana (P1, P2, P4). Tokom izrade, u nadev proizvoda P1 i P2 grupe, dodati su antioksidansi, koji su sprečili oksidaciju pigmentata u mesu, dok je uzorak P4 sadržavao sredstva za emulgovanje i stabilizatore koji su uticali na nastanak kompaktnije mase nadeva proizvoda i refleksiju veće količine svetlosti sa površine preseka.

Rezultati do kojih se došlo instrumentalnim merenjem boje prikazani su na dijagramu 1 i u tabeli 3.

Najveću prosečnu vrednost za svetlinu ili sjajnost površine, sedam dana nakon proizvodnje, imao je uzorak označen kao P1 ($L^* = 74,08 \pm 0,45$). Kod ostalih uzoraka izmerene vrednosti L^* su u rasponu između, od $73,06 \pm 0,36$ (P3) do $73,70 \pm 0,27$ (P5). Istovremeno, izmerena L^* vrednost kod kontrolnog uzorka bila je $73,17 \pm 0,46$ (tabela 3).

Nakon 35 dana skladištenja, ustanovljeno je relativno malo, gotovo zanemarljivo povećanje vrednosti za svetlinu, u odnosu na vrednosti izmerene 7 dana nakon proizvodnje. Tako je na površini svežeg preseka uzorka grupe P1, za svetlinu izmerena prosečna L^* vrednost od $74,19 \pm 0,80$. Kod ostalih uzoraka L^* vrednost je bila u rasponu od $72,94 \pm 0,33$ (P3) do $73,98 \pm 0,22$ (P4). Na preseku kontrolnog uzorka grupe P6, izmerena je prosečna vrednost L^* od $73,91 \pm 0,32$ (tabela 3).

Ako se analiziraju podaci o prosečnim vrednostima udela crvene boje (pozitivne vrednosti ve-



Dijagram 1. Uticaj prehranbenih aditiva na promenu boje površine preseka barenih kobasica
Diagram 1. Effect of food additives on color change of boiled sausages cross-section surface

Tabela 3. Pregled vrednosti pokazatelja kvaliteta boje izmerenih 7 i 35 dana nakon proizvodnje „parizera“ od pilećeg mesa

Table 3. Review of indicator values for colour quality measured 7 and 35 days after production parizer made of chicken meat

Oznaka uzorka/ Sample code	L_7	L_{35}	a_7	a_{35}	b_7	b_{35}
P1	$74,08 \pm 0,45$	$74,19 \pm 0,80$	$11,01 \pm 0,18$	$10,98 \pm 0,18$	$15,26 \pm 0,15$	$15,41 \pm 0,19$
P2	$73,33 \pm 0,50$	$73,42 \pm 0,23$	$11,48 \pm 0,36$	$11,50 \pm 0,15$	$15,20 \pm 0,42$	$15,70 \pm 0,54$
P3	$73,06 \pm 0,36$	$72,94 \pm 0,33$	$11,46 \pm 0,34$	$11,55 \pm 0,15$	$15,52 \pm 0,09$	$15,70 \pm 0,32$
P4	$73,55 \pm 0,22$	$73,98 \pm 0,22$	$11,20 \pm 0,20$	$11,21 \pm 0,07$	$15,48 \pm 0,16$	$15,17 \pm 0,14$
P5	$73,70 \pm 0,27$	$73,79 \pm 0,51$	$11,07 \pm 0,98$	$11,28 \pm 0,17$	$15,68 \pm 0,19$	$15,68 \pm 0,20$
P6	$73,17 \pm 0,46$	$73,91 \pm 0,32$	$10,80 \pm 0,22$	$10,85 \pm 0,08$	$16,14 \pm 0,33$	$15,74 \pm 0,22$

ličine a^*), može da se zapazi da su one bile približno ujednačene i da je raspon prosečnih vrednosti bio od $10,80 \pm 0,22$ (P6) do $11,48 \pm 0,36$ (P2) (tabela 3). Slične a^* vrednosti dobijene su i merenjem udela crvene boje u uzorcima skladištenim 35 dana, od $10,85 \pm 0,08$ (P6) do $11,55 \pm 0,15$ (P3) (tabela 3).

Udeo žute boje (pozitivne vrednosti veličine b^*) bio je od $15,20 \pm 0,42$ (P2) do $16,14 \pm 0,33$ (P6 – kontrolni uzorak), skladištenih 7 dana (tabela 3). Nakon 35 dana skladištenja, najniža vrednost b^* je izmerena u uzorku grupe P4 ($15,17 \pm 0,14$), a najveća u uzorku kontrolne grupe ($15,74 \pm 0,22$) (tabela 3).

Slične rezultate su dobili Liu i dr (2007), koji su ustanovili da se L^* vrednost značajno smanjuje tokom skladištenja barenih kobasica u koje su dodati prehrambeni aditivi, dok se a^* i b^* vrednosti u istim proizvodima malo smanjuju. Prehrambeni aditivi dodati u nadev kobasica imaju sposobnost povećanja svetloće. Dolatowski i Olszak (2007) utvrdili su da kapa carrageenan, koji je dodat u model-proizvode od mesa sa različitom količinom masti, utiče na povećanje crvene nijanse, smanjenje žute nijanse boje, dok ne pokazuje uticaj na svetloću proizvoda.

Tokom tridesetpetodnevnog skladištenja model-uzoraka „parizera“ od pilećeg mesa ustanovljene su relativno male promene prosečnih vrednosti parametara boje, za svetloću ili sjajnost (L^*), udeo crvene boje (pozitivne vrednosti veličine a^*) i udeo žute boje (pozitivne vrednosti veličine b^*) (tabela 3). U uzorcima kobasica (P1 i P2), proizvedenim uz dodatak antioksidansa ustanovljena je relativno mala promena vrednosti parametra a^* u odnosu na vrednosti izmerene neposredno posle proizvodnje, a izmerene vrednosti parametara b^* i L^* pokazale su tendenciju rasta. Slične promene posmatranih parametara u toku skladištenja ustanovljene su u uzorcima kobasica (P3, P4, P5), proizvedenim uz dodatak emulgatora i stabilizatora. Izmerene L^* vrednosti bile su približno jednake vrednostima izmerenim u uzorcima oznake P1 i P2, vrednosti parametra a^* rasle su u toku skladištenja, a b^* vrednosti su se smanjivale. Kod kontrolnog uzorka (P6), promene posmatranih parametara bile su više izražene u toku skladištenja. Autor Krysztofiak (2004) je dobio slične vrednosti instrumentalno izmerenih parametara boje uzoraka barenih kobasica od svinjskog mesa tipa „Wiener“, $L^* = 50,47-56,41$, $a^* = 6,71-20,53$ i $b^* = 10,58-12,90$.

Promene vrednosti instrumentalno izmerenih pokazatelja boje (L^* , a^* i b^*) u saglasnosti su sa

senzornom ocenom intenziteta crvene i žute nijanse boje, kao i utiska o svetlijoj ili tamnijoj nijansi boje, izgledu i sjajnosti površine na preseku model-proizvoda.

Instrumentalno izmerene vrednosti parametara boje L^* , a^* i b^* , kod model-uzoraka napravljenih uz dodatak prehrambenih aditiva sa funkcionalnim svojstvom antioksidansa ukazuju na povećanu stabilnost boje površine preseka tokom čuvanja uzoraka na vazduhu na sobnoj temperaturi. Prosečne vrednosti za svetlinu ili sjajnost, sedam dana nakon proizvodnje, 30, 60, 90 i 120 minuta posle narezivanja proizvoda, pokazuju blagi pad vrednosti za svetlinu u odnosu na vrednosti izmerene neposredno nakon narezivanja (dijagram 1). Prosečne brojčane vrednosti udela crvene boje (a^* vrednosti), izmerene 30, 60, 90 i 120 minuta posle narezivanja uzoraka, pokazuju pad prosečnih a^* vrednosti u odnosu na vrednosti dobijene neposredno nakon narezivanja. Nasuprot tome, stajanje narezaka kobasica na vazduhu pri sobnoj temperaturi utiče na povećanje udela žute komponente u reflektovanoj svetlosti, što potvrđuju izmerene prosečne b^* vrednosti.

Kod kontrolnog uzorka (dijagram 1), promene izmerenih vrednosti parametara boje L^* i a^* na površini preseka bile su najizraženije u odnosu na sve druge uzorke, a prosečne vrednosti parametra b^* bile su najveće, što ukazuje na vizuelno uočljivu promenu nijanse boje i povećan udeo žute nijanse u crvenkastoružičastoj boji proizvoda.

Zaključak

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom radu i diskusije tih rezultata može da se zaključi da: prirodni antioksidansi GUARDIAN Rosemary Extract 08 i GRINDOX 539 Antioxidant proizvođača DANISCO, Danska, utiču na brzinu formiranja i stabilnost boje barenih kobasica od pilećeg mesa u tipu „parizera“. To je potvrđeno instrumentalnim merenjem vrednosti parametara L^* , a^* i b^* na svezim presecima uzoraka kobasica skladištenim 7 i 35 dana, te na presecima uzoraka kobasica koji su nakon narezivanja stajali 120 minuta na vazduhu. Ocnom prihvatljivosti boje proizvoda koju su dali obučeni ocenjivači, potvrđeno je da uzorci kobasica u koje su dodati prirodni antioksidansi imaju najprihvatljiviju boju preseka koja je očuvana tokom skladištenja.

Literatura

Antonić B., Grujić S., Radovanović R., Baltić M., Grujić R., 2006. Uticaj primene različitih količina kuhinjske soli tokom procesa soljenja na senzorna svojstva kvaliteta svinjske pršute. Tehnologija mesa, 47, 3-4, 110-114.

Bhattacharyya D., Sinhamahapatra M., Biswas S., 2007. Preparation of sausage from spent duck – an acceptability study. International Journal of Food Science and Technology, 42, 24-29.

- Bilska A., 2007.** Optimisation of the composition of a mixture of selected additives in the production of raw sausages. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, 10, 1, <http://www.ejpau.media.pl/volume10/issue1/art-12.html>.
- Dolatowski Z. J., Olszak M., 2007.** Effect of κ -Carragenan on color stability of model products with different levels of fat. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, 10, 1, <http://www.ejpau.media.pl/volume10/issue1/art-15.html>.
- Duda-Chodak A., Tarko T., Sroka P., Satora P., 2008.** Antioxidant activity of different kinds of commercially available teas – diversity and changes during storage. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, 11, 4, <http://www.ejpau.media.pl/volume11/issue4/art-07.html>.
- Grujić S., 2005.** Prehrambeni aditivi – funkcionalna svojstva i primjena. Tehnološki fakultet, Banja Luka.
- Grujić S., Grujić R., Savanović D., Odžaković B., Glavaš D., 2008.** Unapređenje kvaliteta namirnica rangiranjem senzornih svojstava. Zbornik radova, VIII Savjetovanje hemičara i tehnologa Republike Srpske, Banja Luka, 303–310.
- Hadživuković S., 1991.** Statistički metodi. Drugo prošireno izdanje, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- ISO:8587:2006 (E), 2006.** Sensory Analysis-Methodology-Ranking. International organisation of Standardisation.
- Kazimierzczak R., Hallmann E., Rusaczek A., Rembiakowska E., 2008.** Antioxidant content in black currants from organic and conventional cultivation. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, 11, 2, <http://www.ejpau.media.pl/volume11/issue2/art-28.html>.
- Konieczny P., Bilska A., Uchman W., 2006.** Rapid methods of assessing as a tolls for quality improvement and standardization of food products. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, 9, 3, <http://www.ejpau.media.pl/volume9/issue3/art-07.html>.
- Kryzstofiak K., 2004.** Possibilities assessment of a colour modification in wiener sausage made with plasma proteins. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, 7, 2, 1–11.
- Lin K. W., Lin S. N., 2002.** Effects of sodium lactate and trisodium phosphate on the physicochemical properties and shelf life of low-fat Chinese-style sausage. *Meat Science*, 60, 2, 147–154.
- Liu L., Kerry J. F., Kerry J. P., 2007.** Application and assessment of extruded edible casings manufactured from pectin and gelatin/sodium alginate blends for use with breakfast pork sausage. *Meat Science*, 75, 2, 196–202.
- Nowak B., Vonmueffling T., Grotheer J., Klein G., Watkinson B. M., 2007.** Energy content, sensory properties, and microbiological shelf life of German Bologna-type sausages produced with citrate or phosphate and with inulin as fat replacer. *Journal of Food Science*, 72, 9, S629–S638.
- Savanović D., Grujić S., 2008.** Descriptive sensory analysis of finely comminuted pork sausage „parizer“ type. Zbornik radova, Prvi međunarodni kongres „Ekologija, zdravlje, rad, sport“, 2008. Banja Luka, 142–147.
- Serdaroglu M., Yildiz-Turp G., 2004.** The effects of ascorbic acid, rosemary extract and α -tocopherol/ascorbic acid on some quality characteristics of frozen chicken patties. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, 7, 1, 1–6.
- Sindelar J. J., Cordray J. C., Sebranek J. G., Love J. A., Ahn D. U., 2007.** Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. *Journal of Food Science*, 72, 6, S388–S395.
- Soyer A., Ertas A. H., 2007.** Effects of fat level and storage time on lipid and color stability of naturally fermented Turkish sausage (Sucuk). *Journal of Muscle Foods*, 18, 330–340.
- Škrlep M., Čandek-Potokar M., 2007.** Pork color measurement as affected by bloom time and measurement location. *Journal of Muscle Foods*, 18, 78–87.
- Valous N. A., Mendoza F., Sun W., Allen P., 2009.** Colour calibration of a laboratory computer vision system for quality evaluation of pre-sliced hams. *Meat Science*, 81, 1, 132–141.
- Yılmaz I., Simsek O., Isikli M., 2002.** Fatty acid composition and quality characteristics of low-fat cooked sausages made with beef and chicken meat, tomato juice and sunflower oil. *Meat Science*, 62, 2, 253–258.

Effect of Selected Additives on Quality Improvement and Colour Stability of Finely Comminuted Boiled Chicken Sausage

Grujić Slavica, Grujić Radoslav, Savanović Danica, Odžaković Božana, Dejanović Mario

S u m m a r y: In this paper, effect of different additive mixtures on colour quality, stability and overall acceptance of finely comminuted boiled chicken sausages were investigated. Samples were produced in industrial conditions according to the producer's specification, control sample and 5 experimental products' sample groups. Samples' colour, on product cross-section, 7 days and 35 days after production were analysed by sensory and instrumental analytical methods. Interval scales were used for sensory analysis, and instrumental colour analysis was based on measurement of colour parameters L^* (lightness), a^* (redness), b^* (yellowness) values in CIE (1978) $L^*a^*b^*$ colour system.

Sausage samples produced with 0.04% Rosemary Extract had acceptable stability and relative small changes in approximate values for colour parameters L^* and a^* , measured 7 days and 35 days after production. Sausage samples produced with 0.3% stabilizer (E466) had relative small changes of in approximate values for colour parameters L^* and b^* , measured 7 days and 35 days after production, and the highest overall sensory acceptance of product comparing to the control sample of finely comminuted boiled chicken sausage „parizer“ type.

Key words: finely comminuted boiled chicken sausages, additives, colour, sensory analysis.

Rad primljen: 28.04.2009.

Rad ispravljen: 29.07.2009.

Rad prihvaćen: 30.07.2009.

Impact of different vegetable fats and oils on instrumentally measured color and texture of processed chicken sausages*

Pejkovski Zlatko¹, Silovska-Nikolova Aleksandra¹, Belichovska Katerina¹, Gasperlin Lea², Polak Tomaz², Žlender Božidar², Lilić Slobodan³, Ockerman Herbert⁴

Abstract: The effect of vegetable fats and oils on instrumentally measured color and texture of processed chicken sausages was investigated using six variants of sausages: control, containing pork back fat (Po); olive oil (O); rapeseed oil (R); sunflower oil (S); palm fat (Pa) and a mixture (Mi) of 60 % rapeseed oil (R) and 40 % palm fat (Pa). Palm (Pa) fat resulted in the darkest ($p \leq 0,05$) surface color of processed poultry sausages. High intensity red color was most desirable on the sausage surface and was obtained with palm (Pa) fat and a mixture (Mi) of 60% palm fat and 40% rapeseed oil (R). Incorporation of all other plant oils and fats increased yellowness on the surface of processed poultry frankfurters. Palm (Pa) and pork (Po) fat, that are rich in saturated fatty acids, ($p \leq 0.05$) darkened color on poultry sausages at the fresh cross sectional plane. Pork (Po) fat also ($p \leq 0.05$) improved the red color hue at the fresh cross section plane of sausages. Plant oils, when not used in a mixture with palm fat ($p \leq 0.05$) increased the Warner Bratzler Shear Force (WBSF) making the product harder and firmer in texture.

Key words: processed chicken, frankfurter-sausages, plant fats, plant oils, color, texture.

Introduction

Fats are important and a key factor in development of aroma, texture, juiciness and color in meat products. Hence, fat presence makes the product more acceptable from a flavor perspective and attractive for customers. Using some of the substitutes for pork fats causes a weakening of color intensity in meat products. *Reitmaier and Prusa* (1991) reported using flour from corn germ increased yellow color of the product. Animal fat replacement with vegetable oils is the reason for decreasing the typical color and intensity of color in meat products. According to *Keeton* (1994), fats are also important for rheological and structural characteristics of meat products and for creation of a stable emulsion.

Texture of meat products is dependent on a creation of a matrix that strengthens structure and stability. Formation of the matrix is dependent on several factors including: types, quantity and functional properties of proteins and fats, salt concentration, pH value, content of connective tissue, water

binding capacity and other factors. *Huffman* (1996) reported proteins are absorbed in the disperse system of fats and water, thus incorporating fat globules into the matrix.

The melting point and extent of fat exudation are important factors for retaining fats in the meat structure. *Žlender* (2000) reports creation of texture of meat products is influenced by type and quantity of fat added due to effects of fat on the interaction between fats and other meat components.

The structure of cooked meat is important for interactions between the three basic components: proteins, fats and water. If this relationship is not optimal there will be limited heat stability and breakdown in the structure of the homogenate (*Radetić*, 2000). *Yilmaz*, (2004) found decreasing fat content below 15% reduced texture characteristics of meat products.

The aim of the present investigation was to determine how different fats and oils affect instrumentally-measured color and texture of processed chicken sausages.

***Note:** Research Support Provided in Part by State and Federal Funds Appropriated to the Ohio Agricultural Research and Development Center, The OSU Journal Article 05-09AS.

¹S s. Cyril and Methodius University, Faculty of Agricultural Sciences and Food, Aleksandar Makedonski bb, 1000 Skopje, Republic of Macedonia;

²University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Republic of Slovenia;

³Institute of Meat Hygiene and Technology, Kačanskog 13, 11 000 Belgrade, Republic of Serbia;

⁴The Ohio State University, Department of Animal Sciences, 2029 Fyffe Road, Columbus 43210 OHIO, USA.

Corresponding author: Pejkovski Zlatko, zlatko.pejkovski@gmail.com

Material and method

Frankfurter style sausages made from chicken (boneless thigh and breast, 50% each) were used for this study. As an alternative to pork back fat (control; Po) plant oils or fats were used: olive (O), rapeseed (R), sunflower oil (S), palm fat (Pa), or a mixture (Mi) of 60% rapeseed oil (R) and 40% palm fat (Pa). The study was conducted at the Biotechnical faculty in Ljubljana, Republic of Slovenia, Department of Meat Technology. Treatments are shown in Table 1.

Artificial edible collagen casings, 23 mm in diameter, (Naturin GmbH, Weiheim, Germany) were used to contain the batter. Three replications were conducted.

Chromometer MINOLTA CR-200 b with an attached data processor DATA DP 100 was utilized for analyzing sausage color. Color of samples was measured according to the basic X, Y, Z system with a coordinates of Y, x, y (according to the system of L*, a* and b*) which was used in this research. L* value describes the lightness of the sample (greater L*, the lighter and less L*, the darker); value a* describes color hue (greater a*, more red, less green and less a*, more green, less red). The measurement of b* indicates yellow blue ratio (greater b*, more yellow, less blue and lesser b*, more blue, less yellow). Four (average reported) different locations, both at the surface and cross section plane of sausages were used for color measurements.

Table 1. Raw material composition in different groups of processed chicken, frankfurter-style sausages (%)
Tabela 1. Sirovinski sastav različitih grupa pileće kobasice u tipu viršle (%)

Components/Komponente	Groups of sausages/Grupe kobasica					
	Po ¹	O ²	R ³	S ⁴	Pa ⁵	Mi ⁶
Chicken breasts without skin/ Pileće grudi bez kože	23	23	23	23	23	23
Chicken thighs without skin/ Pileći batak bez kože	23	23	23	23	23	23
Pork back fat/ Svinjska leđna mast	20					
Olive oil/ Maslinovo ulje		20				
Rapeseed oil/ Ulje semena uljane repice			20			12
Sunflower oil/ Suncokretovo ulje				20		
Palm fat/ Palmina mast					20	8
Nitrite curing salt (0.6% nitrite)/ Nitritna so (0,6% nitrita)	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
Ice/ Led	32	32	32	32	32	32
Sodium tripolyphosphate(SOFOS 4X)/ Natrijum tripolifosfat (SOFOS 4X)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Mixture of spices/ Mešavina začina	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium isoascorbate/ Natrijum izoaskorbat	0.075	0.075	0.075	0.075	0.075	0.0705
Soy protein isolate (SUPRO EX 32-IP)/ Sojin izolat (SUPRO EX 32-IP)	2	2	2	2	2	2

Po¹ = Pork back fat/Po¹ = svinjska leđna mast;

O² = Olive oil/O² = maslinovo ulje;

R³ = Rapeseed oil/R³ = ulje semena uljane repice;

S⁴ = Sunflower oil/S⁴ = suncokretovo ulje;

Pa⁵ = Palm fat/Pa⁵ = palmina mast;

Mi⁶ = Mixture of 60% rapeseed oil (R) and 40% palm fat (Pa)/Mi⁶ = mešavina od 60 posto ulja semena uljane repice (R) i 40 posto palmine masti (Pa)

For the shear force sausage measurement, the Warner Bratzler shear was utilized. Shear force (Warner Bratzler, WBSF) was measured for rheological (texture) variables. For this purpose, samples of sausages were prepared utilizing a precise cylinder shaped cutter number 8. Utilizing this cutter the sausage sample had a cylinder form, with a diameter of 8 mm and a length of 4 cm. Sample temperature during shear force measurement was maintained at approximately 20°C. The speed of the cutter during measurement was 2 mm/second. Shear force was calculated with the following equation: $A = F \times S$, where F = force measured in Newton (N) and S = distance passed (8 mm).

The program package SAS/STAT (SAS Software, Version 8.01, 1999) was used for statistical processing of data and significant means were separated using the Duncan test.

Results and discussion

The L-values (Lightness) on surface of sausages

Results from instrumental color measurement of processed poultry sausages at the surface (Table 2) indicated numerically the L^* value of 72.4 was the lightest color which was obtained by treatments Mi and O. However, both treatments, Mi and O, did not differ from treatments R and S. The control treatment (Po) with the L^* value of 70.1 is darker ($p \leq 0.05$) than treatments Mi and O, but does not differ from treatments R and S. Palm fat decreased ($p \leq 0.05$) the L^* value (67.9) at the surface, when compared to all the other treatments. It was, therefore, concluded palm fat produced the darkest color ($p \leq 0.05$) on the surface of processed poultry sausages.

The a^* -values (redness) at the surface of sausages

The least ($p \leq 0.05$) a^* value (4.5) at the surface of sausages with the least expressed red color resulted when olive oil (O) was used (Table 2). This indicates olive oil, negatively influenced surface color of sausages. The numerically greatest a^* value (7.8), and the greatest red color resulted from use of Pa, which was not statistically different from treatment Mi (a^* value of 7.3). Treatments with Po resulted in an a^* value of 6.6 and S with an a^* value of 6.7 with these values not differing ($p \leq 0.05$) from the Mi treatment. Based on expressed red color at the surface of poultry sausages, the most desirable fat to use was palm (Pa) fat and a mixture (Mi) of 60% palm fat and 40% rapeseed oil (R). Palm fat (Pa) treatment was superior ($p \leq 0.05$) to the control (Po).

The b^* -values (yellowness) at the surface of sausages

The b^* values in all the treatments when plant oils or fats were utilized are greater ($p \leq 0.05$) than the control treatment (Po) with a b^* value of 33.6 (Table 2). This suggests all plant oils and fats increase ($p \leq 0.05$) surface yellowness of processed poultry frankfurter-style sausages which is negative from a color perspective.

The L^* values (Lightness) at the fresh cross section plane of sausages

All groups of sausages where plant oils or fats were employed were lighter ($p \leq 0.05$) in color at the fresh cross section plane than the control group (Po) with a L^* value of 80.5 (Table 2). Hammer (1992) also found the L^* value to be greater, which means a lighter color hue in processed frankfurter-style sausages, when sausages were made utilizing sunflower oil and compared to sausages made by utilizing pork fat. Numerically the lightest color at the fresh cross section plane was with treatment R (87.6). However, there is no significant difference, in color lightness when evaluated at the fresh cross section plane among treatments O, R, and S. Use of palm fat (Pa) resulted in the darkest color when compared to all other treatments with a L^* value of 81.4 (Table 2). This would suggest palm and pork fats, which are rich in saturated fatty acids, darkened ($p \leq 0.05$) the color of poultry sausages at the fresh cross section plane.

The a^* values (redness) at the fresh cross section plane of sausages

The control treatment (Po) had the greatest ($p \leq 0.05$) expressed red color at the fresh cross section with an a^* value of 4.0 (Table 2). This means pork fat improves ($p \leq 0.05$) red color hue at the fresh cross section plane of sausages. Hammer (1992), also found greater a^* values, and a redder color hue when pork fat was used to make sausages compared to sunflower oil treatments. These differences in color, according to Hammer (1992) are due to more evenly distributed plant oil droplets in the emulsion in comparison to larger animal fat droplets.

Treatment O, when olive oil was utilized, had the least ($p \leq 0.05$) a^* value of 0.6 which indicated the greatest expressed green color. The greatest ($p \leq 0.05$) expressed red color (a^* value of 3.1), when compared to all the other plant oil treatments was when the Pa treatment was used which is similar to the control (Po) treatment (a^* value of 4.0). However,

Table 2. Differences in color and texture – Warner Bratzler shear force (WBSF) between groups of processed chicken, frankfurter-style sausages (Duncan-test, $p \leq 0.05$)**Tabela 2.** Razlike u boji i teksturi – Warner Bratzlerova sila smicanja (WBSF) između grupa pilećih kobasica u tipu viršle (Duncanov test $p \leq 0,05$)

Value/ Vrednost	GROUPS OF SAUSAGES (Color at surface)/ GRUPE KOBASICA (boja na površini)						Significance/ Značajnost
	Po ¹	O ²	R ³	S ⁴	Pa ⁵	Mi ⁶	
L*	70.1 ± 1.8 ^b	72.4 ± 2.4 ^a	71.2 ± 1.9 ^{ab}	70.9 ± 1.9 ^{ab}	67.9 ± 1.5 ^c	72.4 ± 2.4 ^a	***
a*	6.6 ± 0.4 ^{bc}	4.5 ± 1.1 ^d	6.2 ± 0.9 ^c	6.7 ± 1.6 ^{bc}	7.8 ± 1.1 ^a	7.3 ± 1.4 ^{ab}	***
b*	33.6 ± 3.3 ^c	37.7 ± 3.1 ^b	39.0 ± 2.0 ^{ab}	39.9 ± 3.5 ^{ab}	39.9 ± 1.5 ^{ab}	40.8 ± 3.1 ^a	***
Color at fresh cross section plane/Boja na svežem poprečnom preseku							
L*	80.5 ± 1.2 ^d	87.0 ± 0.8 ^a	87.6 ± 0.5 ^a	87.5 ± 0.5 ^a	81.4 ± 1.0 ^c	86.0 ± 1.2 ^b	***
a*	4.0 ± 0.5 ^a	0.6 ± 0.4 ^c	1.7 ± 0.3 ^d	1.6 ± 0.4 ^d	3.1 ± 0.3 ^b	2.1 ± 0.3 ^c	***
b*	14.6 ± 0.4 ^b	14.1 ± 0.8 ^c	12.2 ± 0.6 ^c	12.3 ± 0.7 ^c	16.5 ± 0.5 ^a	13.3 ± 0.6 ^d	***
Texture/Tekstura							
WBSF (N)	4.6 ± 1.1 ^{ab}	4.9 ± 0.6 ^a	4.9 ± 0.4 ^a	5.1 ± 0.2 ^a	4.7 ± 0.4 ^a	4.2 ± 0.3 ^b	**

*** $p \leq 0.001$ – Significant effects/Značajni efekti; Groups with the same letters in a row are not statistically different/ Grupe sa istim slovima u redu se statistički značajno ne razlikuju;

** $p \leq 0.01$ – Effect on WBSF/Efekat na WBSF; Groups with the same letters in a row are not different/ Grupe sa istim slovima u redu se ne razlikuju.

Po¹ = Pork back fat/Po¹ = svinjska leđna mast;

O² = Olive oil/O² = maslinovo ulje;

R³ = Rapeseed oil/R³ = ulje semena uljane repice;

S⁴ = Sunflower oil/S⁴ = suncokretovo ulje;

Pa⁵ = Palm fat/Pa⁵ = palma mast;

Mi⁶ = Mixture of 60% rapeseed oil (R) and 40% palm fat (Pa)/Mi⁶ = mešavina 60 posto ulja semena uljane repice (R) i 40 posto palmine masti (Pa)

L* value describes the lightness of the sample (greater L*, the lighter and lesser L*, the darker)/ L* vrednost opisuje svetlinu uzorka (veća L* vrednost ukazuje na svetliju boju, dok manja L* vrednost ukazuje na tamniju boju);

a* value describes the red hue – redness of the color (greater a*, more red, less green and lesser a*, more green, less red)/ a* vrednost opisuje nijansu crvene boje (veća vrednost a* ukazuje na veći udeo crvene boje i manji udeo zelene, dok manja a* vrednost ukazuje na veći udeo zelene, a manji udeo crvene boje);

b* value describes the yellow color hue – yellowness (greater b*, more yellow, lesser blue and lesser b*, more blue, less yellow)/ b* vrednost opisuje nijansu žute boje (veća b* vrednost ukazuje na veći udeo žute boje, a manji plave, dok manja b* vrednost ukazuje na veći udeo plave boje i manji udeo žute boje)

^aThree replications were conducted/^aAnaliza rađena u tri replikata.

the Pa treated resulted in less red color at the fresh cross section plane than the Potreatment.

The b* values (redness) at the fresh cross section plane of sausages

The greatest b value (16.5), indicative of yellow color hue, occurred with the palm fat (Pa) treatment ($p \leq 0.05$). The b* value is numerically least (12.2) with the rapeseed oil (R) treatment (Table 2). However, the b* value (12.2) with this treatment (R), is not statistically different when compared to the sunflower (S) oil treatment (12.3). This suggests palm fat could replace pork fat from a b* color perspective.

Rheological (texture) measurements

Results from Warner Bratzler Share Force (WBSF) measurements are shown in Table 2. WBSN, expressed in Newton (N), was least (4.2) with the Mi treatment but not different from the control (Po) and was less compared to all the others plant oils and fats treatments ($p \leq 0.05$). Therefore, plant oils, when not used in a mixture with palm fat impacted ($p \leq 0.05$) WBSF with a greater value making the product harder and firmer in texture.

Stevanović (1993) also concluded frankfurter-type sausages in which sunflower oil was incorporated had a firmer texture. Bishop et al. (1993)

reported that pre-emulsifying fat or oil decreased product firmness.

Comparisons with other plant oils and fat treatments (O, Pa, R, and S) with the control (Po) treatment, the most similar WBSF value (4.7) to the control group (Po = 4.6) was the palm (Pa) fat treatment. There is no significant difference between these two groups. However, the other plant oil and fat treatments (O, R, S) were also not different from the control (Po) treatment.

Conclusions

Palm (Pa) fat had the greatest impact and produced the darkest color on the surface of processed poultry sausages ($P \leq 0.05$). With the well expressed

red color at the sausage surface indicating the most desirable fat alternatives were the palm (Pa) fat and a mixture (Mi) of 60% palm fat and 40% rapeseed oil (R). All plant oils and fats increased surface yellowness of processed poultry frankfurter-style sausages. Palm (Pa) and pork fat (Po), which are rich in saturated fatty acids, effected ($p \leq 0.05$) darkening of color of poultry sausages when compared at the fresh cross section plane. Use of pork (Po) fat improved ($p \leq 0.05$) red color hue in fresh cross section planes of sausages. Plant oils, when used not in a mixture with palm fat, had an effect ($p \leq 0.05$) on WBSF with the product being harder and firmer in texture. It is recommended a mixture (Mi) of 60% palm fat and 40% rapeseed (R) oil be used, from the perspective of texture and color.

References

- Bishop D. J., Olson D. G., Knipe C. L., 1993.** Pre-emulsified corn oil, pork fat, or added moisture affect quality of reduced fat Bologna quality. *Journal of Food Science*, 58, 3, 484–487.
- Hammer, G. F., 1992.** Processing vegetable oils into frankfurter-type sausages. *Fleischwirtschaft*, 72, 1258–1265.
- Huffman L. M., 1996.** Processing whey protein for use as a food ingredient. *Food Technology*, 50, 2, 49–52.
- Keeton J. T., 1994.** Low-fat meat products-technological problems with processing. *Meat Science*, 36, 261.
- Radetić P., 2000.** Barene kobasice, Institut za higijenu i tehnologiju mesa. Beograd, 60.
- Reitmaier C. A., Prusa K. J., 1991.** Composition, cooking loss, color and compression of ground pork with dry-and-wet-milled corn germ meals. *Journal of Food Science*, 56, 216.
- SAS/STAT. Software. Version 8.01. 1999.** Cary, SAS Institute. Software.
- Stevanović M., 1993.** Senzorice, kemice in instrumentalne lastnosti dietnih hrenovk. Magistarsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Ljubljana.
- Yilmaz I., 2004.** Quality characteristics and fatty acid composition of Turkish type frankfurter made with sunflower oil addition. *Meat products. Fleischwirtschaft International*, 1, 52–54.
- Žlender B., 2000.** Kakovostni in tehnološki vidiki zmanjšanja mascob in holesterola v predelavi mesa. V: Meso in mesnine za kakovostno prehrano, 2. posvet o vlogi in pomenu mesa v normalni – Zdravi in dietni prehrani. Portoroz, 10. in 11. februar 2000. Žlender B., Gasperlin L., Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 67–77.

Uticaj različitih biljnih masti i ulja na instrumentalno merenu boju i teksturu pilećih kobasica

Pejkovski Zlatko, Silovska-Nikolova Aleksandra, Belichovska Katerina, Gasperlin Lea, Polak Tomaž, Žlender Božidar, Lilić Slobodan, Ockerman Herbert

Rezime: U radu je ispitivan uticaj biljnih masti i ulja na instrumentalno merenu boju i teksturu pilećih kobasica. Korišćeno je šest varijanti kobasica: kontrolna grupa sa svinjskom leđnom slaninom (Po), maslinovo ulje (O), ulje semena uljane repice (R), suncokretovo ulje (S), palmina mast (Pa) i mešavina (Mi) od 60 posto ulje semena uljane repice (R) i 40 posto palmine masti (Pa).

Upotreba palmine masti (Pa) je rezultirala najtamnijom ($p \leq 0,05$) bojom na površini živinskih kobasica. Intenzivna crvena boja se smatra najpoželjnijom i postignuta je upotrebom palmine masti (Pa) i smeše (Mi) od 60 posto i 40 posto ulja semena uljane repice (R). Dodavanjem svih ostalih biljnih ulja i masti povećao se udeo žute boje na površini živinskih kobasica. Palmina (Pa) i svinjska (Po) mast su bogate zasićenim masnim kiselinama ($p \leq 0,05$) i njihovom upotrebom dobijena je tamnija boja na svežem poprečnom preseku kobasica. Svinjska mast (Po) je takođe povećala udeo crvene nijanse na svežem poprečnom preseku. Biljna ulja, ukoliko se ne koriste u smeši sa palminom mašću ($p \leq 0,05$) povećavaju Warner Bratzlerovu silu smicanja (WBSF) što proizvod čini tvrdim i sa čvršćom teksturom.

Ključne reči: pileća kobasica, viršla, biljne masti, biljna ulja, boja, tekstura.

Cholesterol oxides in chicken liver pâté supplemented with coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid*

Polak Tomaž¹, Žlender Božidar¹, Gašperlin Lea¹

Abstract: Oxidation is a major reason for deterioration of fat and fat-containing meat-based foods because of its negative effects on sensory quality, nutritional value and as well may be responsible for the production of toxic compounds. The formation of secondary oxidation products of cholesterol (COPs) in meats is of concern, as they are known to be absorbed from dietary sources and display a wide range of potentially harmful effects, such as cytotoxicity, mutagenicity and cancerogenicity. Meat processing facilities introduced antioxidant additives and technique to prevent oxidative damages.

The main purpose of this study was to determine whether supplemental addition of coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid, used individually or in combination, could prevent oxidative damages in chicken liver pâté, which reflects in reduced formation of cholesterol oxidation products (COPs) and in well-preserved sensorial quality. Three separate groups of chicken liver pâtés were manufactured: control (C) without added antioxidants, group Q₁₀, supplemented with coenzyme Q₁₀ (0.2 g/kg) and group Q₁₀AA, with added Q₁₀ (0.2 g/kg) and ascorbic acid (2 g/kg). All products were pasteurized (82 °C). Four COPs, including 7 α -, 7 β -, 20- and 25-HC, were found. COP radical scavengers' function of coenzyme Q₁₀ alone was not statistically confirmed (C = 3.26 mg/kg vs. Q₁₀ = 2.86 mg/kg). The most efficient was combination Q₁₀AA, where formation of COPs was below the limit of detection. Supplement of coenzyme Q₁₀ affected cholesterol levels in pâté after pasteurization.

Key words: meat product, pâté, coenzyme Q₁₀, ascorbic acid, cholesterol oxides.

Introduction

Oxidation is a major reason for deterioration of fat and fat-containing meat-based foods because of its negative effects on sensory quality, nutritional value and as well may be responsible for the production of toxic compounds (Ghiretti *et al.*, 1997). The formation of secondary oxidation products of cholesterol (COPs) in meats is of concern, as they are known to be absorbed from dietary sources (Linseisen *et al.*, 1998) and display a wide range of potentially harmful effects, such as cytotoxicity, mutagenicity and cancerogenicity. Meat processing facilities introduced antioxidant additives and technique (vacuum processing, vacuum packaging, etc) to prevent oxidative damages.

Possible cholesterol oxidation can be managed by the addition of different antioxidants to meat/pâté-batter. The antioxidants tested in this study were chosen from those already known for their antioxidant properties - ascorbic acid (Grau *et al.*, 2001) and coenzyme Q₁₀ (Lambelet *et al.*, 1992). Especially interesting is coenzyme Q₁₀, known as important lipid soluble antioxidant that protects

cells from damage caused by the action of free radicals (Brea-Calvo *et al.*, 2006). Furthermore, the aim of the present work was to determine the effect of supplemented antioxidants against oxidation of cholesterol constituents in pasteurized meat product – pâté and, from nutritional point of view, to assess this product which may have beneficial effects on health.

Material and methods

Material

Mechanically separated chicken meat and chicken liver were purchased in local company. Chicken liver pâté contained 50% mechanically separated chicken meat, 15% sunflower oil, 15% chicken liver and 20% water. Additives added were as follow: nitrite salt (1.4%), Na-caseinate (1.8%), powdered milk (1.0%), and spices.

Preparation of three groups of pâté regarding to amounts of antioxidants added was as follows: control group (C) was made without antioxidants; to 1 kg of homogeneous mass 35 g of sunflower oil

*This abstract has been published in the Book of Abstracts from the International 55th Meat Industry Conference held on Tara mountain, 15–17th June 2009.

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Republika Slovenija.

was added, mixed for 2 minutes, filled into eight glass jars and sealed with screw caps. Second group (Q₁₀) was made following the procedure described, except coenzyme Q₁₀ (Sigma, C9538), (0.2 g/kg of pâté batter) was previously dissolved into sunflower oil. In the third group (Q₁₀AA), besides coenzyme Q₁₀ dissolved in oil (0.2 g/kg of pâté batter), we also added ascorbic acid (Riedel-de Haën, 33034), (2 g/kg of pâté batter). Thermal treatment was as follows: four glass jars from each group were pasteurized (up to internal temperature of 80 °C). Pasteurized pâtés were cooled slowly and kept for 24 hours in the refrigerator (4 °C), when sensory and chemical analyses were carried out. Chicken liver pâté was made in triplicate.

Methods

pH was determined directly using a spear combined glass-gel electrode (type 03, Testo pH electrode) with a thermometer (type T, Testo penetration temperature probe) connected to a pH meter (Testo 230, Testo). pH was measured in the centre of each pâté, twice.

Minolta CR 200b colorimeter (Illuminant C, 0° viewing angle) was used to determine the CIE L^* (lightness), a^* (\pm , red to green) and b^* (\pm , yellow to blue) values of the pâté samples. A white ceramic tile with a specification of $Y = 93.8$, $x = 0.3134$, $y = 0.3208$ was used to standardise the colorimeter. The CIE L^* , a^* , b^* colour values were measured at four different locations on the surface of each pâté.

For the purpose of evaluating sensory qualities, a panel composed of four qualified and experienced panellists in the field of meat products was appointed, while sensory properties of coded samples were determined in a standard sensory laboratory. The same panel evaluated all samples during one session. The panel assessed the samples (50 g placed in white china plates), separately one by one in groups that consisted of 5 samples.

For the purpose of evaluation, the panel applied the analytical-descriptive test (Golob *et al.*, 2005), on the basis of a preliminary testing. The analysis was performed by scoring sensory properties by assigning a non-structured scale from 1 to 7 points, where higher score means more expressed property. An exception was the texture, which was evaluated by scoring on a scale 1-4-7. The score of 4 points was considered optimal, scores of 4.5 or more indicated firm and those of 3.5 points or less indicated tender texture. Sensory descriptors of pâté are the following: colour hue (from white to pink colour), colour intensity (from pale to dark colour), texture (from firm, hard to tender), odour (odour

characteristic), flavour (flavour characteristic), and acidity (intensity).

The analytical method for the determination of coenzyme Q₁₀ in pâté samples (rich in fat) was developed and validated in our laboratory. The characteristics of this method are innovative sample preparation (using classical extraction and novel solid phase extraction) and LC-MS quantification in ESI+ mode (Lušnic, 2008).

Homogenized samples (3.000 ± 0.001 g) were weighted in centrifuge tubes and dissolved in 15 mL water at a temperature of 40 °C, then well shaken (5 min) and transferred to an ultrasonic bath (Branson 3510E-DTH, Branson, Germany) for 15 min at 40 °C. Extraction was performed twice with 25 mL diethyl ether (Merck, 1.00921), by vortexing for 5 min, ultrasonication for 15 min, and centrifugation for 10 min (Eppendorf, Centrifuge 5810 at $1750 \times g$), each time. The combined extracts were concentrated and dried under a steam of dry nitrogen. Solid-phase extraction followed, using a Supelclean™ ENVI™ Florisil® column (Supelco, 57053).

HPLC analyses were performed on an Agilent 1100 system. The analytical column was a Gemini C18 (150 mm \times 2 mm, particle size 3 μ m) from Phenomenex (Torrance, CA, USA; 00F-4439-B0). Coenzyme Q₁₀ was determined through its retention time and the m/z ($[M+H]^+$ = 864.4) of the coenzyme Q₁₀ standard (Sigma, C9538). The flow rate of the mobile phase of acetonitrile (Merck, 1.00030): 2-propanol (Merck, 1.00998), (60/40, v/v) was 0.25 mL min⁻¹ at 25 °C. Injection volume was 15 μ L.

The mass-selective detector (Micromass Quattro micro® API, Waters, USA) was equipped with electrospray ionisation (ESI) probe, cone voltage of 63 V was used, a source temperature of 120 °C, and a capillary voltage of 4.0 kV for positive ionisation of the analytes (ESI+ mode). The desolvation gas (nitrogen) was heated to 350 °C, flow was set to 400 L h⁻¹. The cone gas flow was 50 L h⁻¹ (nitrogen). The detection ($m/z = 864.4$ $[M+H]^+$) was performed in selected ion recording (SIR) mode. The processing of the data was carried out using the quantify function of the MassLynx™ V4.0 (2004) software.

The cholesterol and cholesterol oxide content in the pâté was determined according to a modified method of Ubhayasekera *et al.*, (2004), followed by gas chromatography (GC) analysis. The data are expressed as mg/kg pâté.

Homogenized samples (2.000 ± 0.001 g) were weighted in a 100 mL screw-capped Erlenmeyer flasks, to which was added 100 μ L (2.30 mg/g hexane) solution of 5 α -cholestan-3 η -ol (Merck, 8.41513) as internal standard. Three mL dichloromethane (Merck, 1.06044) and 7 mL 1.0 mol L⁻¹ KOH

(Merck, 1.05033) in ethanol (96%; Merck, 1.00971) were added. This mixture was vortexed (IKA, RT10 Power) and left overnight (18-20 h) in the dark at room temperature. The saponificated solution was transferred into 50-mL centrifuge tubes, and 10 mL diethyl ether (Merck, 1.00921) and 10 mL water were added. The samples were vortexed for 5 min, ultrasonicated for 15 min, and centrifuged for 10 min (1750×g; Centrifuge 5810, Eppendorf). An aliquot of the diethyl ether extract (5 mL) was dried under vacuum by using a nitrogen flush. The sample was prepared for solid phase extraction.

The solid phase extraction applied a Strata Si-1 column (Phenomenex; 8B-S012-EAK), pre-conditioned with 3 mL hexane (Merck, 1.04371) and equilibrated with a 2 mL mixture of hexane (Merck, 1.04371): diethyl ether (Merck, 1.00921), (3/1, v/v). The loaded sample was dissolved in 2 mL of hexane: diethyl ether mixture. The Strata Si-1 cartridges were washed with hexane (3 mL) and 3 mL hexane: diethyl ether mixture. The analytes were eluted with 2 mL of 2-propanol (Merck, 1.00998): acetonitrile (Merck, 1.00030) (2/3, v/v) mixture.

Prior to GC analysis all samples were derivatised to TMS-ethers. After evaporating the solvent under nitrogen stream, 100 µL of Tri-Sil reagent (Pierce, IL, USA) was added and the tubes were kept at 60 °C for 45 min. The solvent was evaporated under a stream of nitrogen and the TMS-ether derivatives were dissolved in 100 µL of hexane. The samples were sonicated in an ultrasonic bath for 1 min, centrifuged for 3 min and then analysed by GC.

The content of COPs was determined by GC on an Agilent Technologies 6890 gas chromatograph with a flame ionisation detector and a 25 m × 0.2 mm × 0.33 µm DB-5MS capillary column (Agilent Technologies; Cat.No. 128-5522). Separation and detection were performed under the following conditions: initial column temperature 150 °C (hold 4 min), gradient 4 °C/min to 180 °C (hold 5 min), gradient 3 °C/min to 240 °C (2 min hold); injector temperature 250 °C; detector temperature 280 °C; injector: split: splitless, 1:30 split ratio; injection volume 1 µL; carrier gas 2.3 mL/min He; make-up gas (N₂), flow 45 mL/min; detector gases: 40 mL/min H₂ and 450 mL/min synthetic air (21% O₂). The cholesterol and COPs were determined according to their retention times in comparison to standards (cholesterol, Sigma, C-8667; 7α-hydroxycholesterol, Steraloids Inc., C6420-008; 7β-hydroxycholesterol, Sigma, H-6891; 20α-hydroxycholesterol, Sigma, H6378-5MG; 22 (S)-hydroxycholesterol, Sigma, H5884-5MG; and 25-hydroxycholesterol, Sigma, H-1015).

The experimental data were evaluated statistically using the SAS/STAT programme (*SAS Soft-*

ware, 1999). The basic statistical parameters were calculated by the MEANS procedure and the data were tested for normal distribution and analysed according to a GLM (General Linear Model) procedure.

Statistical model 1 was used for analysing the data for pHs and L*a*b* colour, sensory properties, contents of cholesterol, cholesterol oxides and coenzyme Q₁₀. Model 1 is represented as:

$$y_{ijk} = \mu + G_i + R_j + e_{ijk}$$

where y is the observed parameter, μ – the general mean, G_i – the effect of coenzyme Q₁₀ and ascorbic acids (C – control group, Q₁₀ – coenzyme Q₁₀ addition and Q₁₀AA – coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid addition), R_j – the effect of production repetition (1 to 3), and e – a residual random term with variance σ_{2e} . The means for the experimental groups were obtained by using the Duncan procedure, and they were compared at a 5% probability level.

Results and discussion

As the consumption of meat products increases, it has become important to look for the possible formation of potentially harmful substances, such as COPs, during their production, as well as to evaluate the impact of added antioxidants on COPs formation, pH value, colour values and sensory quality of these products.

General pH values in pâté (Tables 1) fall in a normal range for products of such a type. A decrease of approximately 0.2 pH units has been observed in group Q₁₀AA. pH values may vary due to presence or absence of ascorbic acid in pâté as expected.

The instrumental measurement of surface colour (Table 1) has shown a significant difference between the control group and those supplemented with antioxidants, for all three L*a*b* values. The colour of the group with added ascorbic acid was noticeably redder than other ones. It is known that reducing agents, such as ascorbic acid and its salts, are used to accelerate curing, create uniform colour, while the remainder of them acts as antioxidants (Honikel, 2008).

Generally speaking sensory evaluated pâté colour hue has been slightly improved by adding coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid in comparison to control one. No differences in texture were observed, which was generally evaluated by panellists as slightly to tender. Odour of all experimental pâté groups was like in control group. As for flavour, it can be said that Q₁₀AA group was slightly worse than in control and Q₁₀ groups. Except in control group, acidity was observed in experimental pâté groups.

Table 1. Effects of coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid supplement on pH values, colour values (L*, a* and b*), sensory properties, content of cholesterol, cholesterol oxides (COPs) and coenzyme Q₁₀ in chicken liver pâtés thermally treated to internal temperature of 82 °C (Model 1, Duncan test, $\alpha = 0.05$).

Tabela 1. Uticaj dodataka koenzima Q₁₀ i askorbinske kiseline na pH vrednost, vrednosti boje (L*, a* i b*), senzorna svojstva, sadržaj holesterola, oksida holesterola (COP) i koenzima Q₁₀ u pilećoj jetrenoj pašteti termički obrađenoj do unutrašnje temperature 82°C (Model 1, Duncan test, $\alpha = 0,05$).

Parameter /Group	C	Q ₁₀	Q ₁₀ AA
pH value (n = 3)	6.4 ± 0.0 ^a	6.4 ± 0.0 ^a	6.2 ± 0.0 ^b
Colour values (n = 12):			
L*	49.3 ± 1.4 ^a	48.4 ± 1.0 ^b	49.5 ± 0.7 ^a
a*	6.3 ± 0.7 ^b	6.2 ± 0.8 ^b	6.9 ± 0.6 ^a
b*	9.5 ± 0.3 ^c	9.8 ± 0.6 ^b	10.6 ± 0.3 ^a
Sensory properties (score) (n = 12):			
Colour hue (1-7)	5.8 ± 0.2 ^b	5.8 ± 0.3 ^b	6.1 ± 0.2 ^a
Colour intensity (1-7)	6.0 ± 0.3 ^a	6.2 ± 0.3 ^a	6.2 ± 0.3 ^a
Texture (1-4-7)	3.3 ± 0.3 ^a	3.3 ± 0.3 ^a	3.4 ± 0.4 ^a
Smell (1-7)	5.8 ± 0.2 ^a	5.9 ± 0.3 ^a	5.9 ± 0.3 ^a
Flavour (1-7)	5.9 ± 0.3 ^a	5.9 ± 0.3 ^a	5.7 ± 0.2 ^b
Acidity (1-7)	1.0 ± 0.1 ^b	1.3 ± 0.4 ^{ab}	1.5 ± 0.4 ^a
Cholesterol oxides (mg/kg) (n = 6):			
7 α -hydroxycholesterol	0.56 ± 0.5 ^a	0.64 ± 0.6 ^a	< 0.01 ^b
7 β -hydroxycholesterol	1.09 ± 0.3 ^a	1.21 ± 0.6 ^a	< 0.01 ^b
20-hydroxycholesterol	0.79 ± 0.5 ^a	0.63 ± 0.5 ^a	< 0.01 ^b
25-hydroxycholesterol	0.81 ± 0.6 ^a	0.38 ± 0.4 ^b	< 0.01 ^c
Σ COP	3.26 ± 1.2 ^a	2.86 ± 2.0 ^a	< 0.01 ^b
Cholesterol (mg/kg) (n = 6)	612 ± 12 ^a	591 ± 7 ^b	602 ± 3 ^{ab}
Coenzyme Q ₁₀ (mg/kg) (n = 6)	37 ± 2 ^c	117 ± 62 ^b	219 ± 35 ^a

C – Control group. Q₁₀ – Addition of coenzyme Q₁₀. Q₁₀AA – Addition of coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid. n – Number of observations within group. Means with a different superscript within rows (a, b, c) differ significantly ($p \leq 0.05$). < 0.01 below limit of detection./

C – kontrolna grupa. Q₁₀ – Dodatak koenzima Q₁₀. Q₁₀AA – Dodatak koenzima Q₁₀ i askorbinske kiseline. n – Broj ispitivanih uzoraka po grupi. Srednje vrednosti sa različitim oznakama u superskriptu (a, b, c) se značajno razlikuju ($p \leq 0, 05$). < 0,01 ispod limita detekcije.

According to literature data several COPs, such as CT (cholestanetriol), α -CE (cholesterol-5 α ,6 α -epoxide), β -CE (cholesterol-5 β ,6 β -epoxide), 7 α -HC (7 α -hydroxycholesterol), 7 β -HC (7 β -hydroxycholesterol), 7-K (7-ketocholesterol) and 25-HC (25-hydroxycholesterol), among others, have been found in fresh and processed food of animal origin (Paniangvait et al. 1995; Grau et al., 2001; Lee et al., 2001). In addition to the possible formation of those oxidized derivatives, components such as free lipids and cholesterol affect their sensory quality during thermal processing of meat products.

In our experiments several COPs, such as 7 α -HC, 7 β -HC, 20-HC (20-hydroxycholesterol) and

25-HC, have been found in pâtés (Table 1). The cholesterol oxides determined in pasteurized pâté has shown a significant ($p < 0.05$) decrease of all four oxides in Q₁₀AA group in comparison to the control group. Formation of COPs in group with Q₁₀ was observed in the same extent as in control group, with exception of 25-HC (Q₁₀), where lower quantities were determined in comparison to the control group.

The significant effect of antioxidant supplement on COPs formation in chicken liver pâté is based on individual or cooperative function of coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid. Coenzyme Q₁₀, lipoidal substance, has been demonstrated to act as radical

scavenger (Navas *et al.*, 2007). In this study, COP radical scavengers' function of coenzyme Q₁₀ in pasteurized pâté limited formation of COPs with no great significance (C group 3.26 mg/kg vs. Q₁₀ group 2.86 mg/kg).

As it was said, the radical-scavenging antioxidant functions were not only individual, but also cooperative and sometimes synergistic with other antioxidants. In this study the most effective combination in inhibition of COP has been proved to be coenzyme Q₁₀ with ascorbic acid. It was found that combination of coenzyme Q₁₀ with ascorbic acid decreases formation of COPs below limit of detection (C group 3.26 mg/kg vs. Q₁₀AA group < 0.01 mg/kg). It has been reported that ascorbic acid does not spare ubiquinol, suggesting that ascorbic acid does reduce ubiquinol semiquinone efficiently. Niki (1997) observed that ascorbic acid did not spare ubiquinol, nor did ubiquinol spare ascorbic acid, therefore they must function independently.

It should be noted here that coenzyme Q₁₀ in oxidized form (ubiquinon) was added in pâté-batter. Obviously, very efficient reductive mechanism in pâté matrix keeps coenzyme Q₁₀ in active form (ubiquinol).

We were aware that raw meat products may contain some COPs, as demonstrated by Rodriguez-Estrada *et al.*, 1997, but purpose of this study was to evaluate decreasing in COP after supplement of different antioxidants in pâté, after thermal treatment. Vicente *et al.* (2007) assumed that the conversion of cholesterol to COPs is temperature dependent. In fact, up to 120 °C, no, or very little conversion is expected. This ascertainment is in slight disagreement with our findings, where in all control samples (without added antioxidants) thermally treated to internal temperature 82 °C (pasteurized) a noticeable amount of COPs was found (3.26 mg/kg).

Supplement of coenzyme Q₁₀ and ascorbic acid in pâté-batter affected cholesterol level in pâté after pasteurization. Of all analyzed groups, the highest cholesterol levels were found in the control and Q₁₀AA groups (612 mg/kg and 602 mg/kg,

respectively) and the lowest in the Q₁₀ group (591 mg/kg). Aberrations in cholesterol content in groups supplemented with antioxidants compared to control group are difficult to explain, presumably coenzyme Q₁₀ alone more successfully lowered cholesterol level in samples.

In this study control groups of pasteurized pâtés contained 37 mg/kg coenzyme Q₁₀ (Table 1). After supplement of coenzyme Q₁₀ in pâté-batter (0.2 g/kg) about 50% of it broke during thermal treatment. The highest content of coenzyme Q₁₀ remained in groups supplemented with ascorbic acid (219 mg/kg). The acceptable daily intake (ADI) of coenzyme Q₁₀ is 12 mg/kg/day; calculated from the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) is 720 mg/day for a person weighing 60 kg (Hidaka *et al.*, 2008). Risk assessment for coenzyme Q₁₀, based on various clinical trial data, indicates that the observed safety level (OSL) for coenzyme Q₁₀ is 1200 mg/day/person (Hathcock *et al.*, 2006; Hidaka *et al.*, 2008). Therefore the addition of coenzyme Q₁₀ in pâté was below acceptable daily intake and was in accordance with the recommendations.

Conclusion

Modern consumers require natural, fresh and nutritional food which may have beneficial effects on health. This is a reason why the oxidation of cholesterol in meat and meat products has received considerable attention. One of the possible ways to prevent occurrence of COPs in meat products is simultaneous use of antioxidants. From this study it can be concluded that the most effective in inhibition of COPs has been proved to be the combination of coenzyme Q₁₀ with ascorbic acid. This combination decreases formation of COPs below the limit of detection. It should be noted that the supplement of coenzyme Q₁₀ in pâté-batter also lowered cholesterol level in pâté after pasteurization. Furthermore, meat products supplemented with coenzyme Q₁₀ can be the source of coenzyme Q₁₀ in daily diet.

References

- Brea-Calvo G., Rodriguez-Hernandez A., Fernandez-Ayala D. J., Navas P., Sanchez-Alcazar J. A., 2006. Chemotherapy induces an increase in coenzyme Q₁₀ levels in cancer cell lines. *Free Radical Biology and Medicine*, 40, 1293–1302.
- Ghiretti G. P., Zanardi E., Novelli E., Campanini G., Dazzi G., Madarena G., Chizzolini R., 1997. Comparative evaluation of some antioxidants in salame Milano and mortadella production. *Meat Science*, 47, 1–2, 167–176.
- Golob T., Jamnik M., Bertonec J., Kropf U., 2005. Sensory analysis: methods and assessors. *Acta Agriculturae Slovenica*, 85, 1, 55–66.
- Grau A., Codony R., Grimpa S., Baucells M. D., Guardiola F., 2001. Cholesterol oxidation in frozen dark chicken meat: influence of dietary fat source, and α -tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Meat Science*, 57, 2, 197–208.
- Hathcock J. N., Shao A., 2006. Risk assessment for coenzyme Q₁₀ (Ubiquinone). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45, 3, 282–288.
- Hidaka T., Fuji K., Funahashi I., Fukutomi M., Hosoe K., 2008. Safety assessment of coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀). *BioFactors*, 32, 1–4, 199–208.

- Honikel K. O., 2008.** The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78, 1–2, 68–76.
- Lambelet P., Löliger J., Saucy F., Bracco U., 1992.** Antioxidants properties of coenzyme Q_{10} in food systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 581–584;
- Lee J. I., Kang S., Ahn D. U., Lee M., 2001.** Formation of cholesterol oxides in irradiated raw and cooked chicken meat during storage. *Poultry Science*, 80, 105–108.
- Linseisen J., Wolfram G., 1998.** Absorption of cholesterol oxidation products from ordinary foodstuff in humans. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 42, 221–23.
- Lušnic M., 2008.** Development of an analytical method for determination of coenzyme Q_{10} in fat rich chicken tissues. Graduation thesis, university studies. University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Slovenia, 76.
- Navas P., Villalba J. M., de Cabo R., 2007.** The importance of plasma membrane coenzyme Q in aging and stress responses. *Mitochondrion*, 7S, S34–S40.
- Niki N., 1997.** Mechanisms and dynamics of antioxidant action of ubiquinol. *Molecular Aspects of Medicine*, 18, 1, 63–70;
- Paniangvait P., King A. J., Jones A. D., German B. G., 1995.** Cholesterol oxides in foods of animal origin. *Journal of Food Science*, 60, 6, 1159–1174.
- Rodriguez-Estrada M. T., Penazzi G., Caboni M. F., Bertacco G., Lercker G., 1997.** Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburgers. *Meat Science*, 45, 3, 365–375.
- SAS Software, Version 8.01. 1999.** Cary: SAS Institute Inc.
- Ubhayasekera S. J. K. A., Verleyenb T., Duttaa P. C., 2004.** Evaluation of GC and GC–MS methods for the analysis of cholesterol oxidation products. *Food Chemistry*, 84, 149–157.
- Vicente S. J. V., Torres, E. A. F. S., 2007.** Formation of four cholesterol oxidation products and loss of free lipids, cholesterol and water in beef hamburgers as a function of thermal processing. *Food Control*, 18, 1, 63–68.

Oksidi holesterola u pilećoj jetrenoj pašteti sa dodatkom koenzima Q_{10} i askorbinske kiseline

Polak Tomaž, Žlender Božidar, Gašperlin Lea

Rezime: Cilj naših istraživanja bio je da se utvrdi uticaj dodatka koenzima Q_{10} i askorbinske kiseline, pojedinačno ili zajedno, na sprečavanje oksidativnog kvara u pilećoj jetrenoj pašteti, koji može da se odrazi u smanjenom formiranju produkata oksidacije holesterola i očuvanju senzorskog kvaliteta paštete. Formirane su tri grupe pilećih jetrenih pašteta: kontrolna grupa (C), bez dodatka antioksidanata; grupa (Q_{10}), sa dodatkom koenzima Q_{10} (0,2 g/kg) i grupa ($Q_{10}AA$) sa dodatkom iste količine Q_{10} (0,2 g/kg) i askorbinske kiseline (2 g/kg). Svi proizvodi bili su pasterizovani (82 °C). Dokazano je prisustvo četiri proizvoda oksidacije holesterola, 7α -, 7β -, 20- i 25-HC. Funkcija koenzima Q_{10} kao odstranjivača radikala oksida holesterola u ovoj studiji nije bila statistički potvrđena (C = 3,26 mg/kg vs. Q_{10} = 2,86 mg/kg). Najefikasnija je bila kombinacija $Q_{10}AA$, gde je formiranje proizvoda oksidacije holesterola ispod granice detekcije. Dodatak koenzima Q_{10} je uticao na sniženje sadržaja holesterola u pašteti nakon pasterizacije.

Ključne reči: pileća jetrena pašteta, koenzim Q_{10} , askorbinska kiselina, oksidi holesterola.

Paper received: 8.05.2009.

Paper correction: 8.09.2009.

Paper accepted: 10.09.2009.

Studija o sadržaju natrijum-hlorida i natrijuma u nekim proizvodima od mesa sa tržišta Srbije*

Vranić Danijela¹, Saičić Snežana¹, Lilić Slobodan¹, Trbović Dejana¹, Janković Saša¹

Sadržaj: Natrijum-hlorid se tradicionalno koristi za konzerviranje mesa i osnovni je ingredijent u industrijskoj izradi proizvoda od mesa. Prekomerno unošenje soli, odnosno natrijuma, jedan je od čestih uzroka hipertenzije, naročito kod natrijum-senzitivnih osoba i povezan je sa mortalitetom i rizikom od kardiovaskularnih oboljenja. S obzirom na uticaj natrijum-hlorida u senzorskom, tehnološkom i mikrobiološkom pogledu u izradi proizvoda od mesa, ali i na zdravlje ljudi, cilj ovog rada bio je da se ispita sadržaj natrijum-hlorida u pojedinim proizvodima od mesa, različitih proizvođača sa našeg tržišta. Ispitane su: barene kobasice, suve fermentisane kobasice, konzerve sa mesom, dimljeni i suvomesnati proizvodi. Sadržaj natrijum-hlorida određen je volumetrijski, a sadržaj natrijuma preračunavanjem iz odnosa natrijuma i hlora iz utvrđenog sadržaja natrijum-hlorida. Najmanji prosečan sadržaj natrijum-hlorida, 0,94 posto, utvrđen je u uzorcima jela u konzervi, nešto veći, 1,15 posto u kuvanim kobasicama i 1,55 posto u barenim kobasicama sa komadima mesa. U fino i grubo usitnjenim barenim kobasicama, konzervama sa mesom u komadima i konzervama sa mesom u sopstvenom soku, utvrđen je sličan sadržaj natrijum-hlorida, koji je bio od 1,61–1,67 posto. Dimljeni proizvodi i suve fermentisane kobasice sadržale su nešto veće količine natrijum-hlorida, koje su bile 2,19 posto, odnosno 2,61 posto. Najveći prosečan sadržaj natrijum-hlorida od 5,09 posto imali su suvomesnati proizvodi. Posebna pažnja posvećena je preporučenom dnevnom unosu i uticaju prekomernog unošenja natrijuma na zdravlje ljudi.

Cljučne reči: natrijum-hlorid, proizvodi od mesa, natrijum.

Uvod

Natrijum-hlorid, odnosno kuhinjska so, tradicionalno se koristi za konzerviranje mesa, a osnovni je ingredijent u industrijskoj izradi proizvoda od mesa. So, u proizvodima od mesa, poželjno utiče na senzorne i teksturalne karakteristike, povećanje sposobnosti vezivanja vode, odnosno hidraciju mesa, a smanjivanje aktivnosti vode u proizvodu ima i bakteriostatski efekat. Međutim, kuhinjska so može negativno da utiče na pigmente mesa, jer ubrzava njihovu oksidaciju u metpigmente, pa meso dobija smeđu do tamnosmeđu boju. U većim količinama, pri nižim pH vrednostima, deluje prooksidativno (Čavoški i dr., 1990).

Iako se smatra GRAS supstancijom (Opšte prihvaćeno kao bezbedno – Generally recognized as safe) (Berdanier i dr., 2008), svakodnevno se, proizvodima od mesa i drugom prerađenom hranom, u organizam unose velike količine natrijuma (Wirth, 1991).

Natrijum se u organizmu nalazi, uglavnom, u ekstracelularnoj tečnosti i utiče na održavanje balan-

sa vode, funkciju nerava, kiselo-baznu ravnotežu i kontrakcije mišića. Iako je neočekivano, smanjeno unošenje natrijuma može da uzrokuje grčenje mišića, mučninu, povraćanje, anoreksiju i komu.

Prekomerno unošenje soli, odnosno natrijuma, jedan je od čestih uzroka hipertenzije, naročito kod natrijum-senzitivnih osoba i povezan je sa mortalitetom i rizikom od kardiovaskularnih oboljenja, nezavisno od ostalih faktora rizika, uključujući i hipertenziju (Tuomilehto i dr., 2001).

Prekomerno unošenje natrijum-hlorida dovodi do:

- direktnog rizika od srčanog udara (Perry i Beever, 1992);
- hipertrofije leve komore (Schmieder i Meserli, 2000);
- retencije natrijuma u ekstracelularnoj tečnosti, odnosno do retencije vode i kliničkih i idiospatičkih edema, naročito kod žena (MacGregor i de Wardener, 1997);
- povećanja tvrdoće, odnosno smanjenja elastičnosti zida krvnih sudova, naročito arterija, nezavisno od krvnog pritiska (Avolio i dr., 1986);

***Napomena:** Rad je deo istraživanja iz projekta „Unapređenje sistema upravljanja bezbednošću i kvalitetom u procesima proizvodnje tradicionalnih proizvoda od mesa sa ostvarenom zaštitom geografskog porekla“ TR 20121, koji je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

– proteinurije, u prvom redu do urinarne ekskrecije albumina, a time i do povećanog rizika za oboljenja srca i bubrega (*Du Cailar i dr.*, 2002);

– veće mogućnosti infekcije izazvane *Helicobacter pylori* i rizika od nastanka raka želuca (*Tsugane i dr.*, 2004);

– povećanja urinarne ekskrecije kalcijuma i rizika od stvaranja kamena u bubregu (*Capuccio i dr.*, 2000), zatim rizika od smanjenja gustine kostiju, a shodno tome i do osteoporoze i kompresivnih fraktura kostiju, naročito kod žena u menopauzi (*Devine i dr.*, 1995);

– eksacerbacije (pojačanje, produženje) astmatičnih napada (*Mickleborough i dr.*, 2005) i

– povećanja HOMA (procena modela homeostaze, homeostasis model assessment) insulinske

rezistencije kod pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom, od kojih je većina sa umanjenom tolerancijom na glukozu (*Kuroda i dr.*, 1999).

Unošenje kuhinjske soli uslovljeno je, ne samo fiziološkim potrebama (sportisti), nego i navikama, koje se stiču još u ranom detinjstvu, kao i tradicijom u ishrani (podneblje, odnosno klimatski uslovi, priprema hrane, resursi stoke i slično). Od ukupne dnevne količine kuhinjske soli, koja se u organizam unese putem uobičajenih količina hrane (jela pripremljena u domaćinstvu, hleb, pekarski proizvodi, sir), oko 20 posto potiče iz proizvoda od mesa (*Wirth*, 1991).

U tabeli 1 prikazani su preporučeni i tolerantni dnevni unos natrijuma i hlorida, u zavisnosti od starosti i fizioloških potreba ljudi.

Tabela 1. Preporučeni i tolerišući dnevni unos natrijuma i hlorida (Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride and Sulfate, 2004)

Table 1. Recommended and tolerable daily intake for Sodium and Chloride (Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride and Sulfate, 2004)

	Preporučeni dnevni unos (g)/ Recommended daily intake (g)		Tolerišući dnevni unos (g)/ Tolerable daily intake (g)	
	Natrijum/Sodim	Hloridi/Chloride	Natrijum/Sodium	Hloridi/Chloride
Odojčad/Infants				
0–6 meseci/monhts	0,12	0,18	/	/
7–12 meseci/monhts	0,37	0,57	/	/
Deca/Children				
1–3 godine/years	1,0	1,5	1,5	2,3
4–8 godina/years	1,2	1,9	1,9	2,9
Muškarci/Males				
8–13 godina/ years	1,5	2,3	2,2	3,4
14–18 godina/years	1,5	2,3	2,3	3,6
19–30 godina/years	1,5	2,3	2,4	3,6
31–50 godina/years	1,5	2,3	2,4	3,6
51–70 godina/years	1,3	2,0	2,4	3,6
> 70 godina/year	1,2	1,8	2,3	3,6
Žene/Females				
8–13 godina/years	1,5	2,3	2,2	3,4
14–18 godina/years	1,5	2,3	2,3	3,6
19–30 godina/years	1,5	2,3	2,4	3,6
31–50 godina/years	1,5	2,3	2,4	3,6
51–70 godina/years	1,3	2,0	2,4	3,6
> 70 godina/year	1,2	1,8	2,3	3,6
Trudnice/Pregnancy				
14–18 godina/years	1,5	2,3	2,3	3,6
19–30 godina/years	1,5	2,3	2,3	3,6
31–50 godina/years	1,5	2,3	2,3	3,6
Žene u laktaciji/Lactation				
14–18 godina/years	1,5	2,3	2,3	3,6
19–30 godina/years	1,5	2,3	2,3	3,6
31–50 godina/years	1,5	2,3	2,3	3,6

Prema nekim podacima, dnevna potreba u natrijumu odraslih osoba, za održavanje metaboličkih potreba, manja je od 1.500 miligrama. Kod sportista su potrebe veće, pa čak prevazilaze 10.000 mg dnevno, ukoliko se znojem gube velike količine natrijuma. Međutim, dnevno unošenje natrijuma često je veće od 5.000 mg (Benardot, 2006), odnosno natrijum-hlorida 8 – 15 g (Žarinov i Veselova, 2003). Američko udruženje kardiologa (American Heart Association) predlaže da hipertenzivne osobe ne bi trebalo da unose više od 1.500 miligrama dnevno (American Heart Association. 2010 Dietary Guidelines, 2009).

Trendovi u ishrani su da se količina natrijuma u proizvodima od mesa smanji, o čemu izveštavaju i Ruusunen i Puolanne (2005) i Desmond (2006), što može da se postigne: smanjivanjem dodatog natrijum-hlorida (Lilić, 2000); zamenom dela NaCl drugim hloridima – KCl, CaCl₂ i MgCl₂ (Guàrdia i dr., 2006; Lilić i dr., 2008); zamenom dela NaCl drugim solima, kao što su fosfati ili novim procesnim tehnikama ili modifikacijama tehnološkog procesa; kombinacijom navedenih postupaka (Terrell, 1983); i dodavanjem začinskog bilja i ekstrakata začina u proizvode od mesa (Lilić i Matekalo-Sverak, 2007).

S obzirom na uticaj natrijum-hlorida u senzorskom, tehnološkom i mikrobiološkom pogledu u izradi proizvoda od mesa, ali i na zdravlje ljudi, cilj ovog rada bio je da se ispita sadržaj natrijum-hlorida u pojedinim proizvodima od mesa, različitih proizvođača sa našeg tržišta.

Materijal i metode

U okviru ove studije, ukupno je ispitano 192 uzorka proizvoda od mesa, od čega 33 suvo fermentisanih kobasica, 41 fino usitnjenih barenih kobasica, 28 grubo usitnjenih barenih kobasica, 30 barenih kobasica sa komadima mesa, 8 kuvanih kobasica, 15 dimljenih proizvoda, 7 suvomesnatih proizvoda, 15 konzervi sa mesom u komadima, 9 konzervi sa mesom u sopstvenom soku i 6 jela u konzervi.

Sadržaj natrijum-hlorida određen je volumetrijski (AOAC, 1984). Sadržaj natrijuma izračunat je iz odnosa natrijuma i hlora u natrijum-hloridu utvrđenom u proizvodu.

Rezultati ispitivanja su obrađeni statistički i prikazani tabelarno, kao srednje vrednosti (M) sa standardnom devijacijom (s_d), opsegom i koeficijentom varijacije (Cv).

Rezultati i diskusija

U tabeli 2, prikazan je sadržaj natrijum-hlorida u proizvodima sa mesom, izražen u procentima.

Najmanji prosečan sadržaj natrijum-hlorida, 0,94 posto, utvrđen je u uzorcima jela u konzervi, nešto veći, 1,15 posto u kuvanim kobasicama i 1,55 posto u barenim kobasicama sa komadima mesa. U fino i grubo usitnjenim barenim kobasicama, konzervama sa mesom u komadima i konzervama sa mesom u sopstvenom soku, utvrđen je sličan sadržaj natrijum-hlorida, koji je bio od 1,61 do 1,67 posto. Dimljeni proizvodi i suve fermentisane kobasice sadržale su nešto veće količine natrijum-hlorida, koje su bile 2,19 posto, odnosno 2,61 posto.

Najveći prosečan sadržaj natrijum-hlorida sadrže suvomesnati proizvodi, 5,09 posto. Znatan sadržaj natrijum-hlorida u ovim proizvodima očekivan je s obzirom da se oni ne obrađuju toplotom, pa je ova količina soli potrebna da bi se, uz ostale činioce, kao što su niska temperatura, pH vrednost, dimljenje i snižavanje aktivnosti vode, ovakav proizvod učinio mikrobiološki stabilnim – odnosno „shelf stable” proizvodom.

Uobičajeni sadržaj kuhinjske soli u barenim kobasicama je od 1,6 do 2,4 posto, u suvim kobasicama 3,5–5,0 posto, u dimljenim proizvodima 3–4 posto, dok je u suvomesnatim proizvodima nešto veći i iznosi 4–7 posto, nekada i više (Čavoški, 1990), što je u saglasnosti sa dobijenim rezultatima (tabela 2).

Zlender i Gašperlin (2005), na osnovu ispitivanja proizvoda sa mesom sa slovenačkog tržišta, utvrdili su da fino usitnjene barene kobasice sadrže 1,5 posto natrijum-hlorida, što je nešto manje u odnosu na vrednosti utvrđene u ovim ispitivanjima (1,66 posto), grubo usitnjene kobasice 1,5–2,0 posto, što je u saglasnosti sa našim rezultatima (1,64 posto), dimljeni proizvodi jedan posto, što je značajno manje u odnosu na sadržaj natrijum-hlorida utvrđen u okviru ovih ispitivanja (2,19 posto). Sadržaj natrijum-hlorida u kuvanim kobasicama sa domaćeg tržišta prosečno je 1,15 posto, što je znatno manje u odnosu na 1,5 posto utvrđenih u kuvanim kobasicama sa slovenačkog tržišta. Bliske vrednosti za sadržaj natrijum-hlorida u konzervama sa mesom u komadima, utvrđene su u proizvodima sa oba tržišta (1,5 posto u Sloveniji, 1,67 posto u Srbiji). Sadržaj natrijum-hlorida od 2,61 posto, utvrđen u suvim fermentisanim kobasicama sa domaćeg tržišta, bio je upola manji u odnosu na proizvode sa slovenačkog tržišta (5 posto), a za skoro jedan posto manji kod suvomesnatih proizvoda (5,09 posto u Srbiji, 6 posto u Sloveniji).

Utvrđeni prosečan sadržaj natrijum-hlorida od 2,61 posto u suvim fermentisanim kobasicama, bio je sličan rezultatima ispitivanja Szymanskog i dr. (2008), koji su utvrdili 2,70 posto u suvim kobasicama sa poljskog tržišta. Takođe, veoma bliske vrednosti utvrđene su i u dimljenim proizvodima, (2,20 posto), u poređenju sa našim rezultatima (2,19 posto).

Tabela 2. Sadržaj natrijum-hlorida (g/100 g) u različitim grupama proizvoda od mesa
Table 2. Sodium chloride content (g/100 g) in various types of meat products

Proizvod/Product	Broj uзорaka/ Number of samples	Sadržaj natrijum-hlorida/ Sodium chloride content		
	n	M ± s _d (g/100 g)	Opseg/ Range (g/100 g)	Cv (posto) %
Fermentisane kobasice/Fermented sausages				
<i>Fermentisane suve kobasice/Dry fermented sausages</i>	33	2,61 ± 0,38	2,08–3,98	14,75
Barene kobasice/Boiled sausages				
<i>Fino usitnjene barene kobasice/Fine grounded boiled sausages</i>	41	1,66 ± 0,21	1,28–2,03	12,55
<i>Grubo usitnjene barene kobasice/Coarsely grounded boiled sausages</i>	28	1,64 ± 0,25	1,27–2,09	15,37
<i>Barene kobasice sa komadima mesa/Boiled sausages with meat peaces</i>	30	1,55 ± 0,24	1,22–2,34	15,67
Kuvane kobasice/Cooked sausages				
	8	1,15 ± 0,05	1,09–1,20	4,03
Dimljeni proizvodi/Smoked meat products				
	15	2,19 ± 0,65	1,66–3,11	29,82
Suvomesnati proizvodi/Dry meat products				
	7	5,09 ± 1,10	3,78–7,35	21,62
Konzerve/Meat cans				
<i>Konzerve od mesa u komadima/Canned meat pieces</i>	15	1,67 ± 0,12	1,35–1,84	7,04
<i>Konzerve od mesa u sopstvenom soku/Canned meat in own juice</i>	9	1,61 ± 0,31	1,27–2,10	15,37
<i>Jela u konzervi/Canned ready meals</i>	6	0,94 ± 0,18	0,84–1,22	18,77

Sadržaj kuhinjske soli u proizvodima zavisi i od načina proizvodnje, odnosno da li se proizvod izrađuje u domaćinstvu ili u industrijskim uslovima. Tako su *Operta i Smajić* (2006), ispitujući sudžuk proizveden u Bosni, utvrdili znatno veći sadržaj natrijum-hlorida u sudžuku proizvedenom u domaćinstvu (8,33 posto) u odnosu na sudžuk proizveden u komunalnoj klanici (4,12 posto), odnosno u industrijskim uslovima (3,31 posto). U ovoj studiji, utvrđene velike razlike u sadržaju natrijum-hlorida, odnosno natrijuma, rezultat su, kako navike ljudi koji u svom domaćinstvu proizvode kobasicu prema vlastitom ukusu, tako i činjenice da se proizvodi u industrijskim uslovima izrađuju pod kontrolisanim uslovima relativne vlažnosti i temperature u komorama za dimljenje, sušenje i zrenje fermentisanih kobasica i da količina dodate soli može da bude manja, a da se pritom obezbedi kvalitet i mikrobiološka stabilnost proizvoda.

Takođe, prosečan sadržaj soli u proizvodima zavisi i od tradicije, odnosno navika u različitim delovima sveta. Tradicionalna suva fermentisana kobasica proizvedena u Grčkoj sadrži 4,05 posto natrijum-hlorida, u Bosni i Hercegovini 4,32 posto, Hrvatskoj 2,29 posto, Mađarskoj 4,71 posto, Italiji 3,34 posto i u Srbiji 3,73 posto natrijum-hlorida (*Gasparik-Reichardt i dr.*, 2005).

Natrijum-hlorid se u izradi proizvoda od mesa dodaje, najčešće, u vidu nitritne soli za salamu-

renje, eventualno u vidu soli za salamurenje kod procesa koji duže traju. Količina dodate soli različita je za svaku grupu proizvoda, a uslovljena je postizanjem poželjnog ukusa, teksturalnih karakteristika i potrebnim tehnološkim svojstvima (povećanje sposobnosti vezivanja vode, smanjenje aktivnosti vode). Količinu natrijum-hlorida najteže je smanjiti upravo kod proizvoda koji je imaju najviše (suvomesnati proizvodi), naročito kod suvih šunki, kod kojih količina dodate soli ne bi smela da bude manja od 4,5 posto (*Wirth*, 1991), jer je rizik od kvara i intoksikacije u tom slučaju mnogo veći. Rizici potiču od specifičnosti ovog proizvoda, kao što su debljina komada mesa (svinjski but sa kostima), dug proces proizvodnje (od nekoliko do 18 meseci), relativno visoka temperatura dimljenja (oko 18°C) i visoka aktivnost vode, naročito u prvim fazama proizvodnje.

Međutim, utvrđeno je da se količina dodate nitritne soli za salamurenje može da smanji (*Lilić*, 2000) u proizvodnji suvog mesa, i to sa 6 kg/100 kg mesa, koliko se uobičajeno koristi u domaćinstvima i industrijskim uslovima, na 3 kg/100 kg mesa, bez uticaja na promene senzorskih karakteristika i mikrobiološke stabilnosti suvog svinjskog mesa. Ovakvi proizvodi bili su održivi 130 dana, upakovani pod vakuumom u PA/PE folije.

U studiji *Szymanskog i dr.* (2008), za period od 2000. do 2007. godine, utvrđeno je smanjenje sadr-

žaja natrijum-hlorida u suvim kobasicama i dimljenim proizvodima od 0,4 posto, kao rezultat nastojanja proizvođača iz Poljske da redukuju sadržaj soli, masti i fosfata s obzirom na uticaj ovih sastojaka na zdravlje ljudi i sve veću zainteresovanost potrošača za kvalitet namirnica koje upotrebljavaju.

Sadržaj natrijuma, izračunat iz odnosa natrijuma i hlora u natrijum-hloridu (tabela 3), pokazuje da su proizvodi od mesa značajan izvor natrijuma. Prema dobijenim rezultatima, jasno je da upotrebljavanje 100 grama fino ili grubo usitjenih barenih kobasica ili konzervi sa mesom u komadima, zadovoljava više od 40 posto, a ista količina suvih fermentisanih kobasica oko 70 posto preporučenog dnevnog unošenja natrijuma. Sa svega 75 g nekog suvomesnatnog proizvoda, organizam dobija dnevnu dozu natrijuma koja zadovoljava sve potrebe bazalnog metabolizma. S obzirom da čovek u toku dana ne jede samo ove namirnice, nego i ostale koje takođe sadrže natrijum, jasno je da postoji veliki rizik prekoračenja dnevnog unošenja.

količina soli u proizvodima od mesa smanji, što može da se postigne na više načina, smanjivanjem količine dodate soli ili supstitucijom natrijumovih soli, najčešće kalijumovim solima, pod uslovom da se na taj način ne naruše kvalitet i mikrobiološka stabilnost proizvoda, odnosno aditivima koji ne sadrže natrijum ili umesto natrijuma sadrže kalijum.

Zaključak

1. Prosečan sadržaj natrijum-hlorida u proizvodima od mesa sa domaćeg tržišta, bio je najmanji u jelima u konzervama i kuvanim kobasicama (oko 1 posto), dok je nešto veći sadržaj utvrđen u barenim kobasicama, konzervama sa mesom u komadima i u konzervama sa mesom u sopstvenom soku (oko 1,7 posto). Dimljeni proizvodi i suve fermentisane kobasice sadržale su više od 2 posto natrijum-hlorida. Najveći sadržaj ustanovljen je u suvomesnatim proizvodima (više od 5 posto).

Tabela 3. Sadržaj natrijuma (mg/100 g) u različitim grupama proizvoda od mesa
Table 3. Sodium content (mg/100 g) in various types of meat products

Proizvod/Product	Broj uzoraka/ Number of samples	Sadržaj natrijuma/ Sodium content		
		n	M ± s _d (mg/100 g)	Opseg/ Range (mg/100 g)
Fermentisane kobasice/Fermented sausages				
<i>Fermentisane suve kobasice/Dry fermented sausages</i>	33	1027,03 ± 149,52	818,48–1566,13	14,75
Barene kobasice/Boiled sausages				
<i>Fino usitnjene barene kobasice/Fine grounded boiled sausages</i>	41	653,20 ± 82,63	503,68–798,80	12,55
<i>Grubo usitnjene barene kobasice/Coarsely grounded boiled sausages</i>	28	645,33 ± 98,38	499,74–822,41	15,37
<i>Barene kobasice sa komadima mesa/Boiled sausages with meat peaces</i>	30	609,92 ± 94,43	480,07–920,79	15,67
<i>Kuvane kobasice/Cooked sausages</i>	8	452,52 ± 19,67	428,91–472,19	4,03
<i>Dimljeni proizvodi/Smoked meat product</i>	15	861,76 ± 255,77	653,21–1223,78	29,82
<i>Suvomesnati proizvodi/Dry meat products</i>	7	2002,90 ± 432,84	1487,43–2892,22	21,62
Konzerve/Meat cans				
<i>Konzerve od mesa u komadima/Canned meat pieces</i>	15	657,14 ± 47,22	531,23–724,04	7,04
<i>Konzerve od mesa u sopstvenom soku/Canned meat in own juice</i>	9	633,53 ± 121,98	499,74–826,35	15,37
<i>Jela u konzervi/Canned ready meals</i>	6	369,88 ± 70,82	330,54–480,07	18,77

Izračunat sadržaj natrijuma u proizvodu, iz odnosa natrijuma i hlora u kuhinjskoj soli, svakako je samo orijentacioni, jer natrijum potiče ne samo iz mesa, nego i iz soli za salamurenje (so za salamurenje, nitrinna so za salamurenje), odnosno aditiva (fosfati i laktati). Zbog potencijalno velikog rizika od povećanog unosa, postoji potreba da se

2. S obzirom da su proizvodi od mesa značajan izvor natrijuma, svakodnevna ishrana, koja pored proizvoda od mesa uključuje i druge namirnice bogate natrijumom, može da se poveća rizik po zdravlje ljudi, posebno kod hipertenzivnih osoba, kod osoba sa kardiovaskularnim oboljenjima, a naročito kod „natrijum senzitivnih” osoba.

3. Da bi se smanjilo prekomerno unošenje natrijuma koji potiče iz proizvoda od mesa, potrebno je da se poveća ponuda proizvoda sa smanjenim sadržajem natrijum-hlorida. Takođe, na deklaraciji

ovih proizvoda bilo bi poželjno da postoji i podatak o sadržaju soli i natrijuma, što bi doprinelo boljoj obaveštenosti potrošača i njegovoj odluci pri kupovini proizvoda.

Literatura

- American Hearth Association, 2009.** 2010 Dietary Guidelines. www.cnpp.usda.gov/publications, 4.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemists, 1984.** 14th Edition, USA, 24.010.
- Avolio A. P., Clyde K. M., Beard T. C., Cooke H. M., Ho K. K., O'Rourke M. F., 1986.** Improved arterial distensibility in normotensive subjects on a low salt diet. *Arteriosclerosis*, 6, 166–169.
- Benardot D., 2006.** *Advanced Sports Nutrition. Human Kinetics*, 50.
- Berdanier D. C., Dwyer J., Feldman B. E., 2008.** *Handbook of Nutrition and Food. Second Edition. CRC Press, Taylor&Francis LLC Group, New York*, 14.
- Cappuccio F. P., Kalaitzidis R., Duneclift S., Eastwood J. B., 2000.** Unravelling the links between calcium excretion, salt intake, hypertension, kidney stones and bone metabolism. *Journal of Nephrology*, 13, 169–177.
- Čavoški D., Radovanović R., Perunović M., 1990.** Kvalitet polutrajnih suvomesnatnih proizvoda i barenih kobasica sa beogradskog tržišta – sa aspekta sadržaja NaCl i nitrata. *Tehnologija mesa*, 3, 105–109.
- Desmond E., 2006.** Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science* 74, 188–196.
- Devine A., Criddle R. A., Dick I. M., Kerr D. A., Prince R. L., 1995.** A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 740–745.
- Du Cailar G., Ribstein J., Mimran A., 2002.** Dietary sodium and target organ damage in essential hypertension. *American Journal of Hypertension*, 15, 222–229.
- Gasparik-Reichardt J., Tóth Sz., Cocolin L., Comi G., Drosinos E., Cvrtila Z., Dietary Institute of Medicine of the National Academies, 2004.** Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Sulfate and Sulfate. The National Academies Press, Washington, D. C., 185.
- Kozačinski L., Smajlović A., Saičić S., Borović B., 2005.** Technological, physico-chemical and microbiological characteristics of traditionally fermented sausages in Mediterranean and central European countries. *Tehnologija mesa*, 3–4, 143–153.
- Guàrdia M. D., Guerrero L., Gelabert J., Gou P., Arnau J., 2006.** Consumer attitude towards sodium reduction in meat products and acceptability of fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Science* 73, 484–490.
- Kuroda S., Uzu T., Fujii T., Nishimura M., Nakamura S., Inenaga T., Kimura G., 1999.** Role of insulin resistance in the genesis of sodium sensitivity in essential hypertension. *Journal of Human Hypertension*, 13, 257–262.
- Lilić S., 2000.** Ispitivanje važnijih činilaca od značaja za održivost i kvalitet sušenog svinjskog mesa. Magistarska teza, Fakultet veterinarske medicine, Beograd.
- Lilic S., Matekalo-Sverak V., Borovic B., 2008.** Possibility of replacement of sodium chloride by potassium chloride in cooked sausages – sensory characteristics and health aspects. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 24, 1–2, 133–138.
- Lilic S., Matekalo-Sverak V., 2007.** Influence of partial replacement of sodium chloride by potassium chloride and adding of rosemary extract on taste acceptability of ground meat. Proceedings, I International congress „Food technology, quality and safety“, Symposium of Biotechnology and Food Microbiology, Novi Sad, 61–66.
- MacGregor G. A., de Wardener H. E., 1997.** Idiopathic edema. In: Schrier, R.W., Gottschalk C.W., eds. *Diseases of the Kidney*. Boston, MA: Little Brown and Company, 2343–2352.
- Mickleborough T. D., Lindley M. R., Ray S., 2005.** Dietary salt, airway inflammation, and diffusion capacity in exercise-induced asthma. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37, 904–914.
- Operta S., Smajić A., 2006.** Komparacija kvaliteta bosanskog sudžuka proizvedenog u domaćinstvu, komunalnoj klinici i industrijskim uslovima. *Tehnologija mesa*, 3–4, 123–130.
- Perry I. J., Beevers D. G., 1992.** Salt intake and stroke: a possible direct effect. *Journal of Human Hypertension*, 6, 23–5.
- Ruusunen M., Puolanne E., 2005.** Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, Volume 70, 3, 531–541.
- Schmieder R. E., Messerli F. H., 2000.** Hypertension and the heart. *Journal of Human Hypertension*, 14, 597–604.
- Szymanski P., Wawrzyniewicz M., Moch P., Plaskota A., Jedrychowski-Kern J., 2008.** Study on quality of Polish meat products. 54th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), 10th–15th August, Cape Town, South Africa, CD-Proceedings, Session 9 / 9.16, 1–3.
- Terrell R. N., 1983.** Reducing the sodium content of processed meats. *Food Technology*, 37, 7, 66–71.
- Tsugane S., Sasazuki S., Kobayashi M., Sasaki S., 2004.** Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. *British Journal of Cancer*, 90, 128–134.
- Tuomilehto J., Jousilahti P., Rastenyte D., Vladislav M., Tanskanen A., Pietinen P., 2001.** Urinary sodium excretion and cardiovascular mortality in Finland: a prospective study. *Lancet*, 357, 848–851.
- Wirth F., 1991.** Restricting and dispensing with curing agents in meat products. *Fleischwirtschaft*, 71, 9, 1051–1054.
- Žarinov I. A., Veselova V. O., 2003.** Specifika sastava i svojstava piščevoj povarenoj soli. *Mjasnoja industrija*, 6, 27–29.
- Žlender B., Gašperlin L., 2005.** Značaj i uloga lipida mesa u bezbednoj i balansiranoj ishrani. *Tehnologija mesa*, 1–2, 11–21.

Study on the content of sodium chloride and sodium in some meat products from Serbian market

Vranić Danijela, Saičić Snežana, Lilić Slobodan, Trbović Dejana, Janković Saša

S u m m a r y: Sodium chloride is traditionally used as meat preservation agent and is the basic ingredient in industrial production of meat products. Excessive intake of common salt i.e. sodium is one of the most frequent cause of hypertension, especially in sodium-sensitive individuals and is related to increased mortality rate and risk of cardiovascular disorders.

Considering the impact of sodium chloride from sensorical, technological and microbiological aspect during the manufacture of meat products, as well as its impact on humans' health, the aim of this study was to investigate the content of sodium chloride in selected meat products from various manufacturers at the Serbian market.

Within the study, we investigated 192 samples of meat products in total – 33 samples of dry fermented sausages, 41 samples of finely grounded boiled sausages, 28 samples of coarsely grounded boiled sausages, 30 samples of boiled sausages with meat pieces, 8 samples of cooked sausages, 15 samples of smoked meat products, 7 samples of dry meat products, 15 samples of canned meat pieces, 9 samples of canned meat in own juice and 6 samples of canned ready meals.

The content of sodium chloride was determined volumetrically (AOAC, 1984). The content of sodium was calculated from the ratio sodium/chlorine in sodium chloride determined in the product.

The lowest average content of sodium chloride, 0.94%, was determined in samples of canned ready meals, slightly higher content, 1.15%, was determined in cooked sausages and 1.55% in boiled sausages with meat pieces. Similar content of sodium chloride was found in finely and coarsely grounded boiled sausages, canned meat pieces and canned meat in own juice (1.61-1.67%). Smoked meat products and dry fermented sausages contained higher amounts of sodium chloride: 2.19% and 2.61% respectively. The highest average content of sodium chloride, 5.09%, was measured in dry meat products.

According to the obtained results, it is evident that the intake of 100g of finely or coarsely grounded cooked sausages or canned meat pieces equals more than 40% of the recommended daily intake, while consumption of the same amount of dry fermented sausages satisfies about 70% of the recommended daily intake of sodium. Only 75g of some dry meat product provide the organism with enough sodium to cover the requirements of the basal metabolism. Bearing in mind that humans' diet consists not only from these products, but other foodstuffs that also contain sodium, it is clear that there is a significant risk of increased daily intake of this element.

Due to the potential risk of increased sodium intake, there is the need to decrease the amount of sodium in meat products. This can be achieved in several ways such as decrease of the amount of added salt or substitution of sodium salts with potassium salts with regard to the preservation of quality and microbiological stability of the product, or by utilisation of sodium-free food additives (food additives that contain potassium instead of sodium).

Key words: sodium chloride, meat products, sodium.

Rad primljen: 19.05.2009.

Rad ispravljen 11.09.2009.

Rad prihvaćen: 14.09.2009.

Prikaz monografije

Dr Slavica Vesković**BAKTERIOCINI BMK****Mogućnosti primene u proizvodnji fermentisanih kobasica**

U biblioteci „Posebna izdanja“ Zadužbine Andrejević, krajem maja 2009. godine, objavljena je monografija „Bakteriocini BMK – mogućnosti primene u proizvodnji fermentisanih kobasica“, autorke dr Slavice Vesković, naučnog saradnika i direktora Sektora laboratorije u Institutu za higijenu i tehnologiju mesa u Beogradu. Na osnovu utvrđenih kriterijuma u biblioteci „Posebna izdanja“ objavljuju se izabrani radovi istaknutih naučnih stvaralaca naše zemlje.

U monografiji su predstavljeni rezultati višegodišnjeg rada u istraživanjima saradnika Instituta za higijenu i tehnologiju mesa u oblasti tehnološke mikrobiologije i bezbednosti tradicionalno fermentisanih proizvoda od mesa, kojom je rukovodila dr Slavica Vesković. Opređenje za ovu oblast naučno-istraživačkog rada autorki je predstavljao međunarodni naučnoistraživački projekat: „Bezbednost tradicionalno fermentisanih kobasica; istraživanje zaštitnih kultura i bakteriocina“ koji je finansiran iz fonda EU.

Angažovanje autorke u ovom međunarodnom projektu, gde je bila nosilac mikrobiološke aktivnosti, omogućio je nastavak istraživanja u oblasti izolovanja i karakterizacije bakterija mlečne kiseline (BMK) i utvrđivanje njihove sposobnosti da proizvode bakteriocine. Pri tome je od posebnog značaja bilo iznalaženje načina za purifikaciju ovih antimikrobnih metabolita, kao i mogućnosti njihove primene u toku proizvodnje fermentisanih kobasica, radi dobijanja zdravstveno bezbednijih produkata.

Iz ovih istraživanja proizašao je autorkin magistarski rad, koji je odbranjen 2005. godine i doktorska disertacija pod naslovom „Uticaj *Lactobacillus sakei* I151, bakteriocina *Leuconostoc mesenteroides* E131 i MAP na održivost sremske kobasice“. Monografija je u suštini priređena doktorska disertacija autorke koja je odbranjena u januaru 2007. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Na 87 strana monografije, u 24 tablice, 11 slika, pet shema i 12 poglavlja, autorka razmatra savremene metode biološke zaštite hrane, koje podrazumevaju primenu bioprotektora, prvenstveno bakteriocina i bakteriocin-produkujućih sojeva BMK, u cilju obe-

zbeđenja potpune zdravstvene ispravnosti proizvoda. Podaci iz veoma velikog broja citirane literature (162 rada u bibliografiji) i istraživanja autorke, u poslednjih deset godina, pokazala su da primena bakteriocina u proizvodnji fermentisanih produkata, nudi višestruke prednosti:

- produženje održivosti, tj. roka upotrebe hrane,
- dodatnu zaštitu hrane, koja je uskladištena pri nepovoljnim temperaturnim uslovima,
- smanjenje rizika za prenošenje patogena u lancu ishrane,
- smanjenje ekonomskih gubitaka usled kvarjenja hrane,
- smanjenje upotrebe hemijskih supstancija (aditiva i konzervanasa) u proizvodnji hrane,
- blaže termičko tretiranje hrane u toku obrade, što dovodi do očuvanja njene nutritivne i vitaminske vrednosti, kao i izvornih organoleptičkih svojstava,
- pojavu na tržištu novih prehrambenih proizvoda sa manjim stepenom kiselosti, manjim sadržajem soli i većim sadržajem vode.

Time se postiže zadovoljenje sve složenijih zahteva industrije koja proizvodi hranu i njenih potrošača na tržištu.

U monografiji je posebno obrađena fermentacija kao način konzervisanja hrane, primena starter kultura u proizvodnji fermentisanih kobasica, sremska kobasica kao nacionalni fermentisani proizvod od mesa i načini aplikacije bakteriocina u industriji mesa.

Tekst u monografiji je tako sistematizovan da čitaoca na lak i veoma jednostavan način uvodi u nove oblasti tehnologije i mikrobiologije fermentisanih proizvoda od mesa. Time ova knjiga predstavlja fundament novom prilazu u proizvodnji bezbednih namirnica životinjskog porekla. Zbog toga smo uvereni da će biti korisno štivo svakome ko se bavi izučavanjem, proizvodnjom, prometom i kontrolom fermentisanih proizvoda od mesa.

Dr R. Tadić

UPUTSTVO AUTORIMA

„Tehnologija mesa“ je naučni časopis u kome se objavljuju:

1. Originalni naučni radovi (radovi u kojima se navode neobjavljivani rezultati sopstvenih istraživanja naučnom metodom);
2. Pregledni radovi (radovi koji sadrže originalan, detaljan i kritički prikaz istraživačkog problema ili područja u kome je autor ostvario određeni doprinos, uočljiv na osnovu autocitata);
3. Kratka ili prethodna saopštenja (originalni naučni radovi punog formata, ali manjeg obima ili preliminarnog karaktera);
4. Prikazi (knjige, naučni skupovi i slično).

Uže naučne discipline iz kojih se objavljuju radovi su: tehnologija i higijena mesa, tehnologija sporednih proizvoda u industriji mesa, higijena i tehnologija namirnica životinjskog porekla, tehnološka mikrobiologija, metode konzervisanja, mikrobiologija namirnica životinjskog porekla, hemija proizvoda životinjskog porekla, kvalitet i bezbednost hrane životinjskog porekla, kvalitet i bezbednost hrane za životinje i drugo.

Objavljuju se originalni radovi koji prethodno nisu nigde publikovani, saopšteni ili uzeti u razmatranje za objavljivanje u drugoj publikaciji, osim u formi kratkih sadržaja na skupovima. Odgovornost za ispunjenje navedenih uslova snosi glavni autor, koji, takođe, treba da obezbedi saglasnost svih koautora za publikovanje rada.

Postupak

Radovi podležu anonimnoj recenziji (najmanje dve), a odluku o prihvatanju radova za štampanje donosi glavni i odgovorni urednik, zajedno sa članovima Uređivačkog odbora.

Prihvaćeni radovi za štampanje se lektorišu. Redakcija časopisa zadržava pravo na manje korekcije rukopisa. U slučaju da su potrebne veće izmene, o tome se obaveštava glavni autor, a rad se dostavlja na doradu, sa naznačenim rokom.

Jezik

Radovi se štampaju na srpskom jeziku (ekavski dijalekt) ili dvojezično – na srpskom i jednom od stranih jezika (engleski, nemački, ruski ili francuski). Ukoliko se radovi štampaju na srpskom jeziku, njihovi rezime i (1/10 dužine članka) objavljuju se na engleskom jeziku. Ukoliko se radovi štampaju na engleskom ili nekom drugom stranom jeziku, njihovi kratki sadržaji se štampaju na srpskom i engleskom jeziku.

Priprema rukopisa

Rad treba da bude otkucan u programu za obradu teksta Word, font Times New Roman, veličina slova 12, sa proredom 1,5 i marginama od 2 cm, a dostavlja se na CD-u ili u elektronskoj formi. Rad treba da bude napisan jasno, koncizno i gramatički ispravno i treba da sadrži:

Naslov rada (mala slova, bold, veličina slova 14). Ispod naslova rada navode se prezimena i imena autora (mala slova, italik, veličina slova 12). Brojčanom oznakom, u superskriptu, iza imena autora, označava se institucija. Na kraju prve strane, u fusnoti, navode se, prema brojčanoj oznaci, naziv i adresa institucije u kojoj su autori zaposleni (italik, veličina slova 10). U novom redu navodi se prezime i ime autora za kontakt i njegova e-mail adresa.

Sadržaj, koji daje kratak prikaz rada, treba da ima 150 do 250 reči, sa ključnim rečima na srpskom jeziku ili na jeziku na kome je rad napisan, i nalazi se ispod naslova rada i prezimena autora.

Rezime (eng. summary) je kratak, informativan prikaz, sadržaja članka na srpskom i/ili engleskom jeziku, u zavisnosti od jezika na kome je rad napisan, koji omogućava uvid u cilj istraživanja, metode, rezultate i zaključak. Rezime treba da ima do 500 reči (italik, veličina slova 12) i nalazi se na kraju rada, iza literature.

Ključne reči su termini koji najbolje opisuju sadržaj članka. Ključnih reči ne može da bude više od 10. Ključne reči se daju na svim jezicima na kojima postoje rezimea, neposredno ispod teksta rezimea (italik, veličina slova 12).

Sadržaj i rezime ne smeju da sadrže skraćenice. U tesktualnom delu rada, svakoj skraćenici koja se prvi put navodi, treba da se dâ i pun naziv, a u daljem tekstu može da se koristi samo skraćenica.

Originalni naučni rad treba da sadrži navedena poglavlja: uvod, materijal i metode, rezultate i diskusiju (zajedno ili odvojeno), zaključak, napomenu (opcionarno) i literaturu. Poglavlja se kucaju malim slovima, veličine 12, bold.

1. Uvod: treba da sadrži jasan opis problematike i cilja istraživanja, uz kratak prikaz relevantne literature, ne starije od deset godina;
2. Materijal i metode: ovo poglavlje opisuje materijal i metode koji su korišćeni i način na koji su postavljeni ogledi;
3. Rezultati i diskusija: rezultati treba da budu obrađeni odgovarajućim statističkim metodama za izvedena ispitivanja, prikazani jasno i koncizno, u vidu tabela, grafikona, fotografija, crteža i drugo,

a isti rezultat ne treba prikazati dvojako, i u vidu tabele i u vidu grafikona. Diskusija treba da se odnosi na prezentovane rezultate, bez ponavljanja ranije navedenih činjenica, uz poređenje dobijenih rezultata i relevantnih podataka iz literature koji se odnose na srodnu grupu proizvoda, sličnu analitičku metodu i drugo.

- U tekstu, citirana literatura označava se prezimenom autora, prezimenom i veznikom „i“ ako su dva autora, ili, ako je više od dva autora, prezimenom prvog autora i dodatkom „i dr.“ (italik) i godinom objavljivanja (sve u zagradi);
 - Slike i crteži se obeležavaju brojem kojim se navode u radu. Nazivi tabela se pišu iznad, a nazivi grafikona i slika ispod (mala slova). Nazive tabela i tekst u tabelama, grafikonima i slikama treba pisati dvojezično, pri čemu je drugi jezik engleski. Tabele, grafikone i slike treba dati u prilogu rada;
 - Pri preuzimanju tabela, grafikona i slika iz literature autor je obavezan da navede izvor (na primer autor, godina objavljivanja, časopis i drugo).
 - Autor treba da se pridržava Međunarodnog sistema jedinica (SI) i važećih zakona o mernim jedinicama i merilima.
4. Zaključak: daje pregled najbitnijih činjenica do kojih se došlo u toku istraživanja.
 5. Napomena (zahvalnica): sadrži naziv i broj projekta, odnosno naziv programa u okviru koga je članak nastao, kao i naziv institucije koja je finansirala projekat ili program. Navodi se na dnu prve strane članka.
 6. Literatura: treba da se složi po abecednom i hronološkom redu objavljivanja, i to: prezime autora, prvo slovo imena, godina objavljenog rada (mala slova veličine 12, bold), a u nastavku, naziv rada u celosti, naziv časopisa ili drugog izvora, volumen i broj časopisa, početna i završna strana rada.

Primer:

Đinović J., Popović A., Spirić A., Turubatović L., Jira W., 2008. 16 EU prioriternih policikličnih

aromatičnih ugljovodonika (PAH jedinjenja) u dimu drveta i dimljenoj pršuti. Tehnologija mesa, 49, 5–6, 181–184.

JECFA, 2005. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary and Conclusion. Sixty-Fourth Meeting, Rome, 8-17 February, JECFA/64/SC. <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/en/>.

Morgan S. K., Daly C. C., Simmons N. J., Johnson N. V., Cummings T. L., 2008. The effect of pre-slaughter events on the expression of small heat shock proteins in the muscle. 54th International Congress of Meat Science & Technology, Proceedings, General Speakers Session, Electronic Copy, Cape Town, South Africa, 10th–15th August.

Mottram S., 1994. Some aspects of the chemistry of meat flavour, in: The flavour of meat and meat products. Shahidi F., Ed. Blackie. Glasgow, 210–230.

Sekse C., O’Sullivan K., Granum P. E., Rørvik L. M., Wasteson Y., Jørgensen H. J., 2009. An outbreak of Escherichia coli O103:H25 – bacteriological investigations and genotyping of isolates from food. International Journal of Food Microbiology, 133, 3, 259–264.

Sinonott M., 2008. Carbohydrate chemistry and biochemistry, structure and mechanism. RSC Publishing, UK, 23–28.

Zakon o bezbednosti hrane, 2009. Službeni glasnik RS, br. 41/2009, 77–99.

Radovi drugih kategorija, osim originalnih naučnih radova, mogu da se pišu sa podnaslovima po izboru autora.

Radovi se dostavljaju na CD-u, poštom ili u elektronskoj formi, na e-mail adresu:

1. Institut za higijenu i tehnologiju mesa – za časopis „Tehnologija mesa“ – Kaćanskog 13, P. fah 33–49 11000 Beograd Republika Srbija
2. e-mail: institut@inmesbgd.com aurelija@inmesbgd.com

REDAKCIJA ČASOPISA

Novi član uređivačkog odbora časopisa „Tehnologija mesa“

Na 31. redovnoj sednici Naučnog veća Instituta za higijenu i tehnologiju mesa, održanoj 16.01.2009. godine, doneta je odluka da umesto dr Aleksandre Stjepanović, za člana Uređivačkog odbora časopisa bude imenovana dr Slavica Vesković-Moračanin.

GUIDELINES FOR THE AUTHORS

„Meat Technology” is a scientific journal which publishes:

1. Original scientific papers (papers which present previously unpublished results of authors' own investigations using scientific methodology);
2. Review papers (papers which include original, detailed and critical overview of a research problem or an area to which the author has significantly contributed, as evidenced by auto citations);
3. Brief or preliminary papers (full-format original scientific papers or of preliminary character);
4. Reviews (of books, scientific conferences etc.)

Papers will be published from the following scientific disciplines: meat hygiene and technology, technology of by-products in meat industry, hygiene and technology of animal originating foodstuffs, technological microbiology, methods of food preservation, microbiology of animal originating foodstuffs, chemistry of animal originating foodstuffs, quality and safety of animal originating foodstuffs, quality and safety of feedingstuffs, et sim.

Eligible for publishing are those papers, which have not been previously published, presented or considered for publication in another journal, except as abstracts presented at scientific conferences. The first author is both responsible for meeting these criteria and for obtaining agreement to publish from all of the co-authors.

Procedure

Papers are subject to anonymous reviews (two at least), while the decision to accept the paper for publishing is reached by the editor-in-chief, together with the members of the editorial board.

Accepted papers are subject to proofreading. The editorial board reserves the right to minor corrections of the manuscript. Where major corrections are necessary, the first author will be notified, and the paper sent for revision, with a set deadline.

Language

Papers are published in Serbian or bilingually – in Serbian and in one of the second languages (English, German, Russian or French). If the papers are printed in Serbian, their summaries (1/10 of the paper length) are published in English. If the papers are printed in English or another language other than Serbian, their abstracts are printed in Serbian and English.

Editing of the manuscripts

The paper should be edited in Microsoft Word software, using Times New Roman font, size 12 pt, paragraph spacing 1.5 and margins of 2cm. Papers are submitted on CD or in other electronic form. The text should be clear, concise, grammatically correct and should contain the following sections:

The title (lowercase, bold, font size 14 pt). Below the title, names of the authors (last, first, lowercase, italic, font size 12 pt). Numbers following names in superscript refer to the authors' institution. At the bottom of the first page, according to the number in superscript, name and address of the institutions authors are employed in should be given (italic, font size 10 pt). In the new line, the name and e-mail of the corresponding author should be provided.

Abstract, which gives short review of paper, should contain 150-250 words with key words in Serbian or the language of the paper. The abstract should be typed below the title and names of the authors.

Summary represents short, informative description of the paper content written in Serbian and/or English, depending on the language of the paper. Summary enables insight in the aim of the investigations, methods, results and conclusion. It should contain up to 500 words (italic, font size 12 pt) and should be placed at the end of the paper, after references.

Key words are terms that best describe the content of the paper. Maximal number of key words is 10. They should be given in the same languages as summaries, below the summary text (italic, font size 12 pt).

Abstract and summary must not contain abbreviations. If the abbreviation is used for the first time in the text, full name should also be provided. In the latter text, the abbreviation can be used alone.

The original scientific paper should contain the following chapters: introduction, material and methods, results and discussion (combined or separate), conclusion, notes (optional) and references. Chapter names are typed in lowercase, font size 12, bold.

1. Introduction: should contain clear description of the investigated subject and aim of the research with the short citations of the relevant literature (not more than 10 years old);
2. Material and methods: this chapter describes material and methods used and outlines the design of the experiment;
3. Results and discussion: The results should be processed by statistical methods appropriate to

the experiment; they should be clear and concise using tables, graphs, photographs, illustrations and other. The same result should not be presented through both, table and graph. Discussion should be related to presented results avoiding repetitions of already stated facts, using comparison of obtained results and relevant literature data related to similar group of products, comparable analytical method et sim.

- When in the text, literature is cited by giving author's last name, last name with "and", if the cited literature is published by two authors, or, in the case of more than two authors, by "et al." abbreviation after the surname of the first author (italic). Cited literature with the year of publishing should be in brackets.
 - Figures and illustrations are numerated with the same number as given in the text of the paper. Titles of the tables are written above the tables; titles of the graphs and illustrations are printed below (in lowercase). Table titles and content should be written bilingually (the other language is always English). Tables, graphs and figures are submitted separately, in the appendix.
 - If tables, graphs or figures originate from other sources, the author is required to state the source of such data (author, year of publishing, journal etc.).
 - The author should apply the International System of Units (SI system) and current regulation on measuring units and measuring instruments.
4. Conclusion: provides the review of the most important facts obtained during the research.
 5. Note (acknowledgement): should contain title and number of the project i.e. title of the program from which is the research carried out and described in the paper, as well as the name of the institution that funded the project or program. All this is stated at the bottom of the first page of the paper.
 6. References: should be given in alphabetical and chronological order as follows: last name of the author, first name initial, year of publication (lowercase, font size 12 pt, bold), following by the full title of the reference, name of the journal or other source, journal's volume, number, and pagination of the paper.

Example:

- Đinović J., Popović A., Spirić A., Turubatović L., Jira W., 2008.** 16 EU prioritetnih policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH jedinjenja) u dimu drveta i dimljenoj pršuti. Tehnologija mesa, 49, 5–6, 181–184.
- JECFA, 2005.** Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary and Conclusion. Sixty-Fourth Meeting, Rome, 8-17 February, JECFA/64/SC. <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/en/>.
- Morgan S. K., Daly C. C., Simmons N. J., Johnson N. V., Cummings T. L., 2008.** The effect of pre-slaughter events on the expression of small heat shock proteins in the muscle. 54th International Congress of Meat Science & Technology, Proceedings, General Speakers Session, Electronic Copy, Cape Town, South Africa, 10th-15th August.
- Mottram S., 1994.** Some aspects of the chemistry of meat flavour, in: The flavour of meat and meat products. Shahidi F., Ed. Blackie. Glasgow, 210–230.
- Sekse C., O'Sullivan K., Granum P. E., Rørvik L. M., Wasteson Y., Jørgensen H. J., 2009.** An outbreak of Escherichia coli O103:H25 – bacteriological investigations and genotyping of isolates from food. International Journal of Food Microbiology, 133, 3, 259–264.
- Sinonott M., 2008.** Carbohydrate chemistry and biochemistry, structure and mechanism. RSC Publishing, UK, 23–28.
- Zakon o bezbednosti hrane, 2009.** Službeni glasnik RS, br. 41/2009, 77–99.

Papers belonging to the category other than original scientific papers can contain chapters titled by choice of the author.

Papers are submitted by mail (on CD-ROM) or by e-mail:

1. Institut za higijenu i tehnologiju mesa
– za časopis „Tehnologija mesa“ –
Kačanskog 13, P. fah 33–49
11000 Beograd
Republika Srbija
2. e-mail: institut@inmesbgd.com
aurelija@inmesbgd.com

EDITORIAL BOARD