

Tehnologija  
hrane

Jun 09

---

Prikaz objavljenih tekstova za prethodni mesec na internet  
magazinu Tehnologija hrane

#02

## Sadržaj

Biopolimeri u proizvodnji ambalaže .....	6
Osobine biopolimera .....	6
Kategorije biopolimera .....	7
Proizvodnja i primena ambalaže na bazi biopolimera .....	7
Ekološki aspekt primene biopolimera .....	8
Jestivi filmovi i omotači u proizvodnji ambalaže .....	9
Osobine jestivih filmova .....	9
Vrste jestivih filmova .....	10
Jestivi filmovi na bazi polisaharida .....	10
Jestivi filmovi na bazi lipida .....	11
Jestivi filmovi na bazi proteina .....	11
Mehanizam formiranja strukture biofilmova na bazi proteina .....	12
Faktori koji utiču na osobine proteinskih biofilmova .....	12
Osobine jestivih proteinskih biofilmova .....	15
Promene osobina jestivih biofilmova tokom skladištenja .....	16
Primena jestivih biofilmova za pakovanje prehrambenih proizvoda .....	17
PCR - Primena molekularnih markera u prehrambenoj industriji .....	18
PCR - Modifikacije tehnologije .....	26
PCR zasnovani markeri .....	29
PCR - Osnovni principi tehnologije lančane reakcije polimeraze .....	31
Pripremanje laboratorije za izvođenje PCR baziranih testova .....	33
Derivati ksantina u hrani .....	38
Sažetak .....	38
Hemija ksantina .....	39
Hemijski sastav belog i crnog luka .....	42
Proteini .....	43
Ugljeni hidrati .....	43
Lipidi .....	43
Vitamini .....	44
Mineralne materije .....	44

Bojene materije .....	45
Etarska ulja .....	45
Antimikrobne komponente.....	46
Lekovita svojstva .....	46
Hemijski sastav voća .....	47
Rasjecanje i otkoštavanje .....	58
Hlađenje svinjskog mesa.....	59
Uticaj brzine hlađenja polutki na kalo hlađenja i kvalitet svinjskog mesa .....	62
Salamurenje mesa.....	75
Ingredijencije (aditivi i dodaci) za salamurenje i njihovo doziranje.....	76
Kuhinjska so kao osnovna ingredijencija salamure.....	77
Fosfati kao osnovne ingredijencije salamure.....	79
Nitriti i nitrati kao osnovne ingredijencije salamure.....	81
Ingredijencije za usmeravanje procesa salamurenja.....	83
Primeri različitih sastava salamura .....	87
Salamurenje ubrizgavanjem.....	89
Konzervisanje namirnica zamrzavanjem .....	90
Mikrobiološki status toplih i hladnih svinjskih polutki .....	93
Uvod .....	93
Materijal i metode.....	94
Rezultati i diskusija .....	95
Zaključci.....	97
Bakterije izazivači trovanja hranom.....	97
Aeromonas hydrophila.....	98
Bacillus cereus .....	98
Clostridium botulinum .....	99
Clostridijum perfringens .....	101
Campylobacter .....	102
Escherichia coli 0157:H7 .....	103
Listeria monocytogenes .....	105
Salmonella .....	108

Shigella .....	109
Staphylococcus aureus.....	109
Trichinella spiralis.....	110
Yersinia enterocolitica.....	110
Arcobacter butzleri.....	111
Cryptosporidium parvum .....	111
Helicobacter pylori .....	111
Legionella pneumophila .....	112
Vibrio spp. ....	112
Enterococcus faecalis .....	113
Sanitacija u fabrikama za preradu voća i povrća .....	113
IZVORI KONTAMINACIJE.....	113
KONSTRUKCIJA FABRIKE I SANITACIJA .....	115
ČISTOĆA POGONA .....	118
ČIŠĆENJE PRERAĐIVAČKIH FABRIKA.....	118
SREDSTVA ZA ČIŠĆENJE I SANITACIJU .....	120
POSTUPAK ČIŠĆENJA .....	122
PROCENA EFIKASNOSTI SANITACIJE.....	124
Mikroorganizmi kontaminanti hrane.....	127
Plesni .....	128
Kvasci.....	130
Bakterije .....	130
Virusi.....	131
Sprečavanje rasta mikroorganizama .....	132
Metode uništavanja mikroorganizama .....	132
Metode inhibicije mikroorganizama .....	136
Promene hrane delovanjem mikroorganizama .....	139
Rast mikroorganizama .....	140
Kinetika rasta mikroorganizama .....	140
Faktori koji utiču na rast mikroorganizama .....	141
Sanitacija u fabrikama za proizvodnju pića .....	149

MIKROBIOLOGIJA PROIZVODNJE PIĆA.....	149
PRINCIPI SANITACIJE U FABRIKAMA ZA PROIZVODNJU PIĆA .....	149
SANITACIJA U FABRIKAMA ZA PROIZVODNJU BEZALKOHOLNIH PIĆA.....	151
Mikotoksini .....	156
Mikrobiološka kontrola mleka i mlečnih proizvoda .....	160
Uvod .....	161
Mikrobiološki pregled mleka.....	161
Mikrobiološki pregled fermentisanih mlečnih proizvoda .....	163
Mikrobiološki pregled sira.....	165
Patogeni mikroorganizmi u mleku i mlečnim proizvodima .....	166
Šljiva .....	172
Uvod .....	173
Osnovni podaci o šljivi.....	174
Sorte šljiva za sušenje.....	174
Tehnološka svojstva šljiva za sušenje.....	175
Sušenje .....	180
Tehnološki postuak sušenja šljiva sorte stenlej .....	181
Zaključak.....	186
Kupina .....	187
Sorte kupine sa trnjem .....	189
Sorte kupine bez trnja .....	189
Berba kupine .....	190
Hranljiva i upotrebna vrednost plodova kupine .....	191
Senzorska ocena voća i povrća .....	192
Izgled .....	193
Boja.....	193
Miris.....	193
Ukus.....	193
Konzistencija.....	193

## Biopolimeri u proizvodnji ambalaže

Autor: *Nevena Nemet*, dipl. ing.

Recezent: Vera Lazić

mail: vlazic@tf.uns.ac.rs

tel: 00381 21 485-3703

1. [Osobine biopolimera](#)
2. [Kategorije biopolimera](#)
3. [Proizvodnja i primena ambalaže na bazi biopolimera](#)
4. [Ekološki aspekt primene biopolimera](#)
5. [Literatura](#)

Porastom broja stanovnika na zemlji, javlja se sve veći broj ambalažnih materijala i ambalaže, a gomilanje ambalažnog otpada poprima sve veće razmere. Zbog sve izraženijeg problema gomilanja ambalažnog materijala, pre svega plastike koja ima veoma dug životni ciklus, pojavila se potreba za samouništivim ambalažnim materijalima. Kao rezultat ove potrebe nastali su biopolimeri. Samouništiva biodegradabilna ambalaža se naziva IV generacija ambalaže (7,8).

Razvoj ambalažnih materijala i ambalaže, sa ekološkog aspekta, mora podrazumevati sledeće prioritete ciljeve (9):

- da se smanji masa otpada;
- da se omogući ponovna upotreba;
- da se omogući reciklaža;
- da je moguće sagorevanje;
- da se smanji masa za odlaganje u deponije.

Sa aspekta ovih zahteva, a imajući u vidu kompletan ekološki bilans biopolimera, može se reći da oni spadaju u ekološki

prihvatljive ambalažne materijale.

### Osobine biopolimera

Osnovna osobina biopolimera jeste njihova biorazgradivost. Konvencionalni biopolimeri nisu biorazgradivi jer imaju veoma duge lance molekula koji su preveliki i previše međusobno povezani da bi bili razgrađeni od strane mikroorganizama. Za razliku od ovih, polimeri napravljeni od prirodnih biljnih supstanci imaju molekule koji su razgradivi od strane mikroorganizama. Da bi bili razgradivi, u biosferi mora da postoji bar jedan enzim koji ubrzava razgradnju hemijskog lanca datog polimera (7, 10). Postoje mnogi standardi za merenje biorazgradivosti supstance, pri čemu svaka država ima svoje standarde. Zahtevi variraju od 90 do 60% razgradnje supstance u vremenskom periodu od 60 do 180 dana od trenutka stavljanja supstance u sredinu pogodnu za kompostiranje (11).

Biomaterijali (biopolimeri) su polimeri proizvedeni iz obnovljivih izvora. Za razliku od konvencionalnih polimera, koji se proizvode iz neobnovljivih izvora (ugalj, nafta), biopolimeri se proizvode iz biljne sirovine, na prvom mestu, a u novije vreme i iz životinjske. Proizvodnja iz obnovljivih izvora može biti značajan doprinos u pogledu manje potrošnje energije pri proizvodnji i širem spektru načina odlaganja otpada, sa neznatnim uticajem na okolinu.

Kvalitet proizvoda od bioplastike se ocenjuje ne samo biorazgradivošću nego i funkcionalnošću proizvoda. Biorazgradiv proizvod je beskoristan ako ne može

zadovoljiti zahteve koji se postavljaju pred njega u vidu mehaničke i hemijske otpornosti, trajnosti, itd. Zbog toga je jako bitno da se proizvođači bioplastike posvete ne samo biorazgradivosti materijala nego i drugim svojstvima polimera kako bi novi polimeri bili konkurentni konvencionalnim polimerima (7,11).

### Kategorije biopolimera

Biopolimeri se mogu podeliti u tri osnovne kategorije prema njihovom poreklu i načinu proizvodnje:

- 1) Polimeri ekstrahovani/izolovani direktno iz biomase

Ova kategorija biopolimera je najviše prisutna na tržištu. Polimeri ove kategorije dobijaju se od biljaka, morskih i domaćih životinja. Primeri su polisaharidi, celuloza, skrob i citin, proteini surutke, kazein, kolagen, proteini soje, miofibrilarni proteini životinjske muskulature, itd. Ovi materijali imaju dobra barijerna svojstva za gasove, ali su veoma hidrofilni.

- 2) Polimeri proizvedeni klasičnim hemijskim sintezama od biomonera

Hemijskom sintezom moguće je dobiti veliki spektar biopoliestera. Teorijski, svi dosadašnji ambalažni materijali mogu se zameniti novim vrstama dobijenim od obnovljivih monomera, ali je pitanje ekonomske opravdanosti. Najpoznatiji biopolimer iz ove grupe je polilaktička kiselina (PLA). Monomer polilaktičke kiseline je mlečna kiselina koja se lako može dobiti fermentacijom iz ugljenohidratne sirovine. Kao izvor ugljenohidrata može se koristiti kukuruz, pšenica ili alternativno surutka i šećerni sirup. PLA se

može formirati u vidu folija, termoformiranih posuda ili raspršivanjem ukomponovati u kombinovane materijale.

- 3) Polimeri dobijeni direktno iz prirodnih ili genetički modifikovanih organizama

Ove polimere akumuliraju mnoge bakterije kao izvor energije i kao rezerve ugljenika. U ovu grupu spadaju polihidroksialkonati (PHAs) i bakterijska celuloza. Njihove osobine najviše su povezane sa osobinama monomera od kojih su izgrađeni što omogućava široku lepezu različitih biopolimera koji se mogu sintetisati pomoću mikrobiološke fermentacije. Najčešće je u upotrebi derivat polihidroksibutirat sa oznakom PHB.

### Proizvodnja i primena ambalaže na bazi biopolimera

Inženjering biomaterijala za ambalažne jedinice i materijale zahteva dobro poznavanje osobina materijala polimera. Ako osobine nativnih biopolimera ne zadovoljavaju zahtevano, postoji mogućnost modifikovanja materijala na određeni način. Za zadovoljavanje veoma specifičnih zahteva (veoma mala propustljivost gasova i velika rezistentnost na vodu) mogu se koristiti kombinovani materijali u smeši, lepljenjem slojeva ili koekstruzijom.

Da bi se prozvela 100% biorazgradiva ambalaža potrebno je razviti i biorazgradive aditive. Za sada se koriste plastifikatori, stabilizatori, adhezivi, boje, kao i za polimere. Biološki polimerni derivati mogu se

koristiti za formiranje svih vrsta i oblika ambalaže, koristeći opremu za proizvodnju konvencionalnih materijala. Od biomaterijala proizvode se koekstrudirani filmovi, liveni filmovi, folije za termoformiranje posudica i čaša, brizgani i duvani proizvodi, kao što su čaše, podlošci, boce, ekstrudirane folije namenjene za oplemenjivanje papira, kartona ili drugih folija.

Poseban vid biopolimera je i jestiva ambalaža u vidu jestivih prevlaka i filmova.

### **Ekološki aspekt primene biopolimera**

Jedan od veoma važnih strateških problema sa kojim se suočava prehrambena industrija je zagađivanje životne sredine, posebno količinom ambalažnog otpada (5, 42). Više od jedne decenije ambalažni otpad je, kao rezultat pritiska javnosti, medija i nevladinih organizacija koje se bave pitanjem zaštite životne sredine, jedan od važnih problema proizvođača hrane. Težnja ka povećanju ekološke kompatibilnosti korišćenih ambalažnih materijala u prehrambenoj industriji, vodi sve široj upotrebi materijala na bazi biopolimera. Prikaz mogućnosti proizvođača hrane da povećaju ekološku podobnost ambalažnih materijala dat je u tabeli 5.

Tabela 5 – Mogućnosti za poboljšanje ekološke podobnosti ambalažnih materijala Korišćenje efikasne sirovine za proizvodnju ambalažnih materijala Ušteda energije, vode, materije, sirovine, redizajniranje proizvoda

Minimiziranje proizvodnog i distributivnog otpada Ušteda energije, vode, materije, smanjenje zagađivača

Iskorišćavanje otpada Povratna ambalaža, recikliranje, đubrenje, spaljivanje uz prikupljanje oslobođene energije

Odlaganje otpada Spaljivanje otpada, biodegradacija, fotodegradacija.

Napori da se smanji zagađenje životne sredine ne smeju biti usmereni samo na rešavanje pitanja otpada, već i na vrstu i obnovljivost korišćene sirovine. Sa ciljem da se ispune zahtevi koje savremeno doba postavlja pred proizvođače hrane, nastala je biorazgradiva ambalaža. Kao što je već rečeno, ona se lako razgrađuje dejstvom mikroorganizama, enzima i drugih faktora spoljašnje sredine, a pri tom je proizvedena od obnovljivih sirovina. Ona podnosi fizičko, hemijsko, termalno i biološko razlaganje tako da se najveći deo materijala od koga je proizvedena na kraju rastavlja na ugljendioksid, biomasu i vodu (11). Bez ove prednosti u odnosu na sintetičke polimere, prehrambena industrija ne bi imala dovoljan podstrek da sa širokoprimenljive sintetičke ambalaže prelazi na biorazgradivu, koja zahteva posebne uslove proizvodnje, korišćenja i skladištenja (12). Međutim, zbog potrebe za što hitnijom intervencijom radi spasavanja planete od zagušenja plastikom i drugim veštačkim materijalima koji se ne mogu nikada u potpunosti i bez štetnih posledica razgraditi, nauka ulaže svakodnevne napore da unapredi svojstva biorazgradivih polimera i time omogući njihovu širu primenu. Danas postoje mnogi projekti, istraživanja i radovi na temu biorazgradive ambalaže, kako na polju njenog poboljšanja tako i na polju njenog promovisanja.



## Jestivi filmovi i omotači u proizvodnji ambalaže

Autor: *Nevena Nemet*, dipl. ing.

Recezent: Vera Lazić

mail: vlazic@tf.uns.ac.rs

tel: 00381 21 485-3703

1. [Osobine jestivih filmova](#)
2. [Vrste jestivih filmova](#)
3. [Jestivi filmovi na bazi polisaharida](#)
4. [Jestivi filmovi na bazi lipida](#)
5. [Jestivi filmovi na bazi proteina](#)
6. [Mehanizam formiranja strukture biofilmova na bazi proteina](#)
7. [Faktori koji utiču na osobine proteinskih biofilmova](#)
8. [Osobine jestivih proteinskih biofilmova](#)
9. [Promene osobina jestivih biofilmova tokom skladištenja](#)
10. [Primena jestivih biofilmova za pakovanje prehrambenih proizvoda](#)
11. [Literatura](#)

Jestivi filmovi i omotači se definišu kao tanki slojevi biopolimera koji se primenjuju za prekrivanje, pakovanje ili umotavanje hrane (12). Njihova osnovna funkcija je da interakciju proizvoda sa spoljašnjom sredinom svedu na najmanju moguću meru. Pri tom se prvenstveno misli na upijanje ili otpuštanje vlage, transport gasova (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>), migraciju ulja, masti i rastvarača, gubitak aromatičnih komponenata i kontaminaciju od strane mikroorganizama. Pored toga, jestivi filmovi se mogu koristiti kao nosači aditiva, kao što su arome, enzimi (npr. lizozomi), antioksidansi, antibakterijske substance (organske kiseline), fungicidi (benomil, imalzalil), itd. (13, 14, 15).

Ideja o korišćenju jestivih filmova i omotača za pakovanje hrane nije nova. U Kini su se još u 12. veku koristili voštani

omotači za pakovanje voća, lipidni filmovi za zaštitu proizvoda od mesa, čokoladni filmovi za pakovanje kolača i lipoproteinski filmovi na bazi sojinog mleka za pakovanje pirinča u Aziji. Primena jestive ambalaže u komercijalne svrhe datira već iz tridesetih godina XX veka, kada je počelo pakovanje citrusnog voća u parafinske omotače radi zaštite od isušivanja, a tokom pedesetih godina počinje primena karnauba voska za pakovanje svežeg voća i povrća. Danas je rasprostranjena primena kolagenskih omotača za proizvode od mesa, kao što su kobasice (12, 16).

Pojam jestivih filmova i omotača se uglavnom koristi jedan uz drugi, mada postoji razlika između njih. Omotači se formiraju na samoj hrani, tako što se tečni rastvori ili disperzije, korišćenjem pogodnih metoda (raspršivanje, premazivanje i sl.) nanose direktno na površinu hrane i na njoj polimerizuju, stvarajući prijanjajući omotač. Filmovi se formiraju odvojeno od hrane, u vidu folija najčešće, a sa hranom dolaze u kontakt kao već formirani polimeri.

### Osobine jestivih filmova

Većina osobina jestivih filmova su slične osobinama sintetičkih polimera za pakovanje hrane. Jestivi filmovi ne pretenduju, niti bi to ikad mogli, da u potpunosti zamene nejestive sintetičke ambalažne materijale. Njihova primena leži u sposobnosti da unaprede i poboljšaju čuvanje hrane, produže njen rok trajanja i povećaju ekonomsku efikasnost materijala za pakovanje hrane. S toga se osobine jestivih filmova mogu razmatrati preko njihovih prednosti u odnosu na sintetičke filmove, a te prednosti su sledeće (12):

- Filmovi mogu biti konzumirani zajedno sa upakovanim proizvodom, što sprečava pojavu otpada;

- Čak i u slučaju da se ne konzumiraju sa proizvodom, oni ipak smanjuju zagađenje životne sredine jer su mnogo podložniji razgradnji u odnosu na sintetičke, a i proizvedeni su iz obnovljivih izvora;
- Mogu poboljšati organoleptičke osobine upakovanih proizvoda putem različitih supstanci, kao što su arome, boje i zaslađivači, inkorporiranih u svojoj strukturi;
- Mogu da dopune nutritivnu vrednost proizvoda (što posebno važi za proteinske filmove);
- Mogu biti korišćeni za pojedinačno pakovanje malih porcija hrane, posebno proizvoda koji se obično ne pakuju pojedinačno iz praktičnih razloga, kao što su grašak, pasulj, lešnici i jagode;
- Mogu biti primenjeni unutar heterogenih namirnica, da razdvoje određene slojeve ili komponente gotovog proizvoda, sa ciljem da spreče migraciju vlage i drugih sastojaka između njih. To se posebno primenjuje kod pica, pita i slatkiša;
- Mogu biti nosači antimikrobnih komponenata;
- Mogu veoma uspešno da se koriste za mikroinkapsuliranje određenih supstanci (prvenstveno aroma) u cilju efikasnog i preciznog doziranja istih u hranu;
- Jestivi filmovi se mogu koristiti kao deo višeslojnih ambalažnih materijala u kombinaciji sa nejestivim, pri čemu jestivi uvek čini sloj najbliži proizvodu.

### Vrste jestivih filmova

Jestivi biofilmovi se međusobno razlikuju prema tome od čega su proizvedeni. Vrsta preovlađujućeg molekula u mrežastoj strukturi biopolimera određuje osnovne fizičko-mehaničke i barijerne osobine, pa time i primenu za pakovanje određenih vrsta proizvoda. Prema tome, jestivi filmovi se dele na jestive filmove na bazi (12, 17):

- polisaharida;
- lipida i
- proteina.

### Jestivi filmovi na bazi polisaharida

Polisaharidi i njihovi derivati se veoma mnogo koriste za proizvodnju jestivih filmova. To su, pre svih, alginati, pektini, karagenani, skrob, hidrolizati skroba i derivati celuloze. Zbog hidrofилne prirode ovih molekula, njihova primena je ograničena zbog slabih barijernih svojstava prema vodi.

Amilaza je linearna frakcija skroba, i ona formira koherentne, relativno jake filmove, u odnosu na amilopektinske filmove koji su krti i heterogeni. Filmovi proizvedeni od hidroksi-propilnih derivata skroba sa visokim sadržajem amilaze su slaba barijera razmeni vlage, ali imaju veoma slabu propustljivost kiseonika pri niskoj relativnoj vlažnosti vazduha.

Alginati se ekstrahuju iz smeđih algi iz porodice Phaephyceae, i sastoje se od alginске kiseline, linearnog kopolimera D-manuronske i L-glukuronske kiseline. Filmovi se proizvode evaporacijom vode iz tankog sloja rastvora alginata i impregniraju uljem i masnoćom radi poboljšanja barijernih svojstava prema vodi. Kalcijumovi joni se koriste kao agensi za umrežavanje koji pomoću jonske veze spajaju lance alginata.

Polisaharidna guma karagenan se ekstrahuje iz crvenih algi, iz vrste poznate kao Irska mahovina (*Chondrus crispus*). Karagenan je kompleksna mešavina od najmanje pet različitih polimera na bazi galaktoze.

Agar je guma koja se dobija iz različitih vrsta crvenih algi iz klase Rhodophyceae, i takođe je polimer na bazi galaktoze. Agar formira jake želatinozne strukture koje karakteriše tačka topljenja znatno viša od

temperature formiranja gela. Omotači na bazi agara sadrže u vodi rastvorljive antibiotike.

Dekstrani su gume dobijene mikrobiološkom fermentacijom saharoze, a sastavljeni su isključivo od -D-glukopiranoza povezanih različitim tipovima glikozidnih veza. Koriste se radi očuvanja arome, boje i svežine hrane tokom skladištenja u uslovima hlađenja i zamrzavanja.

Etri celuloze su polimerne supstance koje nastaju parcijalnom supstitucijom tri hidroksilne grupe u pozicijama 2, 3 i 6 monomera glukoze. Najrasprostranjeniji etri celuloze su metilceluloza, hidroksipropilceluloza, hidroksipropilmetilceluloza i karboksimetilceluloza. Sve ove vrste daju filmove veoma dobrih osobina. Koriste se za pakovanje hrane koju pre svega treba zaštititi od migracije kiseonika, masti i vode.

### **Jestivi filmovi na bazi lipida**

Lipidne komponente se već dugi niz godina koriste kao zaštitni omotači, ali obzirom da oni nisu polimeri, nemaju sposobnost da grade koherentne samostalne filmove. Mogu da poboljšaju sjaj površine polimera i, pošto su uglavnom nepolarne supstance, poboljšavaju barijerna svojstva prema vodi. Voskovi, kao što su karnaube vosak i parafin, kao i razne vrste lipida iz povrća koriste se u komercijalne svrhe još od tridesetih godina XX veka, kao omotači svežeg voća i povrća. Generalno, filmovi na bazi voskova imaju najviši stepen otpornosti prema migraciji vlage u odnosu na sve druge lipidne i nelipidne filmove. Filmovi na bazi voskova, masti i ulja se veoma teško primenjuju zbog svoje debljine i masne površine a takođe mogu imati i izražen ukus na mast.

Mono-, di- i trigliceridi su mono-, di- i triestri glicerina sa masnim kiselinama i koriste se kao omotači ako sadrže acetilovane gliceride. Ove filmove karakterišu nezadovoljavajuće senzorne osobine, tendencija ka lomljenju prilikom skladištenja u uslovima hlađenja i zamrzavanja, apsorpcija stranih mirisa, i ostavljanje neprijatnog kiselog ili gorkog ukusa.

### **Jestivi filmovi na bazi proteina**

Jestivi filmovi na bazi proteina proizvode se od biljnih i životinjskih proteina, kao što su kolagen, želatin, gluten, kukuruzni škrob, proteini soje, kazein. Zbog svoje hidrofilnosti i značajnog sadržaja hidrofilnih plastifikatora, kao što su glicerol ili sorbitol, proteinski filmovi imaju ograničenu otpornost prema migraciji vlage. S druge strane, imaju veoma dobra barijerna svojstva prema kiseoniku, pri niskoj relativnoj vlažnosti. Kada se koriste kao omotači proizvoda od mesa, proteinski materijali su osetljivi na dejstvo proteolitičkih enzima koji se nalaze u hrani. Obzirom da broj ljudi koji su alergični na pojedine proteine, kao što su proteini mleka, belanceta, kikirikija, pšenice i soje, jestivi filmovi na bazi proteina moraju biti strogo deklarirani.

Jestivi filmovi na bazi proteina imaju, uopšteno, bolje mehaničke i barijerne osobine nego ostale vrste filmova (18). Proteini se sastoje od oko 20 različitih aminokiselina specifične strukture koje omogućavaju razne varijacije povezivanja. To rezultuje različitim funkcionalnim karakteristikama dobijenih filmova, posebno u odnosu na polisaharidne filmove koji su uglavnom homopolimeri. Osim toga, hemijski tretman modifikovanja funkcionalnih karakteristika lakše je primenljiv na proteinsku sirovinu nego na polisaharidnu, tako da se proteinski filmovi mogu mnogo bolje i lakše prilagođavati potrebama određenog proizvoda (19).

Osobine proteinskih filmova najviše zavise od sekvencije aminokiselina u lancima proteina, i strukture proteina – globularne

ili fibrilarne.

### Mehanizam formiranja strukture biofilmova na bazi proteina

Filmovi na bazi proteina se formiraju u tri osnovna koraka, kao što je prikazano na slici 1 (20). To su:

1) Denaturacija proteina – podrazumeva raskidanje intermolekulskih veza (kovalentnih i nekovalentnih) koje stabilizuju polimernu strukturu u nativnoj formi, korišćenjem fizičkih ili hemijskih agenasa (rastvaranje ili termički tretman). Ovim proteinski lanci postaju mobilni.  
2) Orijentacija proteinskih lanaca u željenu formu;

3) Agregacija proteina – obuhvata formiranje novih intermolekulskih veza i interakcija radi stabilizovanja nove trodimenzionalne strukture. Struktura se stabilizuje hidrofobnom interakcijom, vodoničnim vezama, disulfidnim vezama, itd (21). Faktori koji utiču na tok agregacije su vrsta proteina i pH vrednost rastvora posle koraka 2). Operacija agregacije proteina podrazumeva primenu tretmana suprotnog od onog u koraku 1), a to su isparavanje rastvarača ili hlađenje.

Slika 1 – Mehanizam formiranja filmova (20)

Na osnovu ova tri koraka, najčešće korišćen proces formiranja filmova se sastoji u razgradnji i rastvaranju proteina u različitim rastvaračima, zatim na kalupljenju rastvora i, na kraju, sušenju. Ovaj proces se intenzivno proučava i primenjuje za proizvodnju proteinskih filmova, posebno na bazi miofibrilarnih proteina mesa (18). Osobine dobijenih filmova zavise od vrste proteina, njihove koncentracije, uslova rastvaranja, dodatka

plastizera

itd.

### Faktori koji utiču na osobine proteinskih biofilmova

Osobine proteinskih biofilmova zavise od raznih činilaca koji deluju u različitim fazama formiranja filma. Tako, one zavise od vrste proteina, uslova njihove denaturacije, dodatka agenasa za poboljšavanje osobina gotovih filmova, itd (27). Najvažniji faktori koji utiču na formiranje svojstava jestivih proteinskih filmova su:

- pH rastvora;
- plastifikatori;
- vezivna sredstva i
- lipidi.

#### 1) Uticaj pH vrednosti

Proteini su molekuli koji se sastoje od polarnih i nepolarnih ostataka aminokiselina. Rastvorljivost proteina je osnovni preduslov da bi uopšte moglo da se govori o formiranju filmova, a ona zavisi direktno od pH vrednosti sredine. Ova zavisnost je posledica polijonskog karaktera molekula proteina. Pri pH vrednostima višim ili nižim od izoelektrične tačke, suma naelektrisanja proteinskih molekula nije jednaka nuli, što rezultuje njihovim međusobnim odbijanjem. Odbijanjem molekula proteina, molekuli vode se probijaju između njih i rastvaraju proteinsku strukturu. Kada je pH vrednost sredine jednaka izoelektričnoj tački, broj pozitivnih i negativnih naelektrisanja je jednak, molekuli se, kao veliki dipoli, orjentišu u položaje u kojima se privlače, sile elektrostatičkog odbijanja izostaju, i proteini precipitiraju (28). Dakle, pri vrednosti pH jednakoj IET, proteini nisu rastvorljivi, prema tome, pri ovim vrednostima ne možemo proizvesti rastvor za dobijanje filmova.

Izoelektrična tačka miofibrilarnih proteina je oko pH 5 (29). Zbog toga se za rastvaranje proteina koriste vrednosti pH manje od 3 i veće od 7, jer su vrednosti između njih suviše blizu IET, što se manifestuje slabim rastvaranjem. Sa porastom pH vrednosti zatezna jačina filмова se menja, dok izduženje pri kidanju ne pokazuje zavisnost od pH sredine. Miofibrilarni proteini rastvoreni u jakoj kiseloj i baznoj sredini imaju jaku mrežastu strukturu, a njihova transparentnost je gotovo jednaka sintetičkim filmovima. Uticaj pH vrednosti na osobine gotovih filmova je jedna od oblasti ispitivanja u ovom radu.

## 2) Uticaj plastifikatora

Pored makromolekula koji čine mrežastu strukturu filma i vode, u rastvoru za formiranje filma se nalazi još i određena količina plastifikatora. Molekuli plastifikatora su neophodni za proizvodnju filmova, jer se njihovim dodavanjem izbegava neminovna krtošć filmova koja je rezultat formiranja snažnih veza između molekula proteina (30). Naime, molekuli proteina su skloni formiranju veoma jakih kovalentnih veza, disulfidnih mostova, vodoničnih veza i sl, što rezultuje veoma jakom strukturom koja je veoma krta, i pri najmanjem dejstvu sile dolazi do njenog

lomljenja. Jasno je da se ovo mora sprečiti ako želimo da filmove koristimo u svojstvu ambalažnih materijala. Dodatkom molekula plastifikatora, oni bivaju inkorporirani u strukturu proteina, ometajući formiranje jakih veza na pojedinim mestima. Zbog toga, na mestima gde se nalaze molekuli plastifikatora ne dolazi do formiranja veze, a budući da su oni homogeno raspoređeni u celoj strukturi - rezultat je pojava savitljivosti i rastegljivosti filma (31). Varijacije plastifikatora koji se najčešće koriste za proizvodnju jestivih filmova uključuju glicerol, polietilen glikol (PEG), sorbitol, propilen glikol (PG), etilen glikol (EG), neke monosaharide, disaharide i oligosaharide, lipide i njihove derivate (32, 33). Uopšteno, dodavanjem plastifikatora, smanjuje se mehanička otpornost filmova, a raste elastičnost i propustljivost vodene pare.

Glicerol pokazuje najbolje osobine kao plastifikator, jer daje najbolje mehaničke osobine filmova, upoređujući sa sorbitolom, PG i PEG, i nešto slabiju propustljivost vodene pare. Osim toga, plastifikatori utiču i na homogenost filmova (34). Pregled svojstava različitih plastifikatora primenjenih za proizvodnju filmova od proteina suncokreta i njihov uticaj na homogenost, dat je u tabeli 1 (34):

**Tabela 1** – Homogenost filma na bazi proteina suncokreta i efikasnost različitih vrsta plastifikatora

Vrsta plastifikatora	Homogenost filma (1)	Efikasnost plastifikatora(2)
Glicerol	+++	+++
Etilen glikol	+++	+++

Dietilen glikol	+++	+++
Trietilen glikol	+++	+++
Tetraetilen glikol	+	+
Polietilen glikol 400	-	-
Polietilen glikol 1000	-	-
Polietilen glikol 3000	-	-
Propilen glikol	+	+++
Polipropilen glikol 400	-	0
Polipropilen glikol 1000	-	-
Polipropilen glikol 3000	-	-

(1) – Homogenost filma:

„+++“ – glatka, homogena struktura;

„0“ – zrnasta površina;

„-“ – nehomogena struktura

(2) – Efikasnost plastifikatora:

„+++“ – zadovoljavajuća elastičnost;

„0“ – otporna ali lomljiva struktura;

„-“ – krta struktura

Uticaj plastifikatora na osobine jestivih proteinskih biofilmova je jedna od oblasti ispitivanja u ovom radu.

### 3) Uticaj vezivnih sredstava

Modifikovanje funkcionalnih karakteristika filmova moguće je putem različitih fizičkih, hemijskih i enzimatskih agenasa (17). Vezivni agensi, kao što su glutaraldehyd, glioksal i formaldehyd, koriste se za premošćavanje veza između molekula proteina. Proteini sadrže bočne funkcionalne grupe koje se mogu modifikovati tako da grade određene vrste veza. Vezivna sredstva imaju sposobnost

da grade kovalentne intra- i intermolekulske veze između proteinskih lanaca (35). Ove supstance služe za poboljšavanje strukture polimernog matriksa, posebno u smislu poboljšanja mehaničkih osobina. Najefikasniji u tom pogledu je formaldehyd.

Mehaničke osobine proteinskih filmova mogu biti poboljšane pomoću transglutaminaze koja katalizuje formiranje intra- i intermolekulskih kovalentnih veza molekula proteina, što rezultuje većom zateznom jačinom filmova. Istovremeno, transglutaminaza povećava propustljivost vodene pare.

#### 4) Uticaj lipida

Lipidi su nepolarne hidrofobne supstance koje se veoma široko koriste kao barijera migraciji vlage (36). Inkorporiranje različitih lipida u proteinsku strukturu filmova rezultuje smanjenjem propustljivosti vodene pare. Ono od čega zavisi ovaj uticaj jeste vrsta lipida i veličina njihovih čestica u strukturi. Inkorporiranjem lipida, ulja, masnih kiselina i voskova u proteinski rastvor pre sušenja daje film u vidu emulzije koja ima manju PVP. Ova osobina je direktno zavisna od dužine lanca i stepena zasićenosti masnih kiselina. Na primer, jedna dvostruka veza u ugljovodoničnom nizu povećava PVP sa 2.2 g/m<sup>2</sup> po danu (stearinska kiselina, C18:0, čvrsta na 25°C) do preko 190 g/m<sup>2</sup> po danu (oleinska kiselina, C18:1, tečna na 25°C). Supstitucija glicerola molekulom masne

kiseline sa 6 do 12 atoma ugljenika poboljšava barijerna svojstva filmova prema vlazi.

#### Osobine jestivih proteinskih biofilmova

##### 1) Barijerne osobine

Osnovne prednosti proteinskih filmova jesu odlična barijerna svojstva prema kiseoniku i ugljendioksidu (13), ali s druge strane, slabija barijerna svojstva prema vodi (22). Proteinski filmovi imaju slabu otpornost prema migraciji vode zahvaljujući polarnosti molekula proteina i prisustvu polarnih molekula plastifikatora, koji se dodaju da bi poboljšali fleksibilnost filma (23). Barijerna svojstva variraju zbog vrste proteina, što najviše zavisi od njihovog aminokiselinskog sastava, što se vidi u tabeli 2 (18):

**Tabela 2** – Propustljivost vodene pare (PVP) različitih vrsta filmova

Osnova filma	PVP	Temperatura [°C]	Debljina [μm]	Relativna vlažnost [%]
Natrijum-kazeinat	24,7	25	-	100-00
Proteini soje (pH 3)	23	25	83	100-50
Proteini kukuruza	6,45	21	200	85-00
Pšenični gluten	5,08	30	50	100-00
Miofibrilarni proteini	3,91	25	60	100-00

2) **Mehaničke osobine**  
 Generalno, mehaničke osobine proteinskih filmova su lošije nego mehaničke osobine sintetičkih filmova. Na ovo utiče nekoliko faktora: površinski napon, hidrofobnost, dužina proteinskih lanaca, itd. Vodonične veze koje se formiraju između proteina

imaju veliku ulogu u vrednostima zatezne jačine pojedinih vrsta filmova. Vrsta i koncentracija plastifikatora ima gotovo presudnu ulogu za mehaničke osobine filmova. Na primer, filmovi proizvedeni od proteina belanceta sa višim sadržajem glicerola imaju i veću vrednost za izduženje pri kidanju (24, 25).

Filmovi proizvedeni od izolata proteina soje sa 10% oleinske kiseline imaju vrednost izduženja pri kidanju 228%, nasuprot kontrolnim filmovima koji ne sadrže oleinsku kiselinu i imaju ovu vrednost 70%. Lipidi i masne kiseline

uopšteno smanjuju stepen integracije proteina, što vodi smanjenju zatezne jačine. Filmovi na bazi miofibrilarnih proteina imaju veću zateznu jačinu a manje izduženje pri kidanju u odnosu na druge filmove, što je prikazano u tabeli 3 (25). Koncentracija i raspored veza između proteina, diktirana od strane raskinutih veza nativne forme, vrši veliki uticaj na mehaničke osobine ovih proteinskih filmova.

**Tabela 3** – Zatezna jačina (ZJ) i izduženje pri kidanju (IPK) različitih vrsta filmova

Osnova filma	ZJ [MPa]	IPK [%]	Debljina [ $\mu\text{m}$ ]
Miofibrilarni proteini ribe	17	23	34
Izolat proteina pšenice	14	31	110
Proteini soje (pH 9)	3,6	160	83
Pšenični gluten (pH 11)	3,3	192	150
Proteini kukuruza	3,9	213	67

plastifikatora povećava rastvorljivost filmova u vodi (26).

### 3) **Rastvorljivost filmova**

Rastvorljivost filmova je veoma važna osobina jer od nje zavisi mogućnost primene za pakovanje određenih proizvoda. Visokomolekularni proteini su nerastvorni ili neznatno rastvorni u vodi, pa se od njih mogu proizvoditi voodotporni ambalažni materijali. Niskomolekularni proteinski lanci, kakvi su monomeri ili kratki peptidi, koji nastaju prilikom rastvaranja nativnih proteina, imobilizovani su u strukturi filma i čine proteinsku komponentu koja se rastvara u vodi. Nezavisno od tipa plastifikatora, porastom njegove koncentracije povećava se sadržaj suve rastvorljive materije u filmu, pa time i sama rastvorljivost filmova raste. To se može uopštiti, dakle, sadržaj

### **Promene osobina jestivih biofilmova tokom skladištenja**

Prirodni polimeri su mnogo manje stabilni od svih sintetičkih materijala. Korišćenje biopolimera kao samostalnog materijala za pakovanje hrane je teško izvodljivo jer osnovne osobine jestivih polimera u mnogome zavise od uslova spoljašnje

sredine, pre svega temperature i relativne vlažnosti. Rastvorljivost u vodi i mehaničke osobine filmova na bazi miofibrilarnih proteina se ne menjaju 8



nedelja na 20°C i 58% relativne vlažnosti (18). Tokom tog vremena filmovi lagano poprimaju žućkastu boju. Filmovi proizvedeni od kazeina tretiranog trietanolaminom postaju tamno braon i manje otporni posle 1 godine skladištenja na 25°C i 65% relativne vlažnosti (37).

Glicerol može lagano da migrira ka površini glutenskog filma, iako je bio veoma dobro dispergovan prilikom pripremanja rastvora za proizvodnju filмова (38). Film na bazi izolata proteina soje podleže različitim promenama tokom skladištenja na 25°C, zavisno od sadržaja vlage u okolini. Stepenn degradacije ove vrste filмова je veći na 25°C nego na 15°C, ali promene filмова u ovom slučaju daleko više zavise od vlage nego od temperature.

#### **Primena jestivih biofilмова za pakovanje prehrambenih proizvoda**

Proteinski filmovi i omotači nisu zamena za nejestive filmove i omotače. Njihova uloga je da poboljšaju kvalitet hrane i produže njen rok trajanja, tako što redukuju migraciju vlage i kiseonika, štite od dejstva mikroorganizama, čuvaju integritet proizvoda i poboljšavaju njegov izgled. Na primer, glutenski rastvor raspršivanjem nanet na A klasu jaja daje veoma efikasan jestivi omotač koji produžava rok trajanja jaja za 7 dana na sobnoj temperaturi u odnosu na jaja u lipidnom omotaču ili jaja bez omotača (39). Polupripremljeni goveđi odresci u omotaču od jestivog pšeničnog glutena,

proteina soje, karagenana ili citozana, pokazuju smanjenje nastajanja tiobarbiturne kiseline u periodu od 3 dana skladištenja u frižideru (40). Filmovi od acetilmonoglicerid kazeinata uspešno se koriste za pakovanje oljuštenih šargarepa, jer to beleži smanjenu migraciju vlage. Ovi filmovi se, u vidu emulzije, nanose i na jabuke i koren celera. Smrznuti losos, upakovan u glutenski omotač sa lipidima, pokazuje smanjenje gubitka vlage za 42-65% tokom tri nedelje skladištenja na -23°C. Kivi, upakovan u film od izolata proteina soje sa stearinskom kiselinom ima čak tri puta duži rok trajanja u odnosu na kontrolne uzorke.

Jedan od najzanimljivijih i veoma značajnih načina primene jestivih filмова jeste upotreba filмова na bazi sojinih proteina za smanjenje upijanja masti prilikom prženja različitih namirnica. Krofne, umotane pre prženja u omotač, sadržale su 55% manje masnoće nego one što su pržene neupakovane. Senzornom analizom pomfrita prženog u omotaču i bez njega došlo se do rezultata da to nema uticaja na ukus i aromu. Odresci hleba, upakovani u kazeinski film ostaju meki 6 časova duže nego neupakovani.

Filmovi na bazi miofibrilarnih proteina mogu se koristiti za pakovanje ribe i mesa, jer pružaju dobru zaštitu od oksidacije i dehidratacije tokom skladištenja. Osim toga, proteinski filmovi mogu se koristiti kao omotači za kobasice, kao zamena za kolagenske i celulozne omotače koji se odavno koriste. Moguća primena nekih vrsta proteinskih filмова data je u tabeli 4 (41):

**Tabela 4.** Moguća primena nekih vrsta proteinskih filмова

Osnova filma	ZJ [MPa]	IPK [%]	Debljina [μm]

Miofibrilarni proteini ribe	17	23	34
Izolat proteina pšenice	14	31	110
Proteini soje (pH 9)	3,6	160	83
Pšenični gluten (pH 11)	3,3	192	150
Proteini kukuruza	3,9	213	67

## Pcr - Primena molekularnih markera u prehrambenoj industriji

Autor: dipl. biolog - master *Vladimir Vukić*

1. [Mesni proizvodi](#)
  1. [Morski plodovi](#)
  2. [Mlečni proizvodi](#)
  3. [Biljna hrana](#)
  4. [Genetički modificirani organizmi \(GMO\)](#)
2. [Literatura](#)

PCR tehnologija je uspešno primenjena u detekciji sastojaka životinjskog porekla u mesnim, mlečnim i ribljim proizvodima. PCR je veoma bitan i kod ispitivanja hrane biljnog porekla, naročito za detekciju genetički modificiranih organizama (GMO).

### *Mesni proizvodi*

Najčešća zloupotreba u proizvodnji mesnih proizvoda je dodavanje svinjskog mesa goveđem radi ekonomske dobiti. To može imati zdravstvene posledice po potrošače. Ukoliko je osoba alergična na svinjsko meso, može imati ozbiljne zdravstvene

probleme. Takođe, osobe muslimanske veroispovesti iz verskih razloga ne konzumiraju svinjsko meso. Prisustvo svinjske DNK je otkriveno upotrebom prajmera za gen koji determiniše svinjski hormon rasta, omogućavajući detekciju prisustva svinjskog mesa sa pragom detekcije ispod 2 % masenog udela. Korišćenjem prajmera za citohrom *b*

mitohondrijalne DNK i upotrebom restrikcioni enzima (PCR-RFLP) dobijeni su markeri za svinjsko, goveđe, bivolsko, ovčije, kozije, konjsko, kokošije i ćureće meso u obrađenim, začinjanim i fermentisanim proizvodima (*Meyer i sar. 1995*). Prag detekcije je ispod 1 % masenog udela. Detekcija svinjskog mesa je takođe uspešna i umnožavanjem D-loop i 12S rRNK mitohondrijalne DNK u mlevenom mesu, uključujući sušene i termički obrađene proizvode (*Montiel-Sosa i sar. 2000*) (Tab. 4).

Upotrebom repetitivnih elemenata SINE i primenom semikvantitativne PCR tehnike svinjsko meso se može detektovati sa pragom detekcije od oko 0,005 % masenog udela. Real-time PCR eseji specifični za vrstu su uspešno korišćeni za detekciju

goveđeg, svinjskog, jagnječeg, kokošijeg i ćurećeg mesa, sa pragom detekcije od 0,1 % masenog udela. Kvantitativno određivanje svinjskog mesa u mlevenom mesu je postignuto upotrebom QC-PCR-a i real-time PCR-a sa TaqMan probama (*Wolf i Lüthy 2001*).

Meso divljači je zbog skupocenosti na tržištu često meta lažnog obeležavanja.

Usled toga je razvijena PCR-RFLP tehnika koja koristeći dve endonukleaze može da otkrije 25 vrsta divljači (*Wolf i Rentsch 1999*). Mutsunaga i sar. (1999) su razvili brzu i jednostavnu metodu za otkrivanje mesa poreklom od šest vrsta (goveče, svinja, ovca, kokoška, koza i konj) upotrebom multipleks PCR-a i mitohondrijskog gena za citohrom *b* kao marker.

**Tabela 4: Metode za proveru ispravnosti mesnih proizvoda zasnovane na PCR-u**

Prehrambeni proizvod	Vrsta	Tehnika	Marker gen	Prag detekcije
goveđe meso	svinja	PCR-RFLP	cytohrom b	<1%
		PCR-RFLP	D-loop	5%
		PCR-RFLP	cytohrom b	nema podataka
		PCR specifična za vrstu	12 S rRNK	nema podataka
		PCR specifična za vrstu	SINE	0.05 %
		QC-PCR/PCR-RFLP	hormon rasta	0,1%, 100 pg
		real-time PCR	12 S rRNK	0,1%, 100 ng
divljač	25 vrsta divljači	PCR-RFLP	cytohrom b	nema podataka

	crveni jelen, jelen lopatar, srna, goveče, ovca, koza	PCR-RFLP	12 S rRNK	nema podataka
kuvani mesni proizvodi	goveče, svinja, kokoška, ovca koza, konj	multipleks PCR	cytochrom b	0,25 ng DNK
	goveče, svinja, jagnje, kokoška i ćurka	real-time PCR	cytochrom b	0.1-0,5 %

### ***Morski plodovi***

Potrošnja morske hrane u svetu raste sa promenom ljudske svesti o povezanosti ishrane i zdravlja. Sličnosti između vrsta otežavaju identifikaciju vrsta. Šta više, većina vrsta se prodaje bez karakterističnih morfoloških karaktera što praktično onemogućuje njihovu identifikaciju.

Metode zasnovane na PCR-u (Tab. 5) koje se primenjuju pri identifikaciji ribljih vrsta uključuju: PCR-RFLP (*Asensio i sar. 2000; Asensio i sar. 2001*), PCR-SSCP (*Asensio i sar. 2001*), RAPD (*Asensio i sar. 2002*) prajmeri PCR-a specifični za vrstu (*Céspedes i sar. 1999*) i sekvencioniranje umnoženih delova DNK (*Asensio i sar. 2000*).

Najčešće korišćeni marker za identifikaciju ribljih vrsta je gen za cytochrom b. Upotrebom gena za cytochrom b može se identifikovati deset različitih vrsta

pastrmki. Veoma česta prevara na tržištu ribe je prodavanje niskog grgeča (*Lates niloticus*) umesto skupocenih vrsta *Epinephelus guaza* ili *Polyprion americanus*. Usled toga je razvijeno nekoliko tehnika pomoću kojih se ove vrste mogu razlikovati. PCR umnožavanje gena za  $\alpha$  aktin u kombinaciji sa dve restriktivne endonukleaze omogućuje razlikovanje nilskog grgeča od *Polyprion americanus* (*Asensio i sar. 2001*). Razlike između tri vrste su takođe postignute upotrebom PCR-RFLP (*Asensio i sar. 2000*), PCR-SSCP (*Asensio i sar. 2001*) i RAPD (*Asensio i sar. 2002*) metoda.

Tuna je najprodavanija riba u svetu. Tuna obuhvata rodove *Thunus*, *Sarda*, *Katsuvonus* i *Euthynnus*. Različite vrste imaju različitu tržišnu cenu u zavisnosti od zemlje u kojoj se prodaju. Uklanjanje morfoloških karakteristika filetiranjem ili drugim procesima, i termička obrada (denaturacija proteina) kojoj podležu svi konzervirani proizvodi, ostavljaju molekularne markere kao jedinu mogućnost identifikacije. Temperaturni tretman degradira DNK molekule na 100 –

200 baznih parova. Analiza gena za citohrom *b* sekvencioniranjem ili RFLP metodom omogućuje razlikovanje

*Thunnus albacares*, *T. alabunga* i *Euthinus affinis* u konzerviranom stanju.

**Tabela 5: Metode za proveru ispravnosti ribljih proizvoda zasnovane na PCR-u**

Prehrambeni proizvod	Vrsta	Tehnika	Marker gen
Sirovo i prženo	List riba	PCR specifična a vrstu	5 S rRNK
	Sarranidae	PCR-RFLP	12 S rRNK
		RAPD	
		PCR-RFLP	$\alpha$ -aktin
		PCR-SSCP	12 S rRNK
Sirovo, dimljeno i konzervirano	jegulja i skuša	PCR-RFLP/ PCR-SSCP	cytochrom b
sirovo, smrznuto, usoljeno, termički obrađeno	Gadidae	PCR-RFLP	cytochrom b
		PCR sekvencioniranje /RFLP	Mitohondrijalni kontrolni region

### **Mlečni proizvodi**

Kontrola sadržaja mlečnih proizvoda je veoma važna zbog učestalih nečistoća koje podrazumevaju dodavanje manje kvalitetnog i jeftinijeg mleka visokokvalitetnom i skupljem. Identifikacija porekla mleka je naročito važna pri proizvodnji sireva od čistih, retkih i skupih rasa stoke (Tab. 6).

Razvijeno je nekoliko PCR metoda koje omogućavaju identifikaciju porekla mleka (kravlje, kozije, ovčije, bivolsko) (*Bania i sar. 2001*). Identifikacija se može vršiti i

kod termički obrađenih proizvoda kao što su pasterizovano, ultrapasterizovano ili mleko u prahu, kao i kod sireva. Najjednostavniji metod je PCR umnožavanje gena za  $\beta$ -kazein (*Plath i sar. 1997*). Međutim, trenutna saznanja ukazuju da mitohondijska DNK može biti pogodnija za ispitivanja ovog tipa. Mitohondijska DNK poseduje sekvence karakteristične za vrstu, što je čini veoma pogodnom za njihovu identifikaciju. Takođe, broj prisutnih kopija je oko hiljadu puta viši od broja kopija nuklearne DNK, što omogućuje njihovu lakšu detekciju. Kombinovanje PCR-a sa drugim metodama kao što su PCR-RFLP ili PCR-

SSCP omogućuje detekciju kravljeg mleka u ovčijim i kozijim sirevima sa pragom detekcije od 0,5 % masenog udela. Međutim, mitohondrijski geni su se pokazali pogodnijim i preciznijim za detekciju nečistoća u mleku, snižavajući prag na 0,1 % masenog udela. Upotreba mitohondrijskih gena za 12S rRNK omogućuje otkrivanje prisustva kravljeg mleka u mešavini ovčijeg i kozijeg (Maudet i Taberlet 2001).

Jedan od najpoznatijih italijanskih sireva mocarela, pravi se od čistog bivolskog mleka (*Bubalus bubalis*). S obzirom na visoku cenu bivolskog mleka, proizvođači često dodaju kravlje, i na taj način stižu ekonomsku dobit na račun svojih potrošača. Razvijeno je nekoliko PCR tehnika za otkrivanje ovakvih zloupotreba. Umnožavanje gena za citohrom b omogućuje otkrivanje kravljeg mleka u mocareli sa pragom detekcije od 0,1 % masenog udela (Lopez-Caljeja i sar. 2005). Otkriveno je da u 22 od 30 uzoraka ima prisustva kravljeg mleka. Upotrebom real-time PCR tehnike potvrđeno je da

većina mocarela sireva sadrže primese kravljeg mleka (Lopparelli i sar. 2007).

Upotrebom gena za mitohondrijske 12S rRNK može se detektovati prisustvo kozijeg mleka u ovčijem siru, sa pragom detekcije od 1 % masenog udela. Ovo je takođe česta prevara zbog niže cene kozijeg mleka (Lopez-Cellaja i sar. 2005). Upotrebom dvostrukih PCR reakcija prag detekcije je snižen na 0,1 % masenog udela. Korišćenjem fluorescentnih boja i upoređivanjem intenziteta fluorescencije određivan je udeo kravljeg mleka u takvim sirevima (Marfa i sar. 2004). Takođe je razvijena i real-time PCR za određivanje udela kravljeg mleka (Lopez-Cellaja i sar. 2007).

Kao marker za određivanje porekla mleka može se koristiti i gen za citohrom b. Komparativnom analizom 92 segmenta gena za citohrom b, dizajnirani su prajmeri specifični za željenu (krava, koza, ovca i bivo) vrstu.

**Tabela 6: Metode za proveru ispravnosti mlečnih proizvoda zasnovane na PCR-u**

Prehrambeni proizvod	Vrsta	Tehnika	Marker gen	Prag detekcije %
Mleko, čisti i mešani sirevi	krava, ovca, koza, bivo	PCR-RFLP	$\beta$ -kazein	0,5
Mocarela sirevi	krava, bivo	dupleks PCR	cytohrom b	1
	5	PCR specifična za vrstu	12 S rRNK	0,1
	6	real-time PCR	cytohrom b / hormon rasta	0,1

Koziji i mešani sirevi	krava	PCR specifična za vrstu	D-loop	0,1
krava, koza	dupleks PCR	12 S rRNK	0,1	
Ovčiji i mešani sirevi	koza, ovca	PCR specifična za vrstu	12 S rRNK	1
Sirovo i termički obrađeno mleko	krava, ovca	PCR specifična za vrstu	12 S rRNK	0,1
	koza, ovca	real-time PCR	12 S rRNK	0,5
	krava, ovca	real-time PCR	12 S rRNK	0,5
Kamember i feta sirevi	krava	PCR specifična za vrstu	citohrom oksidaza II /D-loop/ cytochrom b/12 S RNK	0,5

### **Biljna hrana**

Metode zasnovane na PCR-u imaju važnu ulogu u identifikaciji hrane biljnog porekla, na primer kod: žitarica, leguminoza ili za detekciju različitih alergena (Tab.7). Verovatno najveću primenu imaju u identifikaciji genetički modifikovanih organizama (GMO), uglavnom kod soje i kukuruza.

Pri proizvodnji maslinovog ulja usled termičke obrade i rafinisanja dolazi do delimične degradacije DNK molekula. Međutim, postignuti su zadovoljavajući rezultati, i izolovana je adekvatna količina DNK koja može poslužiti za identifikaciju sorte masline korišćene za proizvodnju ulja. Primenom AFLP metode na takvoj DNK dobijeni su identični rezultati kao i

na DNK izolovanj iz maslina date sorte, što potvrđuje uspešnost metode (**Busconi i sar. 2003**). Sirovina za cedjenje ulja je perikarp masline poreklom od materinskog tkiva, te se za identifikaciju genotipa sagledava molekularni profil genotipa majke. Pri ovim ispitivanjima treba biti veoma oprezan, jer je utvrđeno da postoji mogućnost da se tokom procesa cedjenja ulja, usled loma semena, u uzorku pojavi i „strana“ DNK poreklom od embriona (koja predstavlja deo genotipske kombinacije poreklom od donora polena).

Žitarice kao što su pšenica, ječam ili raž, sadrže rezervne proteine koji se nazivaju gluten. Osobe sa netolerancijom na gluten (celijačna bolest) nisu u mogućnosti da konzumiraju proizvode sa njegovim sadržajem. Kod takvih osoba u tankom crevu dolazi do imunološko toksične

reakcije koja oštećuje mukozu creva. Ishrana bez glutena je esencijalna za ovakve osobe, usled čega je neophodno ispravno obeležiti prehrambene proizvode. Po pravilniku Codex Alimentarius Commission hrana bez glutena se pravi od delova koji ne sadrže gluten više od 0,002 % masenog udela, ili 0,02 % masenog udela suve materije. Metode koje se koriste za detekciju glutena su uglavnom imunoesejske analize (na primer ELISA). Međutim, upotreba PCR tehnike omogućuje detekciju kontaminacije sa pragom od 0,01 % masenog udela, što je oko deset puta osetljivije od ELISA testa (*Köppel i sar. 1998*).

Tradicionalna italijanska pasta se proizvodi od čiste durum (tvrde) pšenice (*Triticum durum* ili *Triticum turgidum subsp. durum*). Međutim, za njeno pravljenje često se upotrebljava meka pšenica (*Triticum aestivum*). Upotrebom dvostrukog PCR-a je moguće detektovati obe vrste pšenice sa pragom detekcije od 0,2 % masenog udela (*Arlorio i sar. 2003*). Uspeh je takođe postignut upotrebom mikrosatelita sa pragom detekcije od 3-5 %. Upotrebom real-time PCR-a prag je snižen na 2,5 % i omogućena je kvantifikacija meke pšenice (*Pasqualone i sar. 2007*). Razlikovanje ekonomski važnih vrsta žitarica postignuto je umnožavanjem specifičnim prajmerima hloroplastne trnL intronske sekvence i detektovanjem obeleženim probama (*Ronning i sar. 2005*).

**Tabela 7: Metode za proveru ispravnosti biljnih proizvoda zasnovane na PCR-u**

Prehrambeni proizvod	Vrsta	Tehnika	Marker gen	Prag detekcije
Maslinovo ulje	sorte Olea europea	SSR	mikrosateliti	nema podataka
		AFLP/RAPD		nema podataka
Gluten u hrani	pšenica	PCR specifična	nema podataka	0,1 %

PCR tehnika je našla svoju primenu i u detektovanju prisustva alergena u hrani. Njihovo prisustvo u hrani je neophodno kontrolisati, jer oni mogu izazvati ozbiljne posledice osobi koja je na njih osetljiva. Lešnik se može detektovati prostom upotrebom PCR-a sa specifičnim prajmerima za lešnik sa pragom detekcije od 0,001 % masenog udela (*Holzhauser i sar. 2000*). Takođe se može kombinovati sa probama ili visokopritisnom tečnom hromatografijom (HPLC). Kao probe se koriste PNK probe (protein nukleinska kiselina) koje se od DNK razlikuju u tome što umesto šećer-fosfatnog kostura imaju pseudopeptidni lanac sastavljen od N-aminoetilglicin monomera. Na ovaj način je moguće detektovati količinu DNK lešnika od svega 5 pg.

Kikiriki predstavlja jedan od najproblematičnijih alergena zbog velikog broja alergičnih osoba i jačine reakcije koja se kod njih javlja. PCR esej sa upotrebom TaqMan proba omogućuje specifičnu detekciju sa pragom do 0.0001 % masenog udela. Istraživanja su pokazala da u 13 % neobeležanih proizvoda ima prisustva kikirikija, kojim se uglavnom zamenjuje lešnik (*Stephan i Veiths 2004*). Upotrebom PCR-a i real-time PCR-a je takođe uspešno detektovano prisustvo oraha u hrani sa pragom detekcije od 0,24 ng DNK i 0,01 % masenog udela (*Brezna i sar. 2006*).



		za vrstu		
Hleb, pasta	meka i tvrda pšenica	Dupleks PCR	puroindoline b	0,2 %
		SSR/PCR specifična za vrst/real-time PCR	mikrosateliti	2,5 %
Žitarice	pšenica, raž, ječam, ovas, pirinač, kukuruz	PCR oligonukleotidni mikroerey	hlohoplastni trnL intron	20-40 ng DNK
Alergeni u hrani	lešnik	PCR specifična za vrstu	Cor a 1,0401	0,001 %
		PCR/PNK-HPLC	Cor a 1,0301	5 pg DNK
	kikiriki	real-time PCR	Ara h 2	<0,001%
	orah	real-time PCR	Jug r2	0,24ng DNK /0,01 %

### **Genetički modifikovani organizmi (GMO)**

Od samog početka proizvodnje vodi se naučna debata o bezbednosti upotrebe i neophodnosti obeležavanja genetički modifikovanih organizama u ljudskoj ishrani. Evropska unija je donela zakon po kome je neophodno obeležiti prehrambene proizvode koji sadrže više od 0,9 % masenog udela poreklom od GMO (Regulation (EC) No 1829/2003).

Detekcija GMO se vrši upotrebom specifičnih PCR reakcija (prajmera) koji mogu identifikovati različite delove unešenog genskog konstrukta. Ciljni region može biti promotor, terminacioni signal, sam funkcionalni gen ili mesta vezivanja gena za domaćinsku DNK koja daju najveću preciznost u otkrivanju GMO (*Holst-Jensen i sar.2003*). Kao i uvek

PCR je praćen elektroforetskim razdvajanjem, u ovom slučaju na agaroznom gelu. Identitet fragmenata se može potvrditi i korišćenjem restrikcionih enzima.

Primenom višestrukih PCR reakcija koje se baziraju na istovremenom umnožavanju različitih sekvenci, čime se štedi vreme i smanjuje broj reakcija potrebnih za detekciju prisustva GMO. Na taj način su proizvedeni markeri za otkrivanje genetički modifikovanih sorti kukuruza Bt11, MON810, T25 i GA21 sa preciznošću od 100 % (*Hernandez i sar. 2005*). Razvijena je višestruka DNK mikroerej čip tehnika u kombinaciji sa kolorimetrijskom detekcijom koja omogućuje identifikovanje GMO (*Leimanis i sar. 2006*). Za kvantitativno određivanje GMO trenutno je najpogodniji real-time PCR, a može se upotrebiti i QC-PCR.

## PCR - Modifikacije tehnologije

Autor: dipl. biolog - master *Vladimir Vukić*

1. [PCR/RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism](#)
  1. [PCR/SSCP – Single-strand Conformational Polymorphism](#)
  2. [Sekvencioniranje](#)
  3. [Multiplex PCR](#)
  4. [AFLP – Amplified fragment length polymorphism](#)
  5. [Real-time PCR](#)
  6. [QC/PCR \(quantitative competitive PCR\)](#)
2. [Literatura](#)

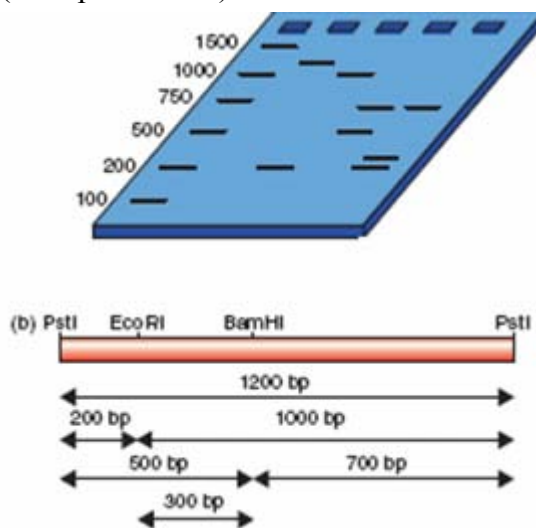
PCR se može kombinovati sa drugim tehnikama i time analizu učiniti još specifičnijom. Umnoženi fragmenti se mogu tretirati endonukleazama (PCR-RFLP), sekvencionirati, analizirati razlike u konformaciji jednolančanih DNK molekula (PCR/SSCP) ili istovremeno umnožiti dva ili više fragmenata sa različitim prajmerima (multiplex PCR).

Takođe se mogu koristiti i tehnike kao što je analiza slučajno umnoženih polimorfnih DNK (RAPD), pri kojoj se koriste kratki, jednosmerni i slučajni prajmeri, analiza mikrosatelita (SSR) ili analiza polimorfnosti dužine umnoženih fragmenata DNK (AFLP).

Jedan od ključnih aspekata pri analizi hrane je i kvantifikacija, naročito kod alergena. Kvantifikacija se vrši putem kvantitativno-kompetitivne PCR (QC-PCR) i real-time PCR (RT-PCR). Upotreba specifičnih proba ili obeleženih prajmera omogućava da se prati tok reakcije i kvantifikuje krajnji produkt.

### *PCR/RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism*

Nakon PCR-a umnožena DNK se tretira restrikcionim enzimima (endonukleazama). Dobijeni fragmenti se razdvajaju elektroforezom. Princip metode je da u zavisnosti od prisutnosti restrikcionih mesta dobijamo DNK fragmente različite dužine (Sl. 2). Poređenjem dva profila može se utvrditi da li su DNK molekuli izolovani iz iste ili različitih vrsta.

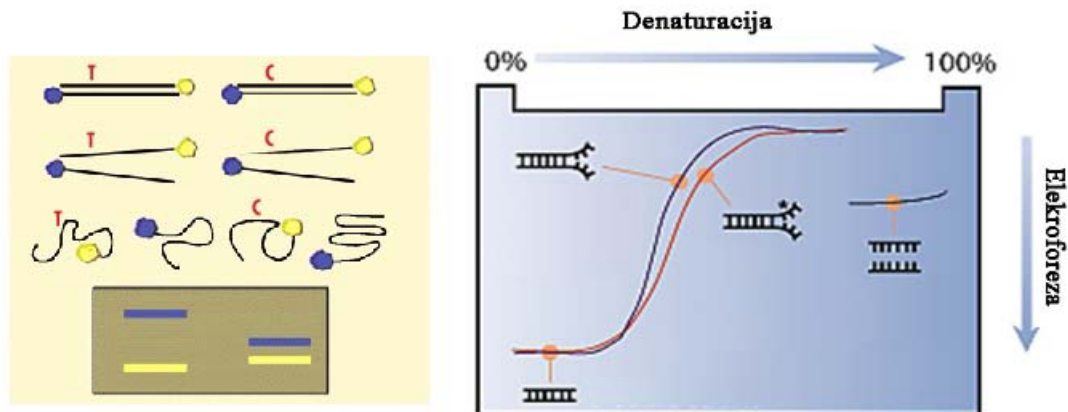


Tretiranje restrikcionim enzimima i razdvajanje na gelu

### **PCR/SSCP – *Single-strand Conformational Polymorphism***

Metoda se zasniva na poređenju pređenog elektroforetskog puta jednolančanih DNK (Sl. 3). Dobijeni PCR produkti se denaturišu zagrevanjem i razdvoje elektroforetski. Usled

razlika u DNK sekvenci, različiti molekuli će imati različiti trodimenzionalni oblik, što će usloviti da se lakše ili teže kreću kroz gel, odnosno pređu različiti put. Prajmere treba odabrati tako da DNK izolovana iz iste vrste pređe isti put, odnosno da budu specifični za vrstu.



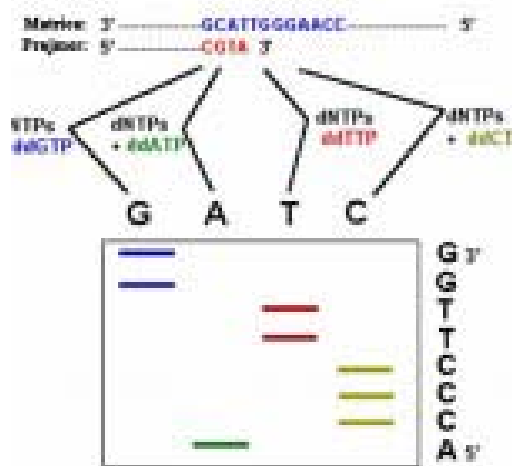
Princip SSCP metode

### ***Sekvencioniranje***

Jedna od mogućih metoda analize nakon PCR umnožavanja je sekvencioniranje produkata Sangerov-ov metodom (Sl 4). Naziva se još i dideoksi sekvencioniranje jer se bazira na prisustvu dideksinukleozid trifosfata (ddNTP), koji se od običnih deksinukleozid trifosfata razlikuju po nedostatku 3' hidroksilne grupe. Metoda se bazira na in vitro sintezi DNK. Kao matrica se koristi DNK čija je sekvenca nepoznata. Poznati prajmer je radioaktivno obeležen. Nezavisno se rade četiri reakcije uz dodatak DNK polimeraze i uobičajenih dNTP, a u svaku se dodaje određeni ddNTP. Princip je da svaki put kada polimeraza ugradi ddNTP prekida dalju sintezu.

reakcija se odvija u sekvencioneru, aparatu koji sve radi automatski od unošenja uzoraka do čitanja rezultata sa gela. Dalji napredak je bio uvođenje četiri različite boje za četiri reakcije, što je omogućilo da se elektroforetsko razdvajanje obavlja na jednom gel sistemu, i na kraju obeležavanje samih ddNTP fluorescentnim bojama, čime je omogućeno da se sve odvija u jednoj reakcionoj smeši i razdvaja na jednom gelu.

Razvojem nauke i tehnologije dati metod je usavršavan. Radioaktivni obeleživači su zamenjeni fluorescentnim bojama, a



Sangerov metod sekvencioniranja

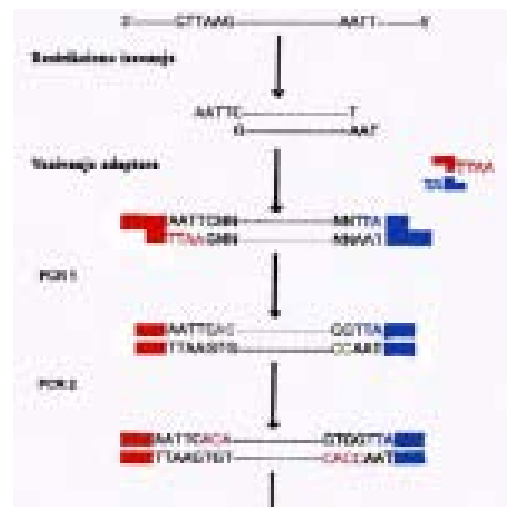
### Multiplex PCR

U jednoj reakcionoj smeši se koristi više prajmera, što omogućuje istovremeno umnožavanje više željenih fragmenata. Na taj način se može istovremeno ispitati prisustvo ili odsustvo više mikroorganizama u prehrambenim proizvodima, ili detektovati tačan kvalitativni sastav pojedinih proizvoda koji su smeša sasatojaka različitog porekla.

### AFLP – Amplified fragment length polymorphism

AFLP metoda kombinuje restrikciono isecanje i PCR (Sl. 5). Prvi korak je da se DNK iseče sa dva tipa restrikcioni enzima: jedan koji prekida lanac češće (prepoznaje restrikciona mesta od 4 bazna para) i drugi koji prekida lanac ređe (prepoznaje restrikciona mesta od 6 baznih parova). Na dobijene fragmente se dodaju specifični adapteri. Prajmeri koji se koriste za umnožavanje imaju komplementarnu sekvencu adapteru i nasumično dodata jedan, dva ili tri nukleotida (A, T, C ili G). Ovo omogućuje specifičnost prajmera i umnožavanje samo jednog dela fragmenata

DNK, na osnovu čega se može utvrditi da li ispitivani uzorak pripada datoj vrsti. PCR umnožavanje se obično izvodi u dva ciklusa. U prvom se adapterima dodaje jedan nukleotid, što dovodi do umnožavanja samo dela fragmenata, a u drugom se dodaju još jedan ili dva, što dovodi do umnožavanja samo dela prethodno umnoženih fragmenata, te povećava specifičnost. AFLP je veoma robustna metoda što je čini pogodnom za upotrebu pri testovima identifikacije genotipova.



Princip AFLP metode

### Real-time PCR

Real-time PCR omogućuje kvantifikaciju umnoženog segmenta DNK, a time i zastupljenost u uzorku. Real-time PCR se razlikuje od obične PCR po tome što ima detektor fluorescencije.

Real Time PCR test omogućuje detekciju i kvantifikaciju umnoženog segmenta DNK u realnom vremenu, u toku amplifikacije uzorka. Postoje tri varijacije ove procedure u smislu finalne detekcije količine PCR proizvoda amplifikacije:

1. Molekularni svetionik – jednolančani segment DNK koji stvara ukosnicu čija se petlja sastoji od baza koje su komplementarne lancu željenog PCR produkta. Krajevi ove strukture sadrže fluorescentnu reporter (R) boju i prigušivač (Q) boju. R ekscitira odgovarajućim svetlosnim signalom, a emitovanu svetlost apsorbira Q, pa se ne detektuje fluorescencija. Tokom PCR-a

2. TaqMan proba ima dva tipa fluorofora (Q i R) koje se nalaze na krajevima ove sekvence (Q na 3' a R na 5' kraju). Q emituje svetlost velike talasne dužine (crvene boje) i time prikriva signal koji emituje R (mala talasna dužina, zelene boje). To se postiže putem transfer fluorescentne rezonantne energije koja predstavlja inhibiciju jedne boje drugom bez emisije protona. Proba se vezuje za ciljnu DNK, nakon čega Taq polimeraza sintetizira komplementaran lanac počevši od prajmera uklanjajući vezanu TaqMan probu koja joj se nađe na putu. Tako se odvajaju i R i Q pa se sa R emituje energija koja se kvantifikuje (Sl. 7).

3. SYBR Green metoda se prva koristila za Real Time PCR, vezuje se za DNK i emituje zelenu svetlost u pobuđenom stanju (pobuđuje se plavom svetlošću). Nivo emisije fluorescencije je proporcionalan zastupljenosti ciljnih sekvenci u uzorku. Koncentracija DNK je

novosintetisani lanci se na visokoj temperaturi denaturišu, te se narušava i struktura ukosnice. Pri snižavanju temperature radi vezivanja prajmera, svetionik se komplementarno vezuje sa nekim PCR produktima (Sl. 6). Ukoliko se PCR produkt vezao, onemogućeno je Q elementu da priguši fluorescenciju i emitovana svetlost se detektuje detektorom fluorescencije.

proporcionalna broju ciklusa u toku eksponencijalne faze PCR reakcije. Svaka analiza sadržaja ciljne sekvence u uzorku uključuje i seriju standarda, pa se na osnovu toga može odrediti njen udeo pomoću standardne krive.

#### ***QC/PCR (quantitative competitive PCR)***

Kod kvantitativno kompetitivne PCR procedure količina ciljne sekvence u uzorku se određuje poređenjem količine umnožene ciljne DNK sa kompetitivnim standardom. Koncentracija kompetitorne DNK koja se dodaje je poznata i ona koamplificira sa DNK koja se ispituje. Prajmer se vezuje i za DNK kompetitora, ali na drugim mestima, pa se dobija fragment različite veličine u odnosu na ciljni uzorak, što omogućuje razdvajanje na gelu. Ukoliko je intenzitet trake PCR proizvoda isti onda je početna količina DNK jednaka količini kompetitorne DNK.

## **PCR zasnovani markeri**

Autor: dipl. biolog - master Vladimir Vukić

1. [Genske sekvence](#)
  1. [Intergenske sekvence](#)
2. [Literatura](#)

Kao markeri se mogu koristiti genske, intergenske ili slučajne sekvence DNK. Odabir markera zavisi od cilja rada, uzorka koji se ispituje i od tehničkih mogućnosti laboratorije. Marker koji se koriste za identifikaciju vrsta razlikuju se u zavisnosti od biologije vrste i njihove evolutivne udaljenosti. Odabir markera zavisi i od nivoa genetičkih informacija koje posedujemo za date vrste. Potrebno je

utvrditi markere specifične za vrstu i upotrebom odgovarajućih prajmera proveriti prisutnost u uzorku.

### Genske sekvence

Genske sekvence koje se koriste kao markeri mogu biti poreklom iz nuklearnog, mitohondrijskog i hloroplastnog (ukoliko dati organizam poseduje hloroplaste) genoma. Genske sekvence evoluiraju različitim brzinama, npr. geni za ribozomalne RNK i proteine evoluiraju veoma sporo i pogodni su za filogenetska istraživanja na različitim nivoima. U prehrambenoj industriji se najčešće koriste:

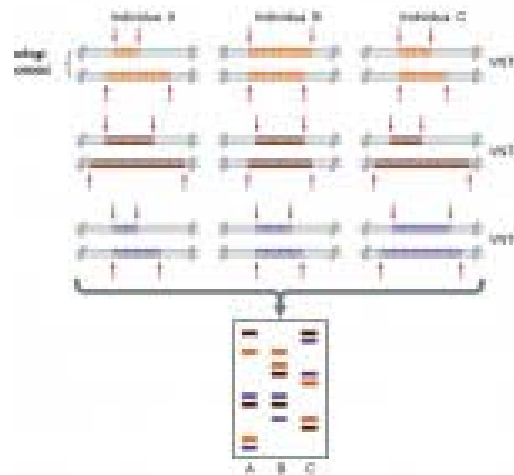
- mitohondrijalni geni za citohrom b, 12 S rRNK, 16 S rRNK, citohrom oksidazu i D petlja
- nuklearni geni za 18 S rRNK, 5S rRNK,  $\alpha$ -aktin  $\beta$ -kazein (za mlečne proizvode)

### Intergenske sekvence

#### - Mikrosateliti (SSR – Simple Sequence Repeats)

Mikrosateliti su segmenti DNK sačinjeni od nekoliko uzastopno ponovljivih motiva koji se sastoje od 1-10 baznih parova. Zastupljeni su ravnomerno u genomu svih eukariota i visoko polimorfni (Sl. 8). Sreću se još i nazivi Sequence-Tagged Microsatellite Sites (STMS) Simple Sequence Repeat Polymorphisms (SSRPs).

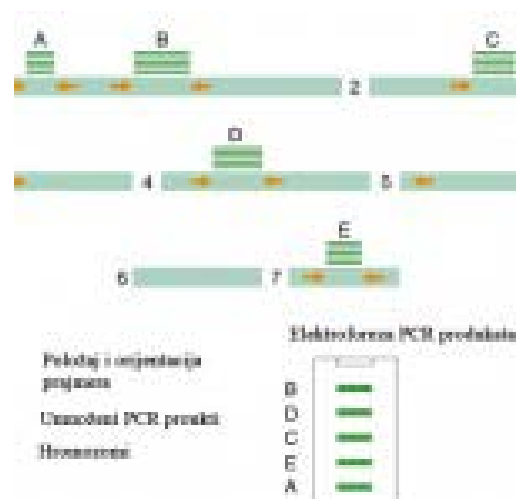
Regioni susedni mikrosatelitima mogu biti jedinstveni, što omogućuje sintezu prajmera specifičnih za dati lokus. Nasleđuju se kodominantno, što znači da se mogu detektovati heterozigoti. Date osobine omogućuju da se primenom standarda identifikuje pripadnost datoj vrsti.



Razlike u mikrosatelitskim sekvencama

#### - RAPD – Random Amplification of Polymorphic DNA

Metoda se zasniva na korišćenju slučajnih oligonukleotidnih prajmera (10 baznih parova) za PCR umnožavanje. Razlike u sekvencama DNK između vrsta dovode do različitog umnožavanja DNK (Sl. 9). Produkti se razdvajaju na agaroznom gelu uz prisustvo etidijum bromida i posmatraju pod UV svetlom. Upoređivanjem sa poznatim uzorkom se može proveriti pripadnost datoj vrsti.



Umnožavanje RAPD tehnikom

prajmerima. Takvo umnožavanje je praćeno agaroznom gel elektroforezom i predstavlja najjednostavniju primenu PCR-a za identifikaciju vrsta.

PCR predstavlja replikaciju (prepisivanje, umnožavanje) DNK molekula in vitro. Za izvođenje PCR-a neophodni su:

- DNK matrica - dvostruki DNK lanac koji sadrži informaciju koja se želi umnožiti, dužine 100-35000 baznih parova
- jednolanćani prajmeri - sekvence oligonukleotida dužine 20-30 nukleotida čije su sekvence komplementarne krajevima one DNK sekvence koja se želi umnožiti
- smeša slobodnih dezoksinukleotida u zasićenim koncentracijama: 200 mM za svaki dNTP
- enzim DNK polimeraza koja vrši sintezu novih DNK lanaca
- Mg<sup>2+</sup> joni koji su neophodni za aktivnost enzima i oni se dodaju u vidu MgCl<sub>2</sub>
- Puffer - standardni puffer koji se sastoji od 50 mM KCl, 10 mM TRIS Cl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8.3, 21 Co

U PCR metodi se koristi DNK polimeraza izolovana iz bakterije *Thermus aquaticus* (nazvana Taq polimeraza) koja živi u termalnim izvorima na temperaturi oko 70 oC. Usled toga je sposobna da na toj temperaturi vrši replikaciju DNK molekula.

Napravljena reakciona smeša se stavlja u aparat nazvan Termocycler koji omogućuje tok reakcije. PCR se izvodi ponavljanjem u 20 – 30 ciklusa od kojih se svaki sastoji iz tri osnovne faze (Sl. 1):

- **Zagrevanje** reakcione smeše na 94 – 96 oC pri čemu dolazi do razdvajanja dvostrukih lanaca DNK matrice. Ova faza traje oko jedan minut.

- **Hlađenje** reakcione smeše na 40 – 60 oC

## PCR - Osnovni principi tehologije lanćane reakcije polimeraze

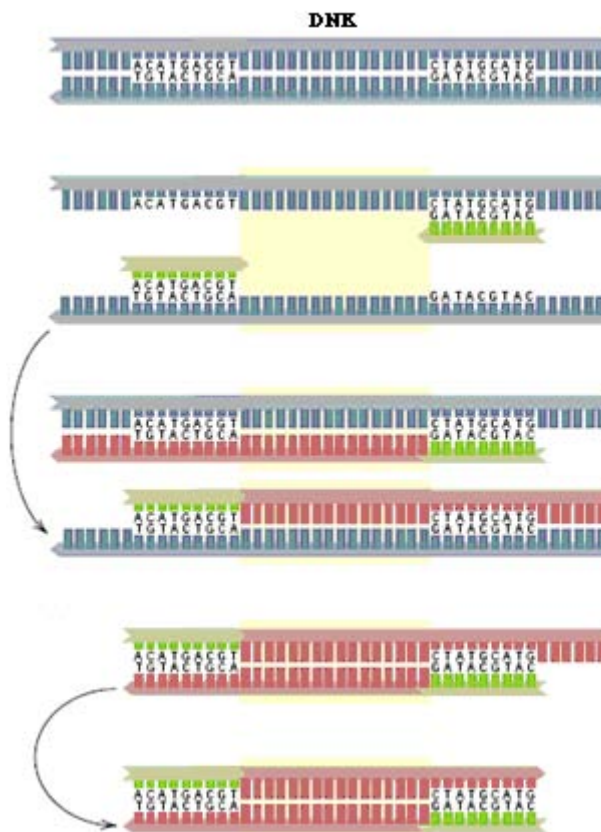
Autor: dipl. biolog - master *Vladimir Vukić*

1. [PCR bazirani testovi – opšta pravila i standardizacija metoda](#)
2. [Pripremanje laboratorije za izvođenje PCR baziranih testova](#)
  1. [Postavka PCR reakcije](#)
  2. [Oprema za PCR](#)
  3. [Reagensi i prateći materijal](#)
  4. [Kontrola kvaliteta](#)
  5. [Nekomercionalni testovi za patogene u hrani](#)
  6. [Potvrda ispravnosti metode i standardizacija](#)
3. [Literatura](#)

PCR metodu je 1985. godine formulisao Karl Mullis, veoma osetljiva i često se koristi u biologiji i medicini.

Umnožavanje DNK putem PCR-a se bazira na hibridizaciji specifićnih oligonukleotida (prajmera) i in vitro sintezi kopija željenog fragmenta koji je oivićen i obeležen datim

pri čemu se vezuju prajmeri. Ova faza traje oko 30 sekundi u zavisnosti od dužine prajmera, jer je dužim prajmerima potrebno duže vreme za vezivanje. - **Zagrevanje** reakcione smeše na 72 oC, pri čemu je Taq polimeraza započinje polimerizaciju i dostiže maksimum aktivnosti. Trajanje ove faze zavisi od dužine fragmenta koji se želi umnožiti i iznosi 1 – 2 minuta.



Šema PCR reakcije

### **PCR bazirani testovi – opšta pravila i standardizacija metoda**

Tržište hrane zahteva sve strožiju kontrolu. Namirnice su često pogrešno deklarirane u cilju sticanja ekonomske dobiti. Na taj način se kupci dovode u zabludu, što može imati negativan uticaj i na njihovo zdravlje, naročito kod osoba koje su osetljive na

neke alergene. Tačna deklaracija je takođe važna pri izboru kupca za koju namirnicu će se odlučiti. Izbor može zavistiti i od načina života kupca, kao što je vegeterijanstvo, religija, itd.

Analitičke metode koje se koriste pri identifikaciji vrsta i provere ispravnosti hrane baziraju se uglavnom na mikrobiološkom ispitivanju, analizi proteina i DNK. Analiza proteina se vrši imunološkim, elektroforetskim i hromatografskim tehnikama. U poslednje vreme sve se više koriste DNK molekuli zbog veće stabilnosti od proteina, kao i zbog prisustva u najvećem broju tkiva. To ih čini veoma pogodnim za analizu hrane.

Lančana reakcija polimeraze – PCR (polimerase chain reaction) je postala nezaobilazna metoda u molekularnim istraživanjima. Lako se izvodi i obično zahteva manje vremena za postizanje rezultata od mikrobioloških metoda. Vreme potrebno da se istraživač bez predznanja osposobi za rad je oko nedelju dana, što je znatno kraće od mikrobioloških tehnika gde je potrebno veliko znanje i iskustvo. Proteklih godina reagensi za PCR su sve pristupačniji, lakši za upotrebu i dugotrajniji. Većina reagenasa, izuzev prajmera i proba, se mogu upotrebiti u više ponavljanja. Real-time PCR tehnika pored detekcije omogućuje kvantifikaciju produkta. I pored jos uvek skupe opreme za izvođenje PCR tehnike, ona postaje sve zastupljenija zbog prednosti u brzini, osetljivosti i specifičnosti u odnosu na mikrobiološke tehnike. Dok je za detekciju patogena u hrani mikrobiološkim tehnikama potrebno do 6 dana, PCR može dati rezultate za samo jedan dan. Međutim, PCR još uvek ne može imati dijagnostički status i još uvek je potrebno rezultate potvrditi mikrobiološki, ali procenjuje se da će već od 2010. godine ove dve tehnike imati isti status i obe biti validne za davanje



konačnih rezultata.

### **Pripremanje laboratorije za izvođenje PCR baziranih testova**

PCR je veoma osetljiva i jednostavna metoda koja može dati odgovore na mnoga genetička pitanja. Međutim, PCR može dati i lažne pozitivne ili negativne reakcije ukoliko se ne vodi računa o pravilnom postavljanju, standardizaciji i izvođenju metode. Zbog toga je neophodno napraviti standardizovane protokole za izvođenje PCR-a. Potrebno je voditi računa o opremanju i postavljanju laboratorije, proveriti ispravnost opreme i reagenasa, pravilno čuvati i odabirati reagense, ispravno birati sistem detekcije za PCR produkte i imati dobro obučeno osoblje.

#### ***Postavka PCR reakcije***

Pri izboru mesta u laboratoriji za izvođenje PCR-a veoma je bitno voditi računa o izvorima kontaminacije. Idealno bi bilo koristiti četiri do pet različitih prostorija za različite faze PCR-a. Prva faza je priprema uzorka koja obuhvata pripremu reagenasa i izolaciju DNK. Zatim slede postavka PCR reakcije, tok reakcije (thermocycler) i detekcija PCR produkata. S obzirom da je veoma teško obezbediti dovoljno prostorija, fizička odvojenost se može postići postavljanjem opreme tako da se pri izvođenju metode osoblje i oprema kreću samo u jednom smeru. Ukoliko je moguće, proces bi trebao da se kreće u smeru iz čistijih i sterilnijih delova laboratorije, ka onima gde je veća mogućnost pojave zagadjenja u vidu aerosola. Osoblje treba uvek da nosi mantil i rukavice, čime se smanjuje mogućnost kontaminacije. Za svaku fazu PCR-a treba promeniti rukavice.

Priprema uzorka je najosetljivija faza PCR-a i najpodložnija kontaminaciji. Zbog toga bi trebalo imati tri odvojena mesta za:

1. pripremu uzoraka
2. pripremu reagenasa za DNK ekstrakciju
3. ekstrakciju DNK iz uzorka

PCR može detektovati i svega nekoliko ćelija koje su kontaminirale negativan uzorak i dati lažno pozitivan rezultat. Da bi se to izbeglo neophodno je brisati spoljašnjost kivete dezinfekcionim sredstvom radi uklanjanja bakterija i DNK-aza (Borst, 2004). Mogućnost kontaminacije se smanjuje i ukoliko se supernatant usisava, umesto da se odliva. Upotreba UV lampe za dekontaminaciju mesta za izvođenje PCR-a može smanjiti opasnost od kontaminacije uzoraka. Samo mesto za detekciju produkata PCR-a, gde se kivete pripremaju za detekciju i premeštaju na agarozni gel, takođe može biti izvor kontaminacije uzorka. Da bi se sve to izbeglo mora se pažljivo rukovati sa uzorcima i voditi računa da se na svaki mogući način smanji mogućnost kontaminacije.

#### ***Oprema za PCR***

Na prvom mestu se nalazi PCR aparat (thermocycler) koji reguliše uslove za odvijanje same reakcije. Iako je to najskuplji deo opreme mora se imati u vidu i ostali potrebni pribor. Potrebno je nekoliko setova pipeta (najmanje četiri), oprema za elektroforezu, mikrotalasna rerna za topljenje agaroze, zamrzivač za čuvanje reagenasa (-20oC), UV svetlo za čitanje i fotoaparat za snimanje rezultata očitanih sa gela (Wellington i sar 2004).

Pri odabiru PCR aparata posebno je uzeti u obzir nekoliko faktora. Cena aparata, nažalost, može biti jedan od presudnih

faktora. Cena aparata zavisi od mogućnosti kojima raspolaže: kapacitet - 48 ili 96 uzoraka, da li se uzorci stavljaju u kivete ili mikroploču sa više jamica, ili koja je potrebna zapremina PCR reakcije. Vreme potrebno da se izvrši 30 ciklusa reakcije (10 ili 90 min), takođe utiče na izbor PCR aparata.

Svi instrumenti u PCR laboratoriji se moraju kalibrirati i obeležiti u skladu sa važećim institucionalnim standardima. Za većinu institucija kalibracija se vrši jednom godišnje.

### ***Reagensi i prateći materijal***

Reagensi za PCR se dele na one koji su potrebni za izvođenje same reakcije i one koji su potrebni za detektovanje proizvoda reakcije. Preporučuju se reagensi (prajmeri, probe i Taq polimeraza) samo od pouzdanih proizvođača. Treba koristiti najbolje proizvode i pri rukovanju njima uvek koristiti rukavice. Voda je veoma bitan sastojak PCR-a. Treba koristiti vodu oslobođenu od DNK i DNK-aza. Ona se dobija autoklaviranjem i filtriranjem (0,22 $\mu$ m). Ukoliko ima dovoljno novca može se kupiti fabrički proizvedena.

### ***Kontrola kvaliteta***

Prehrambene laboratorije izvode analize u skladu sa standardnom radnom procedurom. Njom je tačno definisano kako se izvode procedure i kako i kada vršiti kontrolu kvaliteta. Kontrola kvaliteta obuhvata testiranje svih reagenasa i produkata svakog seta za analizu, da bi se utvrdilo da ispunjavaju sve standarde kao i prethodni setovi i da su pogodni za upotrebu. Poželjno je, nakon kontrole kvaliteta, sve reagense razliti u bočice tako da se jedna bočica koristi za jednu analizu. Još je pogodnije odmah pripremiti smeše potrebne za PCR čime se smanjuje kontakt

sa hemikalijama, a time i mogućnost greške. Kupovni setovi se prodaju sa prethodno testiranim reagensima, što treba da bude naznačeno na pakovanju. Standardna radna procedura mora da sadrži informacije o pozitivnim ili negativnim kontrolama. Osnovne PCR kontrole su: kontrola DNK ekstrakcije, uzorka uzetog iz organizma od interesa, drugog uzorka uzetog iz nesrodnog organizma, PCR kontrolu čiste poznate količine DNK iz organizma od interesa i kontrolu bez DNK. Za svaku laboratoriju je neophodno da vodi evidenciju o svemu što radi. Piše se laboratorijska sveska sa datumima i detaljima o protokolima, reagensima, kontrolama i rezultatima (Macrina 1995).

### ***Nekomercionalni testovi za patogene u hrani***

Laboratorija može odlučiti da komercijalni testovi ne zadovoljavaju njene potrebe i da želi da koristi nedavno objavljene prajmere ili čak da razvije sopstvene. Ukoliko se koriste podaci i metode drugih laboratorija mora se imati u vidu da se mogu javiti problemi usled različitih uslova i opreme u laboratorijama. Zbog toga se prethodno mora izvršiti provera metode koja treba da pokaže da je nova metoda jednaka ili bolja od do tada korišćene. Za komercijane metode to je već urađeno i naknadna provera nije potrebna. Pri odabiru PCR formata, veoma je bitno voditi računa i o tehničkim i kadrovskim mogućnostima laboratorije.

### ***Potvrda ispravnosti metode i standardizacija***

Pre nego što se nova metoda PCR-a prihvati za upotrebu, mora se izvršiti provera ispravnosti, specifičnosti, osetljivosti i ponovljivosti date metode. Da bi rešila ovaj problem Evropska komisija je pokrenula projekat pod nazivom FOOD-

PCR sa ciljem da se izvrši provera i standardizacija PCR metoda za detekciju bakterijskih patogena u hrani. Projekat je krenuo u martu 2000. godine i trajao do juna 2003. godine. Napravljen je konzorcijum od 35 instituta, kompanija i univerziteta iz 21 zemlje da radi na ovom projektu. Projekat je bio usmeren ka razvoju metoda za detekciju pet najvažnijih patogena: *Salmonella enterica*, termofilna *Campylobacter* spp., *Eschericia coli*, *Listeria monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica*.

Razvoj standardizovanih metoda se odvijao u tri faze. U prvoj fazi su birani definisani DNK uzorci i metode PCR-a koje bi mogle biti pogodne za upotrebu. Projekat je takođe obuhvatao i pripremu uzoraka. U drugoj i trećoj fazi je vršena provera efikasnosti i upotrebljivosti odabranih PCR metoda. Vršene su kompletne provere procedure pripreme uzoraka i PCR metode da bi se dobili verifikovani PCR protokoli za otkrivanje patogena u hrani. Pored toga cilj projekta je bio i da se obezbede biohemijski setovi za testiranje različitih tipova PCR aparata i izolaciju DNK iz bakterijskih kultura, proizvodnja odgovarajućih DNK prajmera, internet bazu podataka sa PCR protokolima, organizovanje obuke i pravljenje standardizovanih uputstava u saradnji sa Evropskim komitetom za standardizaciju (Anon, 1999A, Anon, 2000).

Priprema internacionalnih standarda može biti dugačak i glomazan posao i može trajati do nekoliko godina. Posebno su dugačke standardizacije metoda za otkrivanje genetički modifikovanih organizama.

Pri opisivanju i proveravanju metode mora se voditi računa o izrazima koji se upotrebljavaju. Poseban problem predstavlja izraz osetljivost koji se u PCR laboratorijama, pored praga detekcije,

može odnositi i na uticaj inhibitora prisutnih u uzorku na polimerazu. Na osnovu međunarodno priznatih protokola i uputstava predložene su definicije koje bi trebalo da budu opšte prihvaćene (Tab. 1 i Tab. 2) (Anon1999).

Već je spomenuto da razvoj i verifikacija metoda za detekciju patogena zasnovanih na PCR-u treba da se odvija u tri faze. Razvoj i testiranje prajmera je prva faza u uspostavljanju standardne PCR (Tab. 3). Laboratorije koje imaju iskustvo sa prajmerima i datim patogenom predlažu koje prajmere bi trebalo koristiti. Laboratorije zatim prave spisak ćelijskih linija patogena koji se ispituje. Iz svake linije se ekstrahuje DNK i analizira sa serijom PCR-ova koji sadrže ispitivane prajmere. Svaka PCR treba da sadrži što uniformnije reagense i kalibrisane termociklere. PCR zatim treba da bude optimiziran i uspostavljen prag detekcije (broj ćelija koje će detektovati sa verovatnoćom od 99 %).

Druga faza obuhvata veliki broj interlaboratorijskih testova koji treba da potvrde specifičnost PCR-a. Na tom poslu bi trebalo da bude uključeno 10 – 12 partnerskih laboratorija (Anon, 1999). Svaka laboratorija dobija standardnu proceduru, uzorke DNK iz ćelijskih linija, i reagense. DNK uzorci treba da budu obeleženi kodovima tako da njihov identitet zna samo vodeća laboratorija. Potrebno je izračunati odnos pravih i lažnih pozitivna i pravih i lažnih negativna (Tab 2). Kod preciznih i tačnih PCR-ova, u oba slučaja odnos je 100 %.

***Tabela 1 : Predložene definicije izraza (Anon1999)***

Potvrda validnosti	Dokazivanje da određena PCR metoda daje podudarne rezultate u poređenju sa referentnim metodom
Kvalitativna PCR	Test koji potvrđuje prisustvo ili odsustvo PCR produkata. Rezultati se detektuju vizuelno ili opremom
Kvantitativna PCR	Test kojim se određuje broj umnožaka koji se detektuju indirektno i povezani su sa brojem ciljnih organizama
Prag detekcije (PD)	Najmanji broj ciljnih organizama koji je potreban da se dobije pozitivan PCR odgovor
Selektivnost	Mera umnožavanja ciljnih molekula (u smeši više različitih) i isključenja (manjak umnožaka poreklom iz blisko srodnih vrsta)
Pozitivna greška (PG)	Pozitivna reakcija za koji referentni metod daje negativnu reakciju (lažni pozitiv)
Negativna greška (NG)	Negativna reakcija za koji referentni metod daje pozitivnu reakciju (lažni negativ)
Pozitivno poklapanje (PP)	Slučaj kada i PCR i referentni metod daju pozitivnu reakciju
Negativno poklapanje (NP)	Slučaj kada i PCR i referentni metod daju negativnu reakciju
Preciznost dijagnostifikovanja (PD)	Stepen poklapanja rezultata dobijenih PCR-om i referentnim metodom prilikom upotrebe istih uzoraka ( $PD = (PP + NP) / \text{ukupan broj uzoraka}$ )
Osetljivost	Sposobnost PCR-a da detektuje organizam tamo gde ga je detektovao i referentni metod $(PP / N+) \times 100$

Specifičnost	Sposobnost PCR-a da ne detektuje organizam tamo gde ga nije detektovao ni referentni metod (NP / N-) x 100
Robustnost	Ponovljivost od strane drugih laboratorija u kojima se koriste reagensi i aparatura od drugih proizvođača

N+ je ukupan broj pozitivnih reakcija dobijenih referentnim metodom

N- je ukupan broj negativnih reakcija dobijenih referentnim metodom

**Tabela 2: Primeri rezultata dobijenih referentnim i PCR metodom**

PCR odgovor	Referentni metod pozitivan (R+)	Referentni metod negativan (R-)
PCR +	+/+ pozitivno poklapanje (PP)	-/+ pozitivna greška (PG)
PCR -	+/- negativna greška (NG)	-/- negativno poklapanje (NP)

PCR treba da bude robustna, odnosno da se može izvoditi sa reagensima različitih proizvođača. Ovo je najpovoljnije proveriti tokom probnih testova druge faze. Robustnost se proverava ponavljanjem provere specifičnosti, ali sa upotrebom reagenasa i enzima od različitih proizvođača.

Treća i poslednja faza uključuje proveru validnosti kompletne metode u poređenju sa standardnom metodom. To se takođe postiže interlaboratorijskim testovima koji uključuju 10-12 partnera. Laboratorijama se šalju uzorci sa različitim brojem

prisutnih ćelija. Po Nordvalovom uputstvu trebalo bi imati nula, 1-10 i 10-100 ćelija/25 g uzorka (Anon, 2001). Uzorci se zatim inkubiraju i beleže rezultati. Istovremeno se uzorci ispituju i konvencionalnom metodom. Vodeća laboratorija poredi rezultate dobijene svakim metodom. Rezultati najmanje osam laboratorija moraju biti obrađeni da bi bili potpuni (Anon, 1999). Specifičnost, osetljivost i preciznost uopšte, svake metode trebaju da budu utvrđeni i upoređeni. Robustnost i efikasnost metoda koje se zasnivaju na PCR-u treba da budu barem na nivou standardnih metoda.

**Tabela 3: Faze razvoja metode zasnovane na PCR-u**

<p><b>Faza 1:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Procena nekoliko PCR prajmera za svaki patogen</li> <li>-Odabir jednog seta</li> <li>-Prilagođavanje za PCR Definisane detekcionog limita</li> </ul>
--

**Faza 2:**

Provera preciznosti i robustnosti PCR-ova

a - partneri koriste standardne reagense

b - partneri koriste reagense po izboru

-Pripremaju se ćelijske linije svakog patogena

-Izolovanje DNK iz svake linije

-Procena specifičnosti PCR od strane 10 - 12 laboratorija

**Faza 3:**

Provera kompletne metode zasnovane na PCR-u

-Korišćenje uzoraka sa velikim, srednjim i malim brojem, kao i bez ćelija

-10 - 12 učesnika

-Laboratorije vrše inkubaciju, ekstrakciju i PCR detekciju u skladu sa standardnom procedurom izvođenja

-Uzorci se testiraju postojećim standardnim metodama

-Poređenje rezultata dobijenih PCR i standardnom metodom

Prezentovane činjenice vezane za dobru laboratorijsku praksu u opremanju PCR laboratorije i standardizaciju testova su vezane za mikrobiološku laboratoriju

(Sanchez, 2006), ali se mogu primeniti u svim laboratorijama koje ispituju kvalitet prehrambenih proizvoda.

## Derivati ksantina u hrani

<sup>1</sup>M.Jašić, <sup>2</sup>L.Begić, <sup>2</sup>Z.Mujagić, <sup>3</sup>S.Grujić

<sup>1</sup>*Tehnološki fakultet Univerziteta u Tuzli*, <sup>2</sup>*Farmaceutski fakulteta Univerziteta u Tuzli*, <sup>3</sup>*Tehnološki fakultet Univerziteta u Banjoj Luci*

### Sažetak

Ksantin (3,7-dihidro-purine-2,6-dion) je purinska baza koja se nalazi u tjelesnim tkivima i tekućinama. Najpoznatiji metilirani oblici derivata ksantina prisutni u hrani su kofein, teofilin i teobromin. Po svom fiziološkom djelovanju pripadaju

blažim stimulansima centralnog nervnog sistema. Unosom u organizam inhibiraju akciju pospanosti inducirajući adenzin, čineći ga manje efektivnim kao stimulansom u odnosu na simpatomimetičke amine. Takođe djeluju kao bronhodilatatori i koriste se u tretmanu astme. U ovom radu su opisani značajniji predstavnici derivata ksantina prisutnih u namirnicama koje se svakodnevno konzumiraju.

**Ključne riječi:** ksantini, kofein, teofilin i teobromin.

Ksantini pripadaju širokom spektru hemijskih spojeva iz porodice purinskih alkaloida poznatih po svom stimulativnom i farmakološkom djelovanju. Purinske alkaloidne – ksantine kao uživala sadrže: kafa, čaj, kakao, mate guaranin, ali i neki industrijski prehrambeni proizvodi. Hemija

ksantina je vrlo slična, kao i stimulativni i farmakološki efekti koje stvaraju u ljudskom organizmu.

### Hemija ksantina

Hemijska struktura ksantina ( $C_5H_4N_4O_2$ ) bazirana je na purinu koji je najviše zastupljeni heterociklički aromatski organski spoj sa azotom u prirodi. Purin se sastoji od pirimidinskog prstena spojenog sa imidazolskim. Općenito termin purin takođe podrazumijeva supstituirane purine i njihove tautomere. Purini i pirimidini su značajni jer tvore dvije grupe nitrogenih baza koje su ključni dijelovi deoksiribonukleotida i ribonukleotida kao osnova univerzalnog genetskog koda. Derivati purina su **guanin i adenin koji** ulaze u sastav nukleinskih kiselina kao i urična kiselina.

Teobromin je poznat pod nazivom ksanteoza. To je gorki alkaloid iz kakaovca. Ima ga u svim kakao proizvodima.

Molekularna struktura purina, ksantina i urične kiseline

Ksantin (3,7-dihidro-purine-2,6-dion) je purinska baza koja se nalazi u tjelesnim tkivima i tekućinama. U prehrani su značajni metilirani derivati ksantina gdje spadaju kofein, teofilin, teobromin i paraksantin.

Molekularna struktura derivata ksantina

Metilirani derivati ksantina imaju sličnu hemijsku strukturu. Razlikuju se samo po zastupljenosti  $CH_3$  grupe. Nitrogen atomi su u  $sp^2$  orbitalnoj hibridizaciji i često grade tri jednostruke veze. Atomi nitrogena su uključeni u rezonance sa susjednim ugljikovim atomom dvostrukim vezama što rezultira da ovi spojevi imaju aromatski karakter.

**Tabela 1.** IUPAC nomenklatura i izvori pojedinih ksantina i njegovih derivata

Naziv	IUPAC nomenklatura	Izvori
Ksantin	3,7-dihidro-purin-2,6-dion	biljke, životinje
Kofein	1,3,7-trimetil-1H-purine-2,6(3H,7H)-dion	Kafa, guarana, mate, čaj
Teobromin	3,7-dihidro-3,7-dimetil-1H-purin-2,6-dion	Kakao, Čokolada
Teofilin	1,3- dimetil-7H-purin-2,6-dione	Čaj
Paraksantin	1,7-D dimetilksantin	Intermediet u metabolizmu

Za proizvodnju kofeina primjenjuje se postupak ekstrakcije iz prirodnih sirovina i

postupak sinteze, dok se teofilin proizvodi isključivo sintezom. Za dobijanje kofeina

pogodan je kineski čaj (*Theae folium*), koji sadrži 1-5% kofeina i oko 0,05% teofilina. Ksantini su prisutni uglavnom u osušenim i fermentirani prirodni proizvodima kao što su uživala: kafa, čaj, kakao, mate, guaranin. Isto tako mogu se naći i u industrijskim prehranbenim

proizvodima kao što su osvježavajuća pića kola, energetske napitci, raznovrsni konditorski proizvodi (primjer čokolada i kako proizvodi, neki keksi i vafli, bombone, komprimati, žvakaće sa guaraninom) i mnogi drugi.

**Tabela 2.** Značajniji ksantini koji se koriste kao uživala

Guarana ima najveći postotak kofeina

Rb	UŽIVALA	KSANTIN		
		kofein	teofilin	teobromin
	Kafa	0,3-2,5	tragovi	tragovi
	Čaj	2,5- 4,5	0,02-0,04	0,10-0,15
	Kakao	0,2-0,5	-	1-2
	Guarana	4-8	tragovi	tragovi
	Mate lišće	0,5-1,5	-	0,45
	Kolatovac	0,6-3	-	1

**Kofein.** Kofein je najpoznatiji po tome što je zastupljen u kafi. Prirodni je pesticid, jer ga biljke stvaraju kao produkte sekundarnog metabolizma sa ciljem zaštite od insekata. Kofein se nalazi i u mnogim drugim proizvodima kao što su čokolada, neki lijekovi protiv bolova, preparati za slabljenje simptoma prehlade, preparati za kontrolisanje tjelesne težine. Dodaje se vještačkim pićima. Tien i guaranin su kofeini iz čaja i guarane. Poznato je preko 60 biljnih vrste, koje sadrže kofein.

Molekularna struktura kofeina-trimetilksantin ( $C_8H_{10}N_4O_2$ )

Plodovi i zrna kafe

U zrnima sirove kafe kofein je vezan za klorogensku kiselinu. Koncentracija klorogenske kiseline u kafi je od 3-5%.

Klorogenska kiselina sastoji se od kina kiseline i kafe kiseline

Osim toga kafa sadrži približno 12% masnog ulja, 11% proteina, 3% šećera



(nepržena kava). Eterična ulje su prisutna u kafi u malim količinama pa tokom prženja izhlape.

Izolovan u čistom obliku, kofein je bijele boje, kristalan prah bez mirisa. Sastavljen je iz bijelih, kristala jako gorkog ukusa. Takav se rastvara u vodi. Osnovni proces dobijanja čistog kofeina je dekofenizacija kafe i čaja koja se može obaviti postupcima vodene ekstrakcije, ekstrakcije sa superkritičnim karbon dioksidom ili ekstrakcijim sa neopsanim organskim rastvaračima. Kofein je često vezan na trjeslovine. Većina prirodnih izvora sadrže klorogensku kiselinu.

Što je u Europi kafa, to je u Južnoj Americi guarana. Guarana je penjaciča i raste u šumama južne Venezuele, sjevernog i zapadnog Brazila, pretežito u području Orinoka i Amazone. Iz nezrelih sjemenki se proizvodi pasta guarane. Iz plodova se izvade sjemenke, zatim se uklani sjemena ljuska, onda se prže, melju i uz dodatak vode oblikuje se kaša koja se suši. Dobijena pasta se oblikuje u forme šipki, kugli, valjka ili u obliku životinjskih figura. Gorkog je okusa i pri konzumiranju podsjeća na kakao.

Guarana raste u Brazilu, a guma i pasta koje se dobivaju iz sjemena koriste se kao biljni saplementi

Pasta guarana sadrži 4-8% kofeina, male kolicine teobromina, do 12% trjeslovina, 10% proantocijanidina, saponine i 3-4% mineralnih tvari. Kofein je djelomično vezan na trjeslovine. U Brazilu se od paste u obliku stapica po potrebi ostruze odgovarajuca kolicina praska i uz dodatak tekucine spravi se napitak. On je osvježavajući i jednak kafi iličaju. Brazilske avionske kompanije poslužuju u avionima uz kafu i čaj i napitak od guarane. Danas guarin sadrže gotovo svi energetski napitci. U farmaciji se koristi kao dodatak preparatima protiv migrene, jake glavobolje, a djelovanje se zasniva na djelovanju kofeina.

Teofilin. Teofilin učaju je mnogo manje zastupljen nego kofein i to u tragovima. Učaju ga je signifikantno manje nego što se primjenjuje u terapeutskim dozama.[9].

Planta čajevca, list čajevca, crni čaj i zeleni čaj u prahu koji se najčešće konzumira u Japanu

Teobromin je poznat pod nazivom ksanteoza. To je gorki alkaloid iz kakaovca. Ima ga u svim kakao proizvodima.

Naziv teobromin potiče od grčke riječi teobroma: teos „Bog“ i broma „jelo“ a sufix in daje mu pripadnost grupi alkaloida.

**Tabela 3.** Sadržaj teobromina u nekim prehrambenim proizvodima

Rb	Vrsta namirnice	Sadržaj teobromina (mg/g)
1.	Kakao	20.3
2.	Kakao sa cerelijama	0.695
3.	Čokoladni pekarski proizvodi	1.47

4.	Čokoladni topinag	1.95
5.	Kako napitci	2.66
6.	Čokoladni sladoled	0.621
7.	Čokoladno mlijeko	0.226

## Hemijski sastav belog i crnog luka

Autor: dipl. ing. *Milica Popić*  
Mentor: prof. dr Biserka Vujičić

1. [Proteini](#)
2. [Ugljeni hidrati](#)
3. [Lipidi](#)
4. [Vitamins](#)
5. [Mineralne materije](#)
6. [Bojene materije](#)
7. [Etarska ulja](#)
8. [Antimikrobne komponente](#)
9. [Lekovita svojstva](#)

Beli i crni luk sadrže veliki broj bioaktivnih organskih jedinjenja, od kojih su najzastupljeniji ugljeni hidrati. U luku su prisutne za ljudski organizam veoma značajne mineralne materije, naročito kalijum i sumpor, a bogat je i vitaminima (B1, B2, C, E, K). Najvažniji sastojci belog i crnog luka su prikazani u tabeli 2.

**Tabela 2.** Hemijski sastav 100 g belog i crnog luka (Vračar, 2001)

Komponenta	Beli luk	Crni luk
Voda (%)	62	87,6
Proteini (%)	5,8	1,5
Ugljeni hidrati (%)	30	9,5
Lipidi (%)	0,2	0,1
Vitamin C (mg)	24	10
Vitamin B1 (mg)	0,03	0,03
Vitamin B2 (mg)	0,02	0,04
Vitamin B3 (mg)	-	0,2
Vitamin A (IJ)*	-	40
Pepeo (%)	1,5	0,6
K (mg)	110	157
Ca (mg)	70	30
Na (mg)	-	10
Mg (mg)	60	9

Fe (mg)	-	0,5
P (mg)	42,5	40

\* Vitamin A se izražava u mikrogramima retinola, odnosno u internacionalnim jedinicama. 1IJ = 0,3 $\mu$ g retinola

### Proteini

Proteini su visokomolekularna organska jedinjenja izgrađena povezivanjem većeg broja  $\alpha$ -amino kiselina peptidnom vezom. Neke amino kiseline organizam sam sintetizira pa se ne moraju unositi sa hranom, a izvestan broj se mora unositi preko biljne ili životinjske hrane – to su esencijalne amino kiseline. Ono što proteine čini posebnim su stadijumi više organizacije molekula koje nastaju specifičnim povezivanjem lanaca amino kiselina. Proteini mogu imati primarnu, sekundarnu, tercijarnu i kvaternu strukturu. Proteini su osnovne komponente svih ćelija i tkiva biljnih i životinjskih organizama. Oni imaju strukturu, katalitičku, zaštitnu, transportnu i energetske uloge. Proteini ulaze u sastav brojnih molekula koji se grupišu u sledeće klase: enzimi, transportni proteini, kontraktilni proteini, strukturalni proteini, proteohormoni, receptori, antitela, faktori rasta, gen-regulatorni itd. Utvrđeno je da se proteini sastoje od najmanje 4 elemenata sa prosečnim učešćem C 52,5% , H 6,4% , O 21,5% , N 16% , S 1,35% (Vračar, 2001).

Sadržaj proteina se u belom luku kreće oko 5,5-6% a u crnom luku oko 1,5% računato na 100 g svežeg ploda (Vračar, 2001).

### Ugljeni hidrati

Posle vode, ugljeni hidrati su najzastupljeniji sastojci namirnica biljnog

porekla. Sačinjavaju oko 80% suve materije voća i povrća a nastaju u biljkama reakcijom fotosinteze. Predstavljaju važan izvor energije i komponente su nukleinskih kiselina. Obuhvataju niz jedinjenja od kojih su najvažniji šećeri, derivati šećera i polimerni šećeri. Ugljeni hidrati se dele na monosaharide (prosti šećeri), oligosaharide (složeni šećeri) i polisaharide (makromolekularni šećeri).

Monosaharidi su obično slatkog ukusa, rastvorljivi u vodi i mogu kristalisati. U voću i povrću se nalaze D-glukoza i D-fruktoza a u neznatnim količinama D-galaktoza, D-manoza, D-arabinoza i D-ksilozu u slobodnoj formi, dok se u vezanom stanju nalaze kao sastojci pektinskih materija, ksilana, manana i drugih pratilaca celuloze. Oligosaharidi su polimeri ugljenih hidrata sa niskom molekulskom masom to jest sa nekoliko monosaharidnih jedinica koji hidrolizom daju monosaharide. Mogu biti redukujući (laktoza, maltoza) i neredukujući (saharoza).

Za polisaharide u opštoj upotrebi su trivijalni nazivi celuloza, hitin, škrob, inulin i pektin. Sadržaj ugljenih hidrata u belom luku je 30%, od toga ima 21,5% šećera i 0,9% celuloze, a kod crnog luka ukupnih ugljenih hidrata ima 9,5%, 8,1% šećera i 0,6% celuloze (Vračar, 2001).

### Lipidi

Lipidi su grupa organskih materija koja obuhvata niz hemijski raznorodnih jedinjenja kojima je zajednička odlika da se rastvaraju u određenim organskim rastvaračima kao što su etar, hloroform, benzin, benzol i drugi. Osnovna su komponenta bioloških membrana i utiču na njihovu propustljivost, učestvuju u predaji nervnih impulsa, stvaraju kontakte među ćelijama, čine energetske rezerve, štite

organizam od mehaničkih povreda i formiraju termoizolacioni sloj.

Lipidi se dele na proste i složene lipide. Prosti lipidi su supstance čiji se molekuli sastoje samo od ostataka masnih kiselina i alkohola (najčešće glicerola). Ovde spadaju masti, ulja i voskovi. Složeni lipidi uključuju derivate fosforne kiseline (fosfolipidi) i lipide koji sadrže ostatke ugljenih hidrata (glikolipidi). U grupu složenih proteina spadaju i steroidi.

Energetska uloga lipida se ogleda u tome što se njihovim razlaganjem oslobađa velika količina energije. Gradivna uloga se odnosi na to što se deo masti koristi za izgradnju i obnovu ćelija i njenih delova. Glavni strukturni lipidi su: fosfolipidi i voskovi. Sadržaj lipida u belom luku je oko 0,2% a u crnom luku oko 0,1% računato na 100 g svežeg ploda.

### **Vitamini**

Vitamini su visokomolekularna organska jedinjenja, esencijalni su i neophodni u malim koncentracijama za pravilno odvijanje biohemijskih procesa u organizmu čoveka i drugih živih bića. Imaju katalitičku ulogu a mnogi i koenzimsku ulogu. U prirodi se nalaze ili kao vitamini ili kao provitamini koji se u organizmu transformišu u vitamine. Spadaju u zaštitne materije jer štite zdravstvenu kondiciju organizma, omogućavaju održavanje i regulaciju metabolizma hranljivih materija a sekundarno neki od njih imaju i plastičnu funkciju.

Vitamini su svakodnevno potrebni svakom organizmu, čoveku je dnevno potrebno manje od 20 mg svih vitamina, sem askorbinske kiseline. Većinu vitamina organizam čoveka ne može sam da sintetizuje pa ih treba unositi putem hrane i

dotataka, po mogućnosti iz prirodnih izvora.

Nedostatak vitamina u organizmu izaziva brojne poremećaje i bolesti, čak i genetske pa i opasnost od smrti. Potpuni nedostatak nekog vitamina u organizmu čoveka poznat je pod nazivom avitaminoza. Hipovitaminoza je skup simptoma koji se javljaju usled pomanjkanja nekog vitamina.

Vitamini se dele na hidrosolubilne - prave vitamine (rastvorljive u vodi) i liposolubilne vitamine (rastvorljive u mastima i rastvaračima masti).

Vitamin C (L-askorbinska kiselina) je bezbojno, kristalno jedinjenje, rastvorljivo u vodi, veoma kiselog karaktera. Većina životinja sintetizuje vitamin C, ali ljudski organizam nema tu sposobnost tako da se on mora unositi hranom ili putem dotataka. Nalazi se u enol i keto obliku i ima sposobnost reverzibilnog prelaza iz jednog oblika u drugi, pa predstavlja oksido-redukcioni sistem. Termolabilan je a razaraju ga oksidaciona sredstva i alkalije, pa praćenje njegovog sadržaja služi kao indikator ispravnosti pojedinih tehnoloških procesa.

Glavni izvor vitamina C su plodovi voća i povrća. Sadržaj vitamina C u crnom luku je 10 mg/100 g svežeg ploda, dok je u belom luku sadržaj vitamina C u 100 g svežeg ploda čak 24 mg. Dnevna potreba za vitaminom C za zdravog, odraslog čoveka je oko 100-200 mg (Piletić-Milić, 1989).

### **Mineralne materije**

Mineralne materije su neophodne za pravilnu ishranu, a za neke mineralne materije je hrana najčešće jedini izvor pa se njihov unos može regulisati preko raznovrsne ishrane. Biljke ih crpe iz

zemlje. U organizmu su mineralne materije važan sastojak ćelija i telesnih tečnosti.

U voću i povrću se mineralne materije nalaze slobodne ili vezane kao neorganska jedinjenja u kompleksnoj vezi sa organskim materijama. Mineralne materije koje ulaze u sastav voća i povrća su najvećim delom metali: K, Ca, Na, Fe, Mg, Al a u manjim količinama: Cu, Zn, Mo, Co i još neki oligo elementi kao i nemetali: S, P, Si, Cl, B, F. Beli i crni luk su namirnice bogate mineralnim materijama. U belom i crnom luku su najviše zastupljeni K, Ca, Mg i P.

### Bojene materije

Bojene materije voća i povrća su uz aromatske materije, šećere i voćne kiseline, glavni nosioci senzornih osobina voća i povrća, one lakše ili teže podležu oksidativnim i hidrolitičkim promenama. Mogu se svrstati u dve velike grupe:

1. nerastvorljive plastidne pigmente – nerastvorljive u vodi, a rastvorljive u organskim rastvaračima i ulju. Mogu biti zelene, žute, crvene ili mrke boje ili bezbojni.
2. rastvorljive pigmente – pigmenti rastvorljivi u vodi, zajedničkim imenom se nazivaju flavonoidi jer sadrže karakterističnu flavonsku strukturu. Flavonoidi se dele na antocijane, flavanole, kalkone i aurone dok su flavoni, izoflavoni i katehini bezbojni.

Antocijani daju raznim plodovima, lišću i cveću crvenu, ljubičastu i modru boju sa mnogo nijansi. Na intenzitet i vrstu antocijana utiče sunčeva svetlost, temperatura kao i kiseonik, mada je obojenost voća i povrća koja potiče od antocijana do danas nepotpuno razjašnjena.

Pripadaju grupi flavonoidnih jedinjenja rastvorljivih u vodi. U hemijskom pogledu antocijani su glukozidi, kiselom hidrolizom

daju aglukon-antocijanidin i jedan ili više šećera. Najznačajniji antocijanidini za voće i povrće su: pelargonidin, cijanidin, delfinidin, peonidin, petunidin i malvidin. Na degradacione promene antocijana utiču: pH sredine, temperatura, kiseonik, vitamin C.

Antocijani imaju antioksidativno, antikancerogeno i antiupalno dejstvo, a mogu i poboljšati nutritivnu vrednost hrane sprečavanjem oksidacije lipida i proteina. Prema literaturnim podacima, u crnom luku 95% ukupnih antocijana čine cijanidin 3-(6“-malonilglukozid), cijanidin 3-(6“-malonil-3“-glukozilglukozid) i cijanidin-3-glukozid. Prema literaturnim podacima količina antocijana u ovojnim listovima lukovice crnog luka se kreće u opsegu od 109 mg/100g do 219 mg/100g (Donner i sar., 1997).

### Etarska ulja

Etarska ulja su se od davnina upotrebljavala u kozmetici i lečenju. To su aromatični tečni ekstrakti dobijeni ekstrakcijom ili destilacijom pomoću rastvarača iz cvetova, plodova, listova, stabljika, korena i ostalih delova biljaka, a kod luka ih ima najviše u klici. Etarska ulja luku daju ljut ukus i miris.

Najznačajnija jedinjenja kod lukova, sa medicinskog aspekta, su organosumporna jedinjenja. Zrele lukovice sadrže uglavnom cistein-sulfokside. Kada se tkivo usitni oslobađa se enzim alinaza koji ih konvertuje u tiosulfinate. Han et al. (1995) potvrdili su antimikrobnu aktivnost alicina.

Etarska ulja su kompleksne smeše koje se sastoje od više jedinjenja: ugljovodonika, alkohola, aldehida, ketona, fenola, estara i sl.

Etarska ulja u organizam ulaze kroz pluća udisanjem i putem kože masažom, u oba

slučaja ulaze u krvotok i do ćelija. Veliki broj laboratorijskih ispitivanja dokazuju da mnoga etarska ulja imaju antibakterijska, antigljivična i antivirusna svojstva.

### Antimikrobne komponente

Najnovija ispitivanja antimikrobnog dejstva belog luka su potvrdila ranije rezultate ispitivanja koja su ukazivala da antimikrobno dejstvo belog luka potiče uglavnom od alicina. Beli luk efikasno deluje na bakterije *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Sallmonela enteridis*. Antifungalno dejstvo belog luka je otkriveno prema *Candida albicans*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus* i *Aspergillus ochraceus*.

Antimikrobna svojstva crnog luka potiču od eteričnih ulja koja sadrže sumpor i alkaloidne. Crni luk ispoljava antimikrobno dejstvo na mnoge Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije kao što su: *Escherichia coli*, *Sallmonela*, *Klebsiela*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium* i *Mycobacterium tuberculosis*.

Antifungalno dejstvo crni luk pokazuje *in vitro* na *Cryptococcus neoformans*, *Candida spp.*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Aspergillus spp.* i *Mucor pusillus*.

### Lekovita svojstva

Najnoviji dokazi o primeni belog luka u narodnoj medicini potiču iz neolitskog doba. Danas se beli luk koristi u narodnoj medicini svih zemalja sveta. Lekovite supstance belog luka se najvećim delom nalaze u lukovici a to su eterična ulja, vitamini (A, B1, B2 i C), minerali (K, Fe, S, J, Ca, P, Se), aminokiseline, enzimi, polioze kao što su inulin, adozin i alicin.

Sve supstance se nalaze u lukovici u koncentrovanom stanju, a lekovite su već u maloj koncentraciji.

Farmakološka dejstva belog luka se mogu klasifikovati u sedam grupa (Stanković i Nikolić, 2002):

- antibiotska i opšte antiseptička svojstva,
- regulacija intestinalne flore,
- sredstvo protiv svih vrsta glista, posebno pantljičare i *Trichophyton verricosum*
- stimulacija i regulacija svih životnih funkcija, posebno jetre i endokrinih žlezdi (tiroidna i nadbubrežna),
- antidijabetsko dejstvo,
- antimaligno dejstvo, posebno u digestivnom traktu, uključujući i preventivno dejstvo od autointoksikacije i stimulaciju sekrecije želudačnog soka kao dezinficijenta celog organizma,
- stimulatívno dejstvo na cirkulacioni sistem krvi to jest antihipertenzívno, antiarterosklerotívno i antiholesterívno dejstvo.

Naučna medicina je potvrdila da beli luk deluje kao snažan antibiotik, da proširuje sužene krvne sudove i tako snižava krvni pritisak, poboljšava elastičnost krvnih sudova, sprečava infarkt, sklerozu, apopleksiju, poboljšava vid.

Smatra se da beli luk ima veliku zaštitnu ulogu u sprečavanju štetnog delovanja zagađenog vazduha. Sprečava razaranje crvenih krvnih zrnaca izazvano teškim metalima, a zahvaljujući selenu i sumporu, kojih ima dosta u belom luku, potpomaže izlučivanje teških metala iz organizma. Selen ima osobinu da vezuje teške metale gradeći sa njima netoksična jedinjenja štiteći tako organizam od trovanja, on je vrlo efikasna zaštita od svih vrsta jonizujućih zračenja kao i od negativnog delovanja radionukleida.

Novija istraživanja potvrđuju da beli luk u svom sastavu sadrži i selen i sumpor, jod, gvožđe, a od vitamina najviše vitamina C. Selen se smatra jednim od najjačih prirodnih lekova protiv raka kože, jetre, debelog creva i mlečne žlezde. Zbog selena koji sadrži, naučnici belom luku pripisuju veliku zaštitnu ulogu od štetnog delovanja teških metala iz vazduha (Maksimović, 2005).

Analizom biološke vrednosti crnog luka može se zaključiti da on ni po čemu, čak ni u svojim lekovitim svojstvima, ne zaostaje iza belog luka. U njemu je najvredniji i u prehranbenom i u lekovitom smislu sadržaj mineralnih materija i vitamina. Od mineralnih materija najviše ima K i S, mnogo oligo i mikroelemenata, a od vitamina sadrži karotin (provitamin A), B1, B2, E, H, K, P i vitamin C. Od lekovitih sastojaka najvažniji su glikozidi, eterično ulje, rodanovodonična kiselina te biljni hormon sličan insulinu.

Mnogobrojna ispitivanja farmakoloških osobina bioaktivnih sastojaka u lukovici i izolatima dobijenim iz lukovice pokazala su da:

- snižava sadržaj lipida u krvi kao i krvni pritisak i poboljšava koagulaciju krvi, pokazuje antioksidativno delovanje,
- organosumporna jedinjenja crnog luka imaju moć da uspore razvitak ćelija raka, potencijalni mehanizam delovanja jeste da umanjuje stvaranje
- nitrozamina kao i samih ćelija raka, pospešuje oporavak DNA, jača imuni sistem.

Lekovita svojstva crnog luka su višestрана. Posebno se preporučuje protiv glavobolje, upale grla, gnojnih rana i čireva, prehlade, kašlja, teškoća pri mokrenju, vodene bolesti, bolova u materici i želucu, glista u crevima, krvarenja iz nosa, uboda insekata, kod dojilja da im nadođe mleko, za bolji rast kose, za lečenje skorbuta,

prečišćavanje krvi, pobuđivanje apetita, izbacivanja viška nagomilane tečnosti u organizmu, smanjivanja nivoa holesterola i za mnoge druge tegobe. Protiv kašlja preporučuje se sok od crnog luka sa šećerom, a kod teškoća pri mokrenju mešavina crnog luka, peršuna, celera i meda. Najbolje je luk jesti presan u salatama uz dodatak limuna i maslinovog ulja.

## Hemijski sastav voća

Autor: mr **Dobrila Randelović**  
e-mail : [dobrilrandjelovic@beotel.net](mailto:dobrilrandjelovic@beotel.net)

Hemijski sastav voća je složen i zavisi od više faktora među kojima su pored vrste i sorte, veoma bitni klimatski uslovi, pedološke osobine zemljišta, primenjene agrotehničke mere, stepen zrelosti i dr.

Hemijski sastav voća je od značaja i sa gledišta ishrane i sa gledišta tehnologije. Koji tehnološki postupak će se primeniti, koje reakcije mogu da se očekuju tokom prerade, i kakav proizvod će se dobiti, tesno je vezano sa sastavom sirovine.

Najvažnije komponente hemijskog sastava voća su: voda, ugljeni hidrati, kiseline, bojene materije, aromatične, pektinske, mineralne materije, vitamini, proteini itd. Voda je neophodna za odvijanje metabolizma u svim ćelijama biljaka, životinja i čoveka. U zavisnosti od vrste i uslova gajenja voće može da sadrži od 75 do 93% vode. U tabeli 1. prikazan je prosečan sadržaj vode u voću.

**Tabela 1.** Prosečan sadržaj vode (%) u voću (Blagojević, 2000)

VRSTA VOĆA	SADRŽAJ VODE (%)
Grožđe	79

Breskva	80
Šljiva	80,4
Trešnja	81,7
Kruška	83
Jabuka	83
Malina	85
Kupina	85
Kajsija	86
Jagoda	92

Tako visok sadržaj vode smanjuje energetska, ali pruža visoku fiziološku vrednost. Zahvaljujući tome što su

nutritivno vredne supstance voća (šećeri, kiseline, deo pektinskih materija, neke bojene materije, pojedini vitamini i minerali) vodeni rastvori, organizam čoveka ih lako usvaja.

Bez obzira na svu važnost vode, u tehnologiji se govori o sadržaju suve materije, dakle svega onoga što nije voda a što se nalazi u voću. Suva materija se sastoji od rastvorljivih (šećeri, kiseline i druge rastvorljive materije) i nerastvorljivih materija (skrob, celuloza, hemiceluloza, protopektin i dr.). Stalni nadzor i uvid u sadržaj suve materije u sirovini pruža jasna i određena uputstva za usmeravanje i vođenje tehnološkog postupka.

Ugljeni hidrati su posle vode najzastupljeniji sastojci. Zajedno sa kiselinama oni predstavljaju osnovnu komponentu u formiranju ukusa proizvoda. U tabeli 2. predstavljen je sadržaj šećera i kiselina u voću.

**Tabela 2 . Sadržaj šećera i kiselina u voću (Niketić-Aleksić, 1988)**

Vrsta voća	Sadržaj invertnog šećera u %	Sadržaj saharoze u %	Sadržaj ukupnog šećera u %	Ukupne kiseline %	pH	Koeficijent slasti šeć/kis.
Jabuka	6,8	2,1	6,6-15,5	0,4-0,8	3,6	9-28
Kruška	8,1	1,9	8,3-15,4	0,2-0,5	4,0	23-42
Dunja	7,2	0,9	5,8-12,5	0,6-1,0	3,3	9-18
Kajsija	4,1	2,2	6,4-12,6	0,6-1,1	3,4	4-15
Breskva	3,5	4,2	5,0-12,0	0,5-0,7	3,6	9-16
Šljiva	8,2	1,8	7,0-15,5	0,5-0,7	3,6	6-28



Višnja	7,8	0,6	6,9-12,5	0,8-1,9	3,3	3-8
Trešnja	8,4	0,4	4,7-11,5	0,3-0,6	3,9	11-25
Malina	4,5	0,2	4,7-9,5	0,8-2,0	3,4	3-5
Kupina	6,2	0,9	6,0-9,0	0,80	3,5	6-8
Jagoda	3,8	1,7	4,5-7,8	0,50	3,5	4-10
Grožđe	20,5	/	15-25	0,5-0,9	3,5	18-50
Limun	3,1	0,3	1,5-4,0	3-7	2,5	0,3-0,9
Pomorandža	5,8	3,9	5,6-13,5	0,7-1,2	3,4	8-17
Borovnica	4-6,5	0,2-0,8	4,0-7,0	0,8-1,2	3,4	5-9
Crna ribizla	8,1	/	6,1-13,3	3,3	3,3	2-3

Po tome da li sadrže aldehidnu ili keto grupu šećeri se mogu svrstati u aldoze (glukoza) i ketoze (fruktoza). Neki šećeri se javljaju kao samostalni i tada se zovu monosaharidi (glukoza, fruktoza). Monosaharidi se odlikuju osobinom sjedinjavanja s drugim supstancama koje sadrže OH-grupe. Tako dobivena jedinjenja su glikozidi (ili potpunije, O-glikozidi).

Glikozidi su jedinjenja koja postaju sjedinjavanjem nekog monosaharida sa nekim od sledećih jedinjenja: alkoholima, fenolima, flavonima, karotenima pa i sa samim šećerima. Ugljeno hidrantni deo glikozida naziva se glikon a neugljenohidrantni (nešećerni) aglikon. Glikozidi nastali sjedinjavanjem dva monosaharida su disaharidi (saharoza, maltoza, laktoza). Ukoliko se više istih monosaharida poveže u niz govorimo o homopolisaharidima (skrob, celuloza) a kada se polimerizuju različiti

monosaharidi, stvaraju se heteropolisaharidi (arabinoksilan, arabinogalaktan, glukomanan i dr.).

Najvažniji šećeri voća su glukoza, fruktoza i saharoza. d-glukoza (slika 1) (dekstroza, groždani šećer) je monosaharid, koja se u sirovini nalazi ne samo slobodna već i vezana kao deo oligosaharida, polisaharida i mnogih drugih organskih jedinjenja. Glukoza se lako vezuje za druge nešećerne materije (proteini, masti i dr.).

#### Glukoza

d-fruktoza (slika 2) (levuloza, voćni šećer) se, kao i glukoza, nalazi u znatnim količinama u voću. Ona je prisutna u slobodnom i vezanom stanju, odnosno kao sastojak složenih šećera: disaharida saharoze, trisaharida rafinoze i u polisaharidu inulinu.

## Fruktoza

Saharoza (slika 3) je disaharid sastavljen od molekula glukoze i fruktoze. U vodi se vrlo lako rastvara. Ne redukuje Felingov rastvor. Podleže vrlo brzom hidrolizi pomoću kiselina. To je važan disaharid ne samo kao energetska i organoleptička materija već i kao konzervans, ukoliko se nalazi u određenoj koncentraciji.

## Saharoza

Skrob (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub> je polisaharid. To je proizvod asimilacije biljaka koje ga sintetizuju iz ugljen-dioksida i vode u prisustvu hlorofila kao katalizatora i sunčeve svetlosti. Nagomilava se kod mladih ćelija, dok ga zreli plodovi sadrže u manjim količinama (pri sazrijevanju hidrolizuje). Polisaharidi skroba se mogu razdvojiti na dve frakcije: amilozu (slika 4) (sadrži jednostavni lanac ostatka glukoze) i amilopektin (slika 5) (sadrži višestruki razgranati lanac ostatka glukoze).

## Amiloza

Odnos između amiloze i amilopektina u skrobovima raznih biljaka je također različit. Kod jabuke je taj odnos: amiloza 30%, amilopektin 70% (Džamić, 1984).

Celuloza (slika 6) je glukan, ali su molekuli glukoze povezani β glikozidnim vezama.

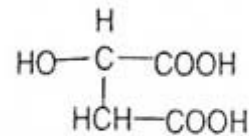
## Celuloza

Celuloza predstavlja osnovnu supstancu zidova ćelija viših biljaka gde se nalazi zajedno sa drugim polisaharidima (hemiceluloza, pektini i dr.) (slika 7).

Struktura ćelijskog zida 1. celuloza; 2. arabani, ksilani; 3. pektin; 4. protein; 5. arabino galaktan; 6. ksiloglukan

Plod kupine sadrži oko 4 % celuloze (Mratinić, 1998). Kako se celuloza ne razgrađuje u organima za varenje, izbacuje se iz organizma povlačeći sa sobom toksične materije. Zato celuloza u nutritivnom smislu postaje osnova fiziološki vrednih biljnih vlakana koji pospešuju peristaltiku creva.

Kiselost voća potiče od organskih kiselina i njihovih kiselih soli. Najzastupljenije kiseline su jabučna, limunska i vinska (slika 8). U manjim količinama su zastupljene oksalna, hlorogena, kafe, salicilna, benzoeva, mravlja i dr.



- 1) limunska kiselina
- 2) jabučna kiselina
- 3) vinska kiselina

U raznim vrstama voća dominantne su različite kiseline. Tako je limunska kiselina dominantna u citrusima (limun, narandža), jabučna u jabučastom, koštičavom i jagodastom voću, a vinska u bobičavom voću.

Procentualni sadržaj svih prisutnih kiselina u voću se definiše kao titracioni aciditet, a kiselost definisana koncentracijom vodonikovih jona kao aktuelni aciditet izražen kao pH. Vrednost pH služi često i kao merilo zrelosti voća. Za kiselo voće pH se kreće od 2,5-3,5, za srednje kiselo od 3,5-4,5 (Vračar, 2001).

Mineralne materije u svezem voću (tabela 3) nalaze se najčešće u granicama od 0,3-0,8%. Kao redovni sastojci nađeni su: kalijum, kalcijum, magnezijum, gvožđe, mangan, natrijum, fosfor, sumpor, zatim u

manjim količinama bakar, fluor, cink, jod i dr (Niketić-Aleksić, 1988).

Najzastupljeniji elementi u voću su kalijum i natrijum (alkalni metali), zatim dolaze kalcijum i magnezijum (zemnoalkalni metali). Njih ima najviše u zemljištu, pa time i u plodu biljke radi čega se i zovu makroelementi. Tu spada i fosfor kao ključni element za prenos energije kroz ćeliju tokom metabolizma.

Posebno značajnu ulogu imaju mikroelementi (gvožđe, bakar, jod, fluor, cink...), kojih ima vrlo malo, ali služe u biljci (i kod čoveka) kao važni kofaktori za aktivnost enzima. Mineralne materije su u poređenju sa drugim sastojcima voća stabilne, ne

menjaju se tokom čuvanja, kao ni pri procesu konzervisanja.

Kalijum reguliše alkalitet u ćeliji, a natrijum van ćelije. Njihov međusobni odnos reguliše krvni pritisak u organizmu čoveka. Povećanje sadržaja kalijuma snižava telesni pritisak, dok ga natrijum povišava. Zato ljudi sa hipertenzijom unose voće bogato kalijumom. Kalcijum je važan za pravilnu kalcifikaciju kosti i zuba.

Magnezijum je sastavni deo hlorofila biljke, a kod čoveka stimuliše stvaranje krvnih zrnaca, reguliše krvni pritisak, smanjuje holesterol u krvi, sprečava arterosklerozu i pothranjenost (Zlatković, 2003).

**Tabela 3.** Prosečan sastav mineralnih materija u voću (mg/100g) ( Zlatković, 2003)

VOĆE	KALIJUM	NATRIJUM	KALCIJUM	MAGNEZIJUM
Kajsija	305	30	28	19
Breskva	363	30	20	16
Jabuka	248	26	16	9
Kruška	155	14	19	12
Višnja	256	20	37	26
Šljiva	214	18	28	17
Grožđe	255	26	30	17
Jagoda	161	18	40	18
Kupina	260	23	22	9
Malina	224	10	40	22

Crna ribizla	350	32	36	31
--------------	-----	----	----	----

Aromatične materije su odgovorne za miris, a pretežnim delom i za ukus voća. Ove materije se u voću nalaze u minimalnim količinama, lako su isparljive i veoma lako reaguju međusobno ili sa nekim drugim materijama. U hemijskom pogledu arome voća predstavljaju smešu raznih alkohola, estara, aldehida, ketona, karbonskih kiselina, eteričnih ulja, smola i voskova. Uljane frakcije aroma sadrže više masne kiseline i terpene (Šulc i sar.,1976).

U pojedinim sirovinama se nalaze u različitim odnosima i međusobnim kombinacijama a variraju po sadržaju, rastvorljivosti i isparljivosti i tek kao celina daju odgovarajuću aromu.

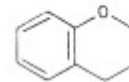
Bojene materije se dele u dve grupe:

- nerastvorljive plastidne pigmente koji su nerastvorljivi u vodi a rastvorljivi u organskim rastvaračima i ulju. Nalaze se u plastidnim telima ćelije - hloroplastima, hromoplastima i leukoplastima. Ovi pigmenti mogu biti zelene (hlorofil), žute, crvene ili mrke boje (karotenoidi) ili bezbojni.
- rastvorljive pigmente koji se zajedničkim imenom nazivaju flavonoidi (flavus - žut), jer sadrže karakterističnu flavonsku strukturu. Nalaze se u vakuolama ćelija, u pokožici voća (grožđe, šljive-) i u voćnom mesu (malina, kupina, višnja). Ime flavonoidi potiče od Kostaneckog koji je 1898. godine objavio prve radove o izolovanju hirizina (slika 9) jedinjenja iz grupe flavonona.

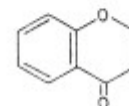
#### Hirizin

Ugljenikov skelet flavonoida sastoji se iz dva benzenova prstena koja su međusobno vezana tročlanim alifatičnim nizom (C6-C3-C6 jedinjenja). Po hemijskoj strukturi flavonoidi su heterociklična jedinjenja (slika 10) koja se mogu izvesti iz hromana (slika 11) ili hromona (slika 12).

#### Ugljenikov skelet flavonoida



Hroman

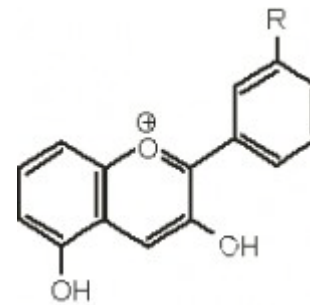


Hromon

U prirodi se flavonoidi nalaze u obliku glikozida ili estara s taninskim kiselinama. Zato se, za razliku od karotinoida, koji su takođe žute boje, flavonoidi iz prirodnog materijala ekstrahuju vodom ili još bolje 0,1M hlorovodoničnom kiselinom.

Antocijani (anthos-cveće, kyanos-plav) su prirodne boje, od crvene do plave, koje je izolovao Marguart 1835. godine. Nalaze se u cvetnim laticama i drugim delovima viših biljaka. Neke od ovih pigmenata

izolovao je R.M. Willstatter početkom XX veka (za svoj doprinos dobio je Nobelovu nagradu 1915.god.). Willstatter je otkrio da skoro svo voće i cveće crvene, plave i purpurne boje sadrži antocijane. Ovih pigmenta ima u voću (kupine, maline, borovnice, trešnje, grožđe, jabuke, šljive...), povrću (crveni kupus, plavi patlidžan, rotkvice...) (Jeličić i dr., 2005).

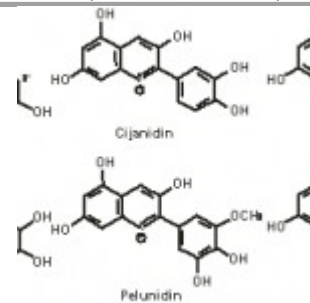


3,5,7-trihidroksi-flavilijum - jon

Ova jedinjenja se u biološkim sistemima ponašaju kao antioksidanti, enzimski inhibitori, fotosenzibilizatori i prenosioci energije, respiratori u biosintezi, takođe pokazuju i antikancerogene osobine. Ispostavilo se da su antocijani veoma korisni u kontroli nivoa šećera u krvi, kao zaštitnici od koronarnih bolesti, takođe ublažuju rizik od Alchajmerove bolesti. Kupine, zajedno sa borovnicama su na mestu broj jedan po antioksidujućem dejstvu. Polovina šoljice kupinovog soka ima u sebi toliko antioksidativnog dejstva koliko pet porcija nekog drugog voća i povrća (npr. šargarepa, jabuka) (Jeličić i dr., 2005).

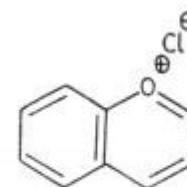
NAZIV	R	R'
Pelargonidin	H	H
Cijanidin	OH	H
Delfinidin	OH	OH
Peonidin	OCH <sub>3</sub>	H
Petunidin	OH	OCH <sub>3</sub>
Malvidin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Javljaju se u obliku glikozida (najčešće kao 3-glikozidi). Pigmenti bez šećerne komponente nazivaju se antocijanidini (slika 13) i nerastvorni su u vodi. Utvrđeno je da pet šećera učestvuju u hemijskoj strukturi antocijana (glukoza, ramnoza, galaktoza, ksiloza, arabinoza).



Ako neki od antocijana sadrži samo jedan od šećera onda se ovaj nalazi u položaju 3, ako sadrži dva, onda je ili diglikozid u položaju 3 ili se šećerne komponente nalaze u položajima 3 i 5. U sastav nekih antocijana ulaze i jedan ili više molekula organskih kiselina (p-kumarna, kofeinska, malonska, sirćetna) esterifikovanih s molekulom šećera. Antocijanidini se izводе iz hromana i po hemijskoj strukturi su derivati benzopirilijum (flavilium) - hlorida (slika 14). Svi antocijanidini sadrže 3,5,7-trihidroksi-flavilijum - jon (slika 15).

Najčešći antocijani aglikoni



Benzopirilijum (flavilium) - hlorid

Boja antocijana zavisi i od broja hidroksilnih grupa u prstenu B. Tako je na primer pelargonidin oranž-crvene boje, cijanidin zatvoreno crven a delfidin ljubičaste boje. Metilovanjem hidroksilnih

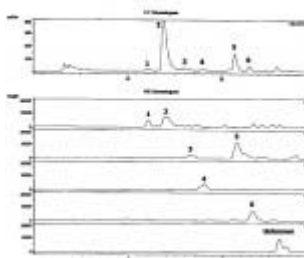
grupa u B prstenu povećava se intezitet boje.

Neki važniji antocijani su prikazani u tabeli 4.

Tabela 4. Antocijani

Antocijan	Glikozid	Aglikon	Po nomenklaturi	Gde se nalazi
Pelargonin	3,5-diglikozid	Pelargonidin	3,5,7,4'-tetraoksi flavilijum hlorid	Dahlia
Cijanin	3,5-diglikozid	Cijanidin	3,5,7,4'-pentaoksi flavilijum hlorid	Kupina Ljubičica Ruža
Violanin	3-ramnoglikozid	Delfinidin	3,5,7,3',4',5'-heksaoksi flavilijum hlorid	Ljubičica
Peonin	3,5-diglikozid	Peonidin	3,5,7,4'-tetraoksi -3'-metoksi flavilijum hlorid	Peonija
Petonin	3,5-diglikozid	Petunidin	3,5,7,4',5'-pentaoksi -3'-metoksi flavilijum hlorid	Plavo grožđe
Oenin	3-glikozid	Malvidin	3,5,7,4'-tetraoksi -3',5'-dimetoksi flavilijum hlorid	Primula

Cijanidin-3-glukozid je dominantan pigment kod kupine ([Dugo et al.](#), 2001; Garcia-Viguera et al., 1997). Slika 16. predstavlja identifikovane antocijane u kupini HPLC/ESI-MS metodom ([Dugo et al.](#), 2001).



HPLC-UV hromatogram u ekstraktu kupine: 1. cijanidin-3-galaktozid; 2. cijanidin-3-glukozid; 3. cijanidin-3-arabinoza; 4. pelargonidin-3-glukozid; 5. cijanidin-3-ksiluloza; 6. malvidin-3-glukoza

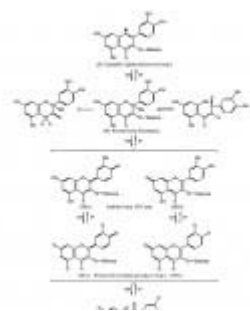
Jedna od najvažnijih osobina antocijana je što kiseonik u heterocikličnom prstenu ima pozitivno naelektrisanje. Zato se u kiseloj sredini antocijani ponašaju kao katjoni koji grade soli sa kiselinama, a u alkalnoj sredini su anjoni i grade soli sa bazama.

Mnogi činioci, kao što su pH sredine, SO<sub>2</sub>, L-askorbinska kiselina, prisustvo jona

metala, povećan sadržaj šećera, aktivnost enzima, temperatura i dr., utiču na boju antocijana (Janković i sar., 1991).

Jedna od značajnih osobina antocijana kao obojenih materija, je da se boja jedinjenja menja sa promenom pH vrednosti, i to od crvene u kiselj sredini ( $\text{pH} < 6$ ) preko bezbojne u slabo kiselj sredini ( $6 < \text{pH} < 7$ ), do plave boje u neutralnoj ili alkalnoj sredini ( $\text{pH} > 7$ ). Na primer, kod cijanidin-3-glikozida, transformacije boje su posledice promene strukture (slika 17).

Struktura cijanidin-3-glukozida (slika 17, I) egzistira u kiselj sredini i pokazuje crvenu boju; u slabo kiselj sredini struktura se menja u bezbojan oblik pseudo baze ili karbinol baze (slika 17, II) i u ravnoteži je sa anhidro bazom (slika 17, IIIa, IIIb), u kojoj se gubi molekul vode, i nastaje nestabilan oblik koji apsorbuje svetlost talasne dužine od 538 nm. U alkalnoj sredini fenolne grupe se jonizuju sa formiranjem fenolata koji su stabilniji od nedisosovane baze (slika 17, IVa, IVb) i nastajanjem plave boje. Na kraju, pri pH 12 plava boja se menja u zelenu ili žutu što ukazuje na nastajanje čalkona (slika 17, V) (Milić i dr., 2000).



Promena boje i strukture cijanidin-3-glukozida u funkciji pH reakcione sredine

Utvrđeno je da se antocijani mogu redukovati, ali mehanizam redukcije nije još poznat. Cink, aluminijum, magnezijum u kiselj sredini obezbojavaju rastvor antocijana. Obezbojavanje je postojanije ako se reakcija odvija bez prisustva

vazduha zato što kiseonik iz vazduha pomaže da se boja antocijana vrati (Milić i dr., 2000). Obezbojavanje antocijana je moguće alkalnim bisulfitima (slika 18).



Reakcija cijanidin-3-glikozida sa  $\text{NaHSO}_3$  u baznoj i kiselj sredini

U slabo kiselj sredini u prisustvu bisulfita, bezbojna forma reaguje (slika 18, A) kao čalkon forma (slika 18, B), koja sadrži keto funkcionalnu grupu u položaju C2 uz nastajanje adicionog bisulfitnog derivata (slika 18, C) iz koga se u kiselj sredini reakcija vraća u polazni antocijan (Milić i dr., 2000).

Pektinske materije nalaze se samo u biljkama skoro u svim njihovim delovima (stablo, krtola, koren, plod) gde imaju važnu biohemijsku i fiziološku funkciju. Skeletna osnova pektinskih materija predstavlja poligalakturonska kiselina (slika 19). Poligalakturonska kiselina je polimer D-galakturonske kiseline, međusobno povezanih 1,4- $\alpha$ -galaktozidnom vezom.

Struktura lanca poligalakturonske kiseline

Klasifikacija pektinskih materija je sledeća: protopektin, pektininska kiselina, pektinske kiseline i pektin. Pektinske materije se nalaze široko rasprostranjene u voću i povrću i to pretežno u središnjoj lameli biljnih ćelija, a manje u ćelijskom zidu. Sadržaj pektinskih materija u svežem voću i povrću se kreće:

0,1 - 0,5 % u paradajzu, 0,4% u kupini, 0,5 – 1,9 % u jabuci, itd., (Vračar, 2001).

Vitamini predstavljaju grupu organskih jedinjenja raznovrsne strukture i hemijskih osobina čija je funkcija u organizmu specifična i neophodna. Za većinu vitamina poznat je način njihove katalitičke uloge u biohemijskim reakcijama dok za neke vitamine nije poznat način dejstva ali su poznate posledice koje se javljaju kao nedostatak ovih jedinjenja u hrani.

Nedovoljan unos pojedinih vitamina dovodi do bolesti koje se nazivaju hipovitaminoze. Ako je nedostatak jako izražen, simptomi bolesti su još teži. Tada se govori o avitaminozi (Lajšić, 1983).

Pošto su vitamini heterogena grupa organskih jedinjenja ne mogu se

klasifikovati na osnovu hemijske strukture. Izdvojena su u posebnu klasu jedinjenja na osnovu fiziološkog dejstva.

Vitamini se prema rastvorljivosti svrstavaju u dve velike grupe:

- hidrosolubilni koji se rastvaraju u vodi ( vitamin C, kompleks vitamina B).
- liposolubilni koji se rastvaraju u mastima (vitamin A, vitamin D, vitamin K, vitamin E, vitamin F).

Vitamini su veoma značajni sastojci voća (tabela 5) i u kombinaciji sa mineralnim materijama čine ih fiziološki veoma vrednim. Iz tih razloga, zadatak svakog tehnološkog procesa je da ih sačuva u najvećoj mogućoj meri (Vračar, 2001).

Tabela 5. Sadržaj vitamina nekih vrsta voća (mg/100g)  
( Vračar, 2001).

Vrsta voća	B1 tiamin	B2 riboflavin	B3 niacin	C L-askorbinska kiselina
Jabuka	0,03	0,02	0,3	10,0
Kruška	0,02	0,04	0,22	4,0
Dunja	0,03	0,03	0,2	13,0
Kajsija	0,04	0,05	0,77	10,0
Breskva	0,02	0,05	0,85	8,0
Šljiva	0,08	0,04	0,5	6,0
Višnja	0,05	0,06	0,4	12,0
Jagoda	0,03	0,05	0,6	50,0

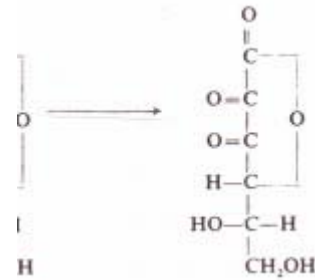


Malina	0,02	0,05	0,3	20,0
Kupina	0,03	0,04	0,4	21,0
Crna ribizla	0,05	0,04	0,28	200

Vitamin C je po hemijskoj strukturi 2-okso-L-treo-heksono-1,4-lakton-2,3-endiol a po nomenklaturi L-askorbinska kiselina (slika 20). Ovaj vitamin se u prirodi nalazi u obliku dehidroaskorbinske kiseline (slika 20). Naročito ga ima u šipku, paprici, kupusu, spanaću, citrus plodovima.

Fiziološko dejstvo askorbinske kiseline ogleda se u učestvovanju u oksido redukcionim procesima metabolizma ćelije. Proces oksidacije askorbinske kiseline katalizovan je enzimima i jonima metala. Dokazano je da vitamin C može da učestvuje u transformaciji aminokiselina, na primer, u metabolizmu tirozina ili hidroksilovanju prolina. Vitamin C u kristalnom stanju izolovali su King i Wang 1932.godine. Dobro se rastvara u vodi a slabo u alkoholu. Vodeni rastvor (0,1 M) ima pH 2,2.

Askorbinska kiselina je vrlo reaktivno jedinjenje i brzo se oksiduje u dehidroaskorbinsku kiselinu. Razgrađuje se u neutralnoj i alkalnoj sredini, a i pod uticajem svetlosti. Na sobnoj temperaturi, askorbinska kiselina redukuje Feling-ov rastvor, permanganat i srebro-nitrat pri čemu prelazi u dehidro-oblik (Lajšić, 1983).



Vitamin-c askorbinska kiselina - dehidroaskorbinska kiselina

Proteini su polimeri aminokiselina. Reakcijom između aminokiselina nastaju peptidne veze. Kada se sjedine više aminokiselina nastaje polipeptid. Redosled aminokiselina u nizu (primarna struktura proteina) određen je šifrom koju ćelija nosi zapisanu u svom genetskom materijalu (DNK). To omogućava ćeliji da sintetiše proteine iste strukture kad god je potrebno.

U polimerizaciji do proteina učestvuje svega dvadeset aminokiselina. Sa stanovišta ishrane značajno je podsetiti da su osam od njih esencijalne (nezamenljive - čovek ih ne sintetiše). Voće je u principu siromašno proteinima. Izuzetak od ovog pravila je jezgrasto voće (tabela 6).

Tabela 6. Prosečan sadržaj proteina u voću ( Zlatković, 2003).

VRSTA VOĆA	SADRŽAJ (%)
Jabuka	0,3
Kruška, ananas	0,5

Breskva, limun	0,8
Šljiva, jagoda, grožđe	0,8
Orah, badem, lešnik	15
Pomorandža, kajsija	0,9

Kupina	1,2
Banana, malina	1,3
Ribizla	1,4
Avokado	2,1

## Rasjecanje i otkoštavanje

Dr **Vladimir Tomović**  
 Tehnološki fakultet Novi Sad  
 tel.: 00381 (0) 21 485 37 04  
 e-mail: [tomovic@uns.ac.rs](mailto:tomovic@uns.ac.rs)

Rasjecanje i otkoštavanje ohlađenih polutki vrši se u posebnim prostorijama, smeštenim u neposrednoj blizini prostorija za hlađenje. Uslovi koje moraju da ispunjavaju objekti u kojima se obavlja rasecanje i četvrtanje polutki, u našoj zemlji, regulisano je Pravilnikom o uslovima koje moraju da ispunjavaju objekti za klanje životinja, obradu, preradu i uskladištenje proizvoda životinjskog porekla (Službeni list SFRJ, broj 53, 1989) i Pravilnikom o veterinarsko-sanitarnim uslovima objekta za proizvodnju i promet hrane životinjskog porekla (Službeni glasnik RS, broj 11, 2008). Prema Pravilniku o veterinarsko-sanitarnim uslovima objekta za proizvodnju i promet hrane životinjskog porekla (Službeni glasnik RS, broj 11, 2008) u prostorijama za rasecanje i obradu mesa mora da se održava temperatura vazduha do 12°C, odnosno pri rasecanju, otkoštavanju i obradi (na primer, rezanje, sečenje na kocke i drugo), kao i tokom umotavanja i pakovanja mesa papkara, kopitara i krupne divljači, odnosno gajene divljači, mora da se održava temperatura do 7°C. Međutim, ako je prostorija za rasecanje i obradu mesa u sastavu objekta za klanje životinja, meso može da se otkoštava i raseca pre

postizanja temperature od 7°C, ako je to potrebno radi tehnološkog postupka.

Honikel (1999a) navodi da rasecanje polutki počinje posle dostizanja konačne vrednosti pH i temperature (7°C). Rasecanje ohlađenog mesa ne bi trebalo da poveća temperaturu mesa. Makro- i mikrokonfekcionirano meso za maloprodaju mora biti ohlađeno na 4°C (svinjsko meso sa sertifikatom u Nemačkoj). Temperatura mora da bude niža, što se duže meso skladišti.

Prostorija za otkoštavanje i obradu mesa namenjenog izradi polutrajnih konzervi (konzervi od mesa u komadima – kuvanih šunki), a koje se izrađuju u posebnim prostorijama odvojenim od ostalih proizvodnih prostorija, mora biti funkcionalno povezana sa ostalim prostorijama za proizvodnju polutrajnih konzervi (konzervi od mesa u komadima – kuvanih šunki) (Pravilnik o uslovima koje moraju da ispunjavaju objekti za klanje životinja, obradu, preradu i uskladištenje proizvoda životinjskog porekla, Službeni list SFRJ, broj 53, 1989).

But se od polutke odvaja poprečnim rezom između poslednjeg slabinskog i prvog krsnog pršljena i presecanjem trbušnog zida uz san but, a od kolenice rezom u kolenom zglobu, pri čemu veliki ribić (M. gastrocnemius) ostaje u sastavu mesa buta (Pravilnik o kvalitetu zaklanih svinja i kategorizaciji svinjskog mesa, Službeni list SFRJ, broj 2, 1985, i izmena i dopuna broj

12, 1985. i broj 24, 1986). Prema istom Pravilniku (Službeni list SFRJ, broj 2, 1985, i izmena i dopuna broj 12, 1985. i broj 24, 1986) beski buta je označeno kao meso I kategorije. Meso buta (I kategorija mesa) koje se koristi za izradu kuvane šunke definisano je i standardizovano kao meso koje sadrži najviše do 5% masti (Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za proizvode od mesa, Službeni list SCG, broj 33, 2004).

Prema Kodeks alimentarius standardu za kuvanu salamurenu šunku – “COOK CURED HAM” (Codex Alimentarius Standard for Cooked Cured Ham, Codex Stan 96-1981, Rev. 1 – 1991) ovaj proizvod se izrađuje od mesa zadnje noge svinja odvojene transverzalno od preostalog dela polutke i to ne dalje od kraja karlične kosti. Sve kosti, hrskavice, tetive i ligamenti moraju biti uklonjeni. Koža i masno tkivo mogu, ali i ne moraju biti uklonjeni.

Otkoštavanjem buta dobija se nekoliko većih komada mesa koje čine pojedini mišići ili grupe mišića, a to su kapak – spoljna strana buta (M. gluteus superficialis, M. gluteus medius, M. gluteus profundus), ruža (M. quadriceps femoris), frikando (M. semitendinosus), švansla (M. biceps femoris), šol – unutrašnja strana buta (M. gracilis, M. semimembranosus, M. sartorius, M. adductor, M. pectineus) (Rede i Petrović, 1997).

Za proizvodnju šunke u konzervi meso butova se odvaja sa kostiju, a sa njega se izdvaja masno i vezivno tkivo. Svi mišići buta mogu se upotrebiti za izradu šunki u konzervi. Međutim, pošto su mišići buta veoma često različite boje (npr. M. quadriceps femoris i M. semimembranosus su tamno crvene boje, a M. biceps femoris izrazito svetlo crvene boje) to je podesnije da se ne sastavljaju zajedno u jednu konzervu, jer bi takav proizvod u tom

slučaju bio sastavljen od delova različite boje, što se smatra nedostatkom. Da bi se izbegla pojava ovog nedostatka mišići se odvajaju u grupe u zavisnosti od boje. Obično se odvajaju u tri ili četiri grupe. (Rahelić i sar., 1980).

## Hlađenje svinjskog mesa

Dr *Vladimir Tomović*  
Tehnološki fakultet Novi Sad  
tel.: 00381 (0) 21 485 37 04  
e-mail: [tomovic@uns.ac.rs](mailto:tomovic@uns.ac.rs)

Svrha hlađenja je odvođenje toplote iz polutki, odnosno snižavanje temperature sa 38 – 40°C (Rede i Petrović, 1997), odnosno sa 38 – 39°C (Honikel, 1999a), do zadate krajnje interne temperature u najdubljim delovima, što se ostvaruje transferom toplote sa polutki u atmosferu ili neki drugi medijum i to sa dva mehanizma prenosa toplote: kondukcijom i konvekcijom (Rede i Petrović, 1997; Huff-Lonergan i Page, 2001). Oduzimanje toplotne energije mesu može se ostvariti korišćenjem dva osnovna načina poznata u tehnici hlađenja: indirektnog hlađenja i direktnog hlađenja (Rede i Petrović, 1997). Kod indirektnog hlađenja toplotna energija mesa se preko posrednika (najčešće vazduha – suvi postupci hlađenja i vode – vlažni postupci hlađenja predaje nekom radnom fluidu, dok se kod direktnog hlađenja meso dovodi u direktan kontakt, najčešće potapanjem, sa nekim radnim fluidom (led, suvi led, tečni ugljen dioksid, tečni azot, etilen glikol, propilen glikol) kojem predaje toplotnu energiju (Dransfield i Lockyer, 1985; Rede i Petrović, 1997; Springer i sar., 2003). Indirektni postupci mogu biti jednofazni, bez i sa prisilnom cirkulacijom vazduha, i dvofazni (kombinacija vlažnog i suvog postupka), odnosno, dok su direktni postupci u pravilu dvofazni, s tim da je druga faza stacionarna faza (suvi postupak) u kojoj dolazi do ujednačavanja temperature (Rede i Petrović, 1997).

Danas se u komercijalnoj praksi za hlađenje svinjskog mesa uglavnom koristi konvencionalno, sprej i brzo hlađenje. Dodatne metode za brže snižavanje temperature u polutkama podrazumevaju popuštanje kože i masnog tkiva na toplo (Meade i Miller, 1990; Frederick i sar., 1994; Owen i sar., 2000; Milligan i sar., 1998; Huff-Lonergan i Page, 2001) i optimizaciju uslova držanja svinja pre klanja (Rede i Petrović, 1997; Huff-Lonergan i Page, 2001; Honikel, 2002; Rosenfold i Andersen, 2003).

Konvencionalno hlađenje se tradicionalno najčešće koristi. Kod većine konvencionalnih sistema hlađenja primenjuju se temperature blizu 1°C, sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s do 1.0 m/s, tokom noći, odnosno do 24 sata post mortem (Huff-Lonergan i Page, 2001), odnosno sa temperaturom vazduha u početku ciklusa hlađenja oko 0°C, a zatim se temperatura manje ili više povećava, a potom opet opada, sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s do 1.0 m/s, u sporijim varijantama, ili čak do 1 do 4 m/s, u bržim varijantama, sa relativnom vlažnošću vazduha koja prosečno iznosi 80% i sa vremenom hlađenja od 20 do 25 sati, u sporijim varijantama, i 16 do 20 sati, u bržim varijantama (Rede i Petrović, 1997).

Zbog opasnosti od mikrobiološkog kvara, hlađenje mesa je neophodno započeti što je moguće pre nakon iskrvarenja i to dovoljno brzo (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999a; Huff-Lonergan i Page, 2001), u protivnom mogu se na mesu, kao što je napred već opisano (Poglavlje 2.3.4.1), razmnožavati tehnološki i zdravstveno nepoželjne vrste mikroorganizama (Bem i Adamič, 1991). Održivost mesa je obrnuto srazmerna temperaturi (Bem i Adamič, 1991).

Snižavanjem temperature do iznad kriokopske tačke (od 0 do 4°C) usporava

se aktivnost endogenih i mikrobioloških enzima. Različiti mikroorganizmi se različito ponašaju u odnosu na temperaturu medija u kojem se nalaze. Na temperaturama izvan raspona između minimalne i maksimalne moguće temperature opstanaka prestaje rast i razmnožavanje mikroorganizama. Naglo snižavanje temperature deluje štetno ili čak letalno na neke mikroorganizme. To dejstvo se najjače ispoljava na mezofilne vrste, iako su i neki psihrotrofni i psihrofilni mikroorganizmi osetljivi na brzo hlađenje. Konzervišući efekat hlađenja objašnjava se između ostalog oštećenjem ćelijskih membrana, praćenim gubitkom niskomolekulskih jedinjenja koja migriraju iz unutrašnjosti ćelija, i poremećajem u sintezi DNK (Rede i Petrović, 1997).

Da bi se meso sačuvalo od kvarenja nije neophodno da se unište sve bakterije koje se na njemu nalaze, ali se mora sprečiti njihovo razmnožavanje (Bem i Adamič, 1991).

Prema Direktivi Evropske Unije broj 64/433/EEC (Council Directive 64/433/EEC) za sveže meso, a u cilju proizvodnje zdravstveno bezbednog mesa, rasecanje i otkoštavanje svinjskog mesa, odnosno otprema mesa, počinje nakon dostizanja konačne vrednosti interne temperature (dubina buta) od 7°C i nižih (Gigieli i sar., 1989; Dransfield i sar., 1991; Brown i James, 1992; James, 1996; Honikel, 1999a), s obzirom da mikroorganizmi opasni po zdravlje ljudi počinju da rastu i da se razmnožavaju, uglavnom, na temperaturama višim od 7°C (Honikel, 1999a). Pod ohlađenim svinjskim mesom, u našoj zemlji (Pravilnik o kvalitetu zaklanih svinja i kategorizaciji svinjskog mesa, Službeni list SFRJ, broj 2, 1985, i izmena i dopuna broj 12, 1985. i broj 24, 1986), podrazumeva se svinjsko meso u trupovima, polutkama, osnovnim delovima polutke ili manjim komadima,

koje je neposredno posle klanja ohlađeno do temperature od najviše 4°C, mereno pored kosti mesa, ako je meso sa kostima, ili u središnjem delu mesa bez kostiju i usitnjenog mesa. Uslovi koje moraju da ispunjavaju objekti u kojima se obavlja hlađenje mesa, u našoj zemlji, regulisano je Pravilnikom o uslovima koje mora da ispunjavaju objekti za klanje životinja, obradu, preradu i uskladištenje proizvoda životinjskog porekla (Službeni list SFRJ, broj 53, 1989. i Pravilnik o veterinarsko-sanitarnim uslovima objekta za proizvodnju i promet hrane životinjskog porekla, Službeni glasnik RS, broj 11, 2008).

Prema Honikel-u (1999a), za svinjsko meso sa sertifikatom u Nemačkoj, odnosno da bi se dobio pečat kontrolisanog kvaliteta svinjskog mesa, odnos između temperature i vremena post mortem je posebno definisan (Tabela 2.4.1) i to u skladu sa zahtevima propisa Evropske Unije. Ovim preporukama definiše se vreme početka hlađenja, brzina pada temperature u polutki, kao i konačna temperatura i vreme hlađenja, radi postizanja traženog higijenskog minimuma (Poglavlje 2.3.4.1) i tehnološkog kvaliteta svinjskog mesa (Poglavlje 2.3.1).

Brzina pada temperature u polutkama koja se zahteva za sertifikovano svinjsko meso u Nemačkoj (Honikel, 1999a)

Karakteristika	Anatomski deo (mišić)	Vreme post mortem			
		45 minuta	1.5 sata	4 sata	24 sata
T (°C)	M. longissimus dorsi	< 40	< 35	10 – 20	< 7
	M. semimembranosus	< 40	< 36	< 22	< 7

Prema USDA – FSIS opštem HACCP planu za proizvodnju svinjskog mesa (USDA – FSIS, 1999a) hlađenje mora započeti najkasnije 1 sat nakon iskrvarenja i najkasnije do 24 sata post mortem mora se dostići interna temperatura od 40°F (4.4°C) ili niža.

U ispitivanjima Gill-a i Bryant-a (1992) utvrđeno je smanjenje nivoa gram negativnih bakterija tokom konvencionalnog hlađenja, kao rezultat sasušivanja površine polutki. Hlađenjem se mogu značajno redukovati i samo pojedine grupe ili vrste mikroorganizama, na primer, kao u slučaju bakterija iz roda *Campylobacter*, koje su posebno osetljive na sasušivanje površine polutki i niske temperature pod aerobnim uslovima (Borch i sar., 1996).

Primenom metodologije propisane u Odluci Evropske Unije za određivanje mikrobiološkog kvaliteta polutki (Commission Decision 2001/471/EC), Spescha i sar. (2006) su ispitivanjem mikrobiološke kontaminacije polutki svinja u dve klanice u Švajcarskoj, koje su verifikovane od strane Evropske Unije, tokom konvencionalnog hlađenja utvrdili da dolazi do smanjenja ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija, mikroorganizama iz porodice *Enterobacteriaceae* i koagulaza pozitivnih stafilokoka.

Suprotno, u studiji koja je urađena u Irskoj tokom konvencionalnog hlađenja (na 2 do 4°C, tokom noći) u malim klanicama utvrđeno je značajno povećanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija (na

vratu, trbuhu i butu) (Bolton i sar., 2002b – Final Report, Project RMIS No. 4667), dok je u velikim klanicama, takođe, utvrđeno numeričko, ali ne i značajno povećanje (osim u predelu vrata) u ukupnom broju aerobnih mezofilnih bakterija i ukupnom broju koliformnih bakterija na trbuhu i butu (Bolton i sar., 2002b – Final Report, Project RMIS No. 4667; Pearce i sar., 2004).

Gill i Jones (1997) su utvrdili da tokom konvencionalnog hlađenja može doći i do značajnog smanjenja i do značajnog povećanja ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija na polutkama.

Kontradiktorni rezultati uticaja hlađenja na mikrobiološki kvalitet, odnosno razlike u trendu i nivou promena u ukupnom broju bakterija na površini polutki, mogu se objasniti različitim parametrima hlađenja. Faktori kao što su: brzina strujanja vazduha, relativna vlažnost, temperaturni profil pojedinačnih polutki (masa polutki, inicijalna temperatura, debljina masnog tkiva) i rastojanje između polutki, mogu značajno uticati na brzinu hlađenja, a samim tim i na broj i status bakterija na ohlađenim polutkama (Feldhusen i sar., 1992; Sheridan, 2000).

Zbog mogućnosti prevencije razmnožavanja mikroorganizama na površini toplih polutki, u studiji koja je urađena u Irskoj (Bolton i sar., 2002b – Final Report, Project RMIS No. 4667), hlađenje je identifikovano kao kritična kontrolna tačka.

U USDA – FSIS opštem HACCP planu za proizvodnju svinjskog mesa (USDA – FSIS, 1999a) hlađenje je, takođe, identifikovano kao kritična kontrolna tačka, s obzirom da može doći do biološkog rizika, ako nije sprovedena odgovarajuća procedura hlađenja.

Dodatne metode za ostvarivanje boljeg konzervišućeg efekta hlađenja i bolje održivosti mesa, podrazumevaju smanjenje inicijalnog broja mikroorganizama, odnosno striktno sprovođenje pripreme stoke za klanje i pravilno izvođenje pojedinih tehnoloških operacija na liniji klanja, da bi se sekundarna kontaminacija svela na minimum, i optimizaciju hlađenja (primenjena temperatura i trajanje hlađenja) (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 2002).

Pored higijenskih zahteva, sa tehničko-ekonomskog stanovišta primenjenim sistemom hlađenja potrebno je obezbediti: što kraće vreme hlađenja, što manji gubitak mase (pošto se hlađenje mesa, u pravilu, obavlja indirektnim postupkom), što niža investiciona ulaganja i što niže troškove eksploatacije (Rede i Petrović, 1997).

Brzina odvođenja toplote, odnosno brzina pada temperature, a samim tim i vrednosti pH, ima uticaj i na ostale faktore kvaliteta mesa (tehnološke, senzorne) (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999a; Huff-Lonergan i Page, 2001; Savell i sar., 2005). Samo neki osnovni sastojci mesa kao što su sadržaj proteina, masti, vitamina i minerala, kao i prisustvo rezidua nisu pod uticajem temperature i vrednosti pH (Honikel, 1999a).

### **Uticaj brzine hlađenja polutki na kalo hlađenja i kvalitet svinjskog mesa**

Dr *Vladimir Tomović*  
Tehnološki fakultet, Novi Sad  
tel.: 00381 (0) 21 485 37 04  
e-mail: [tomovic@uns.ac.rs](mailto:tomovic@uns.ac.rs)

Uticaj ubrzanog hlađenja na kvalitet mesa, svakako, da prvenstveno zavisi od režima hlađenja. Hlađenje je poslednja operacija u procesu proizvodnje mesa i poslednja operacija kojom se još uvek može uticati

na krajnji kvalitet mesa. Iz tog razloga uticaj hlađenja na krajnji kvalitet proizvedenog mesa u velikoj meri zavisi i od ostalih premortalnih i postmortalnih faktora proizvodnje. Postojanje velikog broja faktora proizvodnje koji utiču na krajnji kvalitet mesa, kao i primena različitih režima ubrzanog hlađenja objašnjava rezultate i mišljenja prema kojima ubrzanim hlađenjem nije uvek utvrđen pozitivan uticaj na kvalitet mesa, odnosno da postoji mogućnost da dođe i do negativnog (štetnog) uticaja na kvalitet mesa.

Ispitivanjem uticaja tuširanja svinja pre klanja i brzog vazdušnog hlađenja polutki zimi (na  $-20^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s, u trajanju od 3 sata ili na  $-20^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s, u trajanju od 2 sata, i zatim na  $3^{\circ}\text{C}$ , sa relativnom vlažnošću vazduha od 85 do 90%, do 19 sati post mortem) i leti (na  $-20^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s, u trajanju od 3 sata i zatim na  $3^{\circ}\text{C}$ , sa relativnom vlažnošću vazduha od 85 do 90%, do 19 sati post mortem), u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $3^{\circ}\text{C}$ , do 19 sati post mortem), Long i Tarrant (1990) su utvrdili značajno smanjenje ( $P < 0.01$ ) kala hlađenja od 26.5, 16.7 i 29.2%. Kod brzo hlađenih polutki interna temperatura od  $10^{\circ}\text{C}$  u sredini *M. longissimus dorsi* utvrđena je 4 sata ranije, a u dubini buta 3 sata ranije, primenom većih brzina hlađenja, odnosno 2 sata i 1 sat ranije, primenom manje brzine hlađenja, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem ( $P < 0.01$ ). Brzo hlađenje značajno je uticalo ( $P < 0.05$ ) i na usporavanje pada vrednosti pH u *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus* i u zimskom i u letnjem periodu. Značajno ( $P < 0.05$ ) tamnija boja (manja reflektanca utvrđena "fibre optic probe" – "FOP" uređajem) tokom i na kraju hlađenja utvrđena je samo kod *M. longissimus dorsi*, a ne i kod *M. semimembranosus*, i to i u zimskom i u letnjem periodu, ali primenom veće brzine

hlađenja. Postupak hlađenja nije značajno uticao ( $P > 0.05$ ) na "drip loss" *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus*. Merenjima samo na *M. longissimus dorsi* nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) između kala kuvanja i vrednosti sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) različito hlađenih mišića.

Jones i sar. (1993) su ispitivali uticaj nekoliko režima brzog vazdušnog hlađenja polutki na kalo hlađenja, promenu brzine pada temperature i vrednosti pH i boju ( $L^*a^*b^*$  vrednosti), "drip loss", rastvorljivost proteina, vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) i dužinu sarkomera *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus*. Primenom viših temperatura, odnosno manjih brzina hlađenja (na  $-20^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 5 m/s, u trajanju od 1, 2 i 3 sata i zatim sprej/konvencionalno po 60 sekundi na svakih 15 minuta sa ohlađenom vodom na  $1^{\circ}\text{C}$ , ukupno 40 ciklusa, na  $1^{\circ}\text{C}$  i sa brzinom strujanja vazduha od 1 m/s i zatim na  $1^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem), u poređenju sa sprej/konvencionalnim hlađenjem, nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u kalu hlađenja, s tim da se kalo hlađenja povećavao sa povećanjem brzine hlađenja. Suprotno, primenom nižih temperatura, odnosno većih brzina hlađenja (na  $-40^{\circ}\text{C}$  i identičnim ostalim uslovima hlađenja) sa produženjem vremena brzog hlađenja kalo hlađenja se smanjivao, dok je kod polutki koje su najbrže hlađene (3 sata na  $-40^{\circ}\text{C}$ ) utvrđen prirast u masi polutki (zbog istovremenog sprej hlađenja). Sa produženjem vremena brzog hlađenja, utvrđeno je značajno snižavanje ( $P < 0.05$ ) temperatura i u brzo hlađenim *M. longissimus dorsi* i u brzo hlađenim *M. semimembranosus* tokom hlađenja (3 sata i 6 sati post mortem), u poređenju sa sprej/konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi* i u *M. semimembranosus*, s tim da na kraju hlađenja (24 sata post mortem) značajna razlika u temperaturama između

sprej/konvencionalno i brzo hlađenih polutki nije utvrđena ( $P > 0.05$ ) samo kod *M. longissimus dorsi* koji su hlađeni na nižoj temperaturi (na  $-20^{\circ}\text{C}$ ), u poređenju sa sprej/konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*. Kod *M. longissimus dorsi*, nezavisno od temperature hlađenja, nakon 3 sata brzog hlađenja utvrđeno je značajno usporavanje ( $P < 0.05$ ) brzine pada vrednosti pH, zatim i 6 sati post mortem i na kraju hlađenja (24 sata post mortem), u poređenju sa sprej/konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, dok je kod *M. semimembranosus* značajno ( $P < 0.05$ ) usporavanje brzine pada vrednosti pH utvrđeno na višoj temperaturi hlađenja ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) tokom hlađenja (3 sata post mortem) i na kraju hlađenja (24 sata post mortem), a na nižoj temperaturi hlađenja ( $-40^{\circ}\text{C}$ ) samo tokom hlađenja (3 sata post mortem), u poređenju sa sprej/konvencionalno hlađenim *M. semimembranosus*. Kod *M. longissimus dorsi*, koji su hlađeni na višoj temperaturi ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), u trajanju od 3 sata, u poređenju sa sprej/konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, na kraju hlađenja (24 sata post mortem) utvrđena je značajno ( $P < 0.05$ ) tamnija boja (manja  $L^*$  vrednost), značajno manje ( $P < 0.05$ )  $a^*$  i  $b^*$  vrednosti, značajno manji ( $P < 0.05$ ) "drip loss", značajno veća ( $P < 0.05$ ) vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) i značajno skraćanje ( $P < 0.05$ ) dužine sarkomera, dok su pri istim uslovima hlađenja, kod brzo hlađenih *M. semimembranosus* utvrđene značajno manje ( $P < 0.05$ )  $a^*$  i  $b^*$  vrednosti i značajno veća ( $P < 0.05$ ) vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća), u poređenju sa sprej/konvencionalno hlađenim *M. semimembranosus*. U istim ispitivanjima primenom nižih temperatura hlađenja (na  $-40^{\circ}\text{C}$ ), nakon 3 sata brzog hlađenja, kod brzo hlađenih *M. longissimus dorsi*, na kraju hlađenja (24 sata post mortem), u poređenju sa sprej/konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, utvrđena je značajno ( $P$

$< 0.05$ ) tamnija boja ( $L^*$  vrednost) i značajno manja ( $P < 0.05$ )  $b^*$  vrednost, dok je, pri istim uslovima hlađenja, kod brzo hlađenih *M. semimembranosus* utvrđena značajno ( $P < 0.05$ ) tamnija boja ( $L^*$  vrednost) i značajno manje ( $P < 0.05$ )  $a^*$  i  $b^*$  vrednosti, u poređenju sa sprej/konvencionalno hlađenim *M. semimembranosus*.

Van der Wal i sar. (1995) su ispitivanjem uticaja dva režima ubrzanog vazdušnog hlađenja polutki (na  $-5^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 2 sata i na  $-30^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 30 minuta, sa brzinama strujanja vazduha od 1, 2 i 4 m/s i zatim na 0 do  $4^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s, do 24 sata post mortem), na kalo hlađenja i krajnji kvalitet svinjskog mesa, utvrdili da je kod konvencionalno hlađenih polutki (na 0 do  $4^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s do 24 sata post mortem) i ubrzano hlađenih polutki (na  $-5^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 2 sata post mortem), na svim brzinama strujanja vazduha, kalo hlađenja oko 2.0 % (oko 0.9 kg po polutki), dok je kod ubrzano hlađenih polutki (na  $-30^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 30 minuta), u poređenju sa ostalim režimima hlađenja, utvrđen značajno manji ( $P < 0.001$ ) kalo hlađenja, s tim da se sa povećanjem brzine strujanja vazduha kalo hlađenja dodatno smanjivao. Tokom hlađenja, kod ubrzano hlađenih polutki na nekoliko pozicija utvrđena je značajno niža temperatura ( $P < 0.001$ ), u poređenju sa temperaturama izmerenim na istim pozicijama u konvencionalno hlađenim polutkama. U istim ispitivanjima uticaja ubrzanog hlađenja na brzinu pada vrednosti pH, na sposobnost vezivanja vode ("drip loss" i filter papir metoda), kalo kuvanja, boju, dužinu sarkomera i vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) *M. longissimus dorsi*, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, utvrđeno je da se sa povećanjem brzine strujanja vazduha, kod ubrzano hlađenih polutki, značajno usporava ( $P < 0.05$ ) brzina pada vrednosti



pH i značajno smanjuje ( $P < 0.05$ ) "drip loss" i to samo primenom jednog režima ubranog hlađenja ( $-5^{\circ}\text{C}$ , 4 m/s), odnosno značajno povećava ( $P < 0.05$ ) vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) i značajno skraćuje ( $P < 0.10$ ) dužina sarkomera i to primenom drugog režima ubranog hlađenja ( $-30^{\circ}\text{C}$ , 4 m/s), što kako navode autori rada dovodi do povećanog rizika od pojave "cold shortening-a". Brzina hlađenja polutki nije značajno uticala ( $P > 0.05$ ) na kalo kuvanja, sposobnost vezivanja vode (filter papir metoda) i boju ( $L^*$  vrednost) M. longissimus dorsi.

Ispitivanjem uticaja brzog višefaznog hlađenja polutki (na  $-15^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 50 minuta, zatim na  $5^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 5 sati, zatim na  $-2^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 6 sati i zatim na  $5^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem) u poređenju sa sporim višefaznim hlađenjem (na  $5^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 7 sati, zatim na  $-2^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 6 sati i zatim na  $5^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem) Josell i sar. (2003) su utvrdili kod brzo hlađenih polutki značajno smanjenje kala hlađenja ( $P \leq 0.001$ ), koji je iznosio 1.46%, u poređenju sa sporim hlađenjem kod kojeg je utvrđen kalo hlađenja od 1.89%. U istim ispitivanjima temperatura od  $10^{\circ}\text{C}$  u centru M. longissimus dorsi utvrđena je 3.5 sata post mortem, kod brzo hlađenih polutki, odnosno 8 sati post mortem, kod sporo hlađenih polutki. U sredini M. semimembranosus temperatura od  $10^{\circ}\text{C}$  utvrđena je 11.5 sati post mortem, kod brzo hlađenih polutki, odnosno 14 sati post mortem, kod sporo hlađenih polutki. Značajno usporavanje ( $P < 0.05$ ) pada vrednosti pH tokom i na kraju hlađenja polutki (24 sata post mortem) utvrđeno je i kod brzo hlađenih M. longissimus dorsi (5, 7 i 24 sata post mortem), u poređenju sa konvencionalno hlađenim M. longissimus dorsi, i kod brzo hlađenih M. semimembranosus (3, 5, 7 i 24 sata post mortem), u poređenju sa konvencionalno hlađenim M. semimembranosus. Brzo

hlađenje polutki značajno je uticalo ( $P = 0.002$ ) na tamniju boju (manja reflektanca utvrđena "FOP" uređajem) M. longissimus dorsi, u poređenju sa sporo hlađenim M. longissimus dorsi, ali navedeni uticaj nije ispoljen i na boju M. semimembranosus ( $P > 0.05$ ). Merenjima samo na M. longissimus dorsi, između različito hlađenih mišića, nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u sposobnosti vezivanja vode ("drip loss"), kalu kuvanja, vrednosti sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća), sočnosti, dužini sarkomera i dužini miofibrila, koja je merena 4 dana post mortem.

U ponovljenim ispitivanjima (Dransfield i sar., 1991) uticaja brzog hlađenja polutki (prema prethodno definisanom režimu: na  $-15^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 1.2 m/s, do dostizanja temperature od  $10^{\circ}\text{C}$  u sredini M. longissimus dorsi, odnosno do oko 3 sata od klanja, i zatim na  $1^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem; Dransfield i Lockyer, 1985) na kvalitet svinjskog mesa, u poređenju sa konvencionalno hlađenim polutkama (na  $1^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s, do 24 sata post mortem) interna temperatura u dubini buta od  $7^{\circ}\text{C}$  kod konvencionalno hlađenih polutki dostignuta je 18 sati nakon klanja, a kod brzo hlađenih polutki 12 sati nakon klanja. Na početku (40 minuta post mortem) i na kraju hlađenja (24 sata post mortem) nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) između vrednosti pH merenim u M. longissimus dorsi i M. semimembranosus, ali je tokom hlađenja (3 sata post mortem) utvrđeno značajno ( $P < 0.05$ ) usporavanje pada vrednosti pH i to samo kod brzo hlađenih M. longissimus dorsi, u poređenju sa konvencionalno hlađenim M. longissimus dorsi. Između M. longissimus dorsi i između M. semimembranosus, sa konvencionalno i brzo hlađenih polutki, nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u sposobnosti vezivanja vode ("drip loss"), ali je boja (reflektanca utvrđena "FOP" uređajem),

koja je merena samo na *M. longissimus dorsi*, bila značajno ( $P < 0.05$ ) tamnija (manja reflektanca utvrđena "FOP" uređajem) kod brzo hlađenih *M. longissimus dorsi*, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*. Brzina hlađenja polutki nije značajno ( $P > 0.05$ ) uticala ni na tvrdoću mesa (Volodkevitch test) određenu nakon 3 dana kondicioniranja i to na oba mišića (*M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus*), odnosno nakon 7 dana kondicioniranja (tvrdoća merena samo na *M. longissimus dorsi*).

McFarlane i Unruh (1996) su primenjenim režimom brzog vazdušnog hlađenja polutki (na  $-25^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 1 sata i zatim na  $1^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem) već 2 sata post mortem, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $1^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem), utvrdili značajno nižu ( $P < 0.05$ ) temperaturu u *M. longissimus dorsi*, dok u isto vreme post mortem nije bilo značajnih razlika ( $P > 0.05$ ) u brzinama pada vrednosti pH između različito hlađenih *M. longissimus dorsi*. Na kraju hlađenja (24 sata post mortem) nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u temperaturama *M. longissimus dorsi*, ali je kod brzo hlađenih *M. longissimus dorsi* utvrđena tendencija značajno više ( $P = 0.06$ ) vrednosti pH, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*. U istim ispitivanjima utvrđeno je da brzina hlađenja nema značajan uticaj ( $P > 0.05$ ) na vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) i količinu eksudata – iscedka kod *M. longissimus dorsi*, ali je, isto tako, kod ubrzano hlađenih *M. longissimus dorsi* utvrđena tendencija manjeg ( $P = 0.09$ ) kala kuvanja, odnosno značajno manji ( $P < 0.05$ ) ukupan kalo (eksudat i kalo kuvanja).

Milligan i sar. (1998) su ispitivanjem uticaja ubrzanog vazdušnog hlađenja (na  $-32^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 100 minuta, sa brzinom strujanja vazduha od  $2 \text{ m}^3/\text{s}$  i zatim na

$2^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem) na kvalitet svinjskog mesa, kod brže hlađenih polutki, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $2^{\circ}\text{C}$  do 24 sata post mortem), tokom celog hlađenja (1.5, 2.5, 3.5, 4.5 i 5.5 sati post mortem) i na kraju hlađenja (24 sata post mortem) utvrdili značajno nižu temperaturu u dubini buta ( $P < 0.01$ ). Primenjeni režim ubrzanog hlađenja rezultirao je i značajnim usporavanjem ( $P < 0.05$ ) brzine pada vrednosti pH u *M. longissimus dorsi*, tokom hlađenja (4.5 i 5.5 sati) i na kraju hlađenja (24 sata post mortem), u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*. U istim ispitivanjima uticaja ubrzanog hlađenja na boju (senzorno i instrumentalno), teksturu (senzorno), čvrstinu (senzorno), sposobnost vezivanja vode ("drip loss", količina eksudata – iscedka, sadržaj vode i procenat slobodne, vezane i imobilizirane vode), kalo kuvanja, rastvorljivost proteina i vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus*, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus*, kod ubrzano hlađenih *M. longissimus dorsi* utvrđene su značajno veće vrednosti ( $P < 0.05$ ) za boju (senzorno), teksturu i čvrstinu, kao i značajno veća ( $P < 0.05$ ) količina eksudata, zatim značajno manja ( $P < 0.05$ )  $L^*$  vrednost i značajno veća vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća), dok je kod ubrzano hlađenih *M. semimembranosus* utvrđen značajno veći sadržaj vode ( $P < 0.05$ ). U istim ispitivanjima, između ubrzano i konvencionalno hlađenih *M. longissimus dorsi* i između ubrzano i konvencionalno hlađenih *M. semimembranosus*, nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u "drip loss-u", sadržaju slobodne, vezane i imobilizirane vode, odnosno brzina hlađenja nije imala značajan ( $P > 0.05$ ) uticaj na kalo kuvanja, rastvorljivost proteina i na sadržaj vode u različito hlađenim *M. longissimus dorsi* i količinu

eksudata i boju ( $L^*a^*b^*$  vrednosti) različito hlađenih *M. semimembranosus*.

Kerth i sar. (2001) su u ispitivanjima uticaja ubrzanog vazdušnog hlađenja polutki na kvalitet mesa stres rezistentnih i stres osetljivih svinja, utvrdili da je ubrzano hlađenje polutki (na  $-20^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 1.5 sat, sa brzinom strujanja vazduha od  $0.1 \text{ m}^3/\text{s}$  i zatim na  $4^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem), u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $4^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem), značajno uticalo ( $P < 0.05$ ), do 21 sat post mortem, na brži pad temperature i u kareu i u butu, dok je na kraju hlađenja (24 sata post mortem) značajno niža ( $P < 0.05$ ) temperatura utvrđena samo u butu ubrzano hlađenih polutki, u poređenju sa konvencionalno hlađenim polutkama. Primenjeni režim ubrzanog hlađenja nije značajno uticao ( $P > 0.05$ ) na usporavanje pada vrednosti pH u kareu i u butu, u bilo koje vreme post mortem. U istim ispitivanjima, nezavisno od genotipa, utvrđeno je da ubrzano hlađenje polutki, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem, značajno utiče ( $P < 0.05$ ) na senzorni kvalitet karea i buta, odnosno na tamniju boju i veću čvrstinu, dok isti uticaj nije utvrđen ( $P > 0.05$ ) za boju (određenu instrumentalno), odnosno za  $L^*a^*b^*$  vrednosti, zatim "drip loss" i kalo kuvanja. Sa druge strane, povećanjem brzine hlađenja polutki utvrđeno je značajno smanjenje ( $P < 0.05$ ) pojavljivanja BMV mesa i kod karea (sa 38 na 17 %, odnosno za 21.4 %) i kod butova (sa 32 na 10 %, odnosno za 21.9 %), kod stres osetljivih svinja, ali ne i kod stres rezistentnih svinja, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem.

U laboratorijskim ispitivanjima koja su izveli Rees i sar. (2002) između *M. longissimus dorsi* koji su otkošteni 30 minuta post mortem i koji su zatim kondicionirani u vodenom kupatilu na različitim temperaturama (0, 7, 14 i  $21^{\circ}\text{C}$ ) do 60 minuta nakon početka rigor mortis-a

( $\text{pH} < 5.8$ ), utvrđena je značajna razlika ( $P < 0.001$ ) u brzini pada temperature, između svih tretmana, već nakon 1 sat od klanja, pa sve do kraja kondicioniranja, tako da su mišići kondicionirani na  $0^{\circ}\text{C}$  imali najnižu temperaturu, a mišići kondicionirani na  $21^{\circ}\text{C}$  su imali najvišu temperaturu. Na početku i na kraju kondicioniranja i nakon 4 dana post mortem (vakuum upakovani *M. longissimus dorsi* i držani na  $2^{\circ}\text{C}$ ) nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u vrednosti pH različito kondicioniranih *M. longissimus dorsi*. Brzina pada vrednosti pH tokom kondicioniranja bila je slična u svim tretmanima ( $P > 0.05$ ). Kod mišića koji su kondicionirani na  $0^{\circ}\text{C}$  utvrđen je značajno veći ( $P < 0.01$ ) "drip loss", u poređenju sa mišićima koji su kondicionirani na  $21^{\circ}\text{C}$ . Na kraju perioda kondicioniranja nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u boji ( $L^*$  vrednost) između različito kondicioniranih *M. longissimus dorsi*, ali je 4 dana post mortem, sa povećanjem temperature kondicioniranja, utvrđeno povećanje  $L^*$  vrednosti, odnosno svetlija boja ( $P < 0.001$ ). Vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) na kraju perioda kondicioniranja nije se značajno razlikovala ( $P > 0.05$ ) između različito kondicioniranih *M. longissimus dorsi*, ali jeste 4 dana post mortem, tako što sa povećanjem temperature kondicioniranja značajno smanjivala ( $P < 0.01$ ) vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća), odnosno mišići kondicionirani na  $0^{\circ}\text{C}$  su bili mnogo tvrđi od mišića koji su kondicionirani na višim temperaturama. Suprotan trend, u odnosu na mekoću, utvrđen je za indeks fragmentacije miofibrila, odnosno na kraju perioda kondicioniranja nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u indeksu fragmentacije miofibrila različito kondicioniranih *M. longissimus dorsi*, ali je 4 dana post mortem, sa povećanjem temperature kondicioniranja, utvrđeno značajno povećanje ( $P < 0.01$ ) indeksa fragmentacije miofibrila. Dužina sarkomera bila je

značajno kraća ( $P < 0.01$ ) kod *M. longissimus dorsi*, koji su kondicionirani na  $0^{\circ}\text{C}$ , na kraju perioda kondicioniranja i 4 dana post mortem, u poređenju sa ostalim tretmanima. Sadržaj katepsina B, na kraju perioda kondicioniranja, bio je značajno manji ( $P < 0.05$ ) kod *M. longissimus dorsi* koji su kondicionirani na  $21^{\circ}\text{C}$ , u poređenju sa ostalim tretmanima, dok u sadržaju enzima katepsina B, katepsina B + L i katepsina D, na kraju perioda kondicioniranja, nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ), između različitih tretmana. SDS-PAGE analizom, koja je urađena prvog i četvrtog dana post mortem, utvrđeno je da različiti uslovi kondicioniranja nisu doveli do razlika u degradaciji proteina, odnosno miofibrila, s tim da je četvrtog dana post mortem utvrđena degradacija konektina (titina), nebulina i troponina-T, kod svih tretmana.

U ponovljenim laboratorijskim ispitivanjima Rees i sar. (2003) su otkoštavanjem *M. longissimus dorsi* 30 minuta post mortem i zatim kondicioniranjem u vodenom kupatilu na dve različite temperature ( $2$  ili  $14^{\circ}\text{C}$ ) do 60 minuta nakon početka rigor mortis-a ( $\text{pH} < 5.8$ ), utvrdili značajno brži pad temperature ( $P < 0.001$ ) i značajno sporiji pad vrednosti pH ( $P < 0.01$ ), odnosno značajno duže vreme ( $P < 0.01$ ) do početka rigor mortis-a, kod *M. longissimus dorsi* koji su kondicionirani na  $2^{\circ}\text{C}$ . Kod *M. longissimus dorsi* koji su kondicionirani na  $2^{\circ}\text{C}$  utvrđena je značajno veća ( $P < 0.01$ ) vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) 2, 4 i 8 dana post mortem, ali ne i nakon završenog kondicioniranja ( $P > 0.05$ ). Mekoća, ocenjena senzorno 2 dana post mortem, takođe je bila značajno manja ( $P < 0.01$ ) kod *M. longissimus dorsi* koji su kondicionirani na  $2^{\circ}\text{C}$ . Na ostale ispitane parametre kvaliteta ("drip loss", boja –  $L^*a^*b^*$  vrednosti, ukus, sočnost) na kraju kondicioniranja, odnosno 4 dana post mortem, nije utvrđen značajan uticaj ( $P > 0.05$ ) uslova kondicioniranja. Nakon

završenog kondicioniranja između različito hlađenih *M. longissimus dorsi* nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u rastvorljivosti sarkoplazmatskih proteina, dužini sarkomera i indeksu fragmentacije miofibrila, međutim četvrtog dana post mortem kod *M. longissimus dorsi* koji su hlađeni na  $2^{\circ}\text{C}$  utvrđena je značajno manja dužina sarkomera ( $P < 0.05$ ) i značajno manji indeks fragmentacije miofibrila ( $P < 0.01$ ), u poređenju sa *M. longissimus dorsi* koji su hlađeni na  $14^{\circ}\text{C}$ . SDS-PAGE analizom, koja je urađena na kraju kondicioniranja i četvrtog dana post mortem, utvrđeno je da različiti uslovi kondicioniranja nisu doveli do razlika u degradaciji proteina, odnosno miofibrila, odnosno da sporiji režim hlađenja nije uticao na denaturaciju proteina. SDS-PAGE analizom koja je urađena četvrtog dana post mortem utvrđena je degradacija konektina (titina) i troponina-T, nezavisno od uslova kondicioniranja.

Springer i sar. (2003) su ispitivanjem uticaja ubrzanog vazdušnog hlađenja polutki na poboljšanje kvaliteta svinjskog mesa utvrdili da sa produženjem vremena ubrzanog hlađenja u tunelu (na  $-32^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od  $2 \text{ m}^3/\text{s}$ , u trajanju od 60, 90, 120 i 150 minuta i zatim na  $2^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem), u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $2^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od  $1.2 \text{ m}^3/\text{s}$ , do 24 sata post mortem), dolazi do značajno bržeg pada temperature ( $P < 0.05$ ) i u sredini *M. longissimus dorsi* i u dubini buta i to tokom i na kraju hlađenja (1.5, 2.5, 3.5, 4.5, 5.5 i 24 sati post mortem), s tim da je značajno brži pad temperature ( $P < 0.05$ ) utvrđen već nakon 60 minuta ubrzanog hlađenja u tunelu. Primenjenim režimima ubrzanog hlađenja 3.5 sata post mortem utvrđena je značajno viša ( $P < 0.05$ ) vrednost pH u *M. longissimus dorsi* koji su ubrzano hlađeni 90 i 120 minuta, dok je 4.5 i 5.5 sati post mortem utvrđena značajno viša ( $P < 0.05$ ) vrednost pH u *M. longissimus dorsi* koji su

ubrzano hlađeni 90, 120 i 150 minuta, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, s tim da na kraju hlađenja (24 sata post mortem) nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u vrednostima pH različito hlađenih *M. longissimus dorsi*. Suprotno, kod *M. semimembranosus* značajno viša ( $P < 0.05$ ) vrednost pH utvrđena je samo 1.5 sat post mortem i to kod konvencionalno hlađenih mišića, u poređenju sa ubrzano hlađenim *M. semimembranosus*, dok u ostalim vremenima post mortem između različito hlađenih *M. semimembranosus* nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u vrednostima pH. U istim ispitivanjima utvrđen je pozitivan uticaj ubrzanog hlađenja na nekoliko važnih parametara kvaliteta svinjskog mesa i to prvenstveno kod *M. longissimus dorsi*. U poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, kod ubrzano hlađenih *M. longissimus dorsi*, senzorno je utvrđena značajno tamnija boja, bolja tekstura i bolja čvrstina ( $P < 0.05$ ), ali ne i bolja sočnost ( $P > 0.05$ ). Boja ( $L^*$  vrednost) je bila značajno tamnija ( $P < 0.05$ ) kod svih ubrzano hlađenih *M. longissimus dorsi*, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, s tim da su *M. longissimus dorsi* koji su ubrzano hlađeni 120 i 150 minuta bili značajno ( $P < 0.05$ ) tamniji i od *M. longissimus dorsi* koji su ubrzano hlađeni 60 minuta. Na istim mišićima (*M. longissimus dorsi*) nije utvrđen značajan uticaj ubrzanog hlađenja na  $a^*$  vrednost ( $P > 0.05$ ), ali jeste na  $b^*$  vrednost. Kod svih ubrzano hlađenih *M. longissimus dorsi*, utvrđeno je značajno ( $P < 0.05$ ) smanjenje  $b^*$  vrednosti, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*. U istim ispitivanjima kod *M. semimembranosus* nije utvrđen značajan uticaj ( $P > 0.05$ ) ubrzanog hlađenja na boju (senzorna ocena i  $L^*a^*b^*$  vrednosti), teksturu i čvrstinu, ali jeste za inicijalnu sočnost ( $P < 0.05$ ). Značajan uticaj ubrzanog hlađenja ( $P > 0.05$ ) nije utvrđen ni za "drip loss", kao ni za količinu

eksudata – iscedka kod *M. longissimus dorsi*, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus*, kao ni između različito hlađenih *M. semimembranosus*. Navedeni uticaj nije utvrđen ni za sadržaj vode, procenat slobodne, vezane i imobilizirane vode između različito hlađenih *M. longissimus dorsi*, ali jeste kod *M. semimembranosus* nakon 120 i 150 minuta ubrzanog hlađenja ( $P < 0.05$ ), tako što je utvrđen veći sadržaj vode, manji procenat slobodne vode, veći procenat vezane vode i veći procenat imobilizirane vode, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. semimembranosus*.

Hambrecht i sar. (2004) su primenom trofaznog brzog vazdušnog hlađenja polutki (na  $-15^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 3 m/s, u trajanju od 15 minuta, zatim na  $-10^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 2 m/s, u trajanju od 38 minuta i zatim na  $-1^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 2 m/s, u trajanju od 38 minuta i zatim na  $4^{\circ}\text{C}$ , do 22 sata post mortem), u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $4^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s, do 22 sata post mortem), u oba ispitana mišića (*M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus*) tokom hlađenja (2.5, 4.5 i 6.5 sati post mortem) utvrdili značajno ( $P < 0.05$ ) nižu temperaturu, ali ne i na kraju hlađenja, odnosno 24 sata post mortem ( $P > 0.05$ ). Primenjenim režimom brzog hlađenja tendencija značajnog usporavanja ( $P = 0.061$ ) pada vrednosti pH utvrđena je samo kod *M. semimembranosus* i to u toku, ali ne i na kraju hlađenja (24 sata post mortem), u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. semimembranosus*, dok kod različito hlađenih *M. longissimus dorsi* nije utvrđena značajna razlika u brzini pada vrednosti pH ( $P > 0.05$ ). U istim ispitivanjima, između brzo i konvencionalno hlađenih *M. longissimus dorsi*, nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u boji, iskazanoj preko  $L^*a^*b^*$  vrednosti, i sposobnosti vezivanja vode

(”drip loss” i ”filter paper press” metoda), ali jeste u boji koja je iskazana preko ”FOP” vrednosti (reflektanca), tako što je kod brzo hlađenih *M. longissimus dorsi* utvrđena značajno veća vrednost ( $P < 0.05$ ), odnosno svetlija boja, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*. Brzim hlađenjem polutki, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem, značajno se smanjila ( $P < 0.05$ ) električna provodljivost kod *M. longissimus dorsi*.

Zhang i sar. (2006) su ispitivali uticaj brzog vazdušnog hlađenja polutki (na  $-20^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 3 do 4 m/s, u trajanju od 1 sata i zatim na  $2^{\circ}\text{C}$ , do 24 sati post mortem) na kvalitet *M. longissimus dorsi*, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $2^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 1 do 2 m/s do 24 sati post mortem). Tokom i na kraju hlađenja (3, 5 i 24 sata post mortem) kod brzo hlađenih polutki utvrđen je značajno brži pad temperature ( $P < 0.05$ ) u sredini *M. longissimus dorsi*. Primenjenim režimom brzog hlađenja tokom (3 i 5 sati post mortem) hlađenja utvrđeno je značajno ( $P < 0.05$ ) usporavanje pada vrednosti pH, ali na kraju hlađenja (24 sata post mortem) nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u vrednostima pH različito hlađenih *M. longissimus dorsi*. Kod brzo hlađenih *M. longissimus dorsi* utvrđen je značajno manji ( $P < 0.05$ ) ”drip loss”, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, dok na ostale parametre kvaliteta (količinu iscedka, kalo kuvanja, vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) i boju –  $L^*a^*b^*$  vrednosti) postupak hlađenja nije značajno uticao ( $P > 0.05$ ). Bertram i sar. (2001) su u model ispitivanjima uticaja brzine hlađenja na post mortem energetski metabolizam i dinamiku pada vrednosti pH, simulirajući komercijalno sporo i komercijalno brzo hlađenje, utvrdili da brzo hlađenje značajno ubrzava pad temperature i da značajno usporava brzinu pada vrednosti

pH, s tim da je najveća razlika (0.25 jedinica) između različito hlađenih *M. longissimus dorsi* utvrđena 150 minuta post mortem. U istim ispitivanjima utvrđen je i značajan uticaj brzog hlađenja na poboljšanje sposobnosti vezivanja vode.

Prema rezultatima Møller i Vestergaard (1987), koji su ispitivali uticaj brzine hlađenja na mekoću svinjskog mesa, samo kod *M. longissimus dorsi* sa višim inicijalnim vrednostima pH (definisan kao pH<sub>45min</sub> od 6.1 do 6.5), a ne i kod *M. longissimus dorsi* sa nižim inicijalnim vrednostima pH (definisan kao pH<sub>45min</sub> od 5.7 do 6.1), bez ili sa odloženim hlađenjem od 2 sata (na 2 do  $4^{\circ}\text{C}$ ) pre ubrzanog vazdušnog hlađenja polutki u tunelu (na  $-28$  do  $-22^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 65 min i zatim od 2 do  $4^{\circ}\text{C}$ ) i zatim otkoštenih 3 sata (bez odloženog hlađenja) i 5 sati post mortem (sa odloženim hlađenjem od 2 sata), dolazi do povećanja vrednosti sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća), dok je značajno manja dužina sarkomera utvrđena samo kod mišića otkoštenih 3 sata post mortem (bez odloženog hlađenja), u poređenju sa mišićima sa konvencionalno hlađenih polutki (od 2 do  $4^{\circ}\text{C}$ ), pri čemu je koeficijent korelacije između dužine sarkomera i vrednosti sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) iznosio  $-0.57$ . U istim ispitivanjima utvrđeno je da ni odloženo hlađenje polutki od 2 sata pre ubrzanog hlađenja nema značajan uticaj ( $P > 0.05$ ) na poboljšanje mekoće mišića sa višim inicijalnim vrednostima pH kada su mišići otkošteni 30 sati post mortem, ali odloženo hlađenje polutki od 4 sata značajno ( $P < 0.05$ ) poboljšava mekoću merenu 30 sati post mortem. Vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) i dužina sarkomera nije se značajno razlikovala ni 7 sati post mortem između ubrzano (sa odloženim hlađenjem od 4 sata) i konvencionalno hlađenih *M. longissimus dorsi*. Indeks miofibrilarne fragmentacije, koji je meren 3, 5 i 7 sati post mortem, nije se značajno

razlikovao ( $P > 0.05$ ) između različito hlađenih *M. longissimus dorsi*.

U laboratorijskim ispitivanjima koja su obavili Feldhusen i Kühne (1992) utvrđen je značajan uticaj brzog hlađenja (na  $-20^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 25 do 35 minuta, sa brzinom strujanja vazduha od 3 m/s i relativnom vlažnošću od 100% i zatim na  $5^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.2 m/s i relativnom vlažnošću od 90%), u poređenju sa kontrolnim hlađenjem (na  $5^{\circ}\text{C}$ , sa brzinom strujanja vazduha od 0.2 m/s i relativnom vlažnošću od 90%), na smanjenje dužine sarkomera 3 sata i 45 minuta i 24 sata post mortem ( $P < 0.05$  i  $P < 0.01$ ) kod brzo hlađenih mišića sa normalnom brzinom glikolize (*M. longissimus dorsi*: pH<sub>45min</sub> od 5.6 do 6.45 i *M. semimembranosus*: pH<sub>45min</sub> od 5.8 do 6.5), a značajno povećanje vrednosti sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća) takođe je utvrđeno 3 sata i 45 minuta ( $P < 0.01$ ) i 24 sata post mortem ( $P < 0.05$ ) kod brzo hlađenih *M. longissimus dorsi* i samo 3 sata i 45 minuta post mortem ( $P < 0.01$ ) kod brzo hlađenih *M. semimembranosus*, u poređenju sa kontrolno hlađenim *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus*. Značajne razlike u mekoći nisu utvrđene ( $P > 0.05$ ) između različito hlađenih *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus* sa normalnom brzinom glikolize nakon tenderizacije od 48 i 72 sata post mortem, niti u bilo koje vreme post mortem kod *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus* sa ubrzanim tokom glikolize (*M. longissimus dorsi*: pH<sub>45min</sub>  $< 5.6$  i *M. semimembranosus*: pH<sub>45min</sub>  $< 5.8$ ). Dubina penetracije, kod mišića sa normalnom brzinom glikolize, značajno je bila manja kod brzo hlađenih *M. longissimus dorsi* ( $P < 0.01$ ) i *M. semimembranosus* ( $P < 0.05$ ) 3 sata i 45 minuta post mortem, u poređenju sa kontrolno hlađenim *M. longissimus dorsi* i *M. semimembranosus*, ali ne i 72 sata post mortem, dok kod mišića sa ubrzanim tokom glikolize nije utvrđena značajna

razlika ( $P > 0.05$ ) za ovaj parametar mekoće, u bilo koje vreme post mortem. Različite brzine hlađenja nisu značajno uticale ( $P > 0.05$ ) na promenu brzine pada vrednosti pH u *M. longissimus dorsi* i u *M. semimembranosus*, ni kod mišića sa normalnom, ni kod mišića sa ubrzanom glikolizom.

Gigiel i sar. (1989) su ispitivali uticaj nekoliko različitih alternativnih postupaka hlađenja (hlađenje sa visokom relativnom vlažnošću vazduha: temperatura od  $4^{\circ}\text{C}$ , relativna vlažnost vazduha od 97%, brzina strujanja vazduha od 0.37 m/s, u trajanju od 23 sata; odloženo hlađenje u kombinaciji sa visokom relativnom vlažnošću: temperatura od  $10^{\circ}\text{C}$ , relativna vlažnost vazduha od 98%, brzina strujanja vazduha od 0.55 m/s, u trajanju od 2 sata i zatim na temperaturi od  $4^{\circ}\text{C}$ , sa relativnom vlažnošću vazduha od 97%, brzinom strujanja vazduha od 0.37 m/s, u trajanju od 21 sat; odloženo hlađenje u kombinaciji sa sprej hlađenjem: temperatura od  $10^{\circ}\text{C}$ , relativna vlažnost vazduha od 98%, brzina strujanja vazduha od 0.71 m/s, u trajanju od 2 sata i zatim na temperaturi od  $4^{\circ}\text{C}$ , sa relativnom vlažnošću vazduha od 97%, brzinom strujanja vazduha od 0.31 m/s, u trajanju od 21 sat, s tim da je sprej hlađenje primenjeno u prvih 6 sati od klanja na svakih 20 minuta; brzo hlađenje u kombinaciji sa visokom relativnom vlažnošću: temperatura od  $-20^{\circ}\text{C}$ , brzina strujanja vazduha od 2.57 m/s, u trajanju od 1.5 sata i zatim na temperaturi od  $4^{\circ}\text{C}$ , sa relativnom vlažnošću vazduha od 97%, brzinom strujanja vazduha od 0.30 m/s, u trajanju od 21.5 sat; brzo hlađenje u kombinaciji sa konvencionalnim hlađenjem: temperatura od  $-20^{\circ}\text{C}$ , brzina strujanja vazduha od 2.73 m/s, u trajanju od 1.5 sata i zatim na temperaturi od  $4^{\circ}\text{C}$ , sa relativnom vlažnošću vazduha od 92%, brzinom strujanja vazduha od 0.41 m/s, u trajanju od 21.5 sat) na mogućnost skraćivanja hlađenja i kala hlađenja, zatim na vrednost pH (40 minuta i 24 sata post

mortem), sposobnost vezivanja vode ("drip loss"), boju (reflektanca utvrđena "FOP" uređajem, 40 minuta i 24 sata post mortem), kalo kuvanja i teksturu (mekoću) *M. longissimus dorsi* i mikrobiološki kvalitet polutki (ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija), u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (temperatura od 4°C, relativna vlažnost vazduha od 92%, brzina strujanja vazduha od 0.33 m/s, u trajanju od 23 sata). Kod svih postupaka hlađenja, hlađenje je započelo 1 sat post mortem. Primenjenim postupcima hlađenja interna temperatura od 7°C utvrđena je u intervalu od 15.7 (brzo hlađenje u kombinaciji sa konvencionalnim) do 19.0 sati (odloženo hlađenje u kombinaciji sa visokom relativnom vlažnošću vazduha), dok je kalo hlađenja iznosio od 0.95 (odloženo hlađenje u kombinaciji sa sprej hlađenjem) do 2.17% (konvencionalno hlađenje). Značajno veća ( $P < 0.05$ ) vrednost za teksturu, utvrđena je kod *M. longissimus dorsi* koji su brzo hlađeni i zatim konvencionalno i to u poređenju sa svim ostalim postupcima hlađenja. Između ostalih pokazatelja tehnološkog kvaliteta, različito hlađenih *M. longissimus dorsi*, utvrđene razlike nisu bile značajne ( $P > 0.05$ ). Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija nije se značajno razlikovao ( $P > 0.05$ ) između lateralne i medijalne strane polutki pre hlađenja, niti između lateralne i medijalne strane polutki posle hlađenja, odnosno pre i posle hlađenja polutki, nezavisno od primenjenog režima hlađenja.

Kriogenim hlađenjem polutki (potapanjem polutki u tečni azot u trajanju od 1 ili 3 minuta i zatim na 1°C, do 24 sata post mortem), u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na 1°C, sa brzinom strujanja vazduha od 0.5 m/s, do 24 sata post mortem), Jones i sar. (1991) su sa povećanjem brzine hlađenja, 6 sati post mortem i na kraju hlađenja (24 sata post mortem), utvrdili značajno ( $P < 0.05$ ) smanjenje kala hlađenja. Sa povećanjem brzine hlađenja, već 2 sata i zatim 6 sati

post mortem utvrđen je i značajno brži pad temperature ( $P < 0.05$ ) u *M. longissimus dorsi*, ali na kraju hlađenja (24 sata post mortem) nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u temperaturi različito hlađenih *M. longissimus dorsi*. Povećanje brzine hlađenja uticalo je i na promenu brzine pada vrednosti pH. Kod *M. longissimus dorsi* sa polutki koje su potapane u tečni azot (3 minuta), 6 sati post mortem, utvrđen je značajno ( $P < 0.05$ ) sporiji pad vrednosti pH, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*, ali na kraju hlađenja (24 sata post mortem) nije utvrđena značajna razlika ( $P > 0.05$ ) u vrednostima pH *M. longissimus dorsi* sa različito hlađenih polutki. U istim ispitivanjima nije utvrđen značajan uticaj ( $P > 0.05$ ) veće brzine hlađenja na boju ( $L^*a^*b^*$  vrednosti), "drip loss", rastvorljivost proteina i dužinu sarkomera, ali je kod *M. longissimus dorsi* sa polutki koje su bile potopljene u tečni azot, u trajanju od 1 minuta, utvrđena značajno ( $P < 0.05$ ) veća vrednost sile smicanja – Warner-Bratzler (mekoća), u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. longissimus dorsi*. Takođe, značajna razlika ( $P > 0.05$ ) nije utvrđena ni u ukupnom broju aerobnih mezofilnih bakterija, na površini različito hlađenih polutki, odnosno poređenjem ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija na početku i na kraju hlađenja. Ni konvencionalno hlađenje, ni hlađenje tečnim azotom, nema značajan uticaj na promenu ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija na površini polutki. U istim ispitivanjima, primenom nešto drugačijeg režima hlađenja, na kraju konvencionalnog hlađenja u *M. semimembranosus* jedino je značajno porastao ( $P < 0.05$ ) broj bakterija *P. fragi* Ju 7, u poređenju sa brojem bakterija pre početka hlađenja. U poređenju sa brojem bakterija pre hlađenja i u poređenju sa brojem bakterija nakon konvencionalnog hlađenja u *M. semimembranosus* sa polutki koje su hlađene potapanjem u tečni azot (3 minuta) utvrđen je značajno manji ( $P <$



0.05) broj bakterija *Pseudomonas* D23, *Pseudomonas fragi* Ju 7, *Pseudomonas fragi* Ju 14, *Brochotrix thermospacta* B2, *E. coli* ATCC 11775 i *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, dok broj bakterija *Alteromonas putrefaciens* ATCC 8071, *Lactobacillus divergens* M2 i *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, iako je bio manji, nije značajno smanjen ( $P > 0.05$ ).

Okanović (1993) je ispitivanjem uticaja brzog hlađenja polutki (na  $-30^{\circ}\text{C}$ , sa intenzivnom cirkulacijom vazduha, u trajanju od 2 sata i zatim na  $2^{\circ}\text{C}$ ) i ranijeg otkoštavanja polutki (6 i 8 sati post mortem), nakon brzog hlađenja, na kvalitet *M. semimembranosus*, koji su bili namenjeni izradi kuvane šunke, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $2^{\circ}\text{C}$  do 24 sata post mortem), kod kojeg je utvrđen kalo hlađenja od 1.67%, utvrdili značajno manji kalo hlađenja ( $P < 0.01$ ) kod brzo hlađenih polutki (0.44 i 0.50%), koje su otkoštene ranije, odnosno 6 i 8 sati post mortem. Tokom hlađenja, odnosno do 6 i do 8 sati post mortem utvrđena je značajno niža ( $P < 0.001$ ) temperatura u dubini buta, kod brzo hlađenih polutki, u poređenju sa konvencionalno hlađenim polutkama. Na kraju hlađenja nije utvrđena značajna razlika u vrednosti pH ( $P < 0.05$ ) različito hlađenih i u različito vreme post mortem otkoštenih *M. semimembranosus*. Kod brzo hlađenih *M. semimembranosus*, koji su otkoštani 6 i 8 sati post mortem, utvrđen je značajno veći ( $P < 0.05$ ) sadržaj glikogena i značajno manja ( $P < 0.01$ ) ukupna rastvorljivost proteina, odnosno kod *M. semimembranosus* koji su otkoštani 6 sati post mortem utvrđen je značajno manji ( $P < 0.05$ ) sadržaj mineralnih materija, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. semimembranosus*. U istim ispitivanjima nije utvrđen značajan uticaj ( $P > 0.05$ ) postupka hlađenja i vremena otkoštavanja post mortem na ostale ispitane parametre

hemijskog i tehnološkog kvaliteta *M. semimembranosus* (sadržaj vode, sadržaj proteina, sadržaj masti, sposobnost vezivanja vode, plastičnost). Po svojoj strukturi vlakna *M. semimembranosus*, koji su otkoštani 24 sata post mortem, bila su manjeg dijametra, opružena i sa uočljivim razmacima između vlakana, dok je kod *M. semimembranosus* koji su brzo hlađeni i ranije otkoštani (6 i 8 sati post mortem) uočena znatna valovitost, zbijenost i zaobljenost vlakana. Ispitivanjem mikrobiološkog kvaliteta mišića buta, u dubini, najveći broj (više od dozvoljenog broja) ukupnih aerobnih mezofilnih bakterija utvrđen je u uzorcima mišića otkoštenih 6 sati post mortem, zatim nešto manji (više od dozvoljenog broja) u uzorcima mišića otkoštenih 8 sati post mortem, a značajno manji (manje od dozvoljenog broja) u uzorcima mišića otkoštenih 24 sata post mortem. No, iako je nađen veći ukupni broj aerobnih mezofilnih bakterija od maksimalno dozvoljenog, značajno je da ni u jednom od ispitanih uzoraka nije utvrđeno prisustvo patogenih mikroorganizama (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Salmonella*, koagulaza pozitivne stafilokoke, sulfitoredukujuće klostridije).

Ispitivanjem uticaja brzog hlađenja polutki (na  $-30^{\circ}\text{C}$ , bez intenzivne cirkulacije vazduha, i na  $-35^{\circ}\text{C}$ , sa intenzivnom cirkulacijom vazduha, u trajanju od 2 sata i zatim na 0 do  $4^{\circ}\text{C}$ , do 22 sata post mortem) na kvalitet *M. semimembranosus*, koji su bili namenjeni izradi kuvane šunke, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na 0 do  $4^{\circ}\text{C}$  do 22 sata post mortem) Zagorac (1994) je utvrdila značajno ( $P < 0.01$ ) brži pad temperature u dubini buta tokom, ali ne i na kraju hlađenja ( $P > 0.05$ ). Vrednost pH 3 sata post mortem je bila viša, odnosno sadržaj glikogena značajno viši ( $P < 0.01$ ) kod brže hlađenih *M. semimembranosus*, u poređenju sa konvencionalno hlađenim *M. semimembranosus*. Brzim hlađenjem

količina mesa BMV kvaliteta izdvojenog sa buta, namenjenog za izradu kuvane šunke, smanjena je sa 29.43%, koliko je utvrđeno kod butova sa konvencionalno hlađenih polutki, na 19.75%, odnosno na 17.25%, koliko je utvrđeno kod butova sa brzo hlađenih polutki. Kod svih ispitanih grupa mišića buta, nezavisno od postupka hlađenja, i na površini i u dubini mišića, utvrđen je dobar mikrobiološki kvalitet, odnosno ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je ispod maksimalno dozvoljenog i nešto manji kod *M. semimembranosus* sa brzo hlađenih polutki, u poređenju sa *M. semimembranosus* sa konvencionalno hlađenih polutki, a prisustvo patogenih mikroorganizama nije registrovano (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Salmonella*, *Streptococcus faecalis*, sulfitoredujuće klostridije).

Ingram i Roberts (1976) su utvrdili konzistentno smanjenje populacija Enterobacteriaceae i koliformnih bakterija, kao i smanjenje broja polutki pozitivnih na *Escherichia coli*, nakon brzog hlađenja, u poređenju sa stanjem pre hlađenja.

Carr i sar. (1998) su u ispitivanjima uticaja brzog vazdušnog hlađenja polutki svinja (od  $-10$  do  $-25^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 45 minuta do 1 sat, i zatim na  $2^{\circ}\text{C}$ , do 23 sata post mortem), u kombinaciji sa popuštanjem kože i masnog tkiva na toplo, na mikrobiološku populaciju butova i karea, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem (na  $2^{\circ}\text{C}$ , do 24 sata post mortem), utvrdili da postupak hlađenja i popuštanje masnog tkiva na toplo nema značajan uticaj ( $P > 0.05$ ) na ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija. Takođe, značajna razlika ( $P > 0.05$ ) nije utvrđena ni u broju koliformnih bakterija između konvencionalno i brzo hlađenih polutki sa kojih je popuštena koža i masno tkivo na toplo. Međutim, na polutkama koje su konvencionalno hlađene, bez popuštanja kože i masnog tkiva na toplo, utvrđen je značajno veći ( $P$

$\leq 0.05$ ) broj koliformnih bakterija, u poređenju sa brzo hlađenim polutkama, sa kojih, takođe, nije popušteno masno tkivo na toplo. U istim ispitivanjima utvrđeno je da postupak hlađenja mnogo više utiče na broj mlečno kiselih bakterija (smanjuje ga brzo hlađenje polutki, u poređenju sa konvencionalnim hlađenjem polutki), nego popuštanje masnog tkiva na toplo. Međutim, utvrđene razlike nisu značajne ( $P > 0.05$ ). Na dalje, utvrđeno je da brzo hlađenje, kada sa polutki nije popuštena koža i potkožno masno tkivo, u poređenju sa konvencionalno hlađenim polutkama, sa kojih takođe nije popuštena koža i potkožno masno tkivo, značajno smanjuje broj populacija *Staphylococcus-a*, ali ne i na polutkama kada su koža i potkožno masno tkivo popušteni na toplo.

Brzim hlađenjem polutki svinja smanjuje se broj *Escherichia coli* za 1 log jedinicu, a broj *Salmonella* pozitivnih polutki se smanjile sa 33%, koliko je utvrđeno pre brzog hlađenja, na 17%, koliko je utvrđeno posle brzog hlađenja (Jensen i Christensen, 2000). Isti autori (Jensen i Christensen, 2000) izračunali su da se kombinacijom dekontaminacije polutki toplom vodom i brzog hlađenja smanjuje broj mikroorganizama više nego samo primenom dekontaminacije. Broj *Escherichia coli* na polutkama svinja brzim hlađenjem, dekontaminacijom toplom vodom ( $80^{\circ}\text{C}$ ) i kombinacijom dekontaminacije toplom vodom i brzog hlađenja smanjuje se za manje od 1, više od 2 i više od 2.7 log jedinica, dok se kombinacijom dekontaminacije toplom vodom i brzog hlađenja smanjuje prisustvo *Salmonella* na polutkama svinja na nivo ispod granice detekcije u 90% slučajeva.

Gill i sar. (2000) su u ispitivanjima različitih tehnološkog postupka obrade trupova svinja na liniji klaja i postupka hlađenja (brzo vazdušno hlađenje i sprej hlađenje ili njihova kombinacija) u osam različitih klanica, utvrdili da tokom

hlađenja, na površini polutki, dolazi do značajnog povećanja, značajnog smanjenja ili ostaje nepromenjen broj ukupnih aerobnih mezofilnih bakterija, koliformnih bakterija i *Escherichia coli*.

Chang i sar. (2003) su ispitali uticaj konvencionalnog (na 4°C do 24 sata post mortem) i brzog hlađenja (na -15°C, 4 sata i zatim na 4°C do 24 sata post mortem) na smanjenje bakterijske populacije i to na način što su pre početka hlađenja polutke svinja, sa ili bez kože, inokulirali sa fecesima svinja u kojima je bio prisutan manji, odnosno veći ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija i u kojima su bile ili nisu bile prisutne patogene bakterije. U poređenju sa nivoom kontaminacijom pre hlađenja, postupak hlađenja kod polutki koje su inokulirane sa fecesom u kojem se nalazio manji broj bakterija, nezavisno od prisustva ili odsustva kože sa polutki, nije značajno uticao na smanjenje mezofilnih aerobnih bakterija, koliformnih bakterija, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* i *Salmonella typhimurium*. Međutim, u istim ispitivanjima utvrđeno je da je i brzo i konvencionalno hlađenje mnogo efikasnije u smanjenju bakterijske populacije kada je površina polutki inokulirana sa fecesom u kojem se nalazi veći broj bakterija. Brzim hlađenjem prisustvo *Campylobacter coli* na polutkama svinja je smanjeno na nivo ispod granice detekcije.

## Salamurenje mesa

Dr *Vladimir Tomović*

Tehnološki fakultet, Novi Sad

tel.: 00381 (0) 21 485 37 04

e-mail: [tomovic@uns.ac.rs](mailto:tomovic@uns.ac.rs)

1. [Ingredijencije \(aditivi i dodaci\) za salamurenje i njihovo doziranje](#)
2. [Kuhinjska so kao osnovna ingredijencija salamure](#)
3. [Fosfati kao osnovne ingredijencije salamure](#)

4. [Nitriti i nitrati kao osnovne ingredijencije salamure](#)
5. [Literatura](#)

Salamurenje se sastoji od niza hemijskih procesa koji se odvijaju između sastojaka salamure i proteina mišića. U tim procesima učestvuju primarno proteini miofilamenata i mioglobin iz sarkoplazme (Rahelić i sar., 1980). Dopremanje soli za salamurenje radi odigravanja procesa salamurenja je difuziono – osmotski proces (Rahelić i sar., 1980).

Difuzija soli u mesu zavisi od više činilaca kao što su količina soli, odnosno koncentracija soli u salamuri, postupak salamurenja, odnos između količine mesa i salamure, osobine mesa (građa, hemijski sastav i vrednost pH), temperatura, veličina i masa mesa, a posebno trajanja salamurenja. Bez obzira na sve činioce difuzija soli u mesu je spora i treba da traje onoliko vremena koliko je potrebno da se u mesu postigne određeni sadržaj soli (Vuković, 2006).

Da bi se stvorili uslovi za odvijanje procesa salamurenja potrebno je da se sastojci salamure dovedu u neposredan dodir sa sastojcima mišića sa kojim reaguju. Dovođenje soli salamure u dodir sa reaktivnim komponentama mesa može biti različito, dok su sami procesi koji se odvijaju tokom salamurenja isti bez obzira na koji način je omogućeno njihovo odvijanje. Razlike u dovođenju komponenta salamure u dodir sa proteinima mesa su posledica različitih postupaka koji se primenjuju. Tok procesa salamurenja uslovljen je brzinom prodiranja soli u meso (Rahelić i sar., 1980).

U uslovima proizvodnje dodir između salamure i mesa se uspostavlja na različite načine, odnosno suvim soljenjem i salamurenjem i vlažnim salamurenjem, koje može biti potapanjem u salamuru ili

ubrizgavanjem salamure (Rahelić i sar., 1980). Soljenjem i salamurenjem mesa ne dobijaju se gotovi proizvodi, već se meso konzervira i priprema za druge vidove prerade (Vuković, 2006).

Vremenom, odnosno razvitkom efikasnijih postupaka konzerviranja, konzervišući učinak soli kod proizvoda koji se vlažno salamure, zbog čega je taj postupak primarno i uveden u praksu, postao je manje značajan. Najizrazitiji dokaz promene značaja u primeni salamurenja su konzerve, jer se meso za te proizvode više ne salamuri primarno zbog konzervišućeg efekta, koji se postiže termičkom obradom, već sa ciljem da proizvod dobije specifična senzorna svojstva, odnosno određenu slanost, mekoću, sočnost i specifičnu crveno ružičastu boju (Rahelić i sar., 1980). Proces salamurenja značajno, pozitivno ili negativno, utiče na miris i ukus, boju i stabilnost boje, čvrstinu i prinos kuvanih salamurenih proizvoda (Müller, 1989). Najstariji postupak vlažnog salamurenja je potapanje mesa u rastvor salamure (Rahelić i sar., 1980).

Meso se čuva potopljeno u salamuri sve dok se u njemu ne postigne određeni sadržaj soli (oko 2%), a količina salamure treba da je 1.5 do 2 puta veća od količine mesa. Na početku salamurenja soli difunduju u meso, a voda iz mesa prelazi u salamuru. Difuzija soli je brža na početku salamurenja, kada je razlika između sadržaja soli u salamuri i mesu najveća. S povećanjem sadržaja soli u mesu, povećava se kapacitet hidracije proteina miofibrila i meso ponovo vezuje vodu iz salamure. Usled vezivanja soli i vode povećava se masa salamurenog mesa za 10 do 20% (Vuković, 2006).

U želji za još većim skraćanjem trajanja salamurenja, odnosno difuziono – osmotskih procesa, uveden je postupak ubrizgavanja salamure u mišiće uz naknadnu mehaničku obradu mesa.

Difuziono – osmotski procesi u mesu salamurenom ubrizgavanjem salamure mnogoigonom ubrizgivačem mnogo se menjaju u odnosu na te procese u mesu potopljenom u salamuru. Kada se ovakav postupak ubrizgavanja kombinuje sa mehaničkom obradom mesa, sa ili bez vakuuma, onda je ta pojava još više izražena (Rahelić i sar., 1980).

### **Ingredijencije (aditivi i dodaci) za salamurenje i njihovo doziranje**

Svaka komponenta smeše za salamurenje ima određeno delovanje. Zahvaljujući tome, kombinacijom raznih jedinjenja prave se salamure određenih poželjnih svojstava. Na taj način utiče se i na kvalitet salamurenog mesa (Rahelić i sar., 1980).

Prema [Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama](#) i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005) sledi da je aditiv svaka supstanca koja se, bez obzira na njenu hranljivu vrednost, ne koristi kao namirnica, niti predstavlja karakteristični sastojak namirnica, ali se iz tehnoloških razloga dodaje u toku proizvodnje, prerade, pripreme, obrade, pakovanja, transporta ili čuvanja, i direktno ili indirektno preko svojih međuproizvoda postaje ili može da postane njen sastojak. Mešavina aditiva je proizvod dobijen mešanjem dva ili više pojedinačnih aditiva, istih ili različitih funkcionalnih svojstava, i odgovarajućih nosača, pod uslovom da je takvo mešanje tehnološki opravdano.

Prema ovom [Pravilniku](#) (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005) za pojedine aditive je propisana maksimalno dozvoljena količina aditiva koja može biti prisutna u namirnici, odnosno njihova upotreba je ograničena, dok za pojedine aditive maksimalno dozvoljena količina

aditiva nije propisana (princip quantum satis) i tada se aditiv koristi prema principima dobre proizvođačke prakse (DPP), u količini koja nije veća od potrebne da se postigne željeni tehnološki efekat, pri čemu aditiv ne menja prirodu, sastav i kvalitet proizvoda.

U aditive koji se primenjuju u proizvodnji kuvane šunke spadaju: stabilizatori (različite vrste fosfata), konzervansi (nitriti, nitrati, sorbati, benzoati i rapahidroksibenzoati), antioksidansi (askorbinska kiselina, natrijum askorbat i natrijum eritorbat), boje (najčešće se koristi košenila), stabilizatori (karagenan, ksantan guma, guma iz semena rogača, itd) i pojačivači aroma (mononatrijum glutaminat, dinatrijum guanilat, dinatrijum inozitat) ([Freixanet](#), 2007a).

U dodatke koji se primenjuju u proizvodnji kuvane šunke, pored vode, spadaju: kuhinjska so, proteini (animalni i biljni), skrobovi, šećeri i arome (likeri i vina, voćni sokovi, hidrolizati biljnih proteina, derivati oleorizina iz prirodnih začina, voće, povrće, ekstrakti dima i dr.) ([Freixanet](#), 2007a).

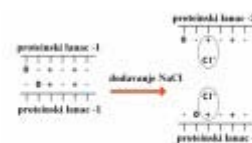
Standardne komponente salamure, koje su po svojoj prirodi neorganske soli i koje direktno učestvuju u procesu salamurenja, su (Schneider i Rede, 1999): kuhinjska so, fosfati i nitriti.

### Kuhinjska so kao osnovna ingredijencija salamure

Kada se razmatra delovanje sastojaka salamure na meso na prvom mestu treba napomenuti kuhinjsku so. Ta so utiče višestruko na meso. Najznačajnija svojstva su joj da menja ukus i sposobnost vezivanja vode. Pored toga kuhinjska so poseduje i konzervišuće svojstvo (Rahelić i sar., 1980).

Soljena hrana dobija prijatan slankast ukus, čime se skrivaju ili ublažavaju drugi nepoželjni ukusi. Pored toga, kuhinjska so je sastojak neophodan za normalno odvijanje fizioloških funkcija organizma (Rahelić i sar., 1980; [Desmond](#), 2006).

U količinama u kojima se obično dodaje (2 – 3%) kuhinjska so deluje na proteine mesa u smislu povećanja njihove sposobnosti vezivanja vode. Delovanje kuhinjske soli na sposobnost vezivanja vode objašnjava se aktivitetom jona hlora (Slika 2.6.2). Joni hlora u mesu normalne vrednosti pH, odnosno iznad izoelektrične tačke proteina, kidaju jonske mostove između amino i karboksilnih grupa ostataka amino kiselina u lancu proteina. Na oslobođene amino grupe vezuju se joni hlora, neutrališući njihov naboj, dok oslobođene karboksilne grupe ostaju sposobne da vežu dipolne molekule vode. Prekidanjem jonskih mostova prekidaju se veze između lanaca proteina tako da se oni odmiču jedni od drugih pa se povećava prostor među proteinskim lancima. U tako razlabavljenoj strukturi lanaca proteina ima mesta za uglavljivanje više molekula vode koje se tamo zadržavaju mehanički imobilizirane. Efekat delovanja kuhinjske soli je utoliko veći ukoliko je vrednost pH mesa udaljeniji od izoelektrične tačke (Hamm, 1960; Rahelić i sar., 1980; Schneider i Rede, 1999).



Šematski prikaz uticaja dodavanja NaCl na sposobnost vezivanja vode mišićnih proteina (Degussa Texturant Systems)

Ukoliko se kuhinjska so doda pre nastanka mrtvačke ukočenosti (rigor mortis), ona sprečava formiranje aktomiozinskog kompleksa. U mesu pre nastupa rigor mortis-a se nalazi dovoljna količina adenzin trifosfata (ATP) koji veže dvovalentne katjone. Iz tog razloga ti katjoni se ne vezuju na negativne naboje postranih ostataka proteina i ne stvaraju negativne veze. Zahvaljujući tom stanju lanci proteina su razmaknuti jedni od drugih i na pozitivno nabijene ostatke aminokiselina vezuju se joni hlora, neutrališući ih. Na taj način, lanci proteina ostaju razmaknuti jedni od drugih tako da se kalcijumovi joni, kada se oslobode pri razgradnji ATP-a, u kasnijoj fazi post mortem, ne mogu vezati na njih i stvarati metalne veze (Hamm, 1960; Rahelić i sar., 1980; Schneider i Rede, 1999). Kuhinjska so je glavni činilac povećanja jonske jačine salamurenog mesa. Dodavanjem soli jonska jačina se povećava od normalne = 0.25) za oko 0.30 – 0.35, tako da ona dostiže vrednostu vrednosti ( od oko 0.50. Pri jonskoj jačini od 0.25 fibrilarni proteini su nerastvorljivi. Za njihovu rastvorljivost je potrebna jonska jačina od najmanje 0.40 (Hamm, 1960; Rahelić i sar., 1980; Schneider i Rede, 1999). Kako navode Rahelić i sar. (1980) u ispitivanjima Rahelić-a i Rede-a koji su ispitivali uticaj kuhinjske soli na sposobnost vezivanja vode usitnjenih mišića plečke svinja, 3 sata post mortem, dodavanjem 2, 4, 5, 6 i 8% kuhinjske soli sa dodatkom 50% vode, utvrđeno je da se sa povećanjem količine dodate kuhinjske soli povećava i sposobnost vezivanja vode, a najveća je kod uzoraka sa dodatkom 6 i 8% kuhinjske soli.

Najveće promene u povećanju sposobnosti vezivanja vode pod delovanjem soli se postižu salamurom koncentracije od 8 – 10% NaCl. Daljim povećanjem koncentracije efekat soli se smanjuje, tako da kod salamure sa iznad 22% soli dolazi čak do smanjenja sposobnosti vezivanja

vode (Cate, 1961; Schneider i Rede, 1999). Uticaj povećanih koncentracija kuhinjske soli na smanjenje sposobnosti vezivanja vode objašnjava se činjenicom da joni neutralne soli prisutni u većim koncentracijama privlače molekule vode i na taj način ih odvajaju od proteina. Pored toga veće koncentracije kuhinjske soli denaturišu proteine tako da njihova sposobnost vezivanja vode opada (Hamm, 1972; Rahelić i sar., 1980). Povećavajući sposobnost vezivanja vode kuhinjska so utiče povoljno i na teksturu, odnosno mekoću i sočnost mesa (Rahelić i sar., 1980).

Kuhinjska so nepovoljno utiče na promenu boje salamurenog mesa. Razlog tome je što ubrzava oksidaciju hema u mioglobinu, stvarajući metmioglobin. Zbog toga se boja salamurenog mesa menja i ona postaje mrko siva, različitih nijansi. Ova so podstiče i oksidaciju masti, pogotovo pri nižim vrednostima pH i njenoj većoj koncentraciji (Rahelić i sar., 1980). Kuhinjska so, povećanjem jonske jačine u mesu smanjuje direktno ili indirektno, preko rastvaranja proteina, aktivnost vode (aw vrednost), a time se pozitivno utiče na održivost (Schneider i Rede, 1999).

Količina kuhinjske soli u gotovom proizvodu nije zakonski regulisana (princip quantum satis), već je njeno dodavanje rezultat dobre proizvođačke prakse (DPP) (Codex Alimentarius Standard for Cooked Cured Ham, Codex Stan 96-1981, Rev. 1 – 1991). Uobičajena količina kuhinjske soli u kuvanoj šunki je oko 2.8% (Desmond, 2006). Postoji tendencija da se u ovom proizvodu do 2010. godine količina kuhinjske soli smanji na 2.5%, odnosno da količina natrijuma bude do 1% (Food Standard Agency, 2006), a sve u cilju da unos kuhinjske soli u ljudski organizam ne bude veći od 6 g dnevno. Prema Scheid-u (1986) i Müller-u (1989) količina kuhinjske soli u ovom proizvodu treba da bude između 1.8 i 2.5%, kako bi proizvod

imao dobru sposobnost vezivanja vode i dobar ukus, odnosno prema [Freixanet-u](#) (2007a) oko 2%. Sa druge strane, dokazano je da smanjenje kuhinjske soli u gotovom proizvodu, bez primene drugih konzervišućih mera, smanjuje održivost proizvoda (Sofos, 1985).

Uticaj NaCl na sposobnost vezivanja vode i druga svojstva komada mesa (ukus, boju, konzervišući efekat) zavisi od brzine prodiranja soli u meso, a na nju utiču mnogi faktori: vrsta mišića, sposobnost vezivanja vode, rastvorljivost proteina, permeabilnost membrana, kao i vreme i temperatura salamurenja, način pripreme salamure, primena vakuuma, koncentracija soli u salamuri i odnos meso/salamura (Schneider i Rede, 1999).

#### **Fosfati kao osnovne ingredijencije salamure**

Stabilizatori su supstance koje održavaju fizičko-hemijsko stanje namirnice uključujući homogenu disperziju dve ili više supstanci koje se ne mešaju, kao i supstance koje stabilizuju, održavaju ili pojačavaju postojeću boju namirnice, kao i supstance koje povećavaju kapacitet vezivanja sastojaka u namirnici, uključujući i formiranje unakrsnih veza između proteina čime se omogućava povezivanje sastojaka u rekonstituisanoj namirnici (Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005).

Fosfati su neophodan i najefikasniji dodatak za povećanje sposobnosti vezivanja vode u svim slučajevima kada se koristi post-rigor meso (Schneider i Rede, 1999). Odnosno, glavna uloga fosfata u procesu salamurenja je povećanje količine rastvorljivih proteina mesa i povećanje

sposobnosti vezivanja vode mišićnih proteina (Pearson i Tauber, 1984).

Smatra se da je delovanje fosfata posledica menjanja vrednosti pH mesa (puferska sposobnost), pošto rastvori fosfata, u zavisnosti od vrste soli, mogu da reaguju neutralno, bazno ili kiselo, zatim nespecifičnog efekta jonske jačine (proizilazi iz koncentracije i naelektrisanja jona) koji usled visokog naelektrisanja anjona fosfata može da bude veoma visok, kao i specifičnog delovanja anjona fosfata koje se zasniva na određenom dejstvu između anjona fosfata i proteina miofibrila (Hamm, 1974).

Delovanje fosfata je zasnovano na nekoliko funkcionalnih svojstava (Schneider i Rede, 1999):

- povećanju vrednosti pH,
- povećanju jonske jačine,
- vezivanju bivalentnih katjona i kidanju mostova među lancima proteina,
- disocijaciji aktomiozina.

Danas postoji čitava paleta fosfata (monofosfati – E 339 i E 340, difosfati – E 450, trifosfati – E 451, polifosfati – E 452) koji se međusobno razlikuju po osnovnim svojstvima (Schneider i Rede, 1999):

- sadržaju P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>,
- rastvorljivosti u vodi,
- vrednosti pH rastvora,
- kapacitetu puferovanja i vezivanja katjona,
- uticaju na sposobnost vezivanja vode,
- uticaju na rastvorljivost mišićnih proteina.

Monofosfati imaju najveći kapacitet puferovanja (najčešće povećavaju vrednost pH, odnosno pomeraju vrednost pH dalje od izoelektrične tačke), polifosfati imaju najveću sposobnost vezivanja katjona i najviše deluju na rastvorljivost mišićnih proteina, dok di- i trifosfati imaju najveći uticaj na sposobnost vezivanja vode

(kidaju mostove koje uspostavljaju bivalentni katjoni zemnoalkalnih metala među lancima proteina i vezuju se za te katjone). Nijedan od fosfata ne poseduje sva željena svojstva već se kombinacijom različitih fosfata dobijaju fosfatni preparati podesni za određeni vid prerade (Rahelić i sar., 1980; Schneider i Rede, 1999).

Mešavine raznih fosfata imaju sledeće prednosti (Schneider i Rede, 1999):

- imaju odličnu rastvorljivost u salamuri,
- optimalno rastvaraju mišićne proteine,
- omogućavaju primenu savremene tehnologije,
- ujednačavaju sirovinu različitog kvaliteta,
- poboljšavaju senzorna svojstva proizvoda,
- omogućavaju primenu viših temperatura termičke obrade.

Kao što je napred opisano (Poglavlje 2.2.2) u blizini izoelektrične tačke proteini imaju najmanju sposobnost vezivanja vode. Odnosno, kako se vrednost pH udaljava od izoelektrične tačke povećava se sposobnost vezivanja vode. Prema tome, ako se koristi alkalni fosfatni preparat koji će izazvati povećanje vrednosti pH mesa, odnosno udaljiti ga od izoelektrične tačke, delovaće time i na povećanje sposobnosti vezivanja vode. Anjoni fosfata kidaju mostove koje uspostavljaju bivalentni katjoni zemnoalkalnih metala (uglavnom kalcijum i magnezijum) među lancima proteina. Tako odvojeni dvovalentni katjoni stvaraju komplekse sa fosfatima, a oslobođeni negativni naboji proteina (sa kojih su ovi katjoni odvojeni) odbijaju se međusobno i ostaju slobodni za zadržavanje i vezivanje dipolnih molekula vode. Zahvaljujući takvom delovanju povećava se sposobnost vezivanja vode (Hamm, 1960; 1972; 1974; Rahelić i sar., 1980; Schneider i Rede, 1999).

Međutim, kada se dodaju samo fosfati ne dolazi do odbijanja polarnih grupa, pa struktura proteina i dalje ostaje zbijena. Tek u prisustvu dovoljne količine kuhinjske soli, posle vezivanja jona hlora ostvaruju se uslovi za razlabavljenje strukture. Ova dva sastojka salamure ispoljavaju sinergističko delovanje na sposobnost vezivanja vode (Rahelić i sar., 1980; Schneider i Rede, 1999). Istovremenim dodavanjem natrijum hlorida (2 – 3%) i fosfata (0.3 – 0.5%) postiže se bolji efekat na sposobnost vezivanja vode, nego što se to ostvaruje dodavanjem samo natrijum hlorida ili samo fosfata (Schneider i Rede, 1999).

Polifosfati dovode do disocijacije aktomiozina, nastalog zbog smanjenja koncentracije ATP-a u mišićima. Ovo specifično delovanje fosfata se objašnjava time da se oni vezuju za miozin na istom mestu na kome je bio vezan i ATP, a posle njegove razgradnje aktin. Pri tome dolazi do razdvajanja tankih i debelih miofilamenata, čime se povećava prostor za imobilizaciju vode. Kada se tome doda i efekat razlabavljenja strukture fibrilarnih proteina zbog kidanja mostova između lanaca proteina, onda se može shvatiti pozitivan efekat delovanja fosfata i kuhinjske soli (Schneider i Rede, 1999).

Polifosfati dodati u meso ne ostaju nepromenjeni. Mišićno tkivo sadrži enzime, koji mogu da razgrade difosfat i trifosfat, difosfatazu i trifosfatazu, koji cepaju složene molekule do monofosfata. Natrijum hlorid aktivira di-, a koči trifosfatazu, dok je hidroliza obe ove soli u salamurenom komadu mesa umanjena (Rahelić i sar., 1980).

Prema [Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama](#) i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005, tabela V u prilogu)



maksimalan sadržaj dodatih fosfata u proizvodu je 5 g/kg pojedinačno ili u kombinaciji, izražen kao procenat fosfor pentoksida. U proizvodima od mesa u čijoj je proizvodnji Pravilnikom (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005) dozvoljena upotreba fosfata, sadržaj ukupnih fosfata u gotovom proizvodu, izražen kao procenat fosfor pentoksida, ne sme biti veći od 7.0 g/kg ([Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za proizvode od mesa](#), Službeni list SCG, broj 33, 2004). Fosfati su po Kodeks alimentarius standardu za kuvanu salamurenu šunku ([Codex Alimentarius Standard for Cooked Cured Ham](#), Codex Stan 96-1981, Rev. 1 – 1991), ograničeni na 8 g/kg prirodno prisutnih plus dodatih (izraženo kao procenat fosfor pentoksida), odnosno 3 g/kg dodatih fosfata, pojedinačno ili u kombinaciji, u gotovom proizvodu.

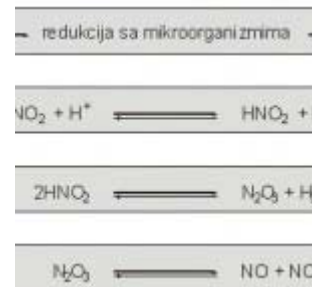
### Nitriti i nitrati kao osnovne ingredijencije salamure

Konzervansi su supstance koje produžavaju trajnost namirnica i štite ih od kvarenja prouzrokovanog mikroorganizmima ([Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva](#) u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005). Nitriti (kalijumove – E 249 i natrijumove soli – E 250) su jedinjenja koja u reakciji sa mioglobinom stvaraju specifičnu crvenu boju salamurenog mesa, ispoljavaju bakteriostatsko i baktericidno delovanje i utiču na miris i ukus mesa, odnosno proizvoda (Rahelić i sar., 1980; [Honikel](#), 2008).

Nitrit je jedinjenje koje se dodaje u salamuru da osigura stvaranje nitrozilmioglobina (NOMB), nosioca prijatne crvene boje salamurenog mesa. Crvena boja salamurenog mesa nastaje

vezivanjem veoma reaktivnog azot monoksida (NO), koji nastaje iz nitrita, za gvožđe u hemu porfirinskog prstena mioglobina (Rahelić i sar., 1980; Vuković, 2006; [Freixanet](#), 2007a; [Honikel](#), 2008). Pri formiranju boje salamurenog mesa između mioglobina i nitrita odvija se složena reakcija, čija brzina zavisi od vrednosti pH, temperature i redoks potencijala. Reakcija teče brže pri nižoj vrednosti pH, višoj temperaturi i nižem redoks potencijalu, a optimalna vrednost pH je 5.5. U prvom kontaktu s mesom, nitriti oksidišu oksimioglobin i meso dobija smeđu boju, a deo nitrita oksidiše se u nitrate. U reakcijama koje potom slede treba da se redukuju metmioglobin u mioglobin i ostatak nitrita u azot monoksid, koji se sjedinjuju u nitrozilmioglobin (Vuković, 2006).

Azot monoksid nastaje sledećim hemijskim reakcijama ([Honikel](#), 2008):



Redukciju nitrata katalizuju nitratoreduktaze, enzimi bakterija iz rodova *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* i *Escherichia*. Za redukciju nitrata u mesu od značaja su vrsta i broj redukujućih bakterija i uslovi povoljni za njihovu aktivnost. Pošto su ovi činioci promenljivi, dobijena količina nitrita nije uvek poznata, pa nitrati predstavljaju nekontrolisani izvor nitrita (Vuković, 2006). Reakcijom između azot monoksida i mioglobina nastaje nitrozilmioglobin (Rahelić i sar., 1980; Vuković, 2006; [Freixanet](#), 2007a; [Honikel](#), 2008):

Nitrozilmioglobin se formira najbrže u proizvodima koji se obrađuju toplotom (Vuković, 2006). Međutim, poznato je da samo jedan deo dodatog nitrita stupa u reakciju nastajanja nitrozilmioglobina, dok znatan deo ili ostaje nepromenjen, odnosno zaostaje kao rezidualni nitrit, ili oksidira u nitrat, ili opet, ulazi u neke druge reakcije. Möhler (1971) navodi sledeće podatke o udelu dodatog nitrita u hemijskim reakcijama u mesu:

- 12% se redukuje u azot monoksid i veže sa mioglobinom u nitrozilmioglobin,
- 17% oksidira u NO<sub>3</sub>–,
- 54% zaostaje nepromenjeno kao rezidualni nitrit,
- 17% sudeluje u “nepoznatim” reakcijama (jedna od tih reakcija je nastajanje nitrozoamina).

Prema [Freixanet](#)-u (2007a) nastali azot monoksid koji se ne fiksira za mioglobin jednim delom ispari, jednim delom se redukuje u azot i takođe ispari, jednim delom reaguje sa mišićnim proteinima i mastima, a preostali deo reaguje sa antioksidativnim aditivima, posebno sa askorbatima i eritorbatima. Nedovoljno razvijanje crvene boje salamurenog mesa može biti posledica nedostatka dodatog nitrita ili kratkog vremena salamurenja (Rahelić i sar., 1980). Nitriti se zbog svoje potencijalne štetnosti za zdravlje ljudi, odnosno zbog mogućnosti nastanka kancerogenih supstanci (nitrozoamini), dodaju u najmanjim mogućim količinama, ali njihova primena nije napuštena. Nitriti sprečavaju razmnožavanje nekih vrsta mikroorganizama (Enterobacteriaceae, *Clostridium perfringens* i *Staphylococcus aureus*), veoma opasnih i štetnih po ljudsko zdravlje i na taj način doprinose boljem mikrobiološkom kvalitetu proizvoda od mesa. Posebno se ističe inhibitorno delovanje nitrita na rast veoma

termorezistentnog mikroorganizma *Clostridium botulinum*, tako da je dodavanje nitrita praktično jedini način da se spreči pojava botulizma u proizvodima od mesa (Rahelić i sar., 1980; Schneider i Rede, 1999; [Freixanet](#), 2007a; [Honikel](#), 2008).

Dodatkom od 125 do 200 mg/kg nitrita, zavisno od tipa i postupka proizvodnje kuvane šunke, može se garantovati dobra boja i stabilnost boje ovog proizvoda ([Freixanet](#), 2007a).

Prema Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005, tabela IV u prilogu) ulazne količine nitrita u salamurene proizvode od mesa uključujući i konzerve mogu biti do 150 mg/kg, odnosno do 100 mg/kg rezidualnih količina u trenutku prodaje krajnjem konzumentu, izraženo kao natrijum nitrit. Prema Kodeks alimentarius standardu u kuvanu šunku ([Codex Alimentarius Standard for Cooked Cured Ham](#), Codex Stan 96-1981, Rev. 1 – 1991) najviše se sme dodati 200 mg/kg nitrita, odnosno u gotovom proizvodu ne sme biti više od 125 mg/kg nitrita, izraženo kao natrijum nitrit.

Pored uticaja nitrita na boju i mikrobiološki kvalitet salamurenog mesa, nitriti učestvuju i u procesu aromatizacije proizvoda i time doprinose njihovom karakterističnom ukusu. Opšte je uverenje da je delovanje nitrita na miris i ukus mesa posledica stvaranja čvrstog kompleksa između nitrita i gvožđa u porfirinskom prstenu hema mioglobina čime je sprečeno njegovo katalitičko delovanje na oksidaciju nezasićenih masnih kiselina (Rahelić i sar., 1980). Nitriti (kalijumove – E 251 i natrijumove soli – E 252) su uglavnom rezervni materijal iz kog se redukovanjem stvara nitrit i na taj način održava određena

koncentracija potrebna za odvijanje procesa salamurenja. Nitrat redukuju bakterije (*Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*), odnosno njihovi

S obzirom na vremenski kratak proces proizvodnje kuvane šunke (ne duži od 72 sata) tokom salamurenja i termičke obrade kod ovog proizvoda konverzija nitrata u nitrit je minimalna. Sa druge strane, tokom termičke obrade se uništi većina prisutne bakterijske flore, ali ne i sva, što dovodi do dalje, minimalne, konverzije nitrata u nitrit tokom skladištenja proizvoda. Iz tog razloga, odnosno zbog izvesne regeneracije pigmentata i stabilnosti boje u salamuru se zajedno sa nitritima mogu dodavati i nitrati i to u količini od 75 do 150 mg/kg ([Freixanet](#), 2007a).

Prema Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005, tabela IV u prilogu) ulazne količine nitrata u salamurene proizvode od mesa uključujući i konzerve mogu biti do 300 mg/kg, odnosno do 250 mg/kg rezidualnih količina u trenutku prodaje krajnjem konzumentu, izraženo kao natrijum nitrat.

## Ingredijencije za usmeravanje procesa salamurenja

Dr *Vladimir Tomović*  
Tehnološki fakultet, Novi Sad  
tel.: 00381 (0) 21 485 37 04  
e-mail: [tomovic@uns.ac.rs](mailto:tomovic@uns.ac.rs)

### 1. [Literatura](#)

Antioksidansi su supstance koje produžavaju trajnost namirnica i štite ih od kvarenja prouzrokovanog oksidacijom, kao što su užeglost masti i promena boje, uključujući i sinergiste antioksidanasa

enzimi. Međutim, redukovanje se odvija i pod delovanjem enzima tkiva (Rahelić i sar., 1980; [Freixanet](#), 2007a; [Honikel](#), 2008).

([Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama](#) i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005).

Askorbinska kiselina (E 300), eritorbinska kiselina (E 315) i njihove soli (natrijum askorbat – E 301 i njegov optički izomer natrijum eritorbat – E 316) su značajni redukciono-oksidativni sistemi koji imaju važnu ulogu u biološkim procesima. Askorbinska kiselina i njene soli vežu kiseonik i na taj način sprečavaju oksidaciju jedinjenja podložnih oksidaciji, odnosno predstavljaju jaka redukciona sredstva i redukuju oksidirana jedinjenja (Rahelić i sar., 1980; [Freixanet](#), 2007a).

Tri su osnovna razloga dodavanja navedenih antioksidanasa u procesu proizvodnje kuvane šunke. Prisustvo ovih soli ubrzava redukciju nitrata i stvaranje azot monoksida, odnosno nitrozilmioglobina, čime se ubrzava razvijanje crvene boje. Na ovaj način skraćuje se vreme salamurenja, odnosno moguća je brza proizvodnja salamurenih proizvoda od mesa. Analitički je dokazano da je nivo rezidualnih nitrata u gotovom proizvodu mnogo manji kada je u salamuru dodat askorbat. Drugo, askorbati doprinose stabilnosti boje krajnjeg proizvoda. Ispoljavajući antioksidativni efekat askorbati inhibiraju nastajanje peroksid radikala, koji su uglavnom odgovorni za razgradnju pigmentata, na površini proizvoda, koja je izložena delovanju ultraviolettne svetlosti i kiseonika. I konačno, askorbati imaju ulogu u prevenciji nastajanja nitrozoamina, promotera kancerogenih jedinjenja, blokiranjem nastajanja diazot trioksida

(N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) koji potiče od azot monoksida ([Freixanet, 2007a](#)).

Zbog burne reakcije između askorbinske kiseline i nitrita, odnosno azotaste kiseline, u vodenoj kiseloj sredini, uz oslobađanje azot monoksida, askorbati se uvek u salamuru dodaju u obliku soli (Skenderović i Rahelić, 1974; Muller, 1989). Askorbati reaguju sa nitritom slično kao askorbinska kiselina, ali znatno sporije, tako da su postojaniji, bar jedan dan, u prisustvu nitrita u salamuri pri temperaturi od 10°C i vrednosti pH od 6 do 7 (Skenderović i Rahelić, 1974). Zbog moguće reakcije sa nitritima vrednost pH salamure pre dodavanja askorbinske kiseline mora biti slabo alkalna, što se postiže prethodnim dodavanjem fosfata ([Freixanet, 2007a](#)).

Prema Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005, tabela II u prilogu) upotreba askorbinske kiseline i njenih soli je definisana prema principu quantum satis, odnosno rezultat je dobre proizvođačke prakse (DPP). Prema istom Pravilniku (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005, tabela IV u prilogu) maksimalno dozvoljena količina eritorbinske kiseline (izoaskorbinske kiseline) i natrijum eritorbata (natrijum izoaskorbat) u gotovom proizvodu ograničena je na 500 mg/kg izraženo kao eritorbinska kiselina. Prema Kodeks alimentarius standardu u kuvanoj salamurenoj šunki ([Codex Alimentarius Standard for Cooked Cured Ham](#), Codex Stan 96-1981, Rev. 1 – 1991) količina askorbinske kiseline i njenih soli (pojedinačno ili u kombinaciji) ograničena je na 500 mg/kg, dok Müller (1989) preporučuje količinu natrijum askorbata u kuvanoj šunki od 0.03 do 0.05%.

S obzirom da su askorbati nerastvorni u mastima, njihov antioksidativni uticaj na masti je minimalan. Vrste antioksidanasa kao što su tokoferoli (E 307, E 308 i E 309), butilhidroksianizol (E 320, BHA) i butilhidroksitoluen (E 321, BHT) u proizvodnji kuvane šunke se ne primenjuju. Od supstanci klasifikovanih kao antioksidansi (pojačavači antioksidativnog delovanja), u proizvodnji kuvane šunke još se mogu primenjivati trinatrijum citrat (E 331) i natrijum laktat (E 325) ([Freixanet, 2007a](#)).

Boje su supstance koje se koriste za bojenje namirnica, a mogu da budu ekstrakti prirodnih sirovina i sintetski proizvedena jedinjenja, isključujući: namirnice (u osušenom ili koncentrovanom obliku), arome koje sekundarno mogu da boje prehrambene proizvode i boje koje se koriste samo za bojenje nejestivih spoljašnjih delova prehrambenih proizvoda (kora sira, omotači za kobasice i sl.) ([Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama](#) i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005).

Košnila, karminska kiselina, karmini (E 120) je univerzalna, najčešće korišćena prirodna boja u proizvodnji kuvane šunke. Ova boja daje šunki prirodan izgled sa ružičastim tonom. Od ostalih prirodnih boja koje se dodaju u proizvode od mesa (kuvana šunka) treba spomenuti anato biksin – norbiksin (E 160b), betanin (E 162), stabilizovani hemoglobin (sterilisani i dehidratirani) i karamel (E 150). Najčešće primenjivana veštačka boja je eritrozin (E 127), a od ostalih treba spomenuti: crveno 2G (E 128), alura crveno AC – crveno 40 (E 129) i ponso 4R (E 124). U celom svetu postoji tendencija da se zabrani upotreba veštačkih (sintetskih) boja u proizvodnji kuvane šunke ([Freixanet, 2007a](#)).

Međutim, u našoj zemlji, prema [Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama](#) i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005), nije dozvoljeno dodavanje košenile u konzerve (kuvanu šunku).

Stabilizatori su supstance koje održavaju fizičko-hemijsko stanje namirnice uključujući homogenu disperziju dve ili više supstanci koje se ne mešaju, kao i supstance koje stabilizuju, održavaju ili pojačavaju postojeću boju namirnice, kao i supstance koje povećavaju kapacitet vezivanja sastojaka u namirnici, uključujući i formiranje unakrsnih veza između proteina čime se omogućava povezivanje sastojaka u rekonstituisanoj namirnici ([Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama](#) i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005).

Najčešće primenjivani stabilizator (polisaharidni hidrokoloid) u proizvodnji kuvane šunke je karagenan (E 407), ekstrakt crvenih algi (Freixanet, 2007a). Prema [Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama](#) i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005) karagenan je zgušnjivač, sredstvo za želiranje, stabilizator i emulgator. Prema istom [Pravilniku](#) (Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005) pod zgušnjivačima se podrazumevaju supstance koje povećavaju viskozitet namirnice, dok su sredstva za želiranje supstance koje namirnici daju konzistenciju gela.

Hidrokoloidi su hidrosolubilni makromolekuli koji modifikuju reološka

svojstva pasterizovanih konzervi od mesa u komadima dajući strukture sa velikom količinom uklopljene vode. Ukoliko makromolekuli nisu dobro umreženi, povećava se aktivnost vode. U suprotnom, ukoliko su dobro umreženi, stvaraju trodimenzionalne strukture poznate kao gelovi (Degussa Texturant Systems). Kada se tome doda da se ti efekti postižu korišćenjem izuzetno malih količina hidrokoloida, jasno je da je njihovo korišćenje i ekonomski opravdano (Oluški, 1985).

Komercijalne smeše hidrokoloida na bazi karagenana se obično sastoje od tri frakcije karagenana (kapa, lambda i jota), uz dodatak malih količina guma i nekih soli. Sastav smeše utiče na karakteristike formiranog gela, odnosno na njegovu čvrstinu, fleksibilnost, transparentnost, boju i sinerezis. Na primer, dodatak kalijum hlorida u smešu hidrokoloida povećava čvrstinu formiranog gela. U kombinaciji sa karuba gumom (gumom iz semena rogača, E 410) značajno se povećava sposobnost vezivanja vode karagenanskog gela i smanjuje sinerezis ([Freixanet, 2007a](#)).

U proizvodnji kuvane šunke upotreba hidrokoloida nije ograničena (princip quantum satis), već zavisi od dobre proizvođačke prakse (DPP). U salamurene kuvane proizvode od mesa najčešće se karagenan dodaje u koncentracijama, računato na krajnji proizvod, od 2 do 5 g/kg ([Freixanet, 2007a](#)), odnosno za prinose od 130 do 160% potrebne su koncentracije karagenana od 0.3 do 0.6% (Schneider i Rede, 1999).

Pored polisaharidnih hidrokoloida u hidrokoloidne spadaju i proteini i hidrolizati proteina (animalni i biljni), dodaci koji se u proizvodnji kuvane šunke dodaju iz dva razloga: povećanja sadržaja ukupnih proteina i zbog njihove sposobnosti vezivanja vode ([Freixanet, 2007a](#)).

Proteini koji se koriste u prehrambenoj industriji u svojstvu hidrokoloida, mogu se svrstati u devet grupa ([Pravilnik o kvalitetu belančevinastih proizvoda](#) i mešavina belančevinastih proizvoda za prehrambenu industriju, Službeni list SFRJ, broj 41, 1985):

- 1) belančevinasti proizvodi od jaja;
- 2) belančevinasti proizvodi od kvasaca;
- 3) belančevinasti proizvodi od krvi;
- 4) belančevinasti proizvodi od mleka;
- 5) belančevinasti proizvodi biljnog porekla;
- 6) belančevinasti proizvodi od uljarica (soje);
- 7) strukturne belančevine;
- 8) hidrolizati biljnih belančevina;
- 9) belančevinasti proizvodi iz žita.

Najčešće primenjivani funkcionalni animalni proteini u proizvodnji kuvane šunke su:

- proteini mleka (proteini surutke, laktoalbumini i kazeinati),
- proteini krvi (krvna plazma),
- hidrolizati kožica i
- proteini jaja,

dok su najčešće primenjivani funkcionalni biljni proteini u proizvodnji kuvane šunke proteini soje (izolati i koncentрати) ([Freixanet, 2007a](#)). U proizvodnji proizvoda od mesa kao belančevinasti proizvodi mogu da se upotrebljavaju želatin, suva krvna plazma, drugi belančevinasti proizvodi, hidrolizati belančevinastih proizvoda i njihove mešavine ([Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za proizvode od mesa](#), Službeni list SCG, broj 33, 2004). Prema [Pravilniku o deklarisanju i označavanju upakovanih namirnica](#) (Službeni list SCG, broj 4, 2004. i izmena i dopuna broj 12, 2004. i broj 48,

2004), u našoj zemlji, dodatak stranih proteina se mora deklarirati.

Dodavanje stranih proteina u proizvod pod nazivom kuvana šunka u našoj zemlji nije dozvoljen ([Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za proizvode od mesa](#), Službeni list SCG, broj 33, 2004), a slično je i u velikom broju drugih zemalja. Osnovni nedostatak upotrebe stranih proteina u proizvodnji kuvane šunke je njihov uticaj na senzorna svojstva proizvoda, odnosno na miris, ukus i boju ([Freixanet, 2007a](#)). U zemljama u kojima je upotreba skroba u preradi mesa dozvoljena ([Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama](#) i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005), i to prema principu quantum satis, skrob se dodaje zbog svoje sposobnosti vezivanja vode. Na taj način je moguće ostvariti visoke prinose, odnosno ubrizgati znatne količine salamure (vode) u meso. Skrob je polisaharid koji tokom zagrevanja želira stvarajući trodimenzionalnu mrežu koja zadržava velike količine vode. Većina skrobova želira na temperaturama između 65 i 75°C. Najčešće primenjivani skrobovi su poreklom iz pšenice, krompira i kukuruza ([Freixanet, 2007a](#)).

Kod običnih skrobova pri ponovljenom zagrevanju ili pri smrzavanju dolazi do retrogradacije, odnosno do gubitka svojstva rastvorljivosti i želiranja. Zbog toga se danas primenjuju modifikovani skrobovi, kod kojih je usled umrežavanja sprečena retrogradacija (Schneider i Rede, 1999).

Modifikovani skrobovi su supstance dobijene hemijskim tretmanom jestivih skrobova koje mogu da pretrpe fizički ili enzimski tretman. U ovu grupu ne spadaju beli i žuti dekstrin, pečeni i dekstrinirani skrobovi, izbeljeni skrobovi, fizički modifikovani skrobovi i skrobovi tretirani

amilolitičkim enzimima ([Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva](#) u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005).

Šećeri se koriste u salamurenju mesa iz više razloga. Osnovna im je funkcija da koriguju ukus koji proizvodu daju soli salamure (Rahelić i sar., 1980; Müller, 1989). Nitrit i nitrat, kao i kuhinjska so, odnosno fosfati, mogu dati salamurenom proizvodu, ako se upotrebe u većoj količini, gorak i opor ukus, što se koriguje šećerom. Zatim deluju kao redukujući agensi i služe kao supstrat pogodan za razmnožavanje određenih poželjnih bakterija i na taj način se smanjuje mogućnost razmnožavanja truležnih bakterija. Redukciono svojstvo, posebno dekstroza, značajno je i za formiranje i stabilizaciju boje salamurenog mesa. Razni šećeri mogu pri povišenim temperaturama stupiti u reakciju sa nekim sastojcima mesa (Maillard-ova reakcija), što, takođe, može imati uticaja na ukus i boju salamurenog mesa (Rahelić i sar., 1980).

Najčešće upotrebljavani šećeri u proizvodnji kuvane šunke su: saharoza, dekstroza, laktoza i fruktoza, zatim glukozni sirup i dekstrini ([Freixanet, 2007a](#)). Navedeni šećeri se dobro rastvaraju u vodi i imaju sladak ukus, ali ne svi u jednakoj meri. U proizvodnji kuvane šunke upotreba šećera nije ograničena (princip quantum satis), već zavisi od dobre proizvođačke prakse (DPP) ([Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe](#)

aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, Službeni list SCG, broj 56, 2003. i ispravki, izmena i dopuna broj 5, 2004. i broj 16, 2005). Preporučuje se da količina saharoze u gotovom proizvodu ne prelazi 0.8 – 0.9%, odnosno dekstroze 3% ([Freixanet, 2007a](#)). Prema istom autoru ([Freixanet, 2007a](#)) upotreba fruktoze je ograničena zbog jakog zaslađujućeg efekta u odnosu na druge šećere. Upotreba glukoznog sirupa, u odnosu na glukozu i dekstrozu, je ekonomski opravdanija i uključuje manji rizik od bakterijskog kvara posebno u zemljama sa toplijom klimom.

### Primeri različitih sastava salamura

Dr *Vladimir Tomović*

Tehnološki fakultet,

Novi Sad tel.: 00381 (0) 21 485 37 04

e-mail: [tomovic@uns.ac.rs](mailto:tomovic@uns.ac.rs)

1. [Salamurenje ubrizgavanjem](#)
2. [Literatura](#)

Sastav soli za salamurenje, odnosno sastavi salamura, razlikuju se veoma mnogo. Upotrebljavaju se različitog sastava salamure za salamurenje istog proizvoda u različitim pogonima. U narednim tabelama (Tabele 2.6.2, 2.6.3. i 2.6.4) prikazano je nekoliko sastava salamura namenjenih izradi kuvane šunke. U tabeli 2.6.2. prikazani su sastavi salamura u odnosu na različite procenat ubrizgavanja (Gillett i sar., 1982).

**Tabela 2.6.2.** Sastav salamure u odnosu na procenat ubrizgavanja

Ingredijencije (%)	% ubrizgavanja			
20%	25%	30%	35%	

Voda	81.46	85.17	87.64	89.42
Kuhinjska so	12.10	9.68	8.07	6.91
Šećer	3.30	2.64	2.20	1.88
Natrijum tripolifosfat	2.75	2.20	1.83	1.57
Natrijum eritorbat	0.30	0.24	0.20	0.17
Natrijum nitrit	0.086	0.069	0.057	0.049

U tabeli 2.6.3. prikazan je sastav salamure pri ubrizgavanju od 20% ([Desmond](#) i sar., 2000) i 30% ([Milligan](#) i sar., 1998). Tabela 2.6.3. Sastav salamure pri ubrizgavanju od 20% i 30%

Ingredijencije	% ubrizgavanja	
	20%	30%
	(%)	(kg)
Voda	84.3	11.34
Kuhinjska so	6.69	1.31
Nitritna so	5.03	0.13
Natrijum tripolifosfat	2.34	0.15
Dekstroza	1.47	0.82
Šećer		0.15
Natrijum askorbat	0.13	0.022

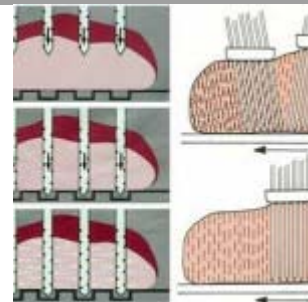
U tabeli 2.6.4. prikazan je uobičajeni sastav korišćene salamure pri proizvodnji kuvanih šunki za tržište Sjedinjenih Američkih Država ("PFF" > 18.5%)([Okanović](#), 1993; [Zagorac](#), 1994) Tabela 2.6.4. Sastav salamure za proizvodnju kuvanih šunki za tržište Sjedinjenih Američkih Država



Ingredijencije (%)	Okanović (1993)	Zagorac (1994)
Voda	70.30	70.435
Kuhinjska so	21.66	21.666
Šećer	4.16	4.166
Polifosfat	3.75	3.6
Natrijum nitrit	0.13	0.133
Natrijum askorbat	0.05	

### Salamurenje ubrizgavanjem

U savremenoj proizvodnji kuvanih šunki svinjsko meso se salamuri kombinacijom ubrizgavanja salamure mnogoigaoim ubrizgivačem ("pickl injector") u mišiće sa naknadnim mehaničkim obrađivanjem, sa ili bez vakuuma. Na ovaj način, u poređenju sa ostalim postupcima vlažnog salamurenja (salamurenje potapanjem), ostvaruje se veća preciznost u procentu ubrizgavanja salamure, ravnomernije rasprostiranje salamure kroz meso i značajno skraćanje, odnosno značajna promena toka difuziono-osmotskih procesa, čime se proces salamurenja završava za oko 24 sata i kraće (Rahelić i sar., 1980). Mnogo puta je pokazano da korektno ubrizgavanje salamure u mišićno tkivo ima prvorazredan značaj, a to znači da se salamura ubrizga što ravnomernije (Slika 2.6.3). Neravnomerna raspodela salamure u mišićnom tkivu znači, sa jedne strane, suviše malo ingredijencija salamure, što izaziva probleme sa bojom i teksturom, gubitkom ukusa i rizika prilikom čuvanja, i sa druge strane, na pojedinim mestima javljaju se suviše velike količine salamure, što je povezano sa problemima održivosti boje i povećanog sadržaja vode ili prisustva izdvojene vode (Scheid, 1986).



Šematski prikaz ubrizgavanja salamure u meso pod pritiskom (Metalquimia i Inject star – prospektni materijal)

Rahelić i Vičević (1978) i Vičević i Rahelić (1979) su detaljno opisali učinak ubrizgavanja salamure u meso i mehaničke obrade na tok salamurenja. U ovom postupku ubrizgavanja salamure pod pritiskom (2 – 2.5 atm) u meso, ispoljavaju se dva oblika mehaničkog delovanja: 1) oštećenja tkiva ubadanjem igala u meso uz kidanje sarkoleme i 2) odvajanje mišićnih vlakana pod delovanjem pritiska ubrizgane salamure. Razdvajajući mišićna vlakna jedna od drugih salamura prodire između njih kroz tkivo tako da se u komadima mesa stvaraju uslovi pojedinačnog potapanja mišićnih vlakana u salamuru, a pošto su vlakna i mehanički oštećena, pri sečenju mesa, kao i ubodima igala ubrizgivača, to ingredijencije salamure direktno prodiru u sarkoplazmu vlakana,

odnosno do proteina mesa. U zavisnosti od vrste mesa i mišića optimalna količina dodate salamure, odnosno količina salamure koja pozitivno utiče na senzorna svojstva proizvoda je između 5 i 20% (Xargayó i sar., [2007c](#)). Prema Müller-u (1989) optimalna temperatura salamure, pre ubrizgavanja, je ispod 5°C.

## Konzervisanje namirnica zamrzavanjem

Autor: mr **Dobrila Randelović**  
e-mail : [dobrilarandjelovic@beotel.net](mailto:dobrilarandjelovic@beotel.net)

### 1. [Literatura](#)

U industriji zamrznute hrane veoma je bitno da se namirnica namenjena zamrzavanju što pre ohladi do neke temperature blizu tačke zamrzavanja čime se:

- isključuju svi mikroorganizmi sem psihrofilnih formi, što znači da će proizvod pre zamrzavanja biti superiornijeg kvaliteta u poređenju sa istim proizvodom koji nije podvrgnut prethlađivanju i
- postiže potpunije iskorišćenje uređaja za samo zamrzavanje.

Prethlađivanje može da se obavi:

- u struji hladnog vazduha,
- u kontaktu sa vodenim ledom,
- u kontaktu sa ohlađenom vodom,
- u kontaktu sa ohlađenim vodenim rastvorom kuhinjske soli,
- primenom vakuuma (Vereš, 1998).

Rashladnim sredstvima se nazivaju supstance koje oduzimaju toplotu proizvodu koji se hladi.

Od rashladnog sredstva se traži da ispunjava sledeće uslove:

- kritična temperatura tečnosti treba da bude viša od maksimalne temperature kondenzacije da bi se kondenzacija mogla izvršiti,
- temperatura zamrzavanja tečnosti mora biti niža od najniže temperature isparavanja,
- pritisci isparavanja i kondenzacije treba da su u okviru prihvatljivih granica, jer se kod ekstremno visokih pritisaka kondenzacije javlja problem zaptivanja i eksplozije kondenzatora a kod pritisaka isparavanja, koji su niži od atmosferskog, postoji problem zaptivanja isparivača,
- rashladno sredstvo ne bi smelo biti zapaljivo ili eksplozivno,
- ne sme reagovati sa materijama od kojih je izrađena mašina ili izazvati njihovu koroziju,
- mešanje rashladnog sredstva sa uljem treba da je potpuno ili nikakvo
- cena radnog fluida treba da je što manja.

Najpoznatija sredstva koja se koriste su amonijak, freon 11, freon 12, freon 22, freon 404 A i dr. Konzervisanje podrazumeva niz tehnoloških operacija u cilju zaštite nutritivne vrednosti i organoleptičkih svojstava namirnica od svih oblika kvarenja. Najveću opasnost po kvalitet namirnica imaju prisutni mikroorganizmi, te je zato važno obezbediti uslove pri kojima se sprečava njihov metabolizam.

Za konzervisanje namirnica uvedeno je više postupaka koji su svrstani u četiri grupe:

- postupci koji se zasnivaju na produženju životnih procesa svežih namirnica biljnog porekla koje nastavljaju životne funkcije i posle berbe, tj. sveže voće i povrće, odnosno primena hlađenja,
- postupci koji se primenjuju u smislu uništavanja mikroorganizama, tj. abiotički postupci (visoka

temperatura, zračenje, konzervansi, antibiotici),

- postupci kojima se onemogućava aktivnost mikroorganizama iako je sačuvana sposobnost reprodukcije u povoljnim uslovima, tj. anabiotički postupci. U ovu grupu se ubrajaju:
  - primena niskih temperatura (zamrzavanje),
  - odstranjenje vode neophodne za razvoj (sušenje, koncentrisanje),
  - dodavanje sredstava radi povećanja osmotskog pritiska (soljenje, šećerenje),
  - povećanje kiselosti dodavanjem sirćetne, limunske, vinske, jabučne ili mlečne kiseline,
  - postupci kojima se smišljenim zahvatima menja sastav prisutne mikroflore (npr. biološki fermentisano povrće i voće, kiselo-mlečni proizvodi) (Vereš, 1991).

U antičko doba namirnice su čuvane u podzemnim pećinama, snegu i ledu. Posle 1930.god. došlo je do naglog razvoja u oblasti proizvodnje i primene veštačke hladnoće u svim naprednim zemljama. Naglo podizanje hladnjača u našoj zemlji počinje od 1950. god. (Šabac, Vršac, Čačak...) ([Janković](#), 2002).

U poređenju sa drugim vidovima konzervisanja, u zamrznutim namirnicama se najbolje očuvaju osnovni sastojci i labilnije komponente (npr. polifenoli i vitamini). Zamrzavanje ima i određenih ekonomskih prednosti koje se ogledaju kako u utrošku energije za samo zamrzavanje tako i mogućnosti primene jeftinijeg ambalažnog materijala (karton, papir, plast-mase).

Dovoljnim snižavanjem temperature praktično se zaustavljaju mikrobiološke, hemijske i biohemijske reakcije. Zamrzavanje je metod konzervisanja namirnica kojem nije cilj da se mikroorganizmi unište. To znači da zamrznuta namirnica sadrži određeni broj mikroorganizama, tj. nije sterilna ali je sačuvana od kvarenja sve dok vladaju nepovoljni uslovi za razvoj mikroorganizama tj. dok traje dovoljno niska temperatura koja nije pogodna za njihov razvoj.

Za mikroorganizme je temperatura jedan od limitirajućih faktora aktivnosti. U zavisnosti od temperature na koju su prilagodili život, mikroorganizmi se dele na: psihrofilne, mezofilne i termofilne (tabela 8) (Zlatković, 2003).

**Tabela 8.** Podela mikroorganizama prema temperaturi rasta

	Minimum (°C)	Optimum (°C)	Maksimum (°C)
Psihrofilni	-10 - 0	10	30
Mezofilni	10	25 - 35	40 - 50
Termofilni	30	50 - 60	70 - 80

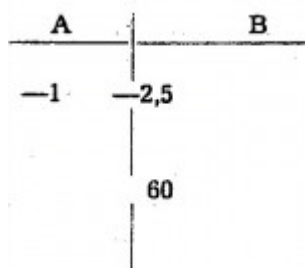
Temperature koje su niže od minimalno potrebne, dovode do odumiranja određenog broja mikroorganizama. U pogledu broja uginulih mikroorganizama

usled zamrzavanja, može da se konstatuje da je taj broj mnogo manji u poređenju sa uginućem na povišenoj temperaturi. Smrt mikroorganizma nastaje usled izmene

strukture protoplazme i poremećene razmene materija. Zamrzavanjem se formiraju kristali leda čime se povećava viskozitet protoplazme, smanjuje se moć vezivanja vode za koloidne, raste osmotski pritisak u ćeliji - što dovodi do nepovratnih i štetnih promena na proteinima, a sami kristali leda usled povećane zapremine mehanički oštećuju kako citoplazmu tako i ćelijsku opnu.

Manje otporni mikroorganizmi uginu već na početku zamrzavanja kada dožive tzv. temperaturni šok. Iako se i kasnije postigne temperaturni optimum posle ovog šoka oni gube sposobnost reprodukcije.

U zavisnosti od sadržaja rastvorljive suve materije od 60-80% vode kristališe u intervalu  $-1$  do  $-5^{\circ}\text{C}$  ("zona maksimalne kristalizacije") kada se smrzava slobodna i konstitutivna voda a ne smrzava adsorpciono vezana voda i kristalohidratna voda (slika 26, Vereš).



Odnos između temperature zamrzavanja i vrste vode u namirnici: A - slobodna voda, B - koloidno slobodna voda, C - koloidno vezana voda

Zato su i namirnice nekada zamrzavane samo do  $-10^{\circ}\text{C}$  i bile su deklarirane kao "frozen food" ili smrznuta hrana. Kasnije se uvidelo da ovo nije dovoljno niska temperatura i da se namirnice mogu duže očuvati uz bolji kvalitet ako se temperatura snizi do  $-18^{\circ}\text{C}$ , i to je "deep frozen food" ili duboko smrznuta hrana. Daljim razvojem uređaja za zamrzavanje zaključeno je da samo krajnja temperatura

ne garantuje kvalitet već da na kvalitet ima uticaja i brzina zamrzavanja ili vreme za koje se postigne željena temperatura. Kada je vreme zamrzavanja kratko ove namirnice se nazivaju "quick frozen food" ili brzo smrznuta hrana.

Brzina zamrzavanja namirnica ima veliki uticaj na strukturu odmrznute namirnice. Ukoliko je brzina zamrzavanja veća negativne promene (stepen mehaničkog oštećenja, dehidratacija) se smanjuju.

Većom brzinom zamrzavanja broj kristalizacionih jezgara je veći što znači da će kristali leda biti sitniji. Međućelijski prostor je oblast sa manje rastvorljive suve supstance u odnosu na ćeliju tako da tu prvo dolazi do kristalizacije leda. Zbog zamrzavanja slobodne vode u međućelijskom prostoru, rastvorljiva suva materija se koncentriše, zato dolazi do difuzije vode iz ćelije u međućelijski prostor, tu se zamrzava što doprinosi porastu veličine kristala već formiranog leda. Pri zamrzavanju je cilj da se osmoza odvija u što je moguće manjoj meri. Na osmozu, odnosno kvalitet zamrznute namirnice, moguće je uticati većom brzinom zamrzavanja.

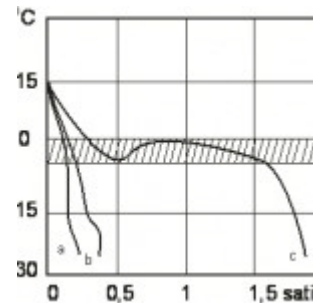
Brzina zamrzavanja se definiše kao odnos najkraćeg rastojanja od površine do toplotnog centra proizvoda i vremena koje protekne od momenta kada se postigne temperatura površine od  $0^{\circ}\text{C}$ , do momenta kada se postigne temperatura u centru proizvoda koja je  $z$  od temperature kristalizacije. Brzina zamrzavanja  $W_s$  se izražava u centimetru po času.

Opšte je prihvaćeno da je:

- sporo zamrzavanje ako je  $W_s$  od 0,1-0,2 cm/h;
- brzo ako je  $W_s$  od 0,5-3 cm/h;
- vrlo brzo ako je  $W_s$  od 5-10 cm/h i
- ultra brzo ako je  $W_s$  od 10-100 cm/h (Janković, 2002).

Brzim zamrzavanjem obrazuje se veći broj kristalizacionih centara koji su sitniji i ravnomerno raspoređeni kako u samoj ćeliji tako i u međućelijskom prostoru. Veličina kristala zavisi od temperature medijuma za zamrzavanje (temperatura -50 do -100°C veličina kristala je nekoliko mikrometara, ako je temperatura medijuma -150 do -180°C veličina kristala leda je 20-200  $\mu\text{m}$ ). Sporim zamrzavanjem obrazuju se kristali leda većih dimenzija (oko 100 $\mu\text{m}$ ) koji su neravnomerno raspoređeni u ćeliji (ima ih manje) i međućelijskim prostorima (zastupljeni su u većem broju). Pojava krupnijih kristala leda u većoj meri oštećuje ćelijsku opnu, usled čega se smanjuje kvalitet zamrznute namirnice (oslobađa se veća količina tečnosti prilikom odmrzavanja) (Vereš, 1991).

Na slici 27. prikazan je grafik promena temperature u funkciji vremena pri brzom, srednje brzom i sporom zamrzavanju.



Promena temperature u funkciji vremena

a- brzom zamrzavanju, b- srednje brzom zamrzavanju, c- sporom zamrzavanju (Vereš, 1998). (napomena: išrafirani deo na grafiku predstavlja oblast maksimalnog formiranja kristala leda)

## Mikrobiološki status toplih i hladnih svinjskih polutki

Šakota Tamara<sup>1</sup>, Škrinjar Marija<sup>2</sup>, Petrović Ljiljana<sup>2</sup>, Adamović Jasmina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CARNEX A.D. Industrija mesa, Vrbas;

<sup>2</sup>Tehnološki fakultet, Novi Sad



Svinjski trupovi

1. [Uvod](#)
2. [Materijal i metode](#)
3. [Rezultati i diskusija](#)
4. [Zaključci](#)

### Uvod

**ključne reči:** *svinjske polutke, destruktivna metoda, metoda brisa, mikroorganizmi*

U okviru svoje zakonske regulative EU je propisala niz propisa koji se odnose na proizvodnju zdravstveno bezbedne hrane i pravila za proveru opšte higijene. Od zaposlenih u klanicama i objektima za proizvodnju mesa se zahteva da uspostave i sprovode redovne provere opštih higijenskih uslova u svojim objektima, uspostavljajući i primenjujući procedure razvijene u skladu sa HACCP principima. Ove provere uključuju i mikrobiološka ispitivanja higijenskog statusa polutki i

higijenskog statusa radnih površina, alata, pribora, opreme i mašina.

Regulativa (EC) No 2073/2005 se odnosi na mikrobiološke kriterijume za namirnice, a u okviru poglavlja 3, donosi i pravila za uzorkovanje i pripremu uzoraka za testiranje. Koja, od dve metode uzimanja uzoraka za mikrobiološka ispitivanja higijenskog statusa površine trupova/polutki, destruktivna ili metoda vlažnog brisa, je podesnija za rutinsku upotrebu u klanicama zavisi od više aspekata. Najvažniji aspekti su efikasnost mikrobiološkog uzorkovanja i praktičnost u rutinskom radu.

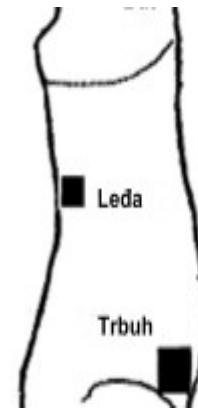
Brojni autori se slažu da je destruktivna metoda efikasnija u odnosu na metodu brisa, a ima i autora koji tvrde da se uzorkovanjem brisom sa abrazivnim materijalom mogu postići efekti kao primenom destruktivne metode.

Na uzorcima uzetim na jedan ili drugi način, potrebno je odrediti ukupan broj bakterija i ukupan broj bakterija porodice *Enterobacteriaceae*. Na osnovu regulative 2073/2005 potrebno je odrediti i prisustvo bakterija *Salmonella* vrsta, za čije ispitivanje se koriste uzorci uzeti metodom abrazivnog sunđera.

Regulativa (EC) No 2073/2005 propisuje da se uzorci za mikrobiološko ispitivanje površine trupova/polutki uzimaju u periodu nakon obrade, a pre hlađenja.

Uzimajući u obzir napred navedeno odlučeno je da se u ovom radu, kao delu šire koncipiranog programa, izvrši (još jednom) uporedno ispitivanje pouzdanosti, primenljivosti i efikasnosti metode brisa i destruktivne metode, obuhvatajući i zavisnost rezultata ispitivanja od vremena uzimanja uzoraka post mortem.

## Materijal i metode



### Mesta uzimanja uzoraka

Ispitivanje je vršeno u renomiranoj domaćoj industriji mesa, kapaciteta klanja 200 svinja/čas. Utvrđena je dinamika hlađenja u okviru postojeće tehnologije hlađenja kao kritične kontrolne tačke (CCP) u procesu proizvodnje svinjskog mesa, kontinualnim snimanjem temperature komore za hlađenje i temperature u centru buta. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost za svako ispitivanje.

Sakupljanje uzoraka za mikrobiološka ispitivanja sa svinjskih polutki vršeno je prema šemi prikazanoj na Slici 1. Mesta uzimanja uzoraka (but, leđa, trbuh, vilica).



### Uzorkovanje metodom vlažnog brisa

Uzimanje uzoraka vršeno je komparativno, metodom brisa i destruktivnom metodom i to nakon obrade polutke a pre rashlađivanja kao i nakon hlađenja (24h post mortem).



#### Uzorkovanje destruktivnom metodom

Uzorci sakupljeni metodom brisa i destruktivnom metodom nakon obrade a pre hlađenja uzeti su sa desnih polutki, dok su uzorci uzeti metodom brisa i destruktivnom metodom nakon hlađenja uzeti sa levih polutki. U istom vremenu obavljeno je i uzimanje uzoraka za ispitivanje *Salmonella*, metodom brisa abrazivnim sunđerom u skladu sa uredbom EU 2073/2005.

Uzorci sakupljeni metodom brisa i destruktivnom metodom nakon obrade a pre hlađenja uzeti su sa desnih polutki, dok su uzorci uzeti metodom brisa i destruktivnom metodom nakon hlađenja uzeti sa levih polutki. U istom vremenu obavljeno je i uzimanje uzoraka za ispitivanje *Salmonella*, metodom brisa abrazivnim sunđerom u skladu sa uredbom EU 2073/2005.

#### Rezultati i diskusija

Istraživanje je pokazalo značajnu razliku u ukupnom broju bakterija (Tabela 1.) i ukupnom broju bakterija porodice *Enterobacteriaceae* (Tabela 2.) u zavisnosti od metode uzorkovanja.

Poređenjem rezultata za ukupni broj bakterija kod toplih i ohlađenih polutki, dobijenih nakon uzorkovanja destruktivnom metodom, uočava se da nema značajnih razlika kod svih ispitivanja, dok postoji značajna razlika kod rezultata uzetih metodom brisa pre i nakon hlađenja.

Rezultati ispitivanja destruktivnom metodom su pokazala da se hlađenjem ne redukuje broj mikroorganizama na polutkama, ali se i ne povećava. Manji broj bakterija kod ohlađenih polutki u odnosu na tople polutke, dobijen nakon uzorkovanja metodom brisa može se objasniti i „greškom” u uzimanju briseva, odnosno različitom jačinom pritiska, kao i mogućim zatvaranjem pora na koži pri hlađenju, čime se smanjuje i površina uzimanja brisa nakon hlađenja polutki. Nadalje, iako su utvrđene razlike u brzini hlađenja polutki u svih šest obavljenih ispitivanja (Grafik 1), nije uočeno da je brzina hlađenja ispoljila uticaj na broj mikroorganizama nakon hlađenja.

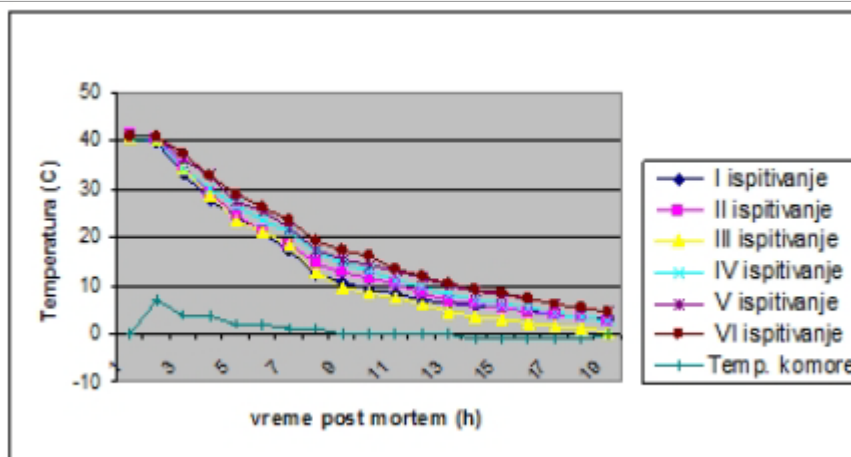
Tabela 1. Ukupan broj bakterija toplih i ohlađenih polutki u zavisnosti od metode uzorkovanja

	Metoda uzorkovanja	Ukupan broj bakterija					
		I ispitivanje	II ispitivanje	III ispitivanje	IV ispitivanje	V ispitivanje	VI ispitivanje
Tople	Metoda brisa	2.19log	1.89log	2.00log	1.98log	2.00log	2.16log

svinjske polutke	Destruktivna metoda	2.86log	2.76log	2.81log	2.84log	2.78log	2.86log
Ohlađene svinjske polutke	Metoda brisa	1.65log	2.54log	2.76log	1.75log	1.68log	1.75log
	Destruktivna metoda	2.94log	2.56log	2.80log	2.88log	2.86log	2.90log

Tabela 2. Ukupan broj bakterija porodice Enterobacteriaceae toplih i ohlađenih polutki u zavisnosti od metode uzorkovanja

	Metoda uzorkovanja	Ukupan broj bakterija porodice Enterobacteriaceae					
		I ispitivanje	II ispitivanje	III ispitivanje	IV ispitivanje	V ispitivanje	VI ispitivanje
Tople svinjske polutke	Metoda brisa	0.20log	0.53log	0.75log	0.53log	0.40log	0.65log
	Destruktivna metoda	1.07log	0.86log	0.98log	1.07log	0.98log	1.12log
Ohlađene svinjske polutke	Metoda brisa	0.17log	1.19log	0.66log	0.20log	0.65log	0.17log
	Destruktivna metoda	0.92log	0.92log	0.87log	1.05log	0.98log	0.98log



Srednje vrednosti promene temperature u centru buta u zavisnosti od vremena post mortem

Iz navedenog može se zaključiti da je neophodno i dovoljno uzimanje uzoraka za mikrobiološka ispitivanja svinjskih polutki nakon obrade, a pre hlađenja.



Rezultati određivanja prisustva *Salmonella* vrsta pokazuju odsustvo salmonela vrsta, izuzev kod leve i desne (tope i hladne) polutke jednog istog trupa, gde je biohemijskom i serološkom identifikacijom potvrđeno prisustvo *S.typhimurium*.

Da bi se postigla standardizacija i poboljšala baza podataka, neophodno je koristiti najpouzdanije dostupne metode. Destruktivna metoda uzimanja uzoraka pokazala se pouzdanijom, no nažalost ona nije primenljiva u svakom slučaju.

### Zaključci

- Postoji značajna razlika u ukupnom broju bakterija i ukupnom broju *Enterobacteriaceae* u zavisnosti od metode uzorkovanja.
- Rezultati ispitivanja potvrdili su visoku pouzdanost destruktivne metode uzorkovanja. Metoda brisa može se koristiti ukoliko se uspostave kriterijumi i dovedu u vezu sa destruktivnom metodom.
- Ne postoji značajna razlika u ukupnom broju bakterija i ukupnom broju *Enterobacteriaceae* između toplih i hladnih polutki pri uzorkovanju destruktivnom metodom. Postoji značajna razlika u ukupnom broju bakterija i ukupnom broju *Enterobacteriaceae* između toplih i hladnih polutki pri uzorkovanju metodom brisa.
- Neophodno je i dovoljno uzimanje uzoraka za mikrobiološko ispitivanje površine svinjskih polutki nakon obrade, a pre hlađenja.

### Bakterije izazivači trovanja hranom

Autor: dipl. ing. **Zdravko Šumić**

1. [Aeromonas hydrophila](#)
2. [Bacillus cereus](#)
3. [Clostridium botulinum](#)
4. [Clostridium perfringens](#)
5. [Campylobacter](#)
6. [Escherichia coli O157:H7](#)
7. [Listeria monocytogenes](#)
8. [Salmonella](#)
9. [Shigella](#)
10. [Staphylococcus aureus](#)
11. [Trichinella spiralis](#)
12. [Yersinia enterocolitica](#)
13. [Arcobacter butzleri](#)
14. [Cryptosporidium parvum](#)
15. [Helicobacter pylori](#)
16. [Legionella pneumophila](#)
17. [Vibrio spp.](#)
18. [Enterococcus faecalis](#)
19. [Literatura](#)

Pojava gastrointestinalnih poremećaja koja sledi nakon unošenja hrane u organizam može biti rezultat nekoliko podjednako verovatnih uzroka. Iako sanitarne radnike najviše zanimaju oni uzroci koje izazivaju mikroorganizmi, ostali uzroci su hemijska kontaminacija, otrovne biljke, životinjski paraziti i alergije. Svaki od ovih uslova je već dokazan kao potencijalni uzrok nastanka bolesti.

Pod bolestima koje se prenose putem hrane se smatra svaka bolest koja je povezana sa hranom ili kod koje je uzročnik unet u organizam preko hrane. Pod pojavom takve bolesti smatra se slučaj kada dve ili više osoba dožive sličnu bolest, obično gastrointestinalnu, posle jedenja obične hrane, ako analize ukažu na to da je izvor te bolesti hrana. Približno 66% svih pojava bolesti koje se prenose putem hrane su izazvane bakterijskim patogenima, a za približno 60% uzroci nisu utvrđeni. Najčešći izazivači trovanja hranom su: *Salmonella* i *Campylobacter* species,

Staphylococcus aureus, Clostridium perringens, Clostridium botulinum, Listeria monocytogenes, Escherichia coli 0157, Shigella, Vibrio i Yersinia enterocolitica. Veliki broj jela spremljenih kod kuće ili pripremljenih za prodaju su bili uzročnici pojave boleti koje se prenose putem hrane. Hrana životinjskog porekla, poput živinskih proizvoda, jaja, crvenog mesa i mlečnih proizvoda ječešći izazivač trovanja, od hrane biljnog porekla.

Pod trovanjem hranom se podrazumeva bolest izazvana konzumacijom hrane koja sadrži toksine mikroorganizama ili hemijske otrove. Trovanje hranom izazvano toksinima bakterija se naziva intoksikacijom izazvanom hranom; dok se, ono koje je izazvano hemikalijama koje su dospale u hranu naziva hemijskim trovanjem. Bolesti izazvane delovanjem mikroorganizama po broju nadmašuju one koje su poreklom od hemijskih uzroka. Bolesti koje nisu izazvane bakterijskim nusproizvodima, kao što su otrovi, već zbog unosa infektivnih mikroorganizama, kao što su bakterije, rikecije, virusi, ili paraziti se nazivaju infekcijama putem hrane. Bolesti koje se prenose putem hrane izazvane kombinacijom intoksikacije hranom i infekcije hranom se nazivaju toksikoinfekcijama hrane. Kod ove bolesti, patogene bakterije se razvijaju u hrani. Veliki broj njih se zatim unosi u organizam domaćina zajedno sa hranom i, kada dospeju u creva, nastavlja se patogeno razmnožavanje, uz proizvodnju toksina, što dovodi do pojave simptoma bolesti.

Da bi obezbedili zaštitu od bolesti koje se prenose putem hrane, neophodno je redovno pratiti sva otkrića na poljima proizvodnje, prikupljanja i skladištenja hrane, kako bi se precizno procenio kvalitet i zdravstvena bezbednost sirovih namirnica. Temeljno znanje o kreiranju, izradi i funkcionisanju postrojenja za obradu hrane je ključno za uspostavljanje kontrole nad obradom, čuvanjem,

pripremom i pakovanjem proizvoda od hrane. Poznavanje osetljivosti proizvoda od hrane na kontaminaciju je od velike pomoći prilikom uspostavljanja adekvatne zaštite od trovanja hranom.

### **Aeromonas hydrophila**

To je fakultativna anaerobna, gram-negativna štapićasta bakterija koja se kreće uz pomoć biča na jednom kraju.

Opseg temperature na kojoj se razvija je od 4°C do 43°C sa optimalnom temperaturom na 28°C. Opseg pH je od 4,5 do 9,0, a maksimalna koncentracija soli na kojoj može doći do razvoja je 4,0% (Marriott & Gravani, 2006).

Vađenje iznutrica i skladištenje pilećeg mesa na niskim temperaturama od 3°C može dovesti do razvoja Aeromonas hydrophila. Hladna voda i sam proces vađenja iznutrica su mogući uzroci kontaminacije prilikom standardnog procesa obrade pilića, a takođe mogu doprineti i visokoj stopi pojavljivanja ovih mikroorganizama u objektima gde se prodaje ovo meso. Ovaj mikroorganizam je izolovan u sirovom mleku, siru, sladoledu, mesu, svežem povrću, ribama, ostrigama, i drugim morskim plodovima.

A. hydrophila može izazvati gastroenteritis kod ljudi i infekcije kod pacijenata kojima je imuni sistem narušen lečenjem od raka.

### **Bacillus cereus**

Bacillus cereus je gram-pozitivna, štapićasta, aerobna bakterija koja formira spore i široko je rasprostranjena.

Iako su neke vrste ovog mikroorganizama psihotropične i sposobne da rastu i na temperaturama od 4 do 6°C, većina se

razmnožava na temperaturama od 15 do 55°C sa optimalnom temperaturom od 30°C. Pošto ovaj mikroorganizam formira spore, on je otporan na toplotu. Većina spora ima umerenu otpornost, ali neke imaju i povećanu otpornost na toplotu. Opseg pH u kojem se ove bakterije razvijaju je od 5,0 do 8,8, sa minimalnim aw od 0,93 (Marriott & Gravani, 2006).

Uobičajeno stanište za *Bacillus cereus* su prašina, voda i zemlja. One se često nalaze na površinama mesa i peradi, verovatno zbog kontaminacije iz tala i prašine. Ova bakterija uzrokuje kvarenje sireva i pasterizovanog mleka, a namirnice koje sadrže mleko u prahu, kao što je hrana za dojenčad i malu decu, mogu sadržati velike količine spora ili vegetativnih ćelija. Prisustvo ove bakterije karakteristično je i za jela od pirinča, zobi i raži.

Od 34 vrste koječine rod *Bacillus*, samo su dvije, *B. anthracis* i *B. cereus*, opisane kao patogene. *B. cereus* može proizvoditi termolabilan enterotoksin koji uzrokuje dijareju (dijaretički), i termostabilan toksin koji u ljudi uzrokuje povraćanje (emetički). Dijaretički tip ima relativno blage simptome, kao što su dijareja i bol u stomaku koji se javljaju 8 do 16 sati posle infekcije i može da traje približno 6 do 24 sata. U emetičkom tipu bolesti izazvane sa *B. cereus*, simptomi su pre svega povraćanje (koje se javlja od 1 do 6 sati nakon infekcije i traje 24 sata ili manje), mada se takođe može javiti i dijareja. Emetički toksin *B. cereus* se izlučuje u hranu i, kao i kod *Streptococcus faecalis*, on je otporan na toplotu. Emetički oblik koji je ozbiljniji od dijaretičkog tipa je izazvan proizvodnjom enterotoksina u crevima. Pojave ove bolesti su se desile kao rezultat konzumacije pirinča ili prženog pirinča koji se služi u restoranima ili zagrejanog pire krompira. Druge namirnice za koje je vezana ova bolest su jela od žitarica, povrće, seckano meso, ćufte, mlečni proizvodi, supe i pudinzi.

Broj ćelija koji je potreban da bi se bolest javila je od 5 do 8 jedinica za formiranje kolonija (colony - forming units - CFU) pa gramu hrane. Ova bolest se najbolje kontroliše odgovarajućom sanitacijom u restoranima i držanjem kuvane hrane bogate skrobom na temperaturama iznad 50°C iličuvanjem te hrane u frižideru na temperaturi ispod 4°C tokom 2 sata nakon kuvanja kako bi se sprečio razvoj bakterija i nastanak toksina (Marriott & Gravani, 2006).

Spore *B. cereus* su elipsoidne i smeštene su centralno do subterminalno. Spore germiniraju u rasponu temperature od 8 do 30°C. Spore sojeva koji su izazivači trovanja hranom imaju višu otpornost na dejstvo povišene temperature, pa su sposobniji preživeti postupak kuvanja. Spore su hidrofobne i vežu se na površine namirnica (Duraković i sar., 2002).

### ***Clostridium botulinum***

Ovaj mikroorganizam je anaerobna, gram-pozitivna, štapičasta bakterija koja formira spore i stvara gasove i pre svega se nalazi u zemljištu.

Optimalna temperatura za razvoj je od 30 do 40°C. Temperature na kojima se razvija ova bakterija se normalno kreću od 10 do 50°C, osim za tip E, koji se najbolje razvija na temperaturama od 3,3 to 45°C.

Pošto se *Clostridium botulinum* može javiti u zemljištu, takođe je prisutan i u vodi. Stoga su morski plodovičešći izvor botulizma od ostale životinjske hrane. Međutim, najveći potencijalni izvor botulizma su povrće i voće koje se koristi za pravljenje zimnice sa malim ili umerenim dodatkom kiselina. Pošto je ova bakterija anaerobna, konzervirana i vakuumirana hrana su takođe čest izvor botulizma. Konzervisane namirnice koje su naduvane ne bi trebalo da se jedu, jer do

naduvenosti dolazi kao rezultat pojave gasa koji proizvodi bakterija. Dimljenu ribu bi trebalo zagrijati na najmanje 83°C tokom 30 minuta prilikom pripreme, kako bi se obezbedila dodatna zaštita.

Botulizam je bolest koja se prenosi putem hrane, a rezultat je unošenja toksina koji proizvodi *Clostridium botulinum* tokom svog razvoja u hrani. Trenutno se zna za osam različitih toksina botulinum-a koji su serološki klasifikovani (Tabela 4). Veoma jak toksin (drugi po jačini biološki toksin koji je poznat ljudima) koji proizvodi ovaj mikroorganizam utiče na periferni nervni sistem žrtve. Mala deca mogu biti pogođena ovom bolešću unosom već samo 10 do 100 spora koje se zatim razmnožavaju u crevnom traktu i proizvode toksin. Smrt se javlja u približno 60% slučajeva zbog prestanka rada respiratornih organa. Karakteristike

botulizma, uključujući simptome, vreme inkubacije, hranu koja je u pitanju i preventivne mere, kao i drugihčestih izazivača trovanja hranom su prikazane u Tabeli 4.

Spore *Cl. botulinum* rezistentnije su na zračenje u poređenju sa vegetativnim ćelijama najvećeg broja mikroorganizama, pa ih nije praktično u namirnicama inaktivisati zračenjem. Otpornost na zračenje zavisi od tipa *Cl. botulinum*. Proteolitički tipovi A, B i F su najotporniji. Spore *Cl. botulinum* takođe su otporne na delovanje etilen oksida, ali ih inaktivise delovanje halogenih sredstava za sanitaciju i vodonik peroksid. Vodonik peroksid se upotrebljava za sanitaciju površina pri aseptičkom pakovanju, a halogenovana sredstva za sanitaciju upotrebljavaju se u rashladnoj vodi u industriji konzervisane hrane (Duraković i sar., 2002).

**Tabela 4.** Tipovi toksina botulinuma (Marriott & Gravani, 2006)

Tip	Karakteristike
A	Toksin je otrovan za ljude; ovo je najtipičniji uzročnik botulizma u SAD
B	Toksin je otrovan za ljude; češće se pronalazi nego tip A, u zemljištima širom sveta
C1	Toksin je otrovan za plovke, ćurke, i pojedine sisare, ali ne i za ljude
C2	Toksin je otrovan za plovke, ćurke, i pojedine sisare, ali ne i za ljude
D	Toksin je odgovoran za trovanje stoke putem stočne hrane, ali je retko otrovan za ljude
E	Toksin je otrovan za ljude; obično se nalazi u ribi i proizvodima od ribe
F	Toksin je otrovan za ljude; tek nedavno je izolovan i veoma je redak
G	Toksin je otrovan ali se retko nalazi

Kako bi se sprečio botulizam ključno je sprovesti efikasnu sanitaciju, odgovarajuće čuvati hranu u frižiderima i vršiti temeljnu termičku obradu hrane. Ovaj toksin je relativno labilan na toploti, ali su bakterijske spore veoma otporne na toplotu i potreban je ozbiljan tretman zagrevanjem kako bi se one uništile. Termička obrada na 85°C tokom 15 minuta deaktivira toksin.

### **Clostridium perfringens**

*Clostridium perfringens* je anaerobna, gram-pozitivna bakterija štapićastog oblika, koja stvara spore i tokom razvoja proizvodi raznovrsne toksine i gasove.

Ovaj mikrob se razmnožava na temperaturama u opsegu od 15 do 50°C sa optimalnom temperaturom od 43 do 46°C. Optimalni opseg pH koji pogoduje razvoju je od 6,0 do 7,0, ali se mogu razviti na pH 5,0 do 9,0. Minimalni aw pogodan za razvoj je 0,95 do 0,97. Ovaj mikroorganizam ima maksimum za natrijum hlorid od 7,0 do 8,0%, a inhibiran je na 5,0% (Marriott & Gravani, 2006). *Clostridium perfringens* može se razmnožavati i uz prisustvo kiseonika (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Spore različitih vrsta ovog mikroorganizma imaju različitu otpornost na toplotu. Neke spore su uništene za nekoliko minuta na 100°C, dok je za uništavanje drugih potrebno od 1 do 4 sata na ovoj temperaturi. *Clostridium perfringens* se najefikasnije može kontrolisati brzim hlađenjem skuvane i termički obrađene hrane. Hladno skladištenje na -15°C u periodu od 35 dana omogućava uništavanje 99,9% ovih mikroorganizama.

*C. perfringens*, pored ostalih toksičnih supstanci, sintetisuje i pet egzotoksina, koji su letalni za čoveka. Do njihove sinteze

dolazi nakon 12 do 16 časova rasta *C. perfringens* pri temperaturi od 33°C. *C. perfringens* uzročnik je raznih oboljenja kod ljudi. Česte su alimentarne toksikoinfekcije, pre svega u uslovima kolektivne ishrane, izazvane ovom vrstom bakterije. Pomenuto oboljenje najčešće je posledica konzumiranja nedovoljno kuvanog ili na drugi način toplotno obrađenog mesa, a ispoljava se u vidu mučnine, povraćanja i drugih tegoba gastro-intestinalnog trakta. Pored navedenog, *C. perfringens* izazivač je gasne gangrene i drugih oboljenja (Škrinjar i Tešanović, 2007).

*Clostridium perfringens* i njegove spore su izolovane u mnogim namirnicama - posebno u crvenom mesu, živinskom mesu i morskoj hrani. Osim povrća i voća, u koje spore dolaze iz tla, hrana životinjskog porekla kontaminirana je sporama u toku klanja, koje su se nalazile u okolini ili su bile zaostale u probavnom sistemu (Duraković i sar., 2002). Osušene namirnice (npr. začini), izvor su *Cl. perfringens*. Broj ovih mikroorganizama je obično veći kod kuvanog mesa, koje je ostavljeno da se hladi polako i na kraju stajalo duži period vremena pre služenja. Kao i kod salmonele, mora biti unet veliki broj aktivnih bakterija da bi došlo do pojave bolesti. Pojava bolesti koja je izazvana *Clostridium perfringens* bakterijom se obično može sprečiti stalnim odgovarajućim sanitarnim merama kao i odgovarajućim temperaturama skladištenja (<2°C) hrane, posebno ostataka. Namirnice koje se koriste tople valja držati na temperaturi od 60°C ili višoj. Ostatke hrane bi trebalo ponovo zagrejati na 65°C kako bi se uništili vegetativni mikroorganizmi (Marriott & Gravani, 2006).

## Campylobacter

To je gram-negativna, spiralno uvijena štapičasta bakterija koja ne formira spore, a kreće se pomoću bičeva. Rod *Campylobacter* sadrži 15 vrsta, a od najvećeg značaja za humanu medicinu su *C. jejuni* i *C. coli* (Otašević i sar., 2004).

*Campylobacter* je zahtevna bakterija po pitanju hranljivih materija; mikroaerofilnih zahteva je za O<sub>2</sub> (5%) i CO<sub>2</sub> (10%). Temperatura pogodna za razvoj se kreće između 30 i 45,5°C, sa optimumom od 37 do 42°C. Preživljava na maksimalnom nivou natrijum hlorida od 3,5%, a inhibiran je na 2,0% (Marriott & Gravani, 2006).

*Campylobacter* se najčešće nalazi kao redovan stanovnik gastrointestinalnog trakta divljih i domaćih životinja. Pošto se mogu naći u fekalijama, meso može biti zaraženo tokom klanja životinja, ako nisu primenjene sanitarne mere. *Campylobacter jejuni* je takođe pronađen u mleku, jajima i vodi koja je bila u dodiru sa životinjskim fekalijama.

Tokom poslednjih pedeset godina *Campylobacter jejuni* se pokazao kao učestali uzročnik bakterijskog gastroenteritisa kod ljudi. Kampilobakterioza kod ljudi uglavnom nastaje konzumiranjem namirnica koje sadrže *Campylobacter* spp., naročito namirnice životinjskog porekla. Pretpostavka je da sečovek najčešće inficira preko pilećeg mesa koje nije termički dovoljno obrađeno. Trenutno je u SAD najčešći uzročnik bolesti koje se prenose putem hrane. Ona je otkrivena kao uzročnik bolesti životinja kod živine, krava, i ovaca, a sasvim je uobičajena i kod sirovog živinskog mesa. Kada je otkrivanje i izolovanje ovog mikroorganizma poboljšano, postalo je jasno da je on uzrok mnogih pojava bolesti koje se prenose putem hrane. Ovaj mikroorganizam se sada smatra jednim od najčešćih uzročnika

bakterijske dijareje i drugih bolesti, a sve je više dokaza da je i jedan od izazivača pojave ulcera (čireva).

Simptomi i znaci infekcije sa *Campylobacter jejuni* nisu izraženi i ne mogu se razlikovati od bolesti izazvanih drugim crevnim patogenima. Izolovanje ovog patogena je teško pošto je obično prisutan u malom broju.

Infektivna doza kampilobaktera je 400 do 500 bakterija po g, što zavisi od otpornosti svakog organizma (Ivanović, 2004). Patogeni mehanizmi ovog patogena mu omogućuju da proizvodi toksin koji nije otporan na toplotu, a može izazvati dijareju. Kampilobakterioza se može javiti dupločešće nego salmoneloza. Simptomi bolesti koji su uzrokovani kampilobakterom variraju. Kod onih kod kojih se razvije blaži oblik ove bolesti, može se desiti da se ne pojave vidljivi znaci bolesti, ali oni preko fekalija izbacuju ovaj mikroorganizam. Simptomi težeg oblika ove bolesti mogu biti bol u mišićima, vrtoglavica, glavobolja, povraćanje, grčevi, bol u stomaku, dijareja, temperatura, iscrpljenost i delirijum. Dijareja se obično javlja na početku bolesti ili nakon pojave temperature. Krv u stolici se povremeno javlja 1 do 3 dana nakon dijareje. Bolest obično traje 2 do 7 dana. Iako je smrtni ishod redak, može doći i do toga.

Većina slučajeva kampilobakterioze je sporadična i nije masovna. Većina infekcija javlja se sporadično ili u vidu malih porodičnih epidemija. Epidemije širih razmera javljaju se izuzetno retko, ali mogu imati teške posledice. Epidemije koje su zahvatile nekoliko hiljada ljudi u SAD, Velikoj Britaniji i Skandinaviji nastale su uglavnom konzumiranjem zagađene vode i svežeg mleka. Jedna hidrična epidemija opisana je 1985. godine u Beogradu (Otašević i sar., 2004).

Kampilobakterije se najčešće javljaju kod dece starije od 10 godina i kod mlađih odraslih osoba, iako su sve starosne grupe izložene njenom delovanju. Ova infekcija izaziva dijareju. Iako se simptomi mogu pojaviti između 1 i 7 dana nakon konzumiranja zaražene hrane, bolest se obično razvija 3 do 5 dana nakon unošenja ovog mikroorganizama.

Uobičajeni nivo kiseonika u vazduhu će inhibirati razvoj ovih mikroorganizama. Preživljavanje u sirovoj hrani zavisi od soja *Campylobacter jejuni*, početno zaražene količine i uslova okruženja, posebno temperature skladištenja. Ovaj mikrob se lako uništava zagrevanjem zaražene hrane na 60°C unutrašnje temperature i držanjem na ovoj temperaturi nekoliko minuta za govedinu i otprilike 10 minuta za živinu (Marriott & Gravani, 2006).

Potpuna eliminacija ovog patogena nije moguća. Uzročnici pojave kampilobakterioze su toliko raznovrsni da potpuna eliminacija vrsta *Campylobacter* iz domaćih životinja trenutno nije ostvariva. Termičkom obradom pilećeg mesa uništava se *Campylobacter jejuni*. Ali, nedovoljnim pranjem ruku, pribora i nehygienskom upotrebom kuhinjskih krpa dolazi do rekontaminacije gotovog jela i na taj način do inficiranja ljudi. Kampilobakter se najefikasnije može kontrolisati putem primene sanitarnih mera i termičke obrade hrane životinjskog porekla. Infekcija ovim patogenom se može smanjiti temeljnim pranjem ruku sapunom i toplom tekućom vodom najmanje 18 sekundi pre pripremanja hrane i pre rukovanja sirovom, pa zatim gotovom hranom (Ivanović, 2004).

Ova zoonozna bakterija je svuda rasprostranjena i lako se prenosi tokom procesa proizvodnje, kako živih životinja tako i u objektima za klanje odnosno za pripremanje gotovog jela. Neophodno je

uočavati mesta gde najlakše dolazi do kontaminacije, odnosno do rekontaminacije i preventivno delovati. Jedan od načina je i primena HACCP koncepta.

### **Escherichia coli 0157:H7**

To je gram-negativna, štapićasta, fakultativno anaerobna bakterija. Otkriveno je četiri serološka tipa *E. coli* i to: enterohemoragični (0157:H7), enterotoksigeni (ETEC), enteroinvazivni (EIEC), enteropatogeni (EPEC).

Ešerihija coli 0157:H7 može da se razvija na temperaturama od 8 do 44,5°C sa optimalnom temperaturom od 30 do 42°C. Stope rasta su slične na pH vrednostima između 5,5 i 7,5, ali brzo opadaju kada je veća kiselost, iako ovaj patogen preživljava i niske pH vrednosti. Minimalni pH za *Escherichia coli* 0157:H7 je od 4,0 do 4,5. Preživljavanje *Escherichia coli* 0157:H7 u kiseloj hrani je važno, pošto je nekoliko pojava bolesti bilo povezano sa niskim stepenom preživljavanja u kiseloj hrani, kao što su fermentisane kobasice, jabukovo sirće i sok od jabuke. Ovaj patogen je u eksperimentalnim uslovima preživeo nekoliko nedelja u različitoj kiseloj hrani, kao što su majonez, kobasice i jabukovo sirće. Preživljavanje u ovoj hrani se produžilo kada je ona držana na temperaturi frižidera (Marriott & Gravani, 2006).

*E. coli* spada u prilično otporne mikroorganizme. Uništavanje *Escherichia coli* 0157:H7 se može postići kuvanjem seckane teletine na 72°C ili više, ili korišćenjem postupka koji uništava ovaj patogen u proizvodnji fermentisanih kobasica ili pri pasterizaciji jabukovog sirćeta. HACCP sistem je najefikasnije sredstvo za sistematsko razvijanje sigurnosnih protokola kod hrane, koje

može da smanji infekciju uzrokovanu ovim patogenom. Niska incidenca ovog patogena ograničava korišćenje direktnog testiranja na prisustvo mikroorganizama, kao sredstva za potvrđivanje efikasnosti HACCP.

Glavni izvor svih serotipova *E. coli* je čovek. Ovaj mikroorganizam se nalazi u fekalijama stoke i može zaraziti meso tokom obrade. Veoma je važno utvrditi metode koje se primenjuju tokom klanja stoke i obrade mesa kako bi se kontrolisalo razmnožavanje ovog patogena.

Seckana teletina se najčešće povezuje sa pojavljivanjem bolesti u SAD-u. Suhomesnati proizvodi se povezuju sa pojavom bolesti pokazujući da niži nivoi ovog patogena može preživeti u kiselom fermentisanom mesu i izazvati bolest. Druga hrana koja se povezuje sa ovim patogenom je nepasterizovan sok od jabuka i jabukovo sirće. Najveće izbijanje bolesti izazvane sa ešerihijom koli, od koje se razbolelo na hiljade ljudi, zabeleženo je u Japanu 1996. i povezano je sa klicama rotkvice. Voda za piće je bila prenosnik kod nekoliko pojavljivanja bolesti izazvanih sa ešerihijom koli 0157:H7 (Marriott & Gravani, 2006).

Oko 3,2% teladi koja sisa i 1,6% stoke koja pase, pozitivno je na prisustvo ešerihije koli 0157:H7. Otkriveno je da su jeleni izvor ovog patogena i da do prenosa ovog mikroorganizma može doći između jelena i stoke. U fekalijama je otkriveno da se ovaj patogen pojavljuje sezonski i da je prolazan. Prisustvo ešerihije koli u fekalijama je na vrhuncu tokom leta, a tokom proleća i jeseni je ima znatno manje (Marriott & Gravani, 2006).

Pojave hemoragičnog kolitisa i hemolitične uremije izazvane sa *Escherichia coli* 0157:H7, čine da se ovaj patogen smatra veoma opasnim. Nepoznato je kako je ovaj mikroorganizam mutirao iz obične *E. coli*,

ali neki naučnici pretpostavljaju da je preuzeo gene od šigele, koja izaziva slične simptome. *Escherichia coli* O157:H7, sa somatskim (o) i flagelarnim (H) antigenima je otkrivena kao ljudski patogen nakon izbijanja dva hemoragična kolitisa 1982.

Enterotoksigeni sojevi *E. coli* (ETEC) sintetišu različita toksična jedinjenja, od kojih je začoveka najznačajniji enterotoksin. Ovaj toksin po sastavu je lipopolisaharid i sastoji se od dve komponente: termolabilne i termostabilne. Termostabilna komponenta otporna je na visoke temperature i njegova struktura narušava se tek na 100°C nakon 30 min. delovanja. Termolabilni deo ovog toksina osetljiv je na povišenu temperaturu, što je dobro jer je odgovoran za kompletno dejstvo toksina. Uništava ga temperatura od 65°C u trajanju od 30 min (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Enterotoksin *E. coli* po svom delovanju sličan je enterotoksinu *Vibrio cholerae*, uzročniku kolere. Pod njegovim dejstvom dolazi do povlačenja vode iz tkiva organa u lumen creva, što ima za posledicu gubitak velike količine vode, dehidraciju i demineralizaciju organizma. Kod bolesnika dolazi do pojave proliva, mučnine sa ili bez povraćanja i opšte malaksalosti (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Enteropatogeni sojevi *E. coli* (EPEC) ne stvaraju toksične supstance. Kod čoveka izazivaju akutni gastroenteritis. Znaci oboljenja slični su onima nastalim usled dizenterije. Kod obolelog manifestuju se abdominalni grčevi, česti prolivi, a u izmetu se može konstatovati prisustvo krvi, gnoja, sluzi i mnogobrojnih leukocita (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Enteroinvazioni sojevi *E. coli* (EIEC) izazivači su dijarejalnih oboljenja.



Enterohemoragični sojevi *E. coli* (EHEC) ispoljavaju patogene osobine prema čoveku. Sve enterohemoragične vrste proizvode šiga toksin 1 i/ili šiga toksin 2, takođe poznate i kao verotoksin 1 i verotoksin 2. Sposobnost proizvodnje šiga toksina potiče od bakteriofage, verovatno direktno ili indirektno iz šigele. Infektivna doza koja se vezuje za pojavu bolesti uzrokovane ovim patogenom je niska (2,000 ćelija ili manje) zbog tolerancije organizma na kiselost. Početni simptomi hemoragičnog kolitisa se obično javljaju od 12 do 60 sati nakon konzumiranja zaražene hrane, iako je zabeleženo pojavljivanje i nakon 3 do 5 dana. Ova bakterija se zakači za zid creva, proizvodeći toksin koji napada sluzokožu creva. Simptomi počinju blagom dijarejom bez krvi, koja može biti praćena bolom u stomaku i kratkotrajnim rastom temperature. Tokom narednih 24 do 48 sati povećava se jačina dijareje, do dužine trajanja od 4 do 10 dana, dijareja postaje izraženo krvava, javlja se jak bol u stomaku i dolazi do delimične dehidracije organizma (Marriott & Gravani, 2006).

Pretnja po život koja se može javiti kod pacijenata sa hemoragičnim kolitisom izazvana je hemolitičko uremičnim sindromom, koji se može javiti nedelju dana po pojavi gastrointestinalnih sindroma. Karakteristike ovog stanja uključuju i pojavu edema i akutnog poremećaja u radu bubrega. Najčešće se javlja kod dece mlađe od 10 godina. Približno 50% ovih pacijenata mora da ide na dijalizu, a stopa smrtnosti je od 3 do 5%. Pored ovoga može doći i do grčenja mišića, kome, moždanog udara, povišenog pritiska i upale pankreasa. Otprilike 15% ovih slučajeva vodi do početne faze hroničnog poremećaja u radu bubrega i/ili insulinskog dijabetesa, a u malom broju slučajeva se bolest ponovo javlja.

Trombotična trombocitopenična purpura je još jedna bolest koja je vezana za ešerihiju

*coli* O157:H7. Ona podseća na hemolitičko uremični sindrom, osim što ona uobičajeno izaziva oštećenje bubrega, značajno utiče na neurološke pojave (tj. grčenje mišića, moždane udare, i propadanje centralnog nervnog sistema), a njena pojava je ograničena samo na odrasle osobe.

### **Listeria monocytogenes**

Ovaj mikroorganizam je fakultativno anaerobna, gram-pozitivna, mikroaerofilna (5 do 10% CO<sub>2</sub>) bakterija koja ne proizvodi spore. *L. monocytogenes* prepoznata je kao važan patogen kod ljudi i životinja, u zadnje dve decenije postala je predmet zanimanja medicinske, veterinarske i prehrambene mikrobiologije.

Može se razmnožavati unutar velikog raspona pH-a (4,3 – 9,6) i temperature (1 – 45°C), i izrazito je otporna prema visokim koncentracijama NaCl-a (do 12%). Ovi parametri omogućavaju listeriji preživljavanje različitih postupaka koji se koriste tokom obrade namirnica. Pored ovoga i sposobnost razmnožavanja na temperaturama skladištenja (+4°C), čine da ovaj mikroorganizam predstavlja veliki problem u prehrambenoj industriji, te potencijalnu opasnost za ljudsko zdravlje (Bubonja i sar., 2007).

Optimalan opseg temperature za razmnožavanje ovog mikroorganizama je od 30 do 37°C, smatra psihotrofnim patogenom koji ima i visoku otpornost na toplotu. Razvija se u preko 10% slanom i preživljava u zasićenim slanim rastvorima. Ovaj patogen preživljava temperature smrzavanja i obično se uništava na temperaturi obrade iznad 61,5°C. *Listeria monocytogenes* uspeva u supstratima od neutralnih do alkalnih pH vrednosti, ali ne i u veoma kiselom okruženju. Opseg vrednosti pH u okviru kojih se može razvijati dosta zavisi od supstrata i temperature.

*Listeria monocytogenes*, je sveprisutan patogen koji se javlja kod ljudskih nosilaca (oko 10% populacije) i nalazi se u crevnom traktu preko 50 domaćih i divljih ptica i životinja, uključujući ovce, stoku, živinu i svinje kao i u zemljištu i truloj vegetaciji. Drugi potencijalni izvori ovog mikroorganizma su potoci, kanalizacija, mulj, pastrmke, ljuskari, muve, krpelji i simptomatski ljudski prenosioci.

*Listeria monocytogenes* može biti prisutna u različitim prehrambenim proizvodima. Iako se mikrobiološka neispiravnost gotovog proizvodčesto vezuje za kontaminiranost sirovina ili nepravilnosti u procesu proizvodnje, u slučaju *Listeria monocytogenes*, u rizičnoj grupi se nalaze sveže, neprerađene namirnice kao što su mleko, meso, i meki sirevi. Osim toga, može biti prisutna i učokoladnom mleku, jogurtu, raznim vrstama gotovih jela, kao što su kobasice, šunka, paštete, kuvana piletina, morski plodovi itd. Naročito veliki rizik za zdravlje potrošača predstavlja sveže povrće i voće, koje takođe može biti kontaminirano ovom bakterijom. Najčešće se listerioza javlja kao posledica konzumiranja svežeg kupusa, zelene salate, celera, paradajza, krastavaca, krompira, rotkvica i drugog povrća (Popović i Đurđević-Milošević, 2008).

Ovaj patogen se najefikasnije prenosi konzumacijom kontaminirane hrane, ali se može preneti i sa osobe na osobu ili inhalacijom ovog mikroorganizma. Na primer, kod osobe koja je bila u direktnom kontaktu sa zaraženim životinjama, zemljištom ili fekalijama, mogu se razviti lezije na šakama i rukama. Ovaj patogen se lako može naći u kućnim frižiderima, što ukazuje na potrebu za redovnim čišćenjem i sanitizacijom ove opreme.

Uništavanje listerije je nepraktično i verovatno nemoguće. Kritično pitanje je kako kontrolisati njeno preživljavanje. Razna istraživanja su pokazala da je

*Listeria monocytogenes* otporna na delovanje sanitarnih sredstava. Ovaj patogen je otporan na delovanje trisodijum fosfata (TSP) i potrebno je da bude izložen visokoj koncentraciji TSP (8%) tokom 10 minuta na sobnoj temperaturi, kako bi se, posle formiranja kolonije na površini predmeta i nastanka biofilma, broj bakterija smanjio. Pored toga, pranje kože sa 0,5% natrijum hidroksidom ima minimalan efekat na razmnožavanje *Listeria monocytogenes*. Ovaj mikroorganizam je otporniji na proces kuvanja od ostalih patogena, i samo kuvanje nije uvek dovoljna mera za eliminaciju ovog organizma iz hrane. Iako je *Listeria monocytogenes* osetljiva na zračenje, to se ne preporučuje kao konačno rešenje za uklanjanje ovog patogena iz svežeg mesa i živinskog mesa (Popović i Đurđević-Milošević, 2008).

*Listeria monocytogenes* se može spojiti sa površinom hrane proizvodeći fibrile za pripajanje, a potom stvarajući biofilm, koji otežava uklanjanje prilikom čišćenja. Pričvršćivanje listerije začvrstu površinu se odvija u dve faze. Prva faza predstavlja primarni kontakt ćelija sa površinom, a drugačvrsto pripajanje koje sledi posle perioda inkubacije. Ovaj mikrob se pripaja za podlogu proizvodeći veliku količinu isprepletanih polisaharidnih vlakana, koja se pružaju od površine bakterije kako bi formirala „glikol-kaliks“ koji, opet, okružuje ćelije kolonije i ima svrhu da kanališe hranljive materije u ćeliju i oslobodi enzime i toksine. Ovi mikroorganizmi su takođe i potencijalni kontaminanti sirovih materijala koji se koriste u fabrikama, što pogoduje stalnom prisustvu ovog organizma u fabričkom okruženju. Korišćenje HACCP i drugih procedura za kontrolu procesa obrade je najefikasniji metod za kontrolu ovog patogena u fabričkom okruženju. HACCP pristup je pomogao u određivanju kritičnih tačaka i pri proceni efikasnosti kontrolnih sistema u postupku verifikacije.

Najefikasnija prevencija protiv listerioze je izbjegavanje konzumacije sirovog mleka, sirovog mesa, i hrane napravljene od kontaminiranih sastojaka. Pogotovo je važno da trudnice izbjegavaju kontakt sa zaraženim životinjama. Procedure za proizvodnju proizvoda koji sigurno ne sadrže listeriju još uvek nisu otkrivene i razvijene. Stoga se prehrambena industrija mora oslanjati na striktan program sanitacije okruženja i HACCP principe kako bi dobili kontrolisan proces rada. Najvažnije oblasti u prevenciji kontaminacije su oblast dizajna i funkcionalnosti fabrike, dizajna opreme, procedura za kontrolu procesa rada, sanitarnih procedura i oblast verifikacije kontrole same bakterije.

*Listeria monocytogenes* je posebno opasan patogen pošto može da preživi na temperaturi frižidera. Ranije je listerioza smatrana retkom kod ljudi. Ipak, pojava bolesti koje se prenose putem hrane od 1980. je povećala zabrinutost zdravstvenih organizacija u pogledu ovog patogena. Procenjeno je da godišnje listerioza izaziva 2500 ozbiljnih slučajeva bolesti i 500 smrtnih slučajeva (Marriott & Gravani, 2006). Pojedinci u određenim rizičnim grupama su izloženi listeriozi. Trudne žene su otprilike 20 puta podložnije nego druge zdrave odrasle osobe. *Listeria monocytogenes* je oportunistički patogen, pošto se ne očekuje da će izazvati ozbiljne bolesti kod zdravog odraslog pojedinca sa jakim imunim sistemom.

Ljudsku listeriozu može izazvati bilo koji od 13 serotipova *Listeria monocytogenes*, ali oni koji najčešće izazivaju bolest su 1/2a, 1/2b, i 4b. Većina slučajeva listerioze je sporadična. Bolest najpre napada trudnice, novorođenčad, ljude starije od 50 godina, one koji su oslabljeni bolešću i druge pojedince čiji je imunni sistem oslabljen. Meningitis ili meningoencefalitis je naješća manifestacija ove bolesti kod odraslih. Ova bolest može imati blaži oblik

sa simptomima sličnim gripu, septikemijama, endokarditisom, apscesima, osteomijelitisom, encefalitisom, lokalnim lezijama ili minigranulomima (u slezini, žučnoj kesi, na koži ili limfnim čvorovima) i povišenoj temperaturi. Fetusi trudnica, zaraženih ovom bolešću, mogu takođe biti inficirani. Ove žene mogu imati spontani pobačaj ili roditi mrtvorođeno dete. Novorođenčad koja prežive porođaj se mogu roditi sa septikemijom ili se u kasnijem periodu može pojaviti meningitis. Stopa smrtnosti iznosi oko 30% kod novorođenčadi i skoro 50% kada se infekcija pojavi u prvih 4 dana nakon rođenja (Marriott & Gravani, 2006).

Listerioza je opasna za osobe obolele od SIDA. Pošto SIDA ozbiljno oštećuje imunni sistem, oni koji su oboleli od nje su podložniji bolestima prouzrokovanim kontaminiranom hranom kao što je listerioza. Muške osobe sa SIDOM su više od 300 puta podložnije listeriozi, nego one istih godina koje su negativne na SIDU.

Infektivna doza *Listeria monocytogenes* nije utvrđena, zbog prisustva nepoznatih faktora kod osoba sa normalnim imunim sistemom koji ih čine manje podložnim bakteriji, nego osoba sa oslabljenim imunim sistemom. Infektivna doza zavisi i od vrste listerije i od same osobe. Ipak, potrebno je na hiljade ili čak milioni ćelija da bi se zarazila životinja, dok od 1 do 100 ćelija može inficirati one sa oslabljenim imunim sistemom. Ozbiljni oblici ljudske listerioze se obično ne pojavljuju u odsustvu predisponirane infekcije, iako je uočeno da *Listeria monocytogenes* može izazvati gastroenteritis i kod prethodno zdravih osoba.

U pokušaju da smanji, odnosno eliminiše prisutnost listerije u namirnicama, američka Agencija za hranu i lijekove (Food and Drug Administration, FDA) 2006. godine prvi je put odobrila korišćenje listerija specifičnih bakteriofaga

kao aditiva mesnim prerađevinama koje se konzumiraju bez dodatne termičke obrade (Bubonja i sar., 2007).

Ovaj mikroorganizam može preživjeti ekstremne uslove okruženja, koji bi inače uništili sve druge patogene bakterije. Stoga bi, tehnolozi, kao i ugostitelji, trebalo da se fokusiraju na smanjivanje prisustva ovog mikroorganizma u svojim proizvodima, iako je skoro nemoguće potpuno eliminisati ovaj patogen iz namirnica.

### Salmonella

Salmonele su fakultativno anaerobne, gram-negativne, štapičaste bakterije koje ne formiraju spore. Većina ih je pokretna i pokretni oblici snabdeveni su peritrihijalnim flagelama i fimbrijama.

Ovaj patogen se generalno razvija na aw od 0,86, u pH opsegu od 3,6 do 9,5 sa optimalnim razvojem u pH opsegu od 6,5 do 7,5. Koncentracija soli iznad 2% će sprečiti razvoj salmonele, ali je ona vrlo otporna na smrzavanje i sušenje. Ovi mikroorganizmi se razvijaju na temperaturama okruženja od 5 do 47°C (optimalna temperatura je 37°C) i proizvode endotoksin (toksin koji se nalazi unutar bakterijske ćelije) koji izaziva bolest (Marriott & Gravani, 2006).

Na temperaturi od 56°C salmonele uginu za 20-30 minuta. Osetljive su prema hloru, što je i razlog primene hlora i hlornih jedinjenja za dezinfekciju vode za piće (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Ova bakterija može biti prisutna u crevnom traktu i drugim tkivima živine i životinja sa crvenim mesom, a da se pri tome kod te životinje ne javi nijedan očigledan simptom oboljenja. Ovaj mikroorganizam je trajan problem kod sirovog živinskog mesa i pronađen je čak 70% leševa brojlera. Ovaj uzročnik kontaminacije penetrira u jaje preko veoma uskih

pukotina na ljusci i fekalnog zagađenja ljuske i preko infekcije ovarijuma kod kokošaka.

Istraživanja ovog problema u posljednjih desetak godina ukazuju na neke nove, do sada nepoznate mogućnosti adaptacije ovih mikroorganizama na namirnice biljnog porekla (primarno povrće) koje su više puta bile prenosioci salmoneloza (Pavić i sar., 2005).

Salmoneloze ljudi obuhvataju sledeće grupe oboljenja:

- opšta ciklična zarazna oboljenja (tifus i paratifusi). Uzročnik tifusa je *S. typhi*, a paratifusa *S. paratyphi*;
- alimentarne toksikoinfekcije. Najčešći uzročnici su *S. enteritidis*, *S. typhimurium* i *S. choleraesuis*;
- enteritisi.

Salmoneloza se smatra bolešću koja se prenosi putem hrane jer je ona posledica unosa bilo koje od brojnih vrsta salmonela mikroorganizama. Uobičajeni simptomi salmoneloze su mučnina, povraćanje i dijareja, koja se izgleda javlja kao rezultat iritacije crevnog zida od strane endotoksina. A bi se javila bolest mora se uneti oko milion ovih mikroorganizama. Vremenski razmak od unosa do pojave simptoma salmoneloze je obično duži nego kod trovanja hranom koje je izazvano stafilokokama. Smrtnost je kod salmoneloze uglavnom mala. Većina smrtnih slučajeva koji se dese, dese se među bebama, starim ljudima, ili onimačije je zdravlje već narušeno drugim bolestima. Salmoneloza može biti pogotovo opasna za osobe zaražene SIDOM.

Iako *Salmonella* organizmi mogu biti prisutni i u koštanom tkivu, osnovni izvor infekcije predstavljaju namirnice koje u procesu proizvodnje bivaju kontaminirane od strane radnika, putem ponovne kontaminacije ili ukrštene kontaminacije. *Salmonella* koja je prenešena preko vrhova

prstiju može da preživi nekoliko sati i da i dalje bude sposobna da potom kontaminira hranu. Zbog porekla ovih bakterija i njihove osetljivosti na niske temperature, za pojavu salmonelle se obično okrivljuju loši sanitarni uslovi i nedostatak termičke obrade namirnica.

### Shigella

Šigela je gram negativna, štapičasta bakterija koja ne formira spore, slabo je pokretna, laktoza negativna i ima malu otpornost na toplotu. Šigela uglavnom nije otporna na uticaje okruženja. Ovi fakultativni, anaerobni mikroorganizmi rastu na temperaturama od 6 do 48°C, sa optimalnom temperaturom od 37°C. Opseg pH koji pogoduje šigeli je od 4,9 do 0,3. Zahteva minimalnu aw od 0,94, sa maksimalnim sadržajem soli od 4,0 do 5,0% (Marriott & Gravani, 2006).

Ovaj mikroorganizam primarno nastaje u organizmu čoveka i na hranu dospeva preko ljudskih prenosilaca i putem kontaminirane vode. Namirnice koje najčešće bivaju zaražene sa ovim mikroorganizmom su krompir, piletina, salata od škampa i tunjevine i morska hrana/ljuskari. Većina pojava ove bolesti su se desile u objektima u kojima se služi hrana, kao što su bolničke kantine i restorani i često se pripisuje neadekvatnom pranju ruku nakon vršenja nužde.

Šigela gastroenteritis (nazvana i šigelozom ili bacilarna dizenterija) je infekcija sa vremenom inkubacije od 1 do 7 dana i trajanjem od 5 do 6 dana. Primarni simptomi variraju, a u ozbiljnim slučajevima može doći do pojave krvave dijareje, mukozne sekrecije, dehidracije, groznice i drhtavice. Kod osoba kojima je imuni sistem narušen, može doći i do smrtnih slučajeva, ali je stopa smrtnosti obično veoma niska kod svih ostalih.

Šigela je vrlo zarazan mikroorganizam, pošto i unos od manje od 100 ovih bakterija može izazvati bolest. *Shigella* spp. proizvodi toksin koji ima enterotoksično, neurotoksično i psihotoksično dejstvo, i odgovoran je pojavu upalnih procesa u crevima.

### Staphylococcus aureus

*Staphylococcus aureus* sadrži fakultativno anaerobne, loptaste, asporogene, gram-pozitivne bakterije.

Opseg pH koji pogoduje *S. aureus* se kreće od 4,0 do 9,8 sa optimalnim vrednostima od 6,0 do 7,0. U odnosu na sve druge bakterije, *S. aureus* podnosi najnižu količinu raspoložive vode ( $a_w, \min = 0,83 - 0,86$ ) i vrlo visoke koncentracije soli (15 - 20 %). Temperaturni interval rasta ove bakterije je između 7 - 48°C, sa optimalnom vrednošću od 37°C (Samaržija i sar. 2007).

*S. aureus* mikroorganizmi se uništavaju zagrevanjem hrane na 66°C tokom 12 minuta, ali uništavanje njihovog toksina zahteva zagrevanje na 131°C tokom 30 minuta. Stoga, uobičajena temperatura i vreme kuvanja većine namirnica, neće uništiti enterotoksine koje proizvodi *S. aureus* (Marriott & Gravani, 2006).

Stafilokoke su široko rasprostranjene i mogu biti prisutne i kod zdravih osoba. Pošto ispoljava veliku tolerantnost prema visokim koncentracijama kuhinjske soli i šećera javlja se kao kontaminant slanosti i slatkih namirnica. Jedan od najvećih izvora kontaminacije jeste kada osobe koje su zaražene dolaze u kontakt sa hranom koja nije adekvatno čuvana u frižiderima. Namirnice kod kojih se trovanje hrane stafilokokama najčešće pojavljuje su krompir-salata, kolači sa šlagom, mlečni proizvodi (uključujući krem), živinsko meso, kuvano meso buta, i jezik. Na

idealnoj temperaturi i na visokim nivoima kontaminacije, stafilokoke se mogu dovoljno namnožiti da izazovu trovanje hranom bez vidljivih promena u boji, ukusu ili mirisu.

*Staphylococcus aureus* proizvodi ekstracelularne, termostabilne enterotoksine. Svi stafilokokni enterotoksini su proteini relativno male molekularne mase. Do danas ih je identifikovano i opisano 20 vrsta. Uslovi u kojima ćelija stvara enterotoksine ( $a_w$ , temperatura, pH, prisustvo ili odsustvo kiseonika) razlikuju se od uslova rasta vegetativne ćelije. Tako npr. neke vrste enterotoksina ćelija neće stvarati ukoliko je  $a_w$  manji od 0,93, iako *S. aureus* raste i u uslovima  $a_w$  od 0,83. Stafilokokni enterotoksini su soj specifični, a jedan soj istovremeno može stvarati jedan ili više enterotoksina (Samaržija i sar. 2007).

Enterotoksini *S. aureus* izazivaju upalne procese u stomaku i crevima (gastroenteritis). Iako se smrtnost retko javlja kod ovog tipa trovanja hranom, on može zahvatiti i centralni nervni sistem. Ako dođe do smrtnog slučaja, to je obično posledica toga što su takve osobe već bile bolesne od neke druge bolesti, pa im je imuni sistem bio oslabljen.

### **Trichinella spiralis**

Trihinelozu uzrokuje *Trichinella spiralis*. Čovek se zarazi konzumirajući neadekvatno termički obrađeno meso inficirano larvama parazita roda *Trichinella*. Najčešće opisane životinjske vrste sa trihinelozom su pacovi i svinje, ali u zavisnosti od geografske distribucije, mnoge životinjske vrste, kao što su morževi, foke, medvedi, polarni medvedi, mačke, rakuni, vukovi, lisice i blizu 150 različitih vrsta sisara mogu biti zaražene helmintom roda *Trichinella*. Globalnu prevalenciju trihineloze je teško ustanoviti,

ali se smatra da je približno 11 miliona ljudi zaraženo ovim parazitom. Primenom terapije, stopa mortaliteta od trihineloze smanjena je na 0,3%. Smrt najčešće nastupa usled zahvaćenosti srčanog mišića ili centralnog nervnog sistema, i to u periodu između 3-4 nedelje po infekciji (Miladinović-Tasić i sar., 2006).

Većina slučajeva ove bolesti kod ljudi je asimptomatična. Ako se simptomi jave oni uključuju simptome gastroenteritisa kao što su groznica, mučnina, povraćanje i dijareja. Vreme inkubacije je približno 72 sata, a vreme trajanja može biti i do 2 nedelje. Početni simptomi su praćeni pojavom edema, slabosti mišića, i bolom, zbog pokretljivih larvi koje prave ciste u mišićima.

Efektno ubijanje larvi postiže se termičkom obradom na 71°C u trajanju od 1 minuta ili zamrzavanjem na -60°C 2 minuta, ili na -55°C u trajanju od 6 minuta (Miladinović-Tasić i sar., 2006). Ostali metodi uništavanja ovog mikroorganizama uključuju ozračavanje ili zamrzavanje mesa koje je tanje od 15 cm na temperaturi od -29°C tokom 6 dana ili na temperaturi od -15°C tokom 20 dana (Marriott & Gravani, 2006).

### **Yersinia enterocolitica**

Fakultativno anaerobni je gram-negativni, štapičasti patogen koji ne stvara spore.

*Y. enterocolitica* može se razmnožiti na temperaturi frižidera, ali sporije nego na sobnoj temperaturi. Osetljiva je na toplotu i uništava se na temperaturi preko 60°C. Ipak, ovaj se patogen razvija na temperaturama od -2 do 45°C sa optimalnom temperaturom od 28 do 29°C. Razvija se u opsegu pH od 4,2 do 9,6 i dobro podnosi visoke pH vrednosti (Marriott & Gravani, 2006).

*Y. enterocolitica* se može naći u crevnom traktu i fekalijama divljih i domaćih životinja. Ostali izvori su sirova hrana životinjskog porekla i nehlorisana voda iz bunara, potoka, jezera i reka. Takođe, izgleda da se ovaj mikroorganizam prenosi i sa osobe na osobu. Srećom, većina vrsta koje su izolovane iz hrane i životinja nisu virulentne. *Yersinia enterocolitica* je izolovana iz sirovog ili nedopečenog crvenog mesa; krajnika svinje i živinskog mesa; mlečnih proizvoda kao što su mleko, sladoled, pavlaka, punč od jaja i siru; većine morske hrane i svežeg povrća.

Ne izazivaju svi tipovi *Y. enterocolitica* bolest kod ljudi. Jersinioza se može pojaviti kod odraslih, ali je najčešća kod dece i omladine. Simptomi koji se obično pojavljuju 1 do 3 dana nakon unošenja kontaminirane hrane, uključuju temperaturu, bol u stomaku i dijareju. Takođe se može javiti povraćanje i osip na koži. Bol u stomaku povezan sa jersiniozom liči na onaj koji se javlja kod upale slepog creva.

Jersinioza obično traje 2 do 3 dana, iako blaga dijareja i bolovi u stomaku mogu potrajati 1 do 2 nedelje. Smrtni ishod je redak, ali se može desiti kao posledica komplikacija. Najefikasnija mera prevencije protiv jersinioze je ispravno sprovođenje sanitarnih mera u procesu obrade hrane, rukovanju, skladištenju i pripremanju.

### **Arcobacter butzleri**

U toku su istraživanja u vezi sa ovim patogenom koji je u srodstvu sa kampilobakterijama. *Arcobacter butzleri* se može naći u govedini, živini, prasetini i nehlorisanoj vodi za piće. Pojavljuje se i kod 81% mrtve živine. On je otporniji na zračenje i kiseonik nego *Campylobacter jejuni*. *Arcobacter* raste u aerofilnim uslovima na 15°C, što je osobina po kojoj

se razlikuje od *Campylobacter* vrsta (Lehner et al., 2005).

Nedavni dokazi ukazuju na to da *Arcobacter butzleri*, može izazvati bolesti kod ljudi. Međutim, za sada malo je poznato o mehanizmima patogenosti i potencijalnim faktorima virulencije *Arcobacter* spp.

### **Cryptosporidium parvum**

Kriptosporidiozu izaziva *Cryptosporidium parvum*, koji se prenosi putem fekalne kontaminacije vode ili hrane. Inkubacija traje 1 do 2 nedelje, a bolest od 2 dana do 4 nedelje. Ova bakterija formira oociste koje preživljavaju duži vremenski period van organizma i otporne su na hlor. Oociste su neotporne na visoke temperature, smrzavanje, dehidraciju i sanitarna sredstva kao što je ozon, vodonik peroksid i hlor dioksid. One se mogu ukloniti iz vode procesom filtracije. Simptomi kriptosporidioze obuhvataju vodenastu dijareju, bol u stomaku i anoreksiju. Kriptosporidioza je prvi put registrovana u Novom Južnom Velsu 1996. Incidenca ove bolesti u SAD je 2,4 slučaja na 100,000 stanovnika (Marriott & Gravani, 2006).

### **Helicobacter pylori**

Rezultati istraživanja ukazuju da ovaj patogen, koji je u rodu sa kampilobakterijom, može izazvati gastroenteritis i da je uzročnik gastritisa, čira u želucu i crevima i raka želuca kod ljudi. Ovaj mikroorganizam je najčešća hronična bakterijska infekcija kod ljudi. *Helicobacter pylori* se nalazi u digestivnom traktu životinja, pogotovo svinja. Prisutna je kod 95% slučajeva duodenalnog čira i do 80% gastritičnog čira kod ljudi, a i kod klinički zdravih pojedinaca, uključujući članove porodice pacijenata. Voda kontaminirana

kanalizacijom je izvor prenošenja ovog mikroorganizma (Marriott & Gravani, 2006).

### **Legionella pneumophila**

*Legionella pneumophila* je bakterija koja izaziva Legionarsku bolest. Ovaj fakultativni gram-negativni mikrob se nalazi u kontaminiranoj vodi širom sveta i postao je problem širokih razmera. Ova bakterija je sposobna da se množi unutar ćelije u okviru različitih ćelija. Dominantni vanćelijski enzim koji proizvodi *Legionella pneumophila* je cink metaloproteaza, koja se takođe naziva proteazom koja uništava tkivo, citolizinom ili osnovnim sekretornim proteinom. Ova proteaza je toksična za različite tipove ćelija i izaziva uništavanje tkiva i oštećuje pluća, što ukazuje na njenu uključenost u patogenezu legionarske bolesti.

Ovaj mikroorganizam izaziva 1 do 5% zarazne upale pluća kod odraslih osoba, a većina slučajeva se javlja sporadično. Pokazalo se da su većinu pojava ove bolesti izazvali uređaji koji proizvode aerosol, kao što su rashladni uređaji, isparivači, u kadama i bazenima za kupanje sa vodenom masažom, ovlaživači vazduha, dekorativne fontane, tuševi i slavine.

Voda je glavni rezervoar Legionelle. Ipak, ovaj mikroorganizam se nalazi i na drugim mestima, kao što je zemlja za gajenje cveća u saksijama. Amebe i biofilmovi, koji su sveprisutni u vodovodnim cevima imaju kritičnu ulogu u podsticanju razvoja ove bakterije (Marriott & Gravani, 2006).

Legioneloza se obično prenosi udisanjem Legionelle kao tečnosti koja je aerosolizovana dočestica koje se mogu udisati (veličine od 1 do 5  $\mu$ m). Povremeno se prenošenje dešava drugim putevima kao što je inokulacija hirurških rana kontaminiranom vodom tokom zamene

hirurških

odela.

### **Vibrio spp.**

Ovaj mikrob je gram-negativna, fakultativno anaerobna, štapičasta bakterija, čiji je oblik prav ili izuvijan.

*Vibrio parahaemolyticus* se razvija na temperaturama od 13 do 45°C (opt. od 22 to 43°C). Ovaj mikrob se razvija u pH opsegu od 4,8 do 11,0 (7,8 do 8,6), dok je opseg za *V. cholerae* od 5,0 do 9,6 (7,6), a za *V. vulnificus* od 5,0 do 10,0 (7,8). Minimalni aw iznosi 0,94; 0,96; i 0,97 za *V. parahaemolyticus*; *V. vulnificus*; odnosno, *V. cholerae* (Marriott & Gravani, 2006). Ovaj mikroorganizam podnosi visoke koncentracije kuhinjske soli (Bem i Adamič, 1991).

Dosta su termorezistentni. Pri zagrevanju u vremenu od 15 minuta pri 80°C može se izolovati još dosta veliki broj preživelih ćelija (Bem i Adamič, 1991).

Primarno stanište za *Vibrio* vrste je morska voda. Može se naći u digestivnom traktu čoveka i životinja, u salamurama i salamurenim proizvodima od mesa.

Poznato je nekoliko nekoliko vrsta *Vibrio* koje su patogene: *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae* i *V. vulnificans*. *V. cholerae* je uzročnik kolere. *V. parahaemolyticus* je uzročnik alimetarnih toksikoinfekcija. Vreme inkubacije za gastroenteritis izazvan sa *V. parahaemolyticus* je od 8 do 72 sata, sa prosekom od 18 časova. Simptomi uključuju dijareju i grčeve u stomaku praćene mučninom, povraćanjem i blagom groznicom. Dužina trajanja bolesti je od 48 do 72 sata, sa niskom stopom smrtnosti (Bem i Adamič, 1991).



## Enterococcus faecalis

Rod Enterococcus sadrži više različitih vrsta. Za higijenu namirnica poseban značaj imaju fekalne enterokoke ili tzv. serološka D grupa (E. faecalis). Dugo godina se ovaj rod u naučnoj i stručnoj literaturi navodio kao Streptococcus. Iako E. faecalis nije dokazani patogen, proizvodi od mesa i mlečni proizvodi kontaminirani ovom bakterijom su uključeni u neke slučajeve bolesti.

## Sanitacija u fabrikama za preradu voća i povrća

Autor: dipl. ing. *Zdravko Šumić*

1. [IZVORI KONTAMINACIJE](#)
  1. [Sirovine](#)
  2. [Zemljište](#)
  3. [Vazduh](#)
  4. [Štetočine](#)
2. [KONSTRUKCIJA FABRIKE I SANITACIJA](#)
  1. [Principi dizajna u skladu sa higijenskim standardima](#)
3. [ČISTOĆA POGONA](#)
  1. [Briga o zalihama](#)
  2. [Odlaganje otpada](#)
  3. [Snabdevanje vodom](#)
4. [ČIŠĆENJE PRERAĐIVAČKIH FABRIKA](#)
  1. [Pranje toplom vodom](#)
  2. [Čišćenje vodom visokog pritiska](#)
  3. [Čišćenje uz pomoć pene](#)
  4. [Čišćenje gelom](#)
  5. [Čišćenje korišćenjem suspenzije](#)
  6. [Kombinacija centralizovanog sistema visokog pritiska i pene](#)
  7. [Cleaning-in-Place \(CIP\)](#)
5. [SREDSTVA ZA ČIŠĆENJE I SANITACIJU](#)
  1. [Halogena jedinjenja](#)
  2. [Hlor dioksid](#)
  3. [Jedinjenja kvaternarnog amonijuma](#)
  4. [Kisela sanitarna sredstva](#)
  5. [Sanitacija ozonom](#)
  6. [Fenolna jedinjenja](#)
  7. [UV zračenje](#)
6. [POSTUPAK ČIŠĆENJA](#)
  1. [Proizvodne hale](#)
  2. [Skladišta gotovih proizvoda](#)
7. [PROCENA EFIKASNOSTI SANITACIJE](#)
  1. [Sanitarni standardi](#)
  2. [Laboratorijski testovi](#)
8. [Literatura](#)

Efikasan program sanitacije u postrojenjima za preradu voća i povrća zahteva iste osnovne komponente koje su potrebne i prilikom drugih operacija sa hranom: adekvatna sredstva za čišćenje i sanitarna sredstva, kao i efikasno sprovođenje sanitarnog programa. Krajnji cilj je obezbeđivanje finalnog proizvoda koji je sanitarno ispravan i zdravstveno bezbedan.

## IZVORI KONTAMINACIJE

Efikasno čuvanje voća i povrća zavisi od prevencije kontaminacije od strane mikroorganizama koji izazivaju kvarenje, i patogenih mikroorganizama, tokom procesa proizvodnje, obrade, skladištenja i distribucije. Veoma je važno da se sirovine posmatraju kao potencijalni izvor za nastanak mikroorganizama koji izazivaju kvarenje hrane i kao pomagač nastanku bakterija u samoj fabrici.

Zakoni nalažu da hrana u prometu ne sme imati patogene mikroorganizme u sebi. Uobičajeni proces sterilizacije kod komercijalno konzervirane hrane je dovoljan da uništi patogene bakterije koje mogu postojati u pakovanju tokom sterilizacije. Takođe, operacije pranja i ljuštenja doprinose fizičkom uklanjanju mikroorganizama. Stoga, ako su procesi konzerviranja i čuvanja na hladnom pravilno sprovedeni, krajnji proizvod bi

trebalo da bude zdravstveno ispravan.

### **Sirovine**

Sirovine su izložene mnogim izvorima nečistoće i mogu dovesti do dodatne kontaminacije u delovima fabrike u kojima se preuzima, skladišti i obrađuje sirovina. Sirovine mogu predstavljati biološku opasnost u vidu voća i povrća kontaminiranog mikroorganizmima. Pored toga, saharoza može biti kontaminirana sa sporama bakterija i kvascima, a voda može biti kontaminirana sa patogenim mikroorganizmima. Materijal koji dolazi na obradu može sadržati opasne hemikalije. Voće može sadržati ostatke pesticida, a voda može biti kontaminirana sa teškim metalima i ostacima hemikalija; dok materijal za pakovanje može sadržati štetne ostatke hemikalija koje mogu dospeti u proizvod. Pored toga, međuproizvodi se mogu kontaminirati tokom obrade i to od ostataka sredstava za čišćenje zbog neadekvatnog ispiranja. Materijal koji pristiže na obradu može biti kontaminiran od strane spoljnog materijala kao što su metal, plastika, delići stakla, i iverice drveta.

Pranje svežih plodova vodom ne može biti nešto u šta bi se trebalo pouzdati da će potpuno ukloniti patogene bakterije. Pranje vodom može takođe dovesti do unakrsne kontaminacije. Hlorisana voda je najčešće korišćeno sanitarno sredstvo za pranje svežih plodova. Međutim, ovaj tretman ima minimalni efekat i rezultira sa manje od 2 log CFU/g smanjenja broja patogena u svežim plodovima. Druga sanitarna sredstva, poput hlor dioksida, hidrogen peroksida, organskih kiselina, rastvor kalcijuma koji je prošao proces kalcinacije, ozon, i kiselo elektrolizovana voda imaju isti minimalni antimikrobni efekat kao i hlorisana voda. Kiselo elektrolizovana voda (aktivirana ili strukturirana voda) efikasno deaktivira patogene kao što su

*Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, i *Bacillus cereus* (Marriott & Gravani, 2006).

### **Zemljište**

Bakterije otporne na toplotu su prisutne u zemljištu i mogu izazvati „flat sour“ kvarenje i druge vrste kvarenja konzerviranog povrća, ako pranje nije sprovedeno temeljno. Populacija mikroorganizama zavisi od jačine vetra, vlažnosti, sunčeve svetlosti, i temperature, kao i od domaćih i divljih životinja, vode za navodnjavanje, ptičijeg izmeta, opreme za žetvu i radnika. Većina patogena se prenose na voće i povrće putem navodnjavanja, kratko vreme pre žetve i pre nego što sunce isuši i uništi patogene organizme.

### **Vazduh**

Kontaminirani vazduh utiče na smanjenje broja sanitarno ispravnih sirovina. Pored uobičajenih mikroorganizama i zagađivača koji se nalaze u vazduhu, ovaj medijum prenosi i spore patogenih organizama. Infiltracija „nečistog“ vazduha u fabriku za preradu voća i povrća može biti smanjena korišćenjem vazdušnih filtera.

### **Štetočine**

Određene štetočine mogu napasti voće i povrće tokom procesa formiranja ploda na drvetu ili lozi. Kontaminacija od strane štetočina se može ispoljiti širenjem virusa, bakterija koje izazivaju kvarenje i patogenih organizama, kao i fizičkim oštećenjem. Mikroorganizmi koji inficiraju plod često ostaju neaktivni zbog zaštitnog omotača voća i povrća i zbog male dostupnosti vlage (merene kao minimalna aktivnost vode, aw) na površini. Kad ovi proizvodi sazru ili malo posle toga, do

kvarenja može doći zbog dubinskih promena u medijumu. Delovanje štetočina kao što je prenošenje polena od strane ose (*Blastophaga psenes*), donosi mikroorganizme koji opstaju i razvijaju se u velikim količinama tokom celog perioda sazrevanja sve dok voće ne sazri. Iako količina mikroorganizama koji uđu u plod ne izaziva kvarenje, ovi mikrobi privlače druge organizme, kao što je vinska mušica (*Drosophila*) koja nosi kvasce i bakterije koji izazivaju kvarenje. Kada se zaštitni sloj voća i povrća probije usled nagnječenja, mehaničkih povreda, ili napadima insekta, mikroorganizmi su spremni da uđu unutar ploda.

Prisustvo koliformnih bacila u voću koje stiže na fabričku obradu nije potpuno indikativno za prisustvo ovih mikroorganizama u proizvedenom soku ili kao pozitivan dokaz loših sanitarnih uslova u fabrikama za preradu voća i povrća. Međutim, prisustvo bakterija mlečne kiseline predstavlja tačan pokazatelj sanitarnih uslova proizvodnje kod visoko kvalitetnih smrznutih proizvoda agruma. Bakterije mlečne kiseline su precizniji pokazatelj loših sanitarnih uslova izazvanih neadekvatnim čišćenjem, zato što se ovi mikroorganizmi najčešće nakupljaju u bakterijska legla koja nastaju samo kada se ne poštuju odgovarajuće sanitarne procedure.

Iako se nekoliko mikotoksina pojavljuje u prirodi, samo par se redovno nalazi u voću. Nastanak mikotoksina više zavisi od endogenih i faktora okruženja nego što je to slučaj sa rastom gljiva. Mikotoksini mogu ostati u voću čak i kad se micelijum gljiva ukloni. Difuzija mikotoksina u čvrsto tkivo voća zavisi od hrane i mikotoksina. Odgovarajuća selekcija, posmatranje, i sortiranje voća su najvažniji faktor u smanjenju kontaminacije mikotoksinima tokom proizvodnje voćnih sokova. Međutim, prerada voća ne dovodi do potpunog uklanjanja mikotoksina.

Upotreba vode koja je već prošla kroz sistem, a zatim je ponovo vraćena u njega, nije preporučljiva za pranje voća i povrća zato što bakterijske spore pokazuju otpornost na hlor. Korist hlorisane vode u ovom slučaju je dodatno smanjena zbog apsorpcije slobodnog hlora i neutralizacije od strane akumuliranog organskog sadržaja vode, koja sledi posle toga. Međutim, ispiranje zelene salate sa običnim kućnim sanitarnim sredstvima, kao što su destilovana voda, jabukovo sirće (5%), limunov sok (13%), izbeljivač (4%) i belo sirće (35%) mogu umanjiti populaciju aerobnih bakterija za prosečno 0,6, 1,2, 1,8, i 2,3 log/g, gledano pojedinačno za svaku od tih supstanci, bez ozbiljnog uticaja na ukus opranih namirnica (Marriott & Gravani, 2006).

## KONSTRUKCIJA FABRIKE I SANITACIJA

Dobro napravljena fabrika za preradu voća i povrća ne eliminiše infiltraciju mikroorganizama osim ako u svoj dizajn ne uključuje komponente vezane za higijenu, kao što su površine koje se lako čiste i oprema sa dodacima i instrukcijama za optimalno čišćenje. Ako je fabrika nedavno napravljena, proširena ili renovirana, planovi njenih funkcionalnih prostorija, mašinski planovi i planovi vodovodnog sistema, i specifikacije opreme i konstrukcije bi trebalo da budu zajedno pregledani od strane profesionalaca, mašinskih inženjera, inženjera projekatata, tehnologa hrane, mikrobiologa, sanitarnih radnika i zaposlenih koji učestvuju u samom procesu prerade. Ovakav pristup dozvoljava integraciju operativnih procedura i kontrolu procesa proizvodnje.

Pravljenje novih i proširivanje starih fabrika za preradu voća i povrća mora odražavati dizajn po higijenskim standardima zbog toga što su današnje fabrike orijentisane na proizvodnju u

velikim količinama. Ove fabrike rade po principu da se veći kapacitet ostvaruje stavljanjem veće količine sirovina u proces proizvodnje. Sa povećanom mehanizacijom, fabrike se sve manje oslanjaju na ručno čišćenje i inspekciju golim okom, a sve više na CIP (cleaning in place) sistem. Međutim, u fabrikama za preradu voća i povrća je upotreba CIP opreme još uvek ograničena, osim u pogonima za proizvodnju sokova. Ovaj koncept takođe uključuje veće oslanjanje na mehaničko paljenje i gašenje postrojenja za proizvodnju i opreme za čišćenje i sanitaciju. Kod ovakvog pristupa, mogućnost za pojavu ljudske greške je manja, ali se takođe smanjuje i mogućnost da se uoče greške u procesu čišćenja.

Fabrike za preradu voća i povrća orijentisane na proizvodnju u velikim količinama, po svom dizajnu, rade sa dužim intervalima proizvodnje i mnogo većim obimom proizvoda od fabrika sa manjim kapacitetima. Zato u tim fabrikama postoji mnogo više mikroorganizama, jer je vreme zadržavanja duže i veći je obim proizvodnje. Kako bi se smanjio broj mikroorganizama, trebalo bi odrediti sigurnosne nivoe uz pomoć instrumenta koji meri zasićenost, koji bi registrovao porast mikroorganizama, zaustavio proizvodnju i pokrenuo automatski postupak čišćenja. Smatra se da bi taj uređaj trebalo podesiti da se aktivira samo u slučajevima značajnog nagomilavanja, kao što je recimo prisustvo 150% mikroorganizama u odnosu na uobičajen broj.

Dizajn sanitarnih karakteristika je neophodan kako bi se minimizovalo vreme za čišćenje i sterilizaciju. Potreba za maksimalnim iskorišćavanjem opreme i postrojenja i za minimalnom količinom otpada je odredila da je za proizvodni ciklus dovoljno efikasan onaj pristup čišćenju koji ima kratko vreme čišćenja i

manje otpadnih materija nastalih prilikom čišćenja.

Danas je u poslovima čišćenja proizvodne opreme, koji su nekad više obavljani ručno, u upotrebi veći stepen mehanizacije i automatizacije. Pre korišćenja CIP čišćenja, mašine i oprema za skladištenje su rastavljeni na kraju svakog radnog dana i ručno čišćeni. Nakon što je omogućeno CIP čišćenje, kontrola je u početku vršena preko kontrolnog panela sa dugmićima. Povećana automatizacija je uvela upotrebu automatizovanog panela sa kompjuterski kontrolisanim tajmerima kako bi se obezbedio automatski početak i prestanak čišćenja, ispiranja i sanitacije.

Jedna od najvažnijih karakteristika dizajna na osnovu higijenskih standarda je odsustvo pukotina (uskih i dubokih procepa ili otvora) i džepova (velikih procepa i otvora) u konstrukciji zgrada i opreme. Pukotine često predstavljaju veće prepreke čišćenju od džepova zato što dostupnost i pristup tim mestima predstavljaju velik problem.

### ***Principi dizajna u skladu sa higijenskim standardima***

Minimalni standardi bi trebalo da budu usvojeni prilikom, konstruisanja ili remodeliranja fabrike za preradu voća ili povrća. Efikasan dizajn u skladu sa higijenskim standardima bi trebalo da inkorporira sledeće principe:

- Oprema bi trebalo da bude tako dizajnirana da sve površine u kontaktu sa proizvodom mogu lako da se rasklope radi ručnog čišćenja ili CIP.
- Spoljašnje površine bi trebalo konstruisati tako da sprečavaju zadržavanje nečistoće, štetočina i mikroorganizama na opremi, kao i u drugim delovima proizvodnih hala, uključujući i zidove,

podove, tavanice i potporne elemente.

- Opremu bi trebalo dizajnirati tako da zaštiti hranu od spoljašnje kontaminacije.
- Sve površine koje dolaze u kontakt s hranom bi trebalo da tokom korišćenja ne reaguju na hranu, odnosno prilikom te reakcije ne sme doći do migracije ili apsorpcije čestica te površine od strane hrane.
- Sve površine koje su u kontaktu sa hranom bi trebalo da budu glatke i neporozne kako bi se sprečila akumulacija sićušnih čestica hrane, jaja insekata, ili mikroorganizama u mikroskopski sitnim pukotinama na površini.
- Opremu bi trebalo dizajnirati tako da imaju minimalan broj pukotina i džepova u kojima se mogu nakupiti delići nečistoće.

Unutrašnjost i spoljašnjost fabrike bi trebalo da imaju sledeće sanitarne karakteristike (Marriott & Gravani, 2006):

- Ležišta i filtere za prašinu bi trebalo izbegavati. Ispupčene zavrtnje, šrafove i zakivke bi trebalo izbegavati kako bi se smanjila površina za akumulaciju otpadaka.
- Uvučene uglove i neravne površine i rupe bi trebalo izbegavati kako bi se umanjio broj površina za akumulaciju otpada.
- Oštre i nepopunjene ivice bi trebalo izbegavati kako bi se smanjila akumulacija otpada i kontaminacija mikrobima.
- Obezbeđivanje protiv ulaska štetoina konstrukcijom duplih vrata, vrata sa zaštitnim trakama i mehanizama za automatsko zatvaranje je ključno.

Određene zamke bi trebalo izbegavati prilikom izgradnje, proširivanja ili renoviranja fabrike za preradu voća i povrća, kako bi se kontaminacija od strane spoljašnjih izvora svela na minimum. Zahtevi se mogu menjati kako tehnologija napreduje. Stoga bi plan trebalo da odražava maksimalnu fleksibilnost i da uskladi postojeće sisteme koji su kompatibilni sa predloženim planom fabrike. U cilju smanjenja kontaminacije

trebalo bi razmotriti sledeća pitanja (Marriott & Gravani, 2006):

- Trebalo bi obezbediti odgovarajući skladišni prostor za sirovine i drugi materijal. Sa neodgavarajućim skladišnim prostorom, može se javiti kontaminacija od strane materijala za pakovanje. Dovoljno prostora je takođe potrebno i za temeljan pregled sirovina zbog toga što strana tela mogu pratiti taj materijal. Odvojeni materijal koji je kontaminiran bi trebalo da bude spašen i očišćen kako bi se sprečilo širenje prenosioca kontaminacije. Može se pojaviti i gnjilež na sirovinama kada se one nalaze u istom skladišnom prostoru sa sredstvima za čišćenje i održavanje. Trebalo bi odabrati poseban skladišni prostor za finalne proizvode. Nedostatak prostora može nametnuti i potrebu da se u tu svrhu koriste i proizvodni pogoni. Ovakva praksa može dovesti do prenosa kontaminacije između različitih sirovina.
- Trebalo bi eliminisati nagomilavanje stvari u halama gde se proizvodi hrana. Nedostatak prostora komplikuje čišćenje i održavanje i povećava rizik od kontaminacije i od povreda osoblja i oštećenja opreme.
- Za uklanjanje otpada neophodno je obezbediti kratke i direktne pravce, tako da se otpad ne transportuje kroz hale za proizvodnju. Rešenje ovog problema je pogotovo važno zbog sanitarno neispravne prirode opreme koja se koristi za uklanjanje otpada.
- Važna je i lokacija za smeštaj vraćene robe. Ove namirnice su često kontaminirane i mogu biti i delimično trule. Važno je da se ovi proizvodi izoluju od sirovina i od proizvodnih pogona.
- Trebalo bi sprovoditi kontrolu okruženja kako bi se umanjio broj štetoina, a određivanjem da mesto za prikupljanje otpada, obradu otpada, i njegovo spaljivanje bude što dalje od fabrike, obezbeđuje se čistiji vazduh. Ova kontrola takođe uključuje adekvatno odvođenje vode, kako bi se sprečilo zadržavanje vode, površine oko fabrike koje je lako čistiti,

kontrolu rasta korova i trave, i kontrolu viškova zaliha i opreme.

- Lična higijena zaposlenih je ključna.

## ČISTOĆA POGONA

Kao i kod drugih fabrika za proizvodnju hrane, menadžment ima legalnu i moralnu obavezu da potrošaču obezbedi zdravstveno ispravan proizvod. Kako bi se obezbedila čista sredina za preradu potrebno je obezbediti efikasnu sanitaciju.

### *Briga o zalihama*

Briga o zalihama ukazuje na urednost. Brižljivo rukovanje zalihama, materijalima i odećom doprinosi urednijem radu, smanjuje mogućnost kontaminacije, i čini čišćenje lakšim. Pažnja posvećena urednosti i pridržavanju pravila doprinosi boljem obavljanju dužnosti. Iako bi odgovornost za vođenje brige o zalihama trebalo da bude dodeljena sanitarnom radniku, održavanje tog posla na visokom nivou zavisi od saradnje svih zaposlenih – u proizvodnji, održavanju i odeljenju za sanaciju fabrike. Saradnja je nužna kako bi se obezbedilo da kontejneri za smeće, alati, zalihe, i lične stvari zaposlenih budu čuvani na odgovarajućem mestu. Pogodna lokacija za kante za otpatke je ona koja obezbeđuje da ništa od onog što se možda može još koristiti ne bude odmah odbačeno.

Insekti, glodari i ptice povećavaju mogućnost kontaminacije. Poznavanje njihovih bioloških karakteristika i navika je neophodno kako bi se mogli držati pod kontrolom. Sanitarne procedure mogu eliminisati mesta na kojima se štetocine kriju i hrane, te stoga, mogu obezbediti važne načine njihovog kontrolisanja. Dizajn u skladu sa higijenskim standardima (vazdušni filteri i žičane pregrade i popunjavanje rupa, naprsnuća i

pukotina) će onemogućiti štetocine da uđu u fabriku. Povremena provera prisustva štetocina je još jedna od preventivnih tehnika.

### *Odlaganje otpada*

Otpaci mogu biti lakše obrađeni i efikasnije iskorišćeni kao nusprodukti ako su čvrsti i tečni otpad razdvojeni. Čvrsti otpaci se najčešće odvajaju putem nekog metoda prikupljanja i/ili prenosa čvrstog materijala pre nego što se speru u slivnike ili oluke. Tečni otpad koji se spere se obično tretira kao i otpadne vode. Neke fabrike za proizvodnju hrane obrađuju otpad kao nusprodukt. Efikasnost iskorišćivanja sirovina se povećala sa smanjenjem troškova odlaganja otpada.

### *Snabdevanje vodom*

Kao i kod drugih aplikacija bitnih za čišćenje, obilno snabdevanje vodom visokog kvaliteta je neophodno kako bi se proizveo zdravstveno bezbedan proizvod i kako bi fabrika bila efikasno čišćena. Pored toga što se koristi kao medijum za čišćenje, voda je važna i kao medijum za razmenu toplote, a koristi se i u proizvodnji.

Sanitarna svojstva vode bi trebalo svakodnevno pratiti po osnovu dva pokazatelja: sadržaja bakterija i organskih ili neorganskih nečistoća. Sadržaj bakterija služi kao pokazatelj da li je prihvatljivo da ta voda dođe u kontakt sa hranom ili površinama koje su odgovorne za indirektnu kontaminaciju. Efikasnost vode pri pranju proizvoda ili opreme zavisi od organskih ili neorganskih nečistoća (Marriott & Gravani, 2006).

## ČIŠĆENJE PRERAĐIVAČKIH FABRIKA

Higijenski ispravan proizvod je rezultat stroge sanitacije i efikasnog uništavanja mikroorganizama tokom procesa prerađivanja. Konvencionalne operacije konzerviranja voća i povrća mogu biti okarakterisane kao punjenje hrane u kontejnere (metalne, staklene ili plastične), koje je praćeno hermetičkim zatvaranjem i toplotnim tretmanom. Ovaj toplotni tretman se odnosi na toplotnu sterilizaciju i dizajniran je tako da eliminiše spore *Clostridium botulinum* i da smanji šansu za preživljavanje onih spora organizama koji izazivaju kvarenje, koje su mnogo otpornije na toplotu. Ovo stanje se naziva komercijalnom sterilnošću. Proces sterilnog pakovanja se ponekad naziva sterilnim konzerviranjem. U procesu sterilizacije, hrana i kontejneri za nju se komercijalno sterilizuju odvojeno jedno od drugog. Hrana se hladi do prihvatljive temperature punjenja sa dodatnim punjenjem i hermetičkim zatvaranjem kontejnera pod sterilnim uslovima (Marriott & Gravani, 2006).

Uništavanje mikroorganizama (faza ubijanja) tokom završne sterilizacije je postignuto kod hermetički zatvorenih kontejnera, a zbog odlične kontrole integriteta kontejnera, koja je sada tehnički izvodljiva. Konvencionalno konzerviranje se smatra zdravstveno bezbednom tehnologijom. Ova tehnologija je takođe pogodna za HACCP pristup.

Sterilno pakovanje je relativno nova tehnologija; stoga je razvoj metoda za testiranje vrlo važan. Oblasti koje se aktivno razvijaju i razmatraju su oblast integriteta pakovanja i održavanja sterilnosti, ponašanje pakovanja prilikom distribucije, tehnike sterilnog pakovanja i problemi ostataka pri pakovanju. Za ovo je nužno neprestano praćenje procesa pakovanja. Za merenje nivoa koncentracije H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> rastvora postoji nekoliko raspoloživih metoda.

Efikasan raspored opreme za čišćenje je ključan za smanjenje rada koji se potroši na čišćenje. Mnogo je lakše postaviti opremu za čišćenje kada je oprema za proizvodnju već postavljena. Tip nečistoće koji se nalazi u fabrikama za preradu voća i povrća se u malim fabrikama najlakše čisti korišćenjem prenosivih sistema za čišćenje, a u velikim – kombinacijom CIP i centralizovanog sistema čišćenja koji koristi penu (Marriott & Gravani, 2006).

### ***Pranje toplom vodom***

Voda obezbeđuje transport sredstava za čišćenje i rastvorene nečistoće. Šećeri, ostali ugljeni hidrati, i druga jedinjenja koja se relativno lako razlažu u vodi, mogu se prilično efikasno očistiti uz pomoć vode. Glavnu prednost pranja toplom vodom (60 to 80°C) u fabrikama za preradu voća i povrća predstavljaju minimalna ulaganja u opremu za čišćenje. Ograničenja vezana za ovaj metod čišćenja uključuju zahteve za radnim angažovanjem, troškovi za upotrebljenu energiju, i kondenzacija vode na opremi i u okolini. Ova tehnika čišćenja nije efikasna za uklanjanje nagomilanih naslaga nečistoće.

### ***Čišćenje vodom visokog pritiska***

Čišćenje korišćenjem mlaza vode pod visokim pritiskom ima svoju upotrebnu vrednost u industriji za preradu voća i povrća zbog efikasnosti u uklanjanju naslaga nečistoće. Površine kojima je pristup otežan se mogu čistiti efikasnije sa manje uloženog rada, a tu je i povećana efikasnost sredstava za čišćenje na temperaturama ispod 60°C. Temperatura vode ne bi trebalo da pređe 60°C zbog toga što mlaz vode visoke temperature ima tendenciju da „ukuva“ nečistoću u površinu koja se čisti i tako pospeši rast mikroorganizama (Marriott & Gravani,

2006).

### ***Čišćenje uz pomoć pene***

Čišćenje uz pomoć prenosnih sistema koji koriste penu je vrlo rasprostranjeno zbog jednostavnosti i brzine kojom se uz pomoć pene čiste tavanice, zidovi, cevi, proizvodne trake i kontejneri za skladištenje u fabrikama za preradu voća i povrća. Veličina opreme i troškovi su slični kao i kod prenosnih sistema koji čiste korišćenjem visokog pritiska.

Oprema za centralizovano čišćenje uz pomoć pene koristi sredstva za čišćenje na osnovu iste tehnike kao i oprema kod prenosnih sistema. Ova oprema se ugrađuje na strateški odabrana mesta širom fabrike. Sredstvo za čišćenje se automatski meša sa vodom i vazduhom kako bi formiralo penu, koja se zatim rasprskava sa lokacija raspoređenih širom fabrike.

### ***Čišćenje gelom***

U ovom slučaju se sredstvo za čišćenje primenjuje pre kao gel nego kao mlaz pod visokim pritiskom ili pena. Gel je posebno efikasan medijum za čišćenje opreme za konzerviranje i pakovanje, zbog toga što on prijanja za nečistoću i tako deluje na nju i naknadno.

### ***Čišćenje korišćenjem suspenzije***

Ovaj metod je identičan kao i čišćenje uz pomoć pene, osim što se meša manje vazduha sa sredstvom za čišćenje. Suspenzija je tečnija od pene i efikasnije prodire u neravne površine fabrike za konzerviranje, ali nema osobinu da, kao pena, prijanja za nečistoću.

### ***Kombinacija centralizovanog sistema visokog pritiska i pene***

Ovaj sistem je isti kao sistem visokog pritiska, manjeg obima, osim što se ovde koristi i pena. Ovaj metod je fleksibilniji, zato što pena može biti korišćena na velikim površinama, a visoki pritisak se može koristiti na remenju, nerđajućim čeličnim pokretnim trakama, i na površinama koje su teško dostupne u fabrikama za konzerviranje.

### ***Cleaning-in-Place (CIP)***

Kod ovog zatvorenog sistema, recikularni rastvor za čišćenje se primenjuje putem rasprskivača koji automatski čiste, ispiraju i vrše sanitaciju opreme. Međutim, ova oprema je skupa i neefikasna za primenu na površinama sa gusto nataloženom nečistoćom. Ipak, CIP čišćenje ima primenu u vakuumskim komorama, pumpama i sistemu cevi, i velikim rezervoarima za skladištenje. Pošto većina voća sadrži šećer, a sadržaj masti je nizak, voda će sprati većinu materijala. Trebalo bi takođe primeniti i neko kiselo sredstvo za čišćenje ili ispiranje kako bi se smanjilo nagomilavanje ljušpica. Fabrike u kojima je proizvodnja veća su pogodnije za primenu CIP čišćenja, zbog toga što ušteda u radu koja se postiže primenom ovog načina čišćenja, služi kao način da se brže otplate troškovi ove opreme (Marriott & Gravani, 2006).

## **SREDSTVA ZA ČIŠĆENJE I SANITACIJU**

Nečistoća koja se zadrži na postrojenjima ili na bilo kojoj lokaciji u fabrici i nakon čišćenja je kontaminirana mikroorganizmima. Temeljno fizičko čišćenje svih postrojenja i prostorija je neophodno kako bi se sprečilo da mikroorganizmi dođu u kontakt sa hemijskim sanitarnim sredstvima. Zaostala nečistoća takođe može smanjiti snagu hemijskih rastvora sanitarnih sredstava. Kombinovana sredstva za čišćenje



(sanitarna sredstva tipa deterdženta) se najčešće koriste u manjim operacijama, kod kojih se obavlja ručno čišćenje na temperaturi medijuma za čišćenje ispod 60°C. Ako temperatura ovog medijuma pređe 80°C, rastvor će uništiti mikroorganizme koji izazivaju kvarenje i većinu patogenih bakterija, ali bez dejstva hemijskog sanitarnog sredstva (Marriott & Gravani, 2006).

### ***Halogena jedinjenja***

Hlor i njegova jedinjenja predstavljaju najefikasnija halogena sanitarna sredstva za sanitaciju postrojenja za proizvodnju hrane i kontejnera, i za dezinfekciju vode koja se koristi u fabrici. Kalcijum hipohlorid i natrijum hipohlorid su dva sanitarna sredstva koja se najčešće koriste u fabrikama za preradu voća i povrća. Iako je sam hlor jeftiniji za primenu, kalcijum hipohlorid i natrijum hipohlorid se, u malim koncentracijama, jednostavnije primenjuju. Rastvori hipohlorida su osetljivi na promene temperature, ostatke organskih materija i pH (Marriott & Gravani, 2006). Ova jedinjenja brzo deluju i jeftinija su od drugih halogena, ali imaju tendenciju da budu korozivnija i da više iritiraju kožu.

### ***Hlor dioksid***

Hlor dioksid je potvrđen kao sredstvo koje se koristi za tretman vode u procesu prerade voća i povrća u koncentracijama do 3 ppm, i za kontrolu broja mikroorganizama u vodi koja se koristi u procesu proizvodnje. Takođe je uključen i u tretman otpadnih voda i za kontrolu mulja u tornjevima za hlađenje. Uobičajena koncentracija pri upotrebi ovog sanitarnog sredstva je od 1 do 10 ppm.

### ***Jedinjenja kvaternarnog amonijuma***

Jedinjenja kvaternarnog amonijuma su efikasna protiv većine bakterija i kvasaca. Ova jedinjenja su na sobnoj temperaturu stabilna u obliku suvog pudera, koncentrovane paste, ili rastvora. Ona su otporna na promene uzrokovane toplotom, rastvorljiva su u vodi, bez boje i mirisa, nisu korozivna za obične metale, i ne iritiraju kožu u uobičajenim koncentracijama. Ako je nečistoća prisutna ova jedinjenja su aktivnija od drugih sanitarnih sredstava, a najveću antimikrobnu aktivnost pokazuju na pH vrednostima od 6,0 pa naviše (Marriott & Gravani, 2006). Jedinjenja kvaternarnog amonijuma imaju ograničenu efikasnost protiv bakterija kada se kombinuju sa sredstvima za čišćenje ili kada su rastvorena u tvrdoj vodi.

### ***Kisela sanitarna sredstva***

Peroksiacetilna sanitarna sredstva kisele osnove obezbeđuju kontrolu mikroorganizama u sistemima za dovod vode za pranje u fabrikama za preradu svežeg, dodatno obrađenog i ubranog voća i povrća. Ona smanjuju brojnost mikroorganizama koji izazivaju kvarenje, uključujući tu i kvasce, plesni, i bakterije na obrađenom voću i povrću, kao i patogene bakterije na površini tog voća i povrća. Ovo sanitarno sredstvo ima EPA (Environmental Protection Agency) dozvolu za upotrebu u postrojenjima za preradu svežeg, dodatno obrađenog, ubranog voća i povrća. Takođe, nakon što se završi početna faza obrade, ovo sredstvo može poslužiti i za druge primene. Sirćetna kiselina (5%) i peroksiacetilni rastvori kiseline efikasni u smanjenju broja *Escherichia coli* O157:H7 kod jabuka otpremljenih za proizvodnju sirćeta. Ispiranje kiselim natrijum hloridom može dovesti do smanjenja broja patogenih organizama i predstavlja moguće alternativno sanitarno sredstvo u radu sa

sveže ubranim proizvodima.

### **Sanitacija ozonom**

Ozon vrši efikasnu sanitaciju sirovina, materijala za pakovanje, i okruženja u kojem se obavlja proizvodnja. Prihvatile su ga mnoge industrije, kao npr. fabrike za preradu sveže ubranih proizvoda, postrojenja za skladištenje proizvoda i fabrike za preradu voća i povrća. Tretman jabukovog sirćeta i soka narandže ozonom, može biti alternativa termalnoj pasterizaciji u cilju smanjenja broja E. coli O157:H7 i Salmonella.

Sistemi koji omogućuju upotrebu ozona su generalno postavljeni ili fiksirani na jednom mestu, kako bi se pojednostavilo uklanjanje nerazloženog ozonizovanog vazduha, i olakšalo nadgledanje ozona, radi sigurnosti i efikasnosti. Ozon je nestabilan gas i lako reaguje sa organskim supstancama. On vrši sanitaciju putem interakcije sa membranama mikroorganizama i denaturisanja metaboličkih enzima. Ozon ne pravi hemijske ostatke nakon delovanja, i u normalnim uslovima okruženja, ima polu-život od 10 do 20 minuta. Ozon mora biti električki generisan u svrhu trenutnog korišćenja i ne može se skladištiti radi kasnije upotrebe. Prednost ozona je u njegovoj sposobnosti da lako oksidiše mikroorganizme u rastvoru. Kada se površina spere tuširanjem, mikroorganizmi se fizički odvajaju od površine i uništavaju, jer ih odnosi voda. Zbog toga što ozon ne zahteva skladištenje ili posebno rukovanje ili razna druga razmatranja, on se može posmatrati kao bolje sanitarno sredstvo od ostalih hemijskih sanitarnih sredstava (Marriott & Gravani, 2006).

### **Fenolna jedinjenja**

Ova jedinjenja se najčešće koriste kao antigljivične boje i antigljivične zaštitne prevlake, umesto da se koriste kao sanitarna sredstva nakon procesa čišćenja. Fenolna jedinjenja imaju ograničenu upotrebnu vrednost u fabrikama za preradu voća i povrća zbog svoje slabe rastvorljivosti u vodi.

### **UV zračenje**

Ova tehnika sanitacije ima ograničenu upotrebnu vrednost prilikom korišćenja na postrojenjima i halama za proizvodnju i skladištenje, ali se koristi kako bi se smanjio rast mikroorganizama kod svežeg voća i povrća. Nagomilavanje etilena tokom skladištenja predstavlja potencijalnu mogućnost za gubitak kvaliteta voća i povrća nakon branja. Potencijalno rešenje ovog problema je korišćenje tehnologije fotokatalitičke reakcije titanijum dioksida kako bi se razložio etilen u skladištima, a UV zračenje predstavlja energetski izvor za fotokatalitičku reakciju titanijum oksida. UV doze poboljšavaju izgled i ne utiču negativno na voće uskladišteno u mračnim skladištima.

### **POSTUPAK ČIŠĆENJA**

Ne može se usvojiti stroga procedura koju bi trebalo primenjivati u svakoj fabrici za preradu voća i povrća. Postupak čišćenja zavisi od konstrukcije fabrike, njene veličine, operacija koje se izvode u njoj, starosti i stanja u kom se nalazi. Procedure koje su nadalje opisane mogu poslužiti samo kao smernice i trebalo bi ih prilagoditi konkretnim uslovima vezanim za čišćenje, u svakoj fabrici pojedinačno.

Sledeći postupci se preporučuju kako bi se olakšao postupak čišćenja:

1. Smanjiti sagorevanje pažljivim, kontrolisanim zagrevanjem posuda.
2. Opremu isprati i oprati odmah nakon

upotrebe, kako bi se sprečilo da se nečistoća tu skori.

3. Menjati zaptivače i ventile na postrojenjima kako bi se smanjilo curenje i prskanje.

4. Pažljivo rukovati prehrambenim proizvodima i namirnicama kako bi se smanjilo prosipanje.

5. Potrebna je urednost pri radu kako bi radne površine bile čiste za vreme trajanja radnog procesa.

6. Tokom pauze, isprati opremu i ohladiti je na 35°C ili niže od toga kako bi se sprečio razvoj mikroorganizama.

7. Tokom kratkih prekida rada, oprema za pranje, filteri za odvođenje vode, oprema za blanširanje, i slična oprema poželjno je da budu ohlađeni na 35°C ili nižu temperaturu.

Kako bi čišćenje bilo efikasno, neophodno je pripremiti opremu i površine za čišćenje:

1. Ukloniti sav krupni otpad iz oblasti koja bi trebalo da se čisti.

2. Što je više moguće rastaviti opremu koju treba očistiti.

3. Sve utičnice za struju pokriti plastičnom folijom.

4. Iskopčati kablove ili isključiti osigurače kako bi sprečili da otpad koji se spira dođe u kontakt sa opremom koja je već oprana.

5. Ukloniti velike komade otpada sa opreme korišćenjem vazdušnog creva, metle, lopate, ili druge odgovarajuće alatke.

### **Proizvodne hale**

Sledeći postupak je potrebno primenjivati u proizvodnim halama svaki dan.

1. Predisprati sve površine sa nečistoćom sa vodom na 55°C kako bi se odstranile spoljašnje materije sa tavanica i zidova u podne slivnike za vodu. Izbegavati direktno prskanje po motorima, utičnicama i kablovima za struju.

2. Upotrebiti jako kiselo sredstvo za čišćenje, bilo preko mobilne ili

centralizovane opreme za čišćenje koja koristi penu. Centralizovani sistem je pogodniji za velike fabrike. Mobilni sistemi su praktičniji za upotrebu u malim fabrikama. Za površine sa naslagama nečistoće, jedinjenja za čišćenje su efikasnija ako se primenjuju preko mobilnih ili centralizovanih sistema za čišćenje koji koriste visoki pritisak. Ako je prisutan još neki metal, sem nerđajućeg čelika, kiselo sredstvo za čišćenje bi trebalo zameniti sa jakim alkalnim sredstvom. Možda će biti potrebno i ručno brisanje kako bi se uklonile čvrste naslage nečistoće zaostale posle čišćenja penom. Sredstvo za čišćenje bi trebalo da dosegne sve okvire, donje strane stolova, i ostale površine koje su teško dostupne. Vreme namakanja za sredstvo za čišćenje bi trebalo da iznosi od 10 do 20 minuta.

3. Isprati površine do minuta posle primene sredstva za čišćenje kako bi uklonili ostatke. Trebalo bi koristiti isti obrazac ispiranja kao i kod predpranja i primene sredstva za čišćenje, uz korišćenje vode na temperaturi od 50°C do 55°C.

4. Detaljno pregledati sve površine i sprovesti neophodne popravke čišćenja.

5. Upotrebiti sanitarno sredstvo na bazi hlora uz primenu mobilnih ili centralizovanih sistema, kako bi očistili postrojenja. Sanitarno sredstvo bi trebalo da bude naneto prskanjem i trebalo bi da to bude 100 ppm koncentrovani rastvor hlora.

Vodovodne cevi koje se koriste za protok vode za pranje graška, kukuruza i ostalog povrća, kao i za turšije i sirupe, bi trebalo sanitizovati istim metodom. Često menjati vodu, čistiti i sanitizovati rezervoare za skladištenje vode kako bi sprečili nagomilavanje mikroorganizama.

6. Temeljno prati i sanitizovati poledinu filtera za vodu i vodene omekšivače.

7. Ukloniti ljuspice (kad je to potrebno) sa površine cevi opreme za blanširanje, vodenih cevi, i druge opreme kako bi umanjili mogućnost da se tu ugnezde termofilni i drugi mikroorganizmi.

8. Ukloniti, očistiti i zameniti rešetke na

slivnicima.

9. Upotrebiti belo jestivo ulje samo na onim površinama koje su podložne rđi ili koroziji. Upotreba ulja na drugim površinama se ne preporučuje zbog toga što se stvara zaštitni sloj u kojem se nastanjuju mikroorganizmi.

10. Izbegavati kontaminaciju tokom održavanja postrojenja tako što se od radnika na održavanju zahteva da nose sanitarno sredstvo i da ga koriste na mestima na kojima su radili.

Velike fabrike za preradu voća i povrća mogu efikasno da koriste CIP sistem za čišćenje cevi, velikih rezervoara za skladištenje i postrojenja za termičku obradu.

### ***Skladišta gotovih proizvoda***

Sledeću proceduru je potrebno primeniti barem jednom nedeljno tamo gde su uskladišteni prerađeni proizvodi, a češće u fabrikama koje proizvode velike količine. U skladištima u kojima se nalaze sirovi proizvodi proceduru je potrebno primenjivati svaki dan.

1. Pokupiti velike otpatke i staviti ih u kutije.

2. Čistiti i/ili ribati sa mehaničkim čistačima ili četkama za ribanje, ako su dostupne. Koristiti sredstva za čišćenje koja su predviđena za mehaničke četke za ribanje, u skladu sa instrukcijama proizvođača.

3. Koristiti mobilni ili centralizovani sistem za čišćenje koji koristi penu ili suspenziju sa temperaturom vode od 50°C, kako bi očistili površine sa naslagama nečistoće, raspakovane proizvode ili druge otpatke. Isperite na način koji se koristi u proizvodnim halama.

4. Ukloniti, očistiti i zameniti rešetke na slivnicima.

5. Zameniti creva za vodu i drugu opremu.

6. Oprati i sanitizovati kutije za povrće nakon svakog puta. Zameniti drvene kutije

sa metalnim kontejnerima, koje bi trebalo čistiti i sanitizovati.

### **PROCENA EFIKASNOSTI SANITACIJE**

Program sanitacije mora biti procenjen kako bi se odredila njegova efikasnost pri čišćenju i sanitaciji. Podaci vezani za primenu programa ne pokazuju samo efikasnost sanitacije, već takođe obezbeđuju i dokumentaciju za program koji se sprovodi. Ciljevi i ograničenja sanitacije su ključni u određivanju efikasnosti sanitacije.

### ***Sanitarni standardi***

Kako bi se procenile sanitarne procedure, trebalo bi meriti trenutnu efikasnost u odnosu na prethodnu efikasnost, a postignuće željenih ciljeva bi se trebalo koristiti za određivanje napretka. Sanitarni standardi mogu biti uspostavljeni i putem vizuelnog pregleda i određivanja broja mikroorganizama. Ovaj pristup ima različita ograničenja u skladu sa varijacijama, pogotovo prilikom određivanja broja mikroorganizama. Vidljiva kontaminacija i broj mikroorganizama nisu uvek tesno povezani. Međutim, sanitarni radnik može uzeti varijable u obzir i još uvek efikasno proceniti program.

Inspekcije može obavljati sanitarni radnik ili sanitarna komisija koja se sastoji od sanitarnog radnika, nadzornika proizvodnje i supervizora za održavanje. Procene bi trebalo doneti u pisanom obliku. Najprikladnijom se smatra forma koja za ocenjivanje koristi numerički sistem. Izveštaj bi trebalo podeliti po oblastima, uz navođenje specifičnih sanitarnih aspekata u svakoj oblasti. Završni izveštaj bi trebalo dostaviti svakom od supervizora koji je povezan sa oblašću koja je bila predmet inspekcije.

**Tabela 7. Formular za procenu uspešnosti sanitacije u fabrikama za preradu prehrambenih proizvoda**

Naziv firme:	Lokacija:	Datum:
Lokacija	Ocena	Komentar
1. Premise Imovina van zgrade Kapaciteti za uklanjanje otpada Ostalo		
2. Prijem Skladištenje Kontejneri Podovi zidovi, tavanice i odvodi (ili slivnici) Ostalo		
3. Priprema Perači i dovodne cevi Transporteri Blanšeri, mašine za sušenje Mašine za odvajanje pulpe i mašine za završnu obradu Podovi, zidovi, tavanice i odvodi (ili slivnici) Ostalo		
4. Konzerviranje Transporteri Oprema za pakovanje ili punjenje Podovi, zidovi, tavanice i odvodi (ili slivnici) Ostalo		
5. Kuvanje Respiratori, mašine za proizvodnju sirupa Parni grejači Podovi, zidovi, tavanice i odvodi (ili slivnici) Ostalo		
6. Skladištenje Rezervoari i cevi Ostali kontejneri Podovi, zidovi, tavanice i odvodi (ili slivnici) Ostalo		
7. Sanitarne prostorije Kapaciteti za brigu o zdravlju Ormarići Bazeni za pranje Toaleti i pisoari Podovi, zidovi, tavanice Ostalo		
8. Zaposleni Lična higijena Zaštitnici za glavu Zdravstveni kartoni Ostalo		

\* Sistem vrednovanja: 1 = nezadovoljava, 2 = slabo, 3 = zadovoljava, 4 = dobro

### **Laboratorijski testovi**

Sanitarni radnik mora da zna rod, karakteristike i izvore nastanka mikroorganizama pronađenih u fabrici pre nego što laboratorijski testovi dobiju

primenjivu vrednost. Sa ovim znanjem, laboratorijski testovi mogu da posluže kao sredstvo za procenu efikasnosti sanitarnog programa. Sanitarni radnik bi trebalo da teži da smanji ukupan broj mikroorganizama pronađenih na čistim

postrojenjima i među prerađenim proizvodima, ali bi takođe trebalo i da zna da njihov ukupan broj nije uvek tesno povezan sa potencijalom da se izazove kvarenje ili sa prisustvom mikroorganizama koji su opasni po opšte zdravlje. Važno je identifikovati mikroorganizme, kao što su koliformni, kao indikatore kontaminacije ili termofilne i određene mezofilne mikroorganizme koji predstavljaju potencijalne faktore kvarenja. Velik broj mikroorganizama koji formiraju spore može takođe biti značajan, zbog toga što ove bakterije mogu da skrate rok trajanja namirnica, a pojedini mikroorganizmi mogu da izazovu i bolesti koje se prenose putem hrane (Marriott & Gravani, 2006).

Provera mrlja radi brojnosti mikroorganizama može učvrstiti mišljenje formirano nakon vizuelnog pregleda. Mikrobiološki uzorci proizvoda i opreme u raznim fazama proizvodnje mogu identifikovati problematična mesta u kontrolnom procesu proizvodnje. Upotreba laboratorijskih testova, dodatno naglašava koncept „misli sanitarno-postupaj sanitarno“.

Kako bi se mere sanitarne zaštite mogle efikasno primeniti najpre se mora shvatiti uloga mikroorganizama u kvarenju hrane i izazivanju bolesti kontaminiranom hranom. Mikroorganizmi dovode do kvarenja hrane putem narušavanja izgleda i ukusa, a bolesti koje se prenose putem hrane se javljaju konzumiranjem hrane koja sadrži mikroorganizme ili njihove toksine. Mikrobiologija je nauka o mikroskopskim oblicima života. Kontrola nagomilavanja mikroorganizama na opremi, u fabrikama i hrani je deo programa primene sanitarnih mera.

Mikroorganizmi imaju krivu razvoja sličnu zvonastoj krivoj, razmnožavaju se i odumiru logaritamskom brzinom. Spoljašnji faktori koji imaju najveći efekat na kinetiku razvoja mikroorganizama su

temperatura, prisutnost kiseonika i relativna vlažnost sredine. Unutrašnji faktori koji utiču na brzinu razvoja su u najvećoj meri aw i nivo pH, oksidoredukcioni potencijal, potrebe za nutrientima i prisustvo inhibitornih supstanci. Hemijske promene usled propadanja izazvanih mikroorganizmima se primarno javljaju kroz delovanje enzima, koje proizvode mikroorganizmi, koji pretvaraju proteine, lipide, ugljene hidrate i druge složene molekule u jednostavnija jedinjenja. Bolesti nastale konzumiranjem kontaminirane hrane mogu biti izazvane mikroorganizmima kao što su: *S. aureus*, *Salmonella* i vrste *Campylobacter*, *C. perfringens*, *C. botulinum*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* i mikotoksinima.

Najčešći metodi uništavanja mikroorganizama su toplota, hemikalije i ozračivanje; dok su najčešći metodi inhibicije razvoja mikroorganizama rashlađivanje, dehidratacija i fermentacija. Količina mikroorganizama i taksonomija se često koriste kao mere za procenu efikasnosti programa sanitacije u različitim testovima i dijagnozama.

Obimne operacije na obradi namirnica, prodaji i pripremi hrane su povećale potrebu za sanitarnim procedurama i higijenskim uslovima u prehrambenoj industriji. Čak i u fabrikama dizajniranim po higijenskim zahtevima, ako se sanitarne procedure ne sprovode na odgovarajući način, hrana može biti kontaminirana putem mikroorganizama koji izazivaju njeno kvarenje ili bolesti koje se prenose putem hrane.

Sanitacija predstavlja stvaranje i održavanje higijenskih i zdravih uslova. Sanitacija obuhvata principe koji se odnose na dizajn, razvoj, primenu, i održavanje higijenskih procedura i uslova. Sanitacija

se takođe smatra osnovom za sistem zdravstvene bezbednosti hrane.

Napredna kompanija, uključujući tu prerađivače hrane, kompanije koje se bave maloprodajom hrane i one koje se bave ugostiteljstvom, bi trebalo da preuzme odgovornost za uspostavljanje i održavanje sanitarnih procedura. Efikasan sanitarni program koji predstavlja osnovu sistema osiguranja zdravstvene bezbednosti hrane je neophodan kako bi se ispoštovali propisi koji regulišu ovu oblast; zaštitili imidž brenda i reputacija proizvođa; i obezbedila zdravstvena bezbednost proizvođa, kvalitet, i sprečila njegova kontaminacija.

Efikasan sanitarni program za postrojenja za prerađivanje voća i povrća zahteva dizajn postrojenja i opreme u skladu sa higijenskim standardima, obuku sanitarnih radnika, upotrebu odgovarajućih sredstava za čišćenje i sanaciju, usvajanje efikasnih procedura čišćenja, i efikasnu administraciju sanitarnog programa – uključujući i procenu programa putem vizuelne inspekcije i laboratorijskih testova. Efikasna sanitacija započinje sa smanjenjem kontaminacije u sirovinama, vodi, vazduhu i zalihama. Ako su fabrika i oprema u njoj dizajnirani u skladu sa higijenskim standardima, čišćenje je lakše, a kontaminacija je smanjena.

Rad utrošen na čišćenje se može smanjiti upotrebom mobilnih ili centralizovanih sistema za čišćenje koji koriste visoki pritisak ili paru, a u velikim fabrikama mogu biti korišćeni CIP sistemi. Mnoge fabrike, ako su izgrađene od dugotrajnog materijala, mogu biti efikasno čišćene sa kiselim sredstvima za čišćenje, a proces sanitacije se najprikladnije i najisplativije sprovodi uz pomoć boja i drugih zaštitnih presvlaka, kao vid dodatnog sanitarnog opreza. Efikasnost sanitarnog programa se može proceniti preko uspostavljanja standarda koji služe kao smernice, vizuelne inspekcije i laboratorijskih testova.

## Mikroorganizmi kontaminanti hrane

Autor: dipl. ing. *Zdravko Šumić*

1. [Plesni](#)
2. [Kvasci](#)
3. [Bakterije](#)
4. [Virusi](#)
5. [Literatura](#)

Mikroorganizmi predstavljaju organizme mikroskopskih veličina. Većina njih može se uočiti uz pomoć svetlosnog mikroskopa. Međutim, neki od njih, npr. virusi, tako su sitni, da je za njihovu identifikaciju potrebna primena elektronskog mikroskopa.

Mikroorganizmi međusobno se razlikuju prema: morfološkim, fiziološkim, biohemijskim i serološkim osobinama. Odlikuju se velikim rasprostranjenjem. Stanovnici su zemljišta, vode i vazduha, poznati su kao zagađivači stočne hrane i životnih namirnica, kao i sirovina za njihovu proizvodnju. Neki od njih imaju sposobnost parazitiranja u biljnom, životinjskom i čovečijem organizmu i uzročnici su različitih oboljenja. Sa druge strane, u tom mnoštvu postoje i mikroorganizmi koji su korisni za čoveka (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Kao kontaminanti životnih namirnica i uzročnici njihovog kvara pojavljuju se: bakterije, gljive i virusi.

Poznavanje uloge mikroorganizama u procesima kvarenja hrane i nastanka bolesti koje se prenose putem hrane je neophodno kako bi se razumeli principi sanitacije hrane. Mikroorganizmi se nalaze širom prirodnog okruženja. Efikasne

sanitarne procedure su neophodne kako bi se uspešno suprotstavili njihovom ubrzanom razmnožavanju i rastu i aktivnosti.

Mikrobiologija je nauka o mikroskopskim oblicima života koji su poznati kao mikroorganizmi. Poznavanje mikroorganizama je bitno za sanitarnog radnika zato što je njihova kontrola deo sanitarnog programa. Reč mikrobiologija je grčkog porekla i sastavljena je od reči mikron što znači mali i biologos što znači nauka o živim bićima. Ovi organizmi imaju metabolizam sličan ljudskom u odnosu na procese unosa hrane, izbacivanja nepotrebnih materija, i reprodukcije.

Većina namirnica je veoma podložna kvarenju, zato što sadrže nutrijente koji su neophodni za rast mikroorganizama. Kako bi se smanjio proces kvarenja hrane i eliminisale bolesti koje se prenose putem hrane, mora se kontrolisati razmnožavanje mikroorganizama. Propadanje hrane bi trebalo minimalizovati kako bi se produžilo vreme tokom kojeg se može održati prihvatljiv nivo ukusa i zdravstvene ispravnosti hrane. Ako se ne slede adekvatne sanitarne procedure tokom procesa obrade hrane, pripreme i serviranja hrane, stopa i opseg degenerativnih promena koje vode ka pokvarenosti hrane, će se uvećati.

U hrani se pojavljuje tri tipa mikroorganizama: korisni, patogeni i izazivači kvarenja hrane. Korisni mikroorganizmi uključuju one koji mogu dovesti do stvaranja nove hrane ili hranljivih sastojaka u procesu fermentacije (npr. kvasci i bakterije mlečne kiseline) i probiotike. Mikroorganizmi koji uzrokuju kvarenje, svojim rastom i enzimskim reakcijama, menjaju ukus hrane kroz degradaciju arome, teksture ili boje. Patogeni mikroorganizmi mogu izazvati bolesti.

Postoje dva tipa patogenih mikroorganizama koji rastu ili se prenose preko hrane, a izazivaju intoksikaciju i infekciju. Intoksikacija nastaje kao posledica rasta mikroorganizama i proizvodnje toksina (koji dovodi do bolesti) u hrani. Infekcija predstavlja bolest koja nastaje kao posledica unosa mikroorganizama koji izazivaju bolesti. Infektivni mikroorganizmi mogu izazvati bolest proizvodnjom enterotoksina u gastrointestinalnom traktu ili srastanjem i/ili urastanjem u tkiva (Marriott & Gravani, 2006).

Glavni izazov za sanitarnog radnika predstavlja zaštita proizvodne oblasti, i drugih lokacija koje su u to uključene, od mikroorganizama koji umanjuju zdravstvenu sigurnost hrane. Mikroorganizmi mogu kontaminirati hranu i uticati na njena svojstva, uzrokujući opasne posledice po potrošače. Mikroorganizmi koje je prisustvo najkarakterističnije za hranu su bakterije i gljive. Gljive se sastoje od dve velike grupe mikroorganizama: plesni (koje su višećelijske) i kvasaca (koji su obično jednoćelijski). Bakterije su jednoćelijske. Virusi, iako sečešće prenose sa osobe na osobu nego putem hrane, takođe trebaju biti uzeti u obzir, zato što mogu kontaminirati hranu kao posledica loše higijene zaposlenih.

### **Plesni**

Gljive su eukariotski mikroorganizmi. Spadaju u posebno carstvo Mycota. Gljive se dele na: makromicete i mikromicete. Makromicete poseduju krupna plodonosna tela i poznata su pod nazivom više gljive ili pečurke. U mikromicete spadaju oblici mikroskopskih veličina. To su filamentozne gljive ili plesni i kvasci.

Plesni su višećelijski mikroorganizmi (eukariotske ćelije) sa micelijumskom



(končastom) morfologijom. Micelijum se sastoji od m. Kod nižihudugačkih razgranatih niti – hifa, prečnika od 30 do 100 gljiva hife su jednoćelijske i bez poprečnih pregrada – septi, dok su kod većine gljiva hife septirane. Kod plesni micelijum se deli na: supstratni i vazdušni. Supstratni micelijum predstavlja splet hifa, koje se razvijaju u supstratu i koje služe gljivi za pričvršćivanje. Vazdušni micelijum nalazi se iznad supstrata i pored mnogobrojnih hifa sadrži i organe za fruktifikaciju - sporangionoše (sporangiofore) sa sporangiosporama ili konidionoše (konidiofore) sa konidiosporama. Pored navedenih, postoje i drugi oblici spora, koje služe za razmnožavanje gljiva. Tako se npr. askospore razvijaju u askusima Ascomycotina, a bazidiospore u bazidijama Basidiomycotina (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Spore su tvorevine različitog porekla, oblika i veličine, sastavljene od jedne, dve ili više ćelija. Visoko su specijalizovane za reprodukciju, preživljavanje i rasprostranjenje vrsta. Iz spore može nastati nova plesan, ako dospe na mesto koje ima uslove pogodne za njihovo klijanje. Kod plesni poznato je da se nova plesan može formirati od bilo kog vegetativnog dela, što utiče na mogućnost brzog razmnožavanja i opstanka u različitim sredinama.

Supstratni i vazdušni micelijum zajedno načvrstoj podlozi formiraju koloniju. Sa retkim izuzecima, kolonije gljiva veće su od bakterijskih. Međusobno se razlikuju po: strukturi (somotaste, vunaste, zrnaste, kožaste i sl), obliku (okrugle, ovalne, zrakaste, nepravilne), obojenju (plave, zelene, sive, sivozelene crne, krem, beličaste i dr.) i veličini.

Gljive se odlikuju velikom frekvencijom rasprostranjenja. Otporne su na različite agense, pa se mogu izolovati iz različitih

sredina, npr. iz životnih namirnica sa izrazito kiselom sredinom (voćni sokovi na bazi citrusa), niskim sadržajem slobodne vode (čajevi, začini, žitarice, brašno i sl.), kao i sušenih, smrznutih i pasterizovanih prehrambenih proizvoda. U toku skladištenja smrznutog mesa mogu izazvati kvarčak pri temperaturi od  $-18^{\circ}\text{C}$ , tj. temperaturi pri kojoj se smrznuto mesočuva (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Plesni, generalno, mogu da izdrže veće promene u pH vrednosti sredine, nego što je to slučaj sa bakterijama i kvascima, ičesto mogu da tolerišu i veće temperaturne razlike. Iako plesni napreduju najbolje kada je pH oko 7,0, mogu da se razviju i u opsegu pH od 2,0 do 8,0, mada je za njih najpovoljnije ako je pH blago kisela ili neutralna. Plesni bolje rastu na temperaturi bliskoj temperaturi okruženja nego u hladnijem okruženju, iako mogu da rastu i na temperaturama ispod  $0^{\circ}\text{C}$ . Iako im više pogoduje minimalno prisustvo vode (water activity -  $a_w$ ) od približno 0,90, rast pojedinih osmofilnih plesni se može javitičak i na nivou od 0,60. Na  $a_w$  od 0,90 ili većem, bakterije i kvasci rastu efikasnije i obično rastu na račun plesni. Kada je  $a_w$  ispod 0,90, verovatnije je da će se razvijati plesni. Hrana poput testa, sireva i oraha, koja nema puno vlage u sebi je podložnija kvarenju usled razvoja plesni (Marriott & Gravani, 2006).

Plesni se obično javljaju u kombinaciji sa kvascima i bakterijama. Odgovorne su za proizvodnju brojnih fermentisanih namirnica i uključene su u proces industrijske proizvodnje organskih kiselina i enzima. s druge strane plesni su i glavni uzrok za povlačenje namirnica iz prodaje. Mnoge plesni ne predstavljaju opasnost po zdravlje ljudi, ali neke proizvode mikotoksine koji su toksični, kancerogeni, mutageni, ili teratogeni za ljude i životinje.

Plesni se brzo šire zato što mogu da se prenose vazduhom. Ove gljive izazivaju

različite stepene vidljivih pogoršanja i raspadanja namirnica. Njihov rast se može videti preko pojave tačkastih mesta, krastica, micelijuma koji podseća na pamuk, ili obojene plesni sa puno spora. Plesni mogu proizvesti neuobičajeni ukus i miris zbog fermentativnih, lipolitičkih i proteolitičkih promena izazvanih enzimskim reakcijama sa ugljenim hidratima, mastima i proteinima u hrani.

Plesni zahtevaju prisustvo kiseonika i ne mogu da rastu ako je prisustvo ugljen dioksida veliko (5% do 8%). Njihova sposobnost prilagođavanja je vidljiva i kroz mogućnost da uzimaju kiseonik iz organske materije i da rastu na veoma niskim koncentracijama kiseonika, pa čak i u vakuumskim pakovanjima. Neke halofilne plesni mogu da tolerišu čak i koncentracije soli preko 20% (Marriott & Gravani, 2006).

Pošto je plesni teško kontrolisati, one su veliki problem prerađivačima hrane zbog kvarenja hrane uzrokovanim ovim mikroorganizmima. Zabeleženo je mnogo slučajeva povlačenja proizvoda iz prodaje zbog kontaminacije plesnima.

### **Kvasci**

Kvasci su generalno jednoćelijski organizmi, čije su ćelije najčešće ovalnog ili cilindričnog oblika. Razlikuju se od bakterija po većim ćelijama i morfologiji. Razmnožavaju se pupljenjem (momo ili polilateralno), pomoću askospora, koje se formiraju u askusima i ređe deljenjem. Generacijsko vreme kvasaca je sporije nego kod bakterija, sa prosečnim vremenom od 2 do 3 sata u hrani, što vodi od početne kontaminacije od jedne ćelije kvasca po gramu hrane do potpunog kvarenja za otprilike 40 do 60 sati. Poput plesni, kvasci se takođe mogu prenositi vazduhom ili na drugi način i tako dospeti na površinu namirnica. Kolonije kvasca su

uglavnom vlažne ili mukozne po izgledu i bledežute boje. Kvascima najviše odgovara aw od 0,90 do 0,94, ali mogu da rastu i ispod 0,90. Tačnije, neki osmofilni kvasci mogu da rastu čak i na aw od 0,60. Ovi mikroorganizmi najbolje rastu u kiseloj pH koja se kreće od 4,0 do 4,5. Kvasci će verovatnije da se razviju u hrani sa nižom pH i u onoj koja je vakuumrana. Hrana koja je veoma kontaminirana kvascima često ima slatkast miris (Marriott & Gravani, 2006).

Kvasci su prouzrokovatori kvara različitih životnih namirnica, pogotovo kiselih i slatkih. Većina njih nije štetna po ljudsko zdravlje. Neki od njih koriste se kao radni mikroorganizmi ili starter kulture u prehrambenoj industriji, npr. u proizvodnji pekarskih i konditorskih proizvoda, piva i dr. Ova grupa mikroorganizama sadrži mnogobrojne rodove. S aspekta sanitarne mikrobiologije, najveća pažnja posvećena je sledećim rodovima: *Candida*, *Saccharomyces* i *Rhodotorula* (Škrinjar i Tešanović, 2007).

### **Bakterije**

Bakterije su jednoćelijski mikroorganizmi (prokariotske ćelije) m u prečniku, sa varijacijama u morfologiji koje uveličine približno 1 se kreću od kraćih i dužih štapića (bacili) do sfernih i jajastih oblika (cocci). Pojedinačne bakterije se blisko povezuju u različite oblike. Loptaste bakterije se, u zavisnosti od ravni deljenja i tendencije da nakon deobe ostaju zajedno ili ne, javljaju u sledećim formacijama: mikrokoke (ćelije nakon deobe ne ostaju spojene), diplokoke (javljaju se u parovima), streptokoke (duži li kraći lanci), tetrade (u grupacijama od četiri ćelije), sarcine (u grupi po osam ćelija) i stafilokoke (u grupacijama u obliku grozdova). I štapićaste bakterije se nakon deobe mogu razdvojiti ili ostaju po dve

(diplobacili) ili više (spreptobacili) zajedno (Škrinjar i Tešanović, 2007).

Bakterijska ćelija ima prilično složenu strukturu. Ćelija je obavijena ćelijskim zidom, a u unutrašnjosti se nalazi citoplazma. Ćelije većine bakterija su obavijene sluznim slojem – kapsulom. Kapsula štiti ćeliju od mehaničkih povreda, isušivanja, delovanja toksičnih materija i drugih agenasa iz spoljne sredine. Zbog ovoga bakterije koje posjeduju kapsulu podnose uslove sredine koje bakterije bez kapsule često ne preživljavaju.

Pokretljivost je karakteristična za štapičaste bakterije. Bakterije se pokreću pomoću nitastih izraštaja, tzv. treplji ili fimbrija.

Načvrstim podlogama bakterije formiraju kolonije, koje su uglavnom sitne, okrugle, zrakaste ili nepravilnog oblika, različite po konzistenciji i obojenju. Bakterije proizvode pigmente koji variraju od raznih nijansi žute do tamnih boja, kao što su braon i crna. Određene bakterije imaju pigmentaciju: crvenu, rozu, narandžastu, plavu, zelenu, ili ljubičastu. Ove bakterije uzrokuju promene boje namirnica, pogotovo kod hrane koja nema stabilne pigmente, kao što je to slučaj sa mesom. Neke bakterije dovode do promene boje i formiranjem mukoznih formi.

Neke štapičaste bakterije formiraju spore i zbog te osobine nazivaju se sporogene bakterije. Za razliku od štapičastih većima loptastih bakterija ne poseduje ovu osobinu. Sporogene bakterije formiraju sporu ili endo sporu. Najčešće se u bakterijskoj ćeliji formira jedna spora, retko dve ili više. Većina spora dobro podnosi isušivanje, uticaj niskih i visokih temperatura, radijacije i drugih faktora. Spore nekih bakterija preživljavaju viščasovno kuvanje, pačak i režim sterilizacije, koji se primenjuje tokom tehnološkog procesa proizvodnje nekih

prehrambenih proizvoda. Kada se spora nakon nepovoljnih uslova nađe u povoljnoj sredini, počinje da klija i tada dolazi do stvaranja nove bakterijske vrste. Neke od bakterija koje formiraju spore su termofilni mikroorganizmi koji proizvode toksin koji može dovesti do nastanka bolesti koje se prenose putem hrane (Škrinjar i Tešanović, 2007).

## Virusi

Virusi su infektivni mikroorganizmi sa dimenzijama koje variraju od 20 do 300 nm, ili oko 1/100 do 1/10 veličine bakterija. Većina virusa se može videti jedino uz pomoć elektronskog mikroskopa. Čestice virusa se sastoje od jednog molekula DNK ili RNK, okružnog omotačem od proteina. Virusi se mogu razmnožavati isključivo u živim ćelijama drugih organizama. Oni su paraziti živih organizama kao što su: bakterije, gljive, alge, protozoe, više biljke, beskičmenjaci i kičmenjaci. Kao paraziti, virusi spadaju u izuzetno specifične organizme, tako da postoje virusi biljaka, životinja i čoveka, kao i virusi koji napadaju druge mikroorganizme. Kada se proteinska ćelija pričvrsti za površinu ćelije domaćina, ili ćelija domaćin uvuče česticu virusa ili se nukleinska kiselina ubrizga iz virusa u ćeliju domaćina, kao što je to slučaj kod bakteriofaga i bakterija kao domaćina (Marriott & Gravani, 2006).

Kod životinja, neke zaražene ćelije domaćina umiru, ali druge preživljavaju infekciju i nastavljaju svoje normalno funkcionisanje. Nije neophodno da ćelija domaćin umre da bi organizam domaćin – u slučaju ljudi, postao bolestan. Zaposleni mogu biti prenosioci virusa i preneti ga na hranu. Zaražena osoba koja je u dodiru sa hranom može zarazu preneti putem fekalija i preko respiratornog trakta. Do transmisije dolazi prilikom kašljanja, kihanja, dodirivanja nosa koji izlučuje sekret, i od

neopranih ruku posle korišćenja toaleta. Nemogućnost ćelija domaćina da vrše svoju normalnu funkciju izaziva bolest. Posle ponovnog uspostavljanja normalne funkcije, dolazi i do oporavka. Nemogućnost virusa da se reprodukuju izvan domaćina i njihova mala veličina komplikuje njihovu izolaciju iz hrane za koju se sumnja da je uzročnik bolesti. Ne postoji dokaz da je HIV virus ikad prenet putem hrane. Sanitarna sredstva poput jodofora mogu uništiti viruse, ali oni ne mogu biti deaktivirani ako je pH niža od pH 3,0. Virusi se deaktiviraju sa 70% etanolom i 10 mg/L slobodnog rezidualnog hlora.

Virusi koji se prenose putem hrane izazivaju bolesti preko viroznog gastroenteritisa ili viralnog hepatitisa. Virus koji je izazvao značajno povećanje pojava bolesti u restoranima tokom poslednjih 10 godina je hepatitis A. Intravenozna upotreba lekova je takođe faktor koji utiče na rast bolesti. Zarazni hepatitis A može biti prenet putem hrane kojom se ne rukuje na sanitarno ispravan način. Period inkubacije je od 1 do 7 nedelja sa prosečnom dužinom trajanja od 30 dana. Simptomi uključuju mučninu, grčeve, povraćanje, dijareju. Bolest može trajati od jedne nedelje do nekoliko meseci. Glavni izvor hepatitisa su sirove školjke iz zagađene vode. Namirnice koje najverovatnije mogu da prenesu virozu bolest su one kojima se često rukuje i koje se ne obrađuju termički, kao što su sendviči, salate i deserti. Pošto je ova bolest veoma zarazna, obavezno je da radnici koji su u dodiru sa hranom temeljno peru ruke posle korišćenja toaleta, pre nego što dođu u kontakt sa hranom i priborom za jelo, i posle prepovijanja ili hranjenja dece. Virusi takođe izazivaju bolesti kao što su grip i prehlada (Marriott & Gravani, 2006).

## Sprečavanje rasta mikroorganizama

Autor: dipl. ing. *Zdravko Šumić*

1. [Metode uništavanja mikroorganizama](#)
  1. [Toplota](#)
  2. [Dezinfekciona sredstva](#)
  3. [Radijacija](#)
  4. [Elektronska pasterizacija](#)
  5. [Pulsirajuće svetlo](#)
2. [Metode inhibicije mikroorganizama](#)
  1. [Zamrzavanje](#)
  2. [Primena hemijskih supstanci](#)
  3. [Sušenje](#)
  4. [Fermentacija](#)
3. [Promene hrane delovanjem mikroorganizama](#)
  1. [Fizičke promene](#)
  2. [Hemijske promene](#)
4. [Literatura](#)

### Metode uništavanja mikroorganizama

Smatra se da su mikroorganizmi uništeni onda kada se ne mogu razmnožavati, čak i pošto su boravili u odgovarajućem medijumu za razmnožavanje pod odgovarajućim uslovima okruženja. Smrt se razlikuje od uspavanosti, posebno među bakterijama koje imaju spore, pošto uspavani mikroorganizmi nisu izgubili sposobnost da se razmnožavaju, što je dokazano razmnožavanjem nakon produženog perioda inkubacije, prenošenjem u drugi medijum koji pogoduje razvoju.

Mikroorganizmi mogu da se unište na više načina :

- 1) zagrevanjem: direktnim plamenom, suvim vrućim vazduhom i zasićenom vodenom parom;
- 2) zračenjem: gama-zračenje, zračenječesticama (joni, elektroni) i UV zračenje;

- 3) tretiranjem gasovima: formaldehid, etilenoksid, ostali gasovi;
- 4) primena specijalnih postupaka: primena konzervanasa i antibiotika.

Bez obzira na uzrok smrti, mikroorganizmi slede logaritamsku stopu smrti, kao što je pokazano u fazi ubrzane smrti na Slici 1. Ovaj obrazac ukazuje da populacija mikroorganizama umire relativno konstantnim tempom. Odstupanje od ove stope smrtnosti se može pojaviti usled pojačanog uticaja smrtonosnih agenasa, uticaja koji dolaze od mešanih populacija, osetljivih i otpornih ćelija, ili onih mikroorganizama koji stvaraju lanac i onih koji se grupišu, a imaju istu otpornost na okruženje.

### **Toplota**

Primena toplote je najčešće korišćena metoda uništavanja konzervisanja namirnica. Porastom temperature preko određene - maksimalne vrednosti pogodne za njihovo razmnožavanje, dolazi do uništenja mikroorganizama. Prema tome, to je smrtonosna temperatura za određenu vrstu mikroorganizama. Jasno je da će smrtnost biti veća ako je temperatura viša. Vegetativni oblici bakterija, kvasci i plesni izloženi temperaturi od 100°C brzo se uništavaju tako da ne predstavljaju problem pri termičkom konzervisanju namirnica na ovoj temperaturi. Čak i znatno niže temperature (60 - 65°C) u trajanju 10 - 15 minuta uništavaju većinu mezofilnih vegetativnih bakterija, kvasaca i plesni. Relativno su termorezistentnije vegetativne ćelije nekih bakterija iz roda *Micrococcus*, *Streptococcus* i *Lactobacillus* (Vereš, 2004).

Za uništavanje spora kvasaca i spora većine plesni dovoljna je temperatura 65 - 75°C u toku 10 minuta. Jedino su izuzetak spore plesni roda *Byssochlamys* (*B. fulva* i *B. nivea*) za čije je uništenje potrebno 30

minuta na temperaturi od 85°C ili 5 minuta na 95°C (Vereš, 2004).

Treba istaći da svi mikroorganizini jedne populacije iste vrste, u istim spoljašnjim uslovima nisu podjednako otporni prema povišenoj temperaturi. U slučaju velikog broja mikroorganizama, usled različitog genetskog potencijala i nejednakih faza razmnožavanja, postoji verovatnoća da će se naći jedinke koje će preživeti uobičajeno delovanje letalne temperature.

Obično se smrtonosno delovanje neke povišene konstantne temperature određuje na osnovu broja uginulih ćelija u nekom konstantnom vremenu, najčešće u toku 10 minuta, i to u tačno definisanim spoljašnjim uslovima delovanja temperature. Da li će neka temperatura imati i u kojoj meri smrtonosni (letalni) efekat zavisi od:

- visine temperature,
- dužine njenog delovanja,
- vrste mikroorganizama,
- stadijuma razvoja (prema temperaturi su otporniji mikroorganizmičije su ćelije u lag-fazi, tj. pre eksponencijalne faze razmnožavanja),
- koncentracije mikroorganizama,
- sastava okolnog medijuma (količina vode, šećera, masti, konzervansa ) i
- pH vrednosti.

Vremene potrebno da bi se u potpunosti sterilisala suspenzija bakterijskih ćelija ili spora na zadatoj temperaturi predstavlja toplotno vreme smrti (thermal death time - TDT). Vrednost TDT zavisi od prirode mikroorganizama, broja njegovih ćelija i faktora koji se odnose na prirodu medijuma u kojem se odvija razvoj.

Druga mera uništavanja mikroorganizama je vreme decimalne redukcije (D vrednost). Ova vrednost je vreme izraženo u minutima koje je potrebno za uništavanje

90% ćelija na datoj temperaturi. Vrednost zavisi od prirode mikroorganizama i karakteristika medijuma. D vrednost se može odrediti određivanjem eksperimentalne krive preživljavanja. D vrednost računa se prema sledećoj formuli:

No – broj mikroorganizama u početnom (nultom) vremenu

N – broj mikroorganizama posle vremena t

t – vreme u minutima

### **Dezinfekciona sredstva**

Kako se cena energije za termičku sanitaciju povećala, porasla je upotreba hemijskih sanitarnih sredstava. Mnoga hemijska jedinjenja koja uništavaju mikroorganizme nisu pogodna za uništavanje bakterija u ili na hrani. Ona koja se ne mogu koristiti za konzervisanje hrane, primenjuju se kao sanitarni agensi za opremu i posuđe koje može kontaminirati hranu. Ova hemijska sredstva nazivaju se dezinficijensi. Ova hemijska jedinjenja štetno deluju na mikroorganizme (Žakula, 1980):

- promenom permeabiliteta ćelijske membrane mikroorganizma. Na površini ćelijske membrane odigrava se izmena materija između ćelije i spoljne sredine. Ozbiljni poremećaji u ovom sistemu mogu dovesti do smrti ćelije.
- oksidacije ćelijskih elemenata. Pojedini dezinficijensi su izrazita oksidaciona sredstva. Ova jedinjenja mogu u takvoj meri oštetiti pojedine ćelijske elemente da ona nisu više u stanju da obavljaju svoju metaboličku funkciju. Ovo se posebno odnosi na enzimatski sistem.
- hemijskom reakcijom između dezinficijensa i pojedinih ćelijskih elemenata. Reagujući sa protoplazmatskim sastojcima ćelije dezinficijensi razaraju njihovu normalnu strukturu čime oni gube svoju fiziološku funkciju.
- hidrolizom pojedinih ćelijskih elemenata. Jake kiseline i baze mogu da hidrolizuju

ćelijske elemente do tog stepena da njihova fiziološka aktivnost bude uništena.

- promenom koloidnih svojstava pojedinih ćelijskih elemenata. Život ćelije zavisi od koloidnog stanja njene protoplazme. Uslovi i supstance koji menjaju ovo stanje mogu nepovratno da oštete ćeliju, npr. koagulacijom ćelijskih proteina.

Ne postoji idealno dezinfekciono sredstvo. Ovo je razumljivo kada se imaju u vidu mnogobrojne vrste mikroorganizama i sredine u kojima dezinfekciono sredstvo treba da deluje. Da bi se neko sredstvo moglo koristiti treba da ispunjava neke osnovne zahteve (Žakula, 1980):

- da se dobro rastvara u vodi,
- spektar vrsta mikroorganizama koje uništava treba da je što širi,
- da uništava mikroorganizme u malim koncentracijama,
- da svoju bakteriocidnu sposobnost ispoljava i u prisustvu organskih supstanci,
- da deluje u širokom opsegu pH,
- ne sme biti toksično u koncentracijama u kojima se koristi (ne sme da draži kožu),
- ne sme da izaziva koroziju.

U grupi hlornih dezinficijensa nalaze se preparati koji u rastvoru daju kiseonik i aktivni hlor. Na nedovoljno očišćenim sredinama deolvanje hlornih dezinficijensa je slabo jer se slobodan hlor oksidiše u prisustvu organskih materija u kiselj sredini. Hlorni preparati izazivaju koroziju metala. Najčešće se koriste hipohloriti, hloramini, hlorni kreč i kaporiti. Na delovanje hlornih preparata deluje više faktora: koncentracija, pH, temperatura, količina i svojstva organske materije.

Korišćenje fenolnih preparata u prehrambenoj industriji je veoma ograničeno zbog neugodnog mirisa. U izvesnim slučajevima mogu se koristiti za dezinfekciju sporednih prostorija.

Kvaternarna amonijumova jedinjenja se dosta koriste za dezinfekciju u pogonima

prehrambene industrije. Generalno ova jedinjenja imaju jako izražena baktericidna svojstva, vrlo slab miris, veliku stabilnost, manje su osetljiva na prisustvo organskih materija od hlornih preparata, ne izazivaju koroziju i slabo su toksični. Kvaternerna amonijumova jedinjenja dobro uništavaju mikrokoke i termorezistentne bakterije, a nešto slabije koliformne bakterije i gram-negativne psihrofile.

Amfoterne površinski aktivne materije sastavljene su od aminokiselina velike molekulske mase. Njihovo delovanje inaktivniše organske supstance.

Kombinacija joda i neke nejonogene površinske aktivne materije naziva se jodofora. Jodofore su veoma snažna baktericidna sredstva. Naročito snažnu baktericidnu sposobnost izražavaju prema nekim vrstama bakterija iz rodova *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Streptococcus* i *Micrococcus*.

Konzervansi su supstance koje produžavaju trajnost namirnica i štite ih od kvarenja prouzrokovanog mikroorganizmima. Uslovi upotrebe konzervanasa u namirnicama, u našoj zemlji, navedeni su u Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine ("Sl. list SCG", br. 56/2003). U hemijske konzervanse se svrstavaju uglavnom jedinjenja koja mogu ali ne moraju da budu prirodni sastojci namirnica koje se prerađuju i konzervišu (Vereš, 2004). Hemijski konzervansi ne smeju da se dodaju namirnici u neograničenim količinama. U svakoj zemlji njihova upotreba i količina određena je zakonskom regulativom jer ova jedinjenja u određenim dozama mogu da imaju zdravstveno nepovoljan uticaj na čoveka. Nepovoljni uticaji mogu da se ogledaju u akutnom ili hroničnom trovanju, narušavaju normalne razmene materija, histološkim promenama

vitalnih organa (uglavnom jetra) ili u mogućem kancero genom delovanju. Iz ovih razloga je za svako takvo jedinjenje određena maksimalna dnevna količina (mg) po kilogramu ljudskog organizma (ADI vrednost = Acceptable Daily Intake) kao i letalna doza (LD50), tj. količina koja bi izazvala smrt u 50% slučajeva (posmatrano statistički) ako bi se unela u organizam u toku jednog dana.

Uvažavajući ove norme, moguće je da se hemijski konzervansi dodaju namirnicama u količinama koje su (bar prema sadašnjim saznanjima) potpuno neškodljive za čoveka, a sami ili u kombinaciji sa drugim zahvatima sprečavaju razvoj mikroorganizama, izazivača kvarenja i propadanja namirnica.

### **Radijacija**

Kada se mikroorganizmi u hrani ozrače ubrzanim elektronima (beta zracima) ili sa X-zracima (ili gama zracima), logaritam broja preživelih je direktno proporcionalan dozi zračenja. Relativna osetljivost određene vrste mikroorganizama koja je podložna određenim uslovima je normalno izražena kao pad krive preživelih. Dobija se kriva  $\log_{10}$  onih koji su preživeli zračenje, koja je suprotna dozi zračenja i D zračenju ili D10 vrednosti koja se može uporediti sa termičkom D vrednošću. D10 vrednost se definiše količinom zračenja u radijanima (erg energije za 100 g materijala) koja je potrebna da smanji populacija mikroorganizama za 1 log (90%).

Destruktivni mehanizam zračenja nije u potpunosti razjašnjen. Smatra se da je smrt izazvana inaktivacijom ćelijskih komponenti i energijom koja je apsorbovana u ćeliji.

### ***Elektronska pasterizacija***

Pasterizacija je akt ili proces, koji obično uključuje toplotu, koji smanjuje broj bakterija u hrani bez promene hemijskog sastava ili sadržaja hrane. Akceleratori sa elektronskim zrakom se mogu koristiti za elektronsku pasterizaciju hrane, jer elektronima utiču direktno na proizvode ili optimizacijom konverzije elektrona u X-zrake i tretiranjem proizvoda ovim X-zracima. Za tretman elektronima, maksimalno dozvoljena kinetička energije, po međunarodnom dogovoru, iznosi 10 miliona elektron volti (meV).

Akceleratori obezbeđuju X-zrake ili elektrone za tretman hrane. Akcelerator obezbeđuje energiju za elektrone obezbeđujući elektronsko polje (potencijalnu energiju) koje ubrzava elektrone. Elektroni su više atomskečestice, nego elektromagnetni talasi, i dubina njihovog prodora u proizvod je manja. Stoga je direktna upotreba elektrona ograničena na pakovanja koja su tanja od 10 cm (Marriott & Gravani, 2006).

### ***Pulsirajuće svetlo***

Potencijalni metod smanjenja mikroorganizama na površini pakovanja i hrane je korišćenje intenzivne pulsirajuće svetlosti. Pulsirajuća svetlost je energija koja se oslobađa kao kratka, brzo pulsirajuća "bela" svetlost širokog spektra koja može da sterilizuje materijal pakovanja i smanji populaciju mikroorganizama na površini hrane. Mikroorganizmi izloženi pulsirajućoj svetlosti bivaju uništeni.

Blicevi pulzirajućeg svetla nastaju kompresovanjem električne energije u kratke impulse i korišćenjem ovih impulsa da se energizuje inertna gasna sijalica. Sijalica zatim emituje intenzivan blesak svetlosti u trajanju od par stotina

mikrosekundi. Pošto sijalica može da bljesne nekoliko puta u sekundi, samo nekoliko bleskova je potrebno da bi se postiglo veliko uništavanje mikroorganizama. Zbog toga linija za obradu hrane može biti veoma brza.

Prskanje sa acetilnom kiselinom pre tretmana pulsirajućom svetlošću dovodi do još većeg uništavanja patogena. Istraživanja nisu otkrila da pulsirajuća svetlost dovodi do promene u pogledu hranljivosti ili osetljivosti hrane (Marriott & Gravani, 2006).

### ***Metode inhibicije mikroorganizama***

Namirnice mogu da se sačuvaju od nepoželjne mikrobiološke aktivnosti i u slučaju kada su mikroorganizmi živi i prisutni na dotičnoj namirnici. Poznavanjem ekoloških činilaca, ovi mogu da se tako podese da se mikrobiološka aktivnost održava na vrlo niskom stepenu. Iako su mikroorganizmi živi, njihova aktivnost je ograničena zbog nepovoljnih uslova sredine — koji su tokom konzervisanja smišljeno stvoreni — zbog čega ne dolazi do izražaja njihovo štetno delovanje.

Svi postupci koji se baziraju na ovom principu nazivaju se anabiotički postupci (metodi) konzervisanja. To znači da je namirnica sačuvana od kvarenja sve dok vladaju nepovoljni uslovi za razvoj mikroorganizama.

Većina metoda koje se koriste za uništavanje mikroorganizama se može primeniti u blažem obliku kako bi se inhibirao razvoj mikroorganizama. Zagrevanje, ozračivanje ili tretman toksičnim hemikalijama često oštećuju mikroorganizme i onesposobljavaju razvoj bez uništavanja. Oštećenje se ogleda u fazi povećanog zaostajanja, smanjenoj otpornosti na uslove okruženja i većoj



osetljivosti na druge inhibitorne uslove. Sinergijska kombinacija inhibitornih agenasa, kao što je ozračivanje plus toplota i toplota plus hemikalije, može povećati osetljivost mikroorganizama na inhibitorne uslove. Oštećene ćelije zahtevaju sintezu nekih esencijalnih ćelijskih materijala (to jest, ribonukleinske kiseline ili enzima) pre no što se poprave. Razvoj mikroorganizama je inhibiran održavanjem higijenskih uslova kako bi se uklonili ostaci koji podstiču razvoj bakterija.

### **Zamrzavanje**

Zamrzavanje je metod konzervisanja namirnica kojem nije cilj da se mikroorganizmi unište. To znači da zamrznuta namirnica sadrži određen broj mikroorganizama, tj. nije sterilna. No, to istovremeno znači da mikroorganizmi nisu aktivni sve dok traje dovoljno niska temperatura koja nije pogodna za njihov razvoj.

Svi mikroorganizmi se ne ponašaju na isti način prema hladnoći. Slično kao i prema povišenim temperaturama, pojedine grupe i vrste mikroorganizama različito podnose nisku temperaturu. Ukoliko se optimalna temperatura naglo snizi na oko 0°C mnoge bakterije su izložene tzv. temperaturnom šoku. Iako se kasnije i postigne temperaturni optimum, posle ovog šoka one gube sposobnost reprodukcije. Na ovu pojavu je najosetljiviji *Bacillus stearothermophilus*, koji gubi sposobnost razmnožavanja ako se za kratko vreme smanji temperatura od optimalne (oko 55°C) na 20°C. Ako *Cl. perfringens* od 37°C dođe na 4°C, praktično odmah ugine 95% ćelija, a ostatak posle kratkog vremena. Neke druge bakterije imaju mogućnosti da posle ovakve promene temperature delimično povrate mogućnost razmnožavanja. Sposobnost regeneracije je obrnuto srazmerna dužini trajanja niskih temperatura.

Bakterije koje čine namirnicu toksičnom, ne mogu da se razvijaju na nižoj temperaturi od 3°C. Najniža temperatura za razvoj salmonela i stafilokoka je 7°C, a za *Cl. botulinum* tip A, B i C iznosi 10°C; za *Cl. botulinum* tip E minimalna temperatura za razvoj je 3,3°C. Niske temperature ne uništavaju eventualno stvorene toksine. Na uobičajenim temperaturama zamrzavanja i skladištenja (ne viših od -18°C) spore bakterija ostaju netaknute i pod ovim uslovima zadržavaju sposobnost reprodukcije i posle 7 - 20 godina skladištenja. Mikroorganizmi koji prežive hladno skladištenje će se razvijati u odmrzutoj hrani sličnom brzinom kao i kod one koja nije zamrzavana. Rashlađivanje se može koristiti uz druge metode inhibicije - konzervanse, toplotu i ozračivanje (Vereš, 2004).

Do uginuća većine bakterija dolazi već posle temperature -5 do -8°C. Na ovoj temperaturi kvasci i plesni još ne uginjavaju; oni lakše podnose povišen osmotski pritisak (pogotovu plesni) tako da je za njihovo uginjavanje potrebna niža temperatura (niža od -12°C), tj. kada iskristališe tolika količina vode koja uslovljava porast osmotskog pritiska preko granice izdržljivosti. Na osnovu ovih saznanja određene su temperaturne granice ispod kojih ne dolazi do povećanja broja mikroorganizama na određenim namirnicama i to: meso -8°C, riba -11°C, voće i povrće -12°C i sladoled -10°C (Vereš, 2004).

Broj uginulih mikroorganizama usled zamrzavanja je mnogo manji u poređenju sa uginjavanjem na povišenoj temperaturi. Smatra se da smrt mikroorganizama nastaje usled izmene strukture protoplazme i poremećene razmene materija. Zamrzavanjem se formiraju kristali ledačime se povećava viskozitet protoplazme, smanjuje se moć vezivanja vode za koloide, raste osmotski pritisak u ćeliji - što sve dovodi do nepovratnih i

štetnih promena na proteinima, a sami kristali leda usled povećane zapremine mehanički oštećuju kako citoplazmu tako i ćelijsku opnu.

### ***Primena hemijskih supstanci***

Hemijska jedinjenja koja povećavaju osmotski pritisak uz smanjenje  $a_w$  ispod nivoa koji dopušta razvoj većine bakterija, se mogu koristiti kao bakteriostati. Primeri ovakvih supstanci su so i šećer.

Mikrobiološka aktivnost praktično prestaje tek ako u namirnicama ima preko 20% soli (iako neke halofilne bakterije podnose koncentraciju čak i do 25% kuhinjske soli). To je količina soli koja je sa senzorskog aspekta neprihvatljiva. Pre upotrebe ovakve namirnice mora da se ispiraju vodom. Iz ovih razloga nije uobičajeno da se namirnice trajno konzervišu samo dodatkom kuhinjske soli. Za trajno konzervisanje primenjuju se niže koncentracije soli u kombinaciji sa kiselinama, dimljenjem ili nekim drugim zahvatom.

Patogene bakterije prestaju sa razmnožavanjem pri koncentraciji 8 - 9% NaCl, a truležne bakterije ne mogu da se razvijaju u sredini sa preko 10-12% soli. Kuhinjska so ne uništava bakterijske spore. Generalno može da se kaže da se koncentracijom soli 8-10% inhibira klijanje spora *Cl. botulinuma* tipa A; za tip E ova granice je oko 5% (Vereš, 2004).

### ***Sušenje***

Smanjenje razvoja mikroorganizama sušenjem je drugi metod smanjivanja  $a_w$  na nivo koji sprečava razmnožavanje mikroorganizama. Sušenjem se odvaja voda do tog stepena da takva namirnica može godinama da bude zaštićena od kvarenja, plesnivljenja i gubitka ukusa. Pri

tome ne sme da se oduzme celokupna količina vode jer to negativno deluje na gipkost (elastičnost) i na sposobnost za ponovno upijanje vode.

Namirnice se suše tako što se voda u vidu vodene pare izdvaja iz namirnica zagrevanjem ili liofilizacijom. Namirnice mogu da se suše i na sobnoj temperaturi, tj. bez zagrevanja, i to primenom određenih desikanata (sredstva koja upijaju vlagu). Ovaj metod za sada u praksi nema primenu

Dehidratacija je najefikasnija kada se kombinuje sa drugim metodama kontrolisanja rasta mikroorganizama, kao što je usoljavanje i rashlađivanje.

### ***Fermentacija***

Pod biološkim konzervisanjem najčešće se podrazumeva konzervišuće delovanje kiselina, a ređe i alkohola, proizvoda nastalih aktivnošću mikroorganizama. Pored proizvodnje poželjnih ukusa, fermentacija može kontrolisati razvoj mikroorganizama. Fermentacijom se kroz anaerobni metabolizam šećera, preko bakterija, stvara kiselina koja smanjuje pH vrednost supstrata, odnosno namirnice. Vrednost pH ispod 5,0 ograničava razvoj mikroorganizama koji izazivaju kvarenje hrane. Pošto se radi o delovanju kiseline, ona prevashodno sprečava nepoželjnu aktivnost bakterija, a pre svega, truležnih bakterija i bakterija maslačne kiseline.

U prehrambenoj industriji za biološko konzervisanje se najviše koriste bakterije mlečne kiseline (*Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* i *Leuconostoc*). Mlečno kiselinska fermentacija se koristi u preradi mleka, mesa, riba, povrća kao i pri izradi pekarskih proizvoda od kiselog testa. U svim ovim slučajevima praktično se dobija novi proizvod sa karakterističnim ukusom i mirisom a proizvodi metabolizma bakterija

mlečne kiseline inhibiraju delovanje nepoželjne mikroflоре.

Hrana koja je ukiseljena treba da se pakuje u hermetički zatvorenu ambalažu kako bi se sprečilo kvarenje aerobnim razvojem kvasaca i plesni.

### **Promene hrane delovanjem mikroorganizama**

Hrana se smatra pokvarenom kada postaje neadekvatna za konzumaciju od strane ljudi. Kvarenje se obično izjednačava sa procesima raspadanja i truljenja koji su rezultat prisustva mikroorganizama. Kvarenje je neželjena promena u ukusu, mirisu, teksturi i boji hrane, izazvana razvojem mikroorganizama, i delovanjem njihovih enzima.

#### ***Fizičke promene***

Fizičke promene izazvane mikroorganizmima su obično očiglednije od hemijskih promena. Kvarenje uzrokovano mikroorganizmima obično dovodi do jasnih promena u fizičkim karakteristikama, odnosno do degradacije boje, konzistentnosti, debljine, mirisa i ukusa. Kvarenje hrane se obično označava kao aerobno ili anaerobno, u zavisnosti od uslova pod kojima dolazi do kvarenja, uključujući tu i da li su glavni uzročnik kvarenja bakterije, plesni ili kvasci.

Aerobno kvarenje hrane od strane plesni je obično ograničeno na površinu hrane, gde je kiseonik dostupan. Plesnive površine hrane, kao što je meso i sirevi, mogu biti uklonjene, a ostatak je uglavnom prihvatljiv za konzumaciju. Kada se uklone plesnive površine, površina ispod njih obično ima samo ograničeno prisustvo mikroorganizama. Ako je došlo do značajnog razvoja bakterija na površini,

obično sledi i prodor u unutrašnjost hrane, tako da su i toksini verovatno prisutni.

Anaerobno kvarenje se javlja u unutrašnjosti prehrambenih proizvoda ili u zatvorenim kontejnerima, gde ili nema kiseonika, ili je prisutan u ograničenoj količini. Kvarenje je izazvano fakultativnim i anaerobnim bakterijama, i izraženo je kroz pojavu kiselog ukusa, truljenja ili mrlja na hrani. Hrana postaje kisela zbog nagomilavanja organskih kiselina tokom razlaganja složenih molekula od strane bakterijskih enzima. Takođe i proteoliza bez truljenja može dovesti do pojave kiselosti. Kiseo ukus hrane može biti praćen nastankom raznih gasova. Primeri kada dolazi do pojave kiselog ukusa su vezani za mleko, hleb ili šunku i kosti u mesu. Pojava mrlja u mesu, je izazvana anaerobnim bakterijama koje prethodno mogu biti prisutne u limfnim čvorovima ili zglobovima, ili koje su u meso dospеле preko kostiju tokom procesa skladištenja i obrade.

#### ***Hemijske promene***

Aktivnošću endogenih hidrolitičkih enzima koji su prisutni u namirnicama (i delovanjem enzima koje proizvode mikroorganizmi), proteini, masti, ugljeni hidrati i drugi složeni molekuli bivaju razloženi u manja i jednostavnija jedinjenja. Početno, endogeni enzimi su odgovorni za razlaganje složenih jedinjenja. Kako se količina mikroorganizama i njihove aktivnosti povećava, degradacija se nastavlja dalje. Endogeni enzimi hidrolizuju složene molekule u jednostavnija jedinjenja, koja nakon toga bivaju iskorišćena kao izvor hranljivih supstanci za razvoj mikroorganizama i njihovu aktivnost. Dostupnost kiseonika određuje finalne proizvode aktivnosti mikroorganizama. Dostupnost kiseonika dozvoljava hidrolizu proteina u finalne proizvode kao što su

jednostavni peptidi i amino kiseline. U anaerobnim uslovima, proteini mogu biti razloženi u različita sumporna jedinjenja, koja uglavnom imaju oštar i neprijatan miris. Finalni proizvodi neproteinskih azotnih jedinjenja uglavnom uključuju i amonijak.

Druge hemijske promene uključuju delovanje lipaza, koje luče mikroorganizmi, koje hidrolizuju trigliceride i fosfolipide u glicerol i masne kiseline. Fosfolipidi se hidrolizuju u azotne baze i fosfor. Oksidacija lipida je takođe ubrzana snažnom hidrolizom lipida.

Većina mikroorganizama, kao energetski izvor, preferiraju ugljene hidrate u odnosu na druga jedinjenja pošto se oni lakše mogu iskoristiti za dobijanje energije. Korišćenje ugljenih hidrata od strane mikroorganizama rezultira nastankom različitih finalnih proizvoda, kao što su alkohol i organske kiseline. Kod mnogih namirnica, kao što su mesne prerađevine i fabrički proizvedeni mlečni proizvodi, mikrobska fermentacija dodatog šećera dovodi do nastanka organskih kiselina (kao što je mlečna kiselina), koje doprinose njihovom karakterističnom i jedinstvenom ukusu.

## Rast mikroorganizama

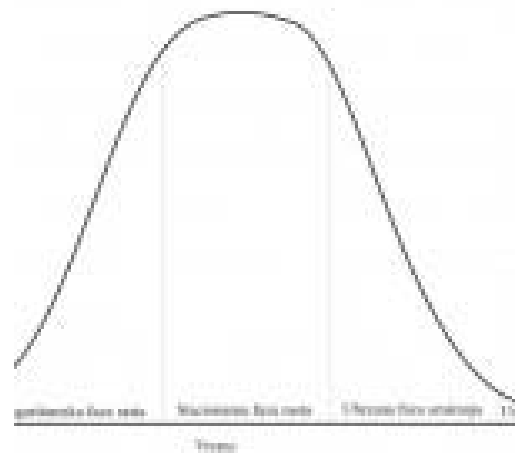
Autor: dipl. ing. *Zdravko Šumić*

1. [Kinetika rasta mikroorganizama](#)
  1. [Pritajena faza ili Lag faza](#)
  2. [Stacionarna faza rasta](#)
  3. [Ubrzana faza umiranja](#)
2. [Faktori koji utiču na rast mikroorganizama](#)
  1. [Spoljašnji faktori](#)
  2. [Temperatura uskladištenja](#)
  3. [Dostupnost kiseonika](#)
  4. [Relativna vlažnost vazduha](#)

5. [Unutrašnji faktori](#)
  6. [Dostupnost vode \( \$a\_w\$ \)](#)
  7. [pH](#)
  8. [Oksido-redukcioni potencijal](#)
  9. [Potrebe za hranljivim materijama](#)
  10. [Inhibitori](#)
  11. [Interakcija između faktora razvoja](#)
  12. [Uloga biofilmova](#)
3. [Literatura](#)

## Kinetika rasta mikroorganizama

Sa manjim izuzecima, razmnožavanje mikroorganizama binarnom deobom se odvija u nekoliko faza, u skladu sa tipičnom krivom rasta mikroorganizama predstavljenom na Slici 1.



Kinetika rasta mikroorganizama (Marriott & Gravani, 2006)

### *Pritajena faza ili Lag faza*

Posle kontaminacije, mikroorganizmi prolaze kroz period prilagođavanja na okruženje, sa blagim smanjenjem broja mikroorganizama zbog stresa (Slika 1). Ova faza razvoja se naziva lag fazom ili

pritajenom fazom rasta mikroorganizama. Lag faza može biti produžena smanjenjem razmnožavanja mikroorganizama zbog smanjenja temperature ili usled drugih tehnika očuvanja namirnica. Ova faza povećava „generacijsko vreme“ mikroorganizama. Razmnožavanje mikroorganizama se smanjuje usled smanjenja broja mikroorganizama koji kontaminiraju hranu, opremu ili zgrade. Kada se početni broj mikroorganizama smanji usled poboljšanih sanitarnih i higijenskih procedura, početna kontaminacija će se takođe smanjiti; lag faza može biti produžena, i prelaz u sledeću fazu rasta odložen (Marriott & Gravani, 2006). Logoritamska faza rasta Bakterije se razmnožavaju binarnom deobom, koja je karakteristična po dupliranju komponenti u okviru svake ćelije, praćenom brzim razdvajanjem kako bi se formirale dve ćerke ćelije. Tokom ove faze, broj mikroorganizama se povećava do tačke kada, po podeli ćelija, povećanje u broju mikroorganizama postaje eksponencijalno sve dok ga neki faktori okruženja ne ograniče. Dužina ove faze može varirati od 2 do nekoliko sati. Broj mikroorganizama i faktora sredine, kao što su dostupnost nutrijenata i temperatura, utiču na logoritamski rast većeg broja mikroorganizama. Efikasna sanitacija može ograničiti broj mikroorganizama koji se mogu razmnožavati tokom ove faze rasta (Marriott & Gravani, 2006).

### **Stacionarna faza rasta**

Kada faktori okruženja, kao što su dostupnost nutrijenata, temperatura, i konkurencija neke druge populacije mikroorganizama postanu ograničavajući, faza rasta se usporava i dostiže tačku ravnoteže. Rast postaje relativno konstantan, što dovodi do stacionarne faze. Tokom ove faze, broj mikroorganizama je često dovoljno velik da njihovi metabolički

nusproizvodi i borba za prostor i ishranu smanjuju razmnožavanje do tačke kada se gotovo zaustavlja, ili se čak javlja i blago smanjenje stope razmnožavanja. Dužina ove faze obično varira od 1 do više od 30 dana, ali zavisi kako od dostupnosti energetske izvora za održanje vitalnosti ćelija, tako i od stepena zagađenosti (negostoljubivosti) okruženja (Marriott & Gravani, 2006).

### **Ubrzana faza umiranja**

Nedostatak nutrijenata, metabolički nusproizvodi, i konkurencija od strane drugih populacija mikroorganizama, doprinose smrti mikroorganizama po eksponencijalnoj stopi. Ubrzana stopa umiranja je slična stopi logoritamskog rasta i varira od 1 do 30 dana, što zavisi od temperature, dostupnosti nutrijenata, roda i vrste mikroorganizama, starosti mikroorganizama, primene sanitarnih tehnika i sredstava, i konkurencije od strane drugih mikroorganizama. Usporena faza umiranja Ova faza je skoro potpuno suprotna lag fazi. Ona je izazvana produženom ubrzanom fazom umiranja, gde se broj jedinki mikroorganizama spusti tako nisko da se faza umiranja usporava. Posle ove faze, organizam se degradira, dolazi do sterilizacije, ili neka druga mikrobna populacija nastavlja razlaganje.

### **Faktori koji utiču na rast mikroorganizama**

Faktori koji utiču na stopu razmnožavanja mikroorganizama su dele na spoljašnje i unutrašnje.

#### **Spoljašnji faktori**

Budući da je hrana biljnog i životinjskog porekla, bitno je poznavati osobine i biljnih i životinjskih tkiva koje utiču na rast i

razmnožavanje mikroorganizama. Biljke i životinje, koje služe kao izvor hrane, imaju mehanizme za odbranu od napada i širenja mikroorganizama, a veliki ih broj zadržava te osobine u svežim namirnicama.

Spoljašnji faktori su faktori okruženja koji utiču na rast mikroorganizama. Naročito važni faktori za rast, razmnožavanje i preživljavanje mikroorganizama u namirnicama su: temperatura uskladištenja, relativna vlažnost okoline, prisutnost i koncentracija gasova, osmotski pritisak, prisutnost i delovanje drugih mikroorganizama (Duraković i sar., 2002).

### **Temperatura uskladištenja**

Temperatura je jedan od najvažnijih parametara koji utiče na rast mikroorganizama. Mikroorganizmi imaju optimalnu, minimalnu i maksimalnu temperaturu za rast. Čelije rastu u okviru potpuno određenog raspona temperature rasta. Taj raspon rasta određen je minimalnom temperaturom, ispod koje su čelije metabolički neaktivne, i maksimalnom temperaturom, iznad koje čelije ne rastu. Između tih ekstrema je optimalna temperatura rasta pri kojoj čelije najbrže rastu i razmnožavaju se. Stoga, temperatura okruženja ne određuje samo brzinu razmnožavanja, već i rod mikroorganizama koji će se razvijati i stepen aktivnosti mikroorganizama. Na primer, promena za samo nekoliko stepeni temperature može podstaći rast potpuno drugačijih mikroorganizama i rezultirati drugačijem tipu kvarenja hrane i pojavi druge bolesti koja se prenosi putem hrane. Ove karakteristike su razlog za upotrebu temperature kao metode za kontrolu aktivnosti mikroorganizama (Duraković i sar., 2002).

Pri normalnom atmosferskom pritisku mikrobiološki se rast može odvijati u rasponu temperature od  $-10^{\circ}\text{C}$  do  $110^{\circ}\text{C}$ .

Najvažniji je pri tome zahtev da se voda, kao osnova rasta, nalazi u obliku koji mogu da koriste mikroorganizmi. Ni jedan organizam nije pri normalnom atmosferskom pritisku kadar rasti izvan ovog temperaturnog raspona (Duraković i sar., 2002).

Optimalna temperatura za razmnožavanje većine mikroorganizama je od  $14^{\circ}\text{C}$  do  $40^{\circ}\text{C}$ , iako neki mikroorganizmi rastu i na temperaturi ispod  $0^{\circ}\text{C}$ , a pojedini rodovi i na temperaturama čak i do  $100^{\circ}\text{C}$  (Marriott & Gravani, 2006). Mikroorganizmi se prema optimalnim temperaturama za razmnožavanje mogu razvrstati na:

1. Termofile (mikroorganizmi koji vole visoke temperature) sa optimalnim rastom na temperaturama iznad  $45^{\circ}\text{C}$ . Primeri su: *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus coagulans* i *Lactobacillus thermophilus*.
2. Mezofili (mikroorganizmi koji vole umerene temperature) sa optimalnim rastom na temperaturama između  $20^{\circ}\text{C}$  i  $45^{\circ}\text{C}$ . U ovu grupu spadaju: laktobacilli i *Staphylococci*.
3. Psihrotrofi (ili psihrofili, mikroorganizmi koji tolerišu niske temperature), koji podnose i rastu na temperaturama ispod  $20^{\circ}\text{C}$ . Primeri su: *Pseudomonas* i *Moraxella*.

I bakterije i plesni i kvasci imaju po neki rod koji napreduje u opsegu karakteristika termofila, mezofila i psihrotropa. Plesni i kvasci su manje skloni da budu termofilni od bakterija. Kako se temperatura približava  $0^{\circ}\text{C}$ , razmnožavanje mikroorganizama je sve sporije. Ispod, približno  $5^{\circ}\text{C}$ , razmnožavanje mikroorganizama koji izazivaju kvarenje hrane je značajno usporeno, a rast većine patogena prestaje (Marriott & Gravani, 2006).

### **Dostupnost kiseonika**

Kao i kod temperature, dostupnost kiseonika određuje koji će mikroorganizmi biti aktivni. Neki mikroorganizmi imaju apsolutnu potrebu za kiseonikom, dok drugi rastu u potpunom odsustvu kiseonika, a pojedini i sa i bez prisustva kiseonika.

Mikroorganizmi koji zahtevaju kiseonik se nazivaju aerobnim mikroorganizmima (npr. *Pseudomonas*). Oni koji rastu i bez prisustva kiseonika se nazivaju anaerobnim mikroorganizmima (npr. *Clostridium*). Anaerobni mikroorganizmi, iako ne mogu upotrebljavati slobodan kiseonik, imaju različite stepene tolerancije prema njemu.

Striktni anaerobi ne mogu tolerisati nikakvu količinu slobodnog kiseonika u svojoj okolini. Primjer takvih organizama jesu patogene bakterije ljudi (*Bacteroides*). One odumiru već pri kratkom kontaktu sa slobodnim kiseonikom. Aerotolerantni anaerobi, s druge strane, mogu rasti u prisustvu slobodnog kiseonika, iako on nije nužan za njihov metabolizam. Mikroorganizmi koji rastu i uz prisustvo kiseonika i bez kiseonika se nazivaju fakultativnim mikroorganizmima. Fakultativni anaerohi ne koriste kiseonik, ali u njegovoj prisutnosti bolje rastu. *Escherichia coli* bakterija koja živi u probavnom sistemu sisara, *Lactobacillus* a i neki kvasci, pripadaju fakultativnim anaerobima (Duraković i sar., 2002).

**Tabela 1.** Klasifikacija mikroorganizama u odnosu na toplotu (Pešić-Mikulec, 2005)  
 Letalna temperatura / vreme u kombinaciji sa brojem ćelija  $10^6$  pri  $pH=6,8$  /  $a_w=0,98$  Vrste koje preživljavaju letalno vreme / temperatura .

Mikroorganizmi	Temperatura (oC)	Vreme (min.)	Rodovi mikroorganizama
Plesni i kvasci Nesporogene bakterije	65 80	30 1	<i>Bysschlamus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Alcaligenes</i> spp. <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Microbacterium</i> spp.
Toplotno rezistentne Sporogeni mikroorganizmi	90	10	<i>Clostridium botulinum</i> tip E <i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus macerans</i> <i>Bacillus mycoides</i>
Toplotno rezistentne Sporogeni mikroorganizmi	100 120	30 3	<i>Clostridium botulinum</i> tip A i B Neke <i>Bacillus</i> vrste
Toplotno rezistentne Sporogeni mikroorganizmi	115 120	10 4	<i>Bacillus stearothermophilus</i> <i>Clostridium nigrificans</i> <i>Clostridium sporogenes</i>

Toplotno rezistentne Sporogeni mikroorganizmi	120	45	Clostridium thermosaccharolyticum
---	-----	----	-----------------------------------

### Relativna vlažnost vazduha

Ovaj spoljašnji faktor utiče na rast mikroorganizama i može biti pod uticajem temperature. Svi mikroorganizmi imaju velike potrebe za vodom, koja podstiče njihov rast i aktivnost. Visoka relativna vlažnost vazduha može dovesti do kondenzacije vlage na hrani, opremi, zidovima i tavanicama. Kondenzacija dovodi do vlažnosti površina, što pogoduje rastu mikroorganizama i uzrokuje kvarenje. Isto tako, rast mikroorganizama je inhibiran malom relativnom vlažnošću vazduha.

Bakterije zahtevaju veću vlažnost vazduha od kvasaca i plesni. Optimalna vrednost relativne vlažnosti vazduha za bakterije iznosi 92% ili više, dok kvascima više pogoduje 90% ili više. Plesni bolje rastu ako je relativna vlažnost vazduha između 85 i 90% (Marriott & Gravani, 2006).

### Unutrašnji faktori

Unutrašnji faktori Unutrašnji faktori koji utiču na brzinu razmnožavanja mikroorganizama su vezani za karakteristike supstrata (namirnica). U ove faktore se ubrajaju: aktivnost vode, pH,

**Tabela 2. Minimalne aw-vrednosti pri kojima mikroorganizmi aktivno rastu .**

Grupa mikroorganizama	Minimalna aw-vrednost
Većina gram-negativnih bakterija	0,97
Većina gram-pozitivnih bakterija	0,90

oksidoredukcionim potencijal, inhibitori itd.

### Dostupnost vode ( $a_w$ )

Voda je osnovni rastvarač i nužna je za svaku reakciju u živom organizmu, stoga udeo vode izrazito utiče na rast i razmnožavanje mikroorganizama. Smanjenje dostupnosti vode će umanjiti i razmnožavanje mikroorganizama. Voda dostupna za metaboličku aktivnost, a ne ukupno prisustvo vlage, određuje opseg rasta mikroorganizama. Jedinica mere za potrebe mikroorganizama za vodom se obično izražava kao aktivnost vode,  $a_w$ . Aktivitet vode supstrata definiše se kao odnos parcijalnog pritiska vode u atmosferi koja je uravnotežena sa supstratom (p), prema parcijalnom pritisku u atmosferi koja je u ravnoteži sa čistom vodom ( $p_0$ ), pri datoj temperaturi. To se može brojčano izraziti jednačinom koja pokazuje odnos ravnoteže relativne vlažnosti (equilibrium relative humidity ili ERH) i pojedinih pritiska:  $a_w = p / p_0$ .

U atmosferi se  $a_w$ -vrijednost izražava kao relativna vlažnost ili RH (engl. relative humidity) koja se određuje prema izrazu:  $RH = a_w \times 100$ . Tako je, pri relativnoj vlažnosti vazduha od 90%,  $a_w = 0,90$ .



Većina kvasaca	0,88
Većina plesni	0,80
Halofilne bakterije	0,75
Kserofilne plesni i osmofilni kvasci	0,61

Optimalni  $a_w$  za rast najvećeg broja mikroorganizama je 0,99. Generalno, bakterije imaju najveću potrebu za  $a_w$  od svih mikroorganizama. Plesni imaju najnižu potrebu za  $a_w$ , dok su kvasci u sredini. Većina bakterija koje uzrokuju kvarenje hrane ne rastu ako je  $a_w$  manji od 0,91, ali plesni i kvasci mogu da rastu i na  $a_w$  od 0,80 ili niže. Plesni i kvasci mogu da rastu na delimično dehidriranim površinama (uključujući i hranu), dok bi tu rast bakterija bio znatno usporen. Većina svežih namirnica ima  $a_w$  od približno 0,99 (Marriott & Gravani, 2006).

### pH

Prema kiselosti ili baznosti supstrata, mikroorganizme možemo podeliti na neutrofilne (daju prednost neutralnom pH-području), acidofilne (vole kiselo) i alkalofilne (vole bazno). Za svaku od ovih grupa mikroorganizama postoji minimalna, optimalna i maksimalna pH-vrijednost rasta. pH rastvora predstavlja negativan dekadni logaritam koncentracije (g/L) vodonikovih jona u rastvoru:

$$\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+]$$

Optimalan pH za razvoj većine mikroorganizama je blizu neutralne vrednosti (7,0). Kvasci mogu da se razvijaju u kiselom okruženju, a najbolje se razvijaju u srednje kiseloj sredini (4,0 do 4,5). Gljive podnose širi opseg pH (2,0 do

8,0), iako je njihov razvoj, generalno, bolji u kiselom pH. One mogu napredovati u medijumu koji je previše kiseo za bakterije ili kvasce. Razvoj bakterija je obično podstaknut gotovo neutralnim pH vrednostima. Ipak, acidofilne bakterije se razvijaju u hrani ili ostacima gde je vrednost pH približno 5,2. Ispod pH 5,2, razvoj mikroorganizama je značajno manji nego u uobičajenom opsegu pH (Marriott & Gravani, 2006).

**Tabela 3. Minimalne pH-vrednosti za rast nekih vrsta bakterija kontaminenata namirnica (Duraković i sar., 2002) .**

Bakterija	pH
Aeromonas hydrophila	8,0
Alicyclobacillus acidocaldatus	2,0
Bacillus cereus	4,9
Clostridium botulinum	4,6
Clostridium perfringens	5,0
Escherichia coli 0157: H7	4,5
Gluconobacter spp.	3,6
Lactobacillus brevis	3,16

Lactobacillus plantarum	3,34
Lactococcus lactis	4,3
Listeria monocytogenes	4,1
Plesiomonas shigelloides	4,5
Pseudomonas fragi	5,0
Salmonella spp.	4,05
Shewanella putrefaciens	5,4
Shigella flexneri	5,5
Shigella sonnei	5,0
Staphylococcus aureus	4,0
Vibio parahaemolyticus	4,8
Yersinia enterocolitica	4,18

Ljudsko telo je raznolika okolina s različitim pH-područjima. Većina mikroorganizama ne može preživeti ekstremno niske pH-vrijednosti u ljudskom želudcu. Samo patogeni, koji podnose produženo izlaganje jakoj kiselini, mogu uspešno inficirati nakon ulaska u telo kroz probavni sustav.

Kiselost proizvoda ima znatan uticaj na vrstu mikroorganizama koji će se u njemu razvijati pa time i na osobine kvarenja proizvoda. Na primer, biljni se proizvodi klasifikuju kao srednje kiseli, pa značajnu ulogu u njihovom kvarenju imaju bakterije. U voću, međutim, niske pH-vrednosti sprečavaju rast bakterija, a za kvarenje su odgovorni kvasci i plesni.

### **Oksido-redukциони potencijal**

Oksido-redukциони potencijal je pokazatelj oksidacione i redukcionne moći supstrata. Da bi dostigli optimalan razvoj, nekim mikroorganizmima su potrebni redukcionni uslovi; drugima su potrebni oksidacioni uslovi. Zbog toga je važnost oksido-redukcionog potencijala očigledan. Svi saprofitni mikroorganizmi koji su sposobni da prenose vodonik kao H<sup>+</sup> i e<sup>-</sup> (elektrone) u molekularni kiseonik se nazivaju aerobi.

Aerobni mikroorganizmi se brže razvijaju pod većim oksidaciono-redukcionim potencijalom (oksidaciona sredina). Nizak potencijal (smanjena reaktivnost) podstiče razvoj anaeroba. Fakultativni mikroorganizmi su sposobni da se razvijaju i pod jednim i pod drugim uslovima. Mikroorganizmi mogu promeniti oksidaciono-redukcionni potencijal hrane do te mere da ograniče aktivnost drugih mikroorganizama. Na primer, anaerobi mogu smanjiti oksidaciono-redukcionni potencijal do tako niskog nivoa da razvoj aeroba može biti inhibiran.

### **Potrebe za hranljivim materijama**

Pored vode i kiseonika (izuzev kod anaeroba), mikroorganizmima su potrebne i druge hranljive materije. Većini mikroorganizama su za razvoj potrebni spoljašnji izvori azota, energije (ugljeni hidrati, proteini ili masti), minerala i vitamina. Azot se obično dobija preko amino kiselina i ne proteinskih azotnih izvora. Međutim, neki mikroorganizmi koriste peptide i proteine. Plesni su najefikasnije u iskorišćavanju proteina, složenih ugljenih hidrata i masti pošto sadrže enzime sposobne za hidrolizu ovih molekula na manje složene komponente. Mnoge bakterije imaju sličnu sposobnost, ali većina kvasaca zahteva jednostavnu formu ovih jedinjenja. Svim mikroorganizmima su potrebni minerali,

ali se potrebe za vitaminima razlikuju. Plesni i neke bakterije mogu da sintetišu dovoljno B vitamina za svoje potrebe, dok drugi mikroorganizmi moraju da se snabdevaju gotovim oblikom.

U mesu i drugim namirnicama životinjskog porekla veoma brzo dolazi do razmnožavanja laktobacila. Razlog je taj, što su laktobacili osetljivi na nedostatak vitamina grupe B, a u mesu i drugim sličnim namirnicama ovi vitamini nalaze se u dovoljnoj količini. Sa druge strane, voće na primer, deficitarno je u vitaminima grupe B i zato se u njemu lako razmnožavaju kvasci i plesni (Škrinjar i Tešanović, 2007).

### ***Inhibitori***

Brz razvoj mikroorganizama može biti pod uticajem prisustva ili odsustva inhibitora. Supstance ili agensi koji inhibiraju aktivnost mikroorganizama se nazivaju bakteriostati. One koji uništavaju bakterije se nazivaju bakteriocidi. Neke bakteriostatičke supstance, kao što su nitriti, se dodaju tokom procesa obrade hrane. Većina baktericida se koristi kao metod dekontaminacije namirnica ili kao sanitarno sredstvo za očišćenu opremu, pribor i proizvodne prostorije.

### ***Interakcija između faktora razvoja***

Efekti koje imaju faktori poput temperature, kiseonika, pH i  $a_w$  na aktivnost mikroorganizama mogu zavisi od jedni od drugih. Mikroorganizmi uopšteno postaju osetljiviji na prisustvo kiseonika, pH i  $a_w$  na temperaturama koje su bliže minimalnom i maksimalnom razvoju. Na primer, bakterije mogu zahtevati viši pH,  $a_w$  i minimalnu temperaturu za razvoj pod anaerobnim uslovima, nego kada preovlađuju aerobni uslovi. Mikroorganizmi koji se razvijaju na niskim

temperaturama su obično aerobni i uopšteno imaju više  $a_w$  zahteve. Snižavanje  $a_w$ , dodavanjem soli ili izvlačenjem kiseonika iz hrane (kao što je meso) koja je držana na temperaturi frižidera, u velikoj meri smanjuje opseg mikrobiološkog kvarenja. Naravno, do razvoja nekih mikroorganizama dolazi i kada je bilo koji od ovih faktora koji kontrolišu nivo rasta na ograničenom nivou. Ako više od jednog faktora postane ograničavajući, i razvoj mikroorganizama se u velikoj meri smanjuje ili potpuno zaustavlja.

Kako se temperature smanjuju, generacijski interval (vreme za koje od jedne bakterijske ćelije nastanu dve) se povećava. Ovo je pogotovo izraženo kada temperatura ode ispod  $4^{\circ}\text{C}$ . Na primer, sveže samlevena teletina obično sadrži oko 1 milion bakterija po gramu. Kada ova populacija dostigne približno 300 miliona/g, može se javiti neuobičajen miris i malo mukozne tečnosti, uz nastanak kvarenja mesa. Ovaj primer se ne javlja kod svih rodova i vrsta bakterija. Međutim, iz ovih podataka se može videti da početna kontaminacija i temperatura skladištenja značajno utiču na dugotrajnost namirnica. Trajnost mlevene teletine koja sadrži 1 milion bakterija/g je približno 28 sati na temperaturi od  $15,5^{\circ}\text{C}$ . Na uobičajenoj temperaturi skladištenja u frižideru od oko  $-1^{\circ}\text{C}$  do  $3^{\circ}\text{C}$ , trajnost mesa prelazi 96 sati (Marriott & Gravani, 2006).

### ***Uloga biofilmova***

Biofilmovi nastaju zahvaljujući sposobnosti bakterija da se zadržavaju na vlažnim površinama i da stvaraju mikrokolonije. Kada mikroorganizam dospe na površinu, on se pričvršćuje uz pomoć vlakana i hvataljki. Organizam proizvodi materijal koji se sastoji od složenih polisaharida, proteina, fosfolipida, tejhodne i nukleinske kiseline; lepljivu

supstancu koja će za par sati učvrstiti poziciju bakterije na površini. Ovaj materijal deluje kao lepak na koji će se hranljive materije zalepiti zajedno sa drugim bakterijama i ponekad virusima. Bakterija postaje ukopana na površini, držeći se za nju sa brojnim dodacima. Biofilmovi nastaju u dve faze. Prvo se javlja elektrostatičko privlačenje između površine objekta i mikroorganizama. Proces se može zaustaviti u ovoj fazi. Sledeća faza se javlja kada mikroorganizam oslobodi vanćelijske polisaharide, koji čvrsto povezuju ćeliju sa površinom. Ćelije nastavljaju da rastu, formiraju mikrokolonije i, na kraju, biofilm. Biofilm se sam nadograđuje, dodajući nekoliko slojeva polisaharida naseljenog mikroorganizmima kao što su: Salmonella, Listeria, Pseudomonas, i drugi koji odgovaraju odgovarajućem okruženju. Produženo vreme kontakta sa površinom na kojoj se nalazi doprinosi veličini mikrokolonija koje se formiraju, broju veza, i otežava njihovo uklanjanje.

Vanćelijske polimerne supstance doprinose zaštiti mikro biofilmova koncentrovanjem nutrijenata, sprečavanjem pristupa biocida, metala i toksina, i takođe sprečavanjem sušenja. Bakterije u okviru biofilma mogu biti i do 1 000 puta otpornije na pojedina sanitarna sredstva nego one koje su pojedinačno raspršene u rastvoru. Bivaju u prehrambenoj industriji mogu takođe posedovati visok sadržaj rezidua hrane i minerala što potiče bilo od proizvoda bilo od vode koja se koristi u procesu. Ovi sastojci isto tako predstavljaju zaštitu za mikrofloru u biofilmu. Rast biofilmova u sredinama gde se proizvodi hrana dovodi do mogućnosti povećane mikrobiološke kontaminacije proizvoda. Navedeni biofilmovi mogu takođe sadržavati patogenu mikrofloru i onu koja dovodi do kvarenja. Iz tog razloga prisustvo biofilmova može da dovede do naknadne kontaminacije što ima za posledicu

skraćanje roka trajanja kao i širenja obolenja. Pored toga, ovo dovodi do mehaničkih začepljenja, ometanja prenosa toplote, povećanja otpora trenja i korozije metala. Zbog ovoga nastajanje biofilma je važan preduslov koji se često previđa prilikom implementacije i održavanja HACCP planova (Obradović, 2007).

Biofilm vremenom postaje čvrsta plastika koja se često može ukloniti jedino struganjem. Iako očišćene površine mogu biti sanitizovane, čvrsto formiran biofilm ima slojeve mikroorganizama koji mogu biti zaštićeni od sanitarnih sredstava rastvorljivih u vodi, kao što su kaustici, izbeljivači, jodofori, fenoli i sanitarna sredstva na bazi kvaternog amonijuma. Način nastanka biofilma može biti odgovoran što njegovi delići bivaju otkinuti pri prolasku hrane ili tečnosti preko površine na kojoj se on nalazi. Pošto je sila kidanja jača od sile vezivanja u slojevima na vrhu biofilma, komadići polisaharidnog cementa, sa pratećom populacijom mikroorganizama, bivaju preneti na proizvod, a samim tim sledi i kontaminacija (Obradović, 2007).

Mikroorganizmi koje je posebno teško ukloniti zbog zaštite koju biofilm pruža su Pseudomonas i Listeria monocytogenes. Trenutni podaci ukazuju na to da je tretman toplotom efikasniji od tretmana hemijskim sredstvima, a teflon je lakše očistiti od biofilmova nego nerđajuć čelik.

Ne postoje proceduralne specifikacije ili propisi o uklanjanju i dezinfekciji biofilmova. Biocid se mora koristiti u koncentraciji 10 do 100 puta većoj od normalne kako bi uspeo da deaktivira organizme u biofilmu. Prilikom testiranja sanitarnih sredstava - uz prisustvo tople vode na 82°C; hlora na 20, 50, i 200 ppm; i joda na 25 ppm - bakterije na nerđajućem čeliku su preživle, čak i nakon potapanja u sanitarno sredstvo u trajanju

od 5 min. Jedini pravi germicid, za koji je dokazano da je efikasan protiv biofilmova u rastvorima od 3% i 6%, je prah zasnovan na vodonik peroksidu (Marriott & Gravani, 2006).

## Sanitacija u fabrikama za proizvodnju pića

Autor: dipl. ing. *Zdravko Šumić*

1. [MIKROBIOLOGIJA PROIZVODNJE PIĆA](#)
2. [PRINCIPI SANITACIJE U FABRIKAMA ZA PROIZVODNJU PIĆA](#)
  1. [Procedure u radu zaposlenih](#)
  2. [Postupak čišćenja](#)
  3. [Inspekcija sastojaka i sirovog materijala](#)
3. [SANITACIJA U FABRIKAMA ZA PROIZVODNJU BEZALKOHOLNIH PIĆA](#)
  1. [Automatizovana oprema za čišćenje](#)
  2. [Nakupljanje nečistoće od tragova guma](#)
  3. [Nagomilavanje nečistoće na pokretnoj traci](#)
  4. [Formiranje skrame](#)
  5. [Biofilmovi](#)
  6. [Vrela sanitacija](#)
  7. [Tehnologija membrana](#)
  8. [Rukovanje kontejnerima](#)
  9. [Punjač flaša](#)
  10. [Zaključak](#)
4. [Literatura](#)

Pošto nečistoća koja se može naći u fabrikama za proizvodnju pića prvenstveno sadrži dosta šećera i rastvorljiva je u vodi, nju je lakše ukloniti od one koja je prisutna u nekim drugim fabrikama. Uklanjanje nečistoće i mikrobiološka kontrola predstavljaju mnogo veći problem u pivarama i vinarijama.

### MIKROBIOLOGIJA PROIZVODNJE PIĆA

Pošto fabrike za proizvodnju pića, kao na primer pivare, moraju održavati kulturu kvasaca čistom, važno je da se poželjni mikrobi zadrže, a da se uklone oni koji izazivaju kvarenje i nezdrave sanitarne uslove. Neefikasna sanitacija može dovesti do problema sa prihvatljivošću proizvoda, jer mikroorganizmi koji dovode do kontaminacije, čak iako se drže pod kontrolom, nikad nisu potpuno eliminisani iz okruženja.

Pivare se razlikuju od većine fabrika po tome što opšte poznati patogeni mikroorganizmi normalno ne predstavljaju značajniji problem, prvenstveno zbog prirode sirovih materijala, tehnike proizvodnje i ograničenih karakteristika okruženja prisutnih kod finalnog proizvoda (niske pH vrednosti, koncentracije alkohola, i ugljen-dioksida pod pritiskom). Izuzetak od ovoga predstavlja malo verovatna mogućnost da značajne količine toksičnih proizvoda metabolizma određenih gljiva pređu sa zagađenog sirovinskog materijala na finalne proizvode (Marriott & Gravani, 2006). Neophodna je stroga kontrola sirovinskog materijala kako bi se obezbedio prihvatljiv proizvod, zbog toga što ne postoji zadovoljavajući metod za detoksikaciju proizvoda koji su kontaminirani.

### PRINCIPI SANITACIJE U FABRIKAMA ZA PROIZVODNJU PIĆA

Mora biti obezbeđena adekvatna količina toaleta, održavanih u dobrim sanitarnim uslovima. Oni moraju biti locirani na maloj udaljenosti od prostorije za flaširanje i drugih proizvodnih pogona. Od zaposlenih se mora zahtevati da peru ruke posle korišćenja toaleta. Fontane sa vodom za piće bi trebalo da imaju zaštitu kako bi se sprečio kontakt između usta ili nosa osobe koja ih koristi i otvora za vodu.

### **Procedure u radu zaposlenih**

Kao i kod drugih operacija sa hranom, sanitacija je timski posao. Veoma je bitno da u fabrikama za proizvodnju pića radnici počiste za sobom. Periodično čišćenje povećava urednost, smanjuje mogućnost kontaminacije, i minimizuje vreme potrebno za čišćenje na kraju radne smene ili tokom prelaska sa jednog na drugi proizvod u procesu proizvodnje. Pored toga, jedan ili više zaposlenih koji rukuju opremom za punjenje flaša ili konzervi često imaju vremena da pokupe srću ili druge otpatke ili da vodom speru ono što se prosulo, kao i druge viškove materijala.

Efikasno održavanje čistoće u fabrikama za proizvodnju pića zavisi od obučenosti i standarda za razvoj odgovarajućih radnih navika zaposlenih lica. Stroge sanitarne procedure i radne navike trebalo bi razvijati putem efikasne komunikacije, programa obuke, edukativnog materijala i neprekidnog nadzora i rukovođenja. Zaposleni bi trebalo da budu upućeni kako, kada i gde da čiste kako bi odmah uklonili nečistoću i otpatke koji bi mogli biti pogodno tle za razvoj štetočina i mikroorganizama. Oprema koja curi bi trebalo da bude odmah popravljena. Ako se primete glodari, ptice, insekti, ili plesan, zaposleni bi trebalo da ili preduzmu odgovarajuće mere kojima bi to ispravili ili prijave probleme. Zaposleni bi trebalo da budu obučeni po pitanju odgovarajućih skladišnih procedura, kako se ne bi stvorila legla štetočina i kako bi čišćenje bilo sprovedeno na odgovarajući način. Dalje instrukcije bi trebalo da se odnose na zatvaranje vrata i prozora, uklanjanje kontaminiranog materijala i materijala u višku, i čišćenje i sanitaciju opreme.

U fabrikama za proizvodnju pića se primenjuju sledeća sanitarna pravila:

- Svi zaposleni koji posete toalet moraju oprati ruke pre povratka na posao.
- Bilo kakav prosuti materijal ili proizvod

ne sme biti vraćen u proizvodni pogon.

- Otpadni materijal mora biti smešten u kontejnere (sa čvrsto prijanjajućim poklopcima) pogodnim za uklanjanje.
- Od svakog zaposlenog se traži da svoj neposredni radni prostor drži čistim i urednim.
- Pušenje je zabranjeno, osim u tačno određenim prostorima.
- Pljuvanje je zabranjeno svuda u fabrici.
- Kako bi se osigurao odgovarajući nivo čistoće, trebalo bi da od strane menadžmenta periodično bude sprovedena inspekcija odeće, menze i ormarića za odlaganje odeće.
- Zaštitna oprema za glavu bi trebalo da bude stalno u upotrebi.

### **Postupak čišćenja**

Postoji šest standardnih koraka u procesu čišćenja (osim kod CIP sistema) u fabrikama za proizvodnju pića.

1. Predpranje kako bi se uklonili veliki otpaci i nelepljive nečistoće, pokvasila oblast koju treba očistiti, i povećala efikasnost sredstava za čišćenje.
2. Primena sredstva za čišćenje (obično u vidu pene) kako bi se omogućio neposredan kontakt vode sa nečistoćom radi efikasnog kvašenja i dubinskog čišćenja.
3. Temeljno čišćenje i provera čistoće
4. Ispiranje radi uklanjanja rastvorene nečistoće i sredstva za čišćenje, kako bi se povećala efikasnost sanitarnih sredstava.
5. Sanitacija sa jedinjenjima koja sadrže kvaternerni amonijum (sa ili bez kiseline), kiselu-anjonske komponente, peracetilnu kiselinu, jedinjenja hlora, ili jodofor kako bi se uništili preostali mikroorganizmi.
6. Spiranje sanitarnog sredstva koje sadrži kvaternerni amonijum (pogotovo ako je koncentracija veća od 200 ppm) pre nego što se na očišćenu oblast stavi bilo kakav materijal koji se koristi za proizvodnju pića.

### ***Inspekcija sastojaka i sirovog materijala***

Zbog toga što se kontaminacija stranim objektima i mikroorganizmima javlja i kod sirovog materijala i kod konačnog proizvoda, trebalo bi izvršiti inspekciju, uključujući deratizaciju i dezinfekciju, radi otkrivanja prisustva stranih tela. Od dobavljača bi trebalo tražiti dokaze o inspekciji izvršenoj u skladu sa HACCP standardima.

### **SANITACIJA U FABRIKAMA ZA PROIZVODNJU BEZALKOHOLNIH PIĆA**

Ljuske voća koje se koristi za proizvodnju sokova trebalo bi sanitizovati sa hlor dioksidom. Alternativa toploj pasterizaciji za smanjenje *E. coli* i *Salmonella* u jabukovom sirću i soku od narandže je primena tretmana ozonom. Ako se ne izvrši sanitizacija, patogeni, poput *E. coli* O157:H7 u jabukovom soku ili sirću, mogu kontaminirati proizvod.

Odgovarajuća higijena u postrojenjima za proizvodnju pića uključuje upotrebu sanitizovane vode, pare i vazduha. Visoko kvalitetne tečnosti i gasovi potrebni prilikom pravljenja završnog proizvoda ili su uključeni u materijal za pakovanje koji je u kontaktu sa proizvodom. Želja da se proizvode prihvatljivi proizvodi i da se zadovolje zdravstveno bezbednosni standardi je dovela do toga da nekoliko proizvođača pića primenjuju različite tipove filtriranja kako bi uklonili mikroorganizme i druge čvrste ili rastvorene materijale. Filtracija u cilju uklanjanja čestica iz tečnosti ili mikrobiološka kontrola vode, vazduha i pare se postiže apsolutnom filtracijom kako bi se sprečilo da čestice koje izazivaju kontaminaciju, a veće su od pora na filterima, prođu kroz filter i uđu u filtrat.

Pošto bi pića kao što su sokovi, flaširana voda, pivo i destilirana alkoholna pića, trebalo proizvoditi korišćenjem vode bez mikroorganizama i drugih čestica, neki oblik tretmana je neophodan. Različiti tretmani uključuju flokulaciju, filtriranje (kroz pesak), hlorisanje, sterilno filtriranje, reversnu osmozu, korišćenje aktivnog uglja i dejonizaciju. Svrha korišćenja vode određuje i tip i opseg tretmana.

Kondicioniranje vode radi njene upotrebe u fabrikama za proizvodnju pića se prvenstveno ostvaruje uklanjanjem čestica i mikrobiološkom kontrolom. Kontaminirajuće čestice koje mogu biti prisutne u vodi se najčešće uklanjaju flokulacijom i filtriranjem kroz pesak. Postavljanje apsolutnih filtera iza filtera sa peskom će ukloniti sve čestice koje su veće od pora filtera pre nego što dođe do hlorisanja i tretmana aktivnim ugljem.

Aktivni ugalj se koristi kako bi uklonio višak hlora, trihalogen-metani, i ostala jedinjenja povezana sa dezinfekcijom korišćenjem hlora. Međutim, aktivni ugalj otpušta ugljena vlakna i tako obezbeđuje mesto za potencijalni rast mikroorganizama. Podloge od uglja su potencijalni izvori mikrobiološke kontaminacije i teško se dezinfikuju. Stoga filtriranje pre i posle upotrebe slojeva uglja dovodi do smanjenja unošenja mikroorganizama i čestica druge vrste.

Slojevi smole koji se koriste za dejonizaciju vode predstavljaju potencijalna mesta za rast mikroorganizama i mogu osloboditi ili otpustiti čestice smole u vodu koja je pod tretmanom ili u meku vodu. Apsolutni filter će obezbediti da čestice ili mikroorganizmi veći od širine pora ne uđu u tretiranu vodu. Kao konačna faza tretmana, ubacivanje sterilisamog najlona 6,6 - 9.2  $\mu\text{m}$  u filter će ukloniti mikroorganizme prisutne u vodi, ako je ona bila pre toga sterilizovana. Sterilna

filtracija ne zahteva hemikalije i korisna je zbog toga što se lako sprovodi i što zahteva malo energije. Proizvod siguran od mikroorganizama može biti proizveden korišćenjem kombinacije flokulacije i filtriranja koje zatim prati apsolutni filter.

Iako se para redovno koristi u proizvodnim operacijama, ona može biti i izvor kontaminacije. Para se obično stvara u bojlerima od ugljeničnog čelika, koji su veoma podložni rđanju. Fini nepropustljivi sloj rđe, koji se ponaša kao barijera za zaštitu od dalje korozije, se normalno stvara kao rezultat neprestanog rada bojlera. Periodična upotreba bojlera omogućava neprekidno snabdevanje bojlera svežim vazduhom koji sadrži kiseonik i uzrokuje oksidaciju gvožđa i nastanak oksida gvožđa, ili rđe. Neprestano stvaranje rđe uzrokuje formiranje sloja rđe i kontaminaciju pare. Upotreba pare dovodi do kontaminacije, a čestice gvožđa iz prenosnog sistema bojlera oštećuju površinu opreme, zagušuju otvore za paru, ispunjavaju otvore i pore filtera, i dovode do rđanja površine opreme. Efikasnost proizvodnje se smanjuje zbog promene mogućnosti za prenos temperature do koje dolazi kod prenosnika toplote. Ovaj problem je umanjen ubacivanjem pare za kuvanje u sistem, uz neprekidno snabdevanje omogućeno instalacijom paralelnih poroznih nerđajućih filtera sa čelikom kako bi se omogućilo čišćenje jednog dela dok je drugi u upotrebi. Upotreba druge vrsta pare će dovesti do kontaminacije.

Za čišćenje rezervoara, proizvodnih linija i filtera, u pogonima za flaširanje se koristi CIP (cleaning-in-place) oprema. Većina proizvođača koji proizvode sokove različitih aroma preferiraju CIP kao alat za sprečavanje „prelaska“ arome (pogotovo kod bezalkoholnog piva). Preporučuje se i TACT (time, action, concentration, and temperature) pristup čišćenju fabrika za proizvodnju pića. Sve dok se dobija

praktično isti rezultat, parametri se mogu menjati; na primer, 1% koncentrovano sredstvo za čišćenje na 43,5°C može delovati isto kao i 0,5% koncentrovano na 60°C.

Povećana efikasnost i glatkoća mogu biti dostignuti korišćenjem automatizovanih sistema čvrstih maziva. Ova oprema štedi vreme i troškove podmazivanja, a smanjuje i kontaminaciju prilikom podmazivanja.

### ***Automatizovana oprema za čišćenje***

Jedan deo industrije gaziranih pića se okrenuo mehanizovanoj opremi kako bi olakšao čišćenje. Danas je u ponudi više vrsta automatizovanih rešenja, kao npr. automatizovano pravljenje hemikalija i sistem izmeštanja i kontrole, koji daju okvir operaciji čišćenja.

Sistem kontrolisan mikroprocesorom može biti podešen ukucavanjem broja za identifikaciju ili korišćenjem magnetnih kartica. Kontrolni deo sadrži detaljnu listu zahteva u kojoj su nabrojane sanitarne procedure i tipovi opreme, kao odgovarajuće hemikalije i potrebne količine. Zatim sistem raspršuje proizvod u hemijski rezervoar za višekratnu upotrebu, koji se koristi pri sanitaciji fabrike. Ova oprema može sadržati detaljne podatke kako bi se lakše pratilo da li je sve u skladu sa standardima, obavljale analize troškova, i sačinjavali izveštaji za inspeksijske službe. Izveštaji uključuju podatke o tome koje su hemikalije korišćenje pri svakoj upotrebi, kada i u kojim količinama, i u koje vreme i kog datuma. Nalepnice na rezervoarima sa hemikalijama mogu biti kodirane po bojama, tako da radnici moraju da zamene samo prazne rezervoare koji odgovaraju bojama označenim na podu.

Kompjuterski kontrolisana CIP jedinica usmerava vodu i rastvore u odgovarajućem



pravcu i automatski održava odgovarajuće uslove za rad. Četiri osnovna parametra koje bi trebalo kontrolisati su vreme, temperatura, hemijska koncentracija i udari, što se odnosi na snagu talasa tečnosti pri kretanju kroz cev. Voda za ispiranje se može još jednom iskoristiti, a jedinjenja za čišćenje nekoliko puta. Početno predpranje može koristiti recikliranu vodu iz prethodnog konačnog pranja.

### ***Nakupljanje nečistoće od tragova guma***

Tragovi guma predstavljaju nečistoću koju je teško ukloniti. Najefikasnije jedinjenje za čišćenje koje se primenjuje u ovom slučaju je ono koje je rastvoreno i bazno. Kako bi pomogli lakoću i efikasnost čišćenja, trebalo bi razmotriti upotrebu mehaničkih sprava za ribanje. Nečistoća sa poda bi trebalo da bude uklonjena svaki dan kako bi se pospešila lakoća čišćenja i izbeglo da se nečistoća dodatno veže za površinu poda.

### ***Nagomilavanje nečistoće na pokretnoj traci***

Do ovog nagomilavanja najverovatnije dolazi od prosutih proizvoda, maziva kojim se podmazuje traka, opiljaka sa trake i rezervoara, i nerastvorenog sapuna. Primena maziva za pokretnu traku koje sadrži deterdžent će umanjiti kontaminaciju. Korišćenje pene za čišćenje, uz ispiranje pod visokim pritiskom, predstavlja efikasan način za uklanjanje ove nečistoće.

### ***Formiranje skrame***

Formiranje skrame se najčešće javlja unutar rezervoara za skladištenje, traka za prenos i filtera. Tanki slojevi izazivaju zatamnjenje na površini, ali kako se njihovo gomilanje nastavlja, javlja se plavičasta boja. Kako skrama postaje

deblja, može se javiti i beličasti izgled. Iako se ostaci šećera mogu ukloniti relativno lako, slojevi od aspartama i određenih smola se teško uklanjaju. Rezervoari mogu biti ručno očišćeni, ali se često koristi mašinsko čišćenje. Kako bi se uklonila skrama sa površine trebalo bi primeniti jedinjenje za čišćenje koje je hlorisano (ili neko jedinjenje koje sadrži surfaktante za razlaganje nečistoće nastale od hrane).

### ***Biofilmovi***

Ostaci pića ili njihovih sastojaka obezbeđuju hranljive materije za rast mikroorganizama i pojavu biofilmova. Biofilmovi mogu nastati unutar ventilatora, unutar i izvan grejača i pasterizatora, i unutar rashladnih uređaja koji koriste ugljen dioksid. Kao i kod nastanka skrame, uklanjanje biofilma je poboljšano upotrebom hlorisanog baznog sredstva za čišćenje. Trebalo bi koristiti sanitarna sredstva koja sadrže kvaternerni amonijum ili neki drugi biocid, kako bi umanjili stvaranje biofilmova, jer se njihovo formiranje može dogoditi do 24h nakon upotrebe.

### ***Vrela sanitacija***

Sanitacija fabrika za proizvodnju pića se razlikuje od one u fabrikama za proizvodnju hrane. Tokom nekoliko poslednjih godina pojavio se trend korišćenja vrela sanitacije. Vrela sanitacija se može sprovesti kada su sredstva za čišćenje u dodiru sa mašinama za proizvodnju, kao što su rezervoari za prikupljanje, jedinice za mešanje i punjači, i rashladni uređaji koji koriste ugljen dioksid. Iako ova sanitarna metoda nije ekonomična, zbog troškova energije koju zahteva i neuspeha pri otklanjanju bakterija, ipak ima određenih prednosti zbog svoje prodornosti. Vrelina može

efikasno da prođe kroz objekte i uništi mikroorganizme koji su iza zaptivača ili u malim pukotinama.

Vrela sanitacija nije sterilizacija. Ona podrazumeva podizanje temperature površine do 85°C tokom 15 minuta. Sterilizacija zahteva 116°C tokom 20 minuta. Sanitacija samo smanjuje broj mikroorganizama na prihvatljiv nivo. Neki od otpornijih mikroorganizama (spore) ostaju živi. Hemijski sanitarna sredstva mogu ostvariti isti broj uništenih mikroorganizama kao i vrela sanitacija, a pritom je postupak mnogo kraći.

Posebno napravljena jedinjenja za čišćenje mogu biti iskorišćena tokom postupka vrela sanitacije kako bi se olabavili i uklonili biofilmovi i nečistoća. Ove komponente mogu biti posebno napravljene kako bi bolje delovale na nečistoću i bile pogodne za ispiranje tokom postupka vrela sanitacije. Uklanjanje nečistoće i biofilмова predstavlja osnovu za efikasnu sanitaciju. Neživ, ali neoštećen biofilm predstavlja veoma pogodno mesto za pričvršćivanje i hranljivu supstancu za razvoj drugih biofilмова.

### ***Tehnologija membrana***

Tehnologija membrana koja se koristi za tretman vode u industriji za proizvodnju pića uključuje širok spektar tehnika za uklanjanje polimernih i keramičkih nečistoća, ubrajajući tu i korišćenje mikrofiltera kako bi se uklonile granule, aktivni ugalj i reversnu osmozu. Partikularni filteri uklanjaju relativno velike čestice rastvora i ugrađeni su na kraju lanca za tretiranje vode kao „filteri za poliranje“ kako bi uklonili deliće rastvora, oksidisano gvožđe, ugalj, ili višak kalcijum karbonata koji može nastati tokom primarnog procesa. Mikrofilteri se ugrađuju zbog svoje mogućnosti da kontrolišu veličinu pora što potpomaže pri

mehaničkom uklanjanju bakterija iz vode. Često ova tehnologija predstavlja višefazni pristup uklanjanju koji uključuje serijske filtere koji mogu da smanje veličinu pora, kako bi minimizirali potencijalno zagušenje najmanjih pora. Ovo predstavlja važan alat za uklanjanje čestica, velikih organskih tvari, i mnogih mikroorganizama, uključujući viruse, bakterije i protozoe. Glavni doprinos membrana koje se koriste u tretmanu vode u industriji za proizvodnju pića je pritisak, koji se prostire duž cele membrane i primorava filtriranu ili pročišćenu vodu da prođe kroz membranu, dok nečistoće ostaju iza membrane.

### ***Rukovanje kontejnerima***

Flaše, konzerve, tegle i drugi kontejneri koji se koriste za bezalkoholna pića predstavljaju pogodne izvore kontaminacije od strane stranih objekata, kao što su metalni opiljci, drvo i drugi materijali. Kontejneri za proizvode bi trebalo da budu pregledani pre upotrebe, i to u skladu sa standardnim planom za uzorke. Jednokratne kontejnere bi trebalo isprati vodom neposredno pre punjenja. Kontejnere koji se mogu ponovo puniti, kao što su flaše i burići, bi trebalo oprati sa sredstvom za čišćenje koje je efikasno protiv organskih nečistoća i temeljno isprati kako bi se posle uklonili ostaci tog sredstva.

### ***Punjač flaša***

Oprema za flaširanje bezalkoholnih i alkoholnih pića može uzrokovati razbijanje staklenih flaša, stvarajući tako fizičku opasnost. Osoblje fabrike bi trebalo stalno da pazi na slomljeno staklo koje može upasti u kontejnere za proizvode kada se flaše zaglave pri prilasku filteru, a pokretna traka nastavi da se kreće i razbija flaše

jednu o drugu.

### **Zaključak**

Većina nečistoća koje se mogu naći u fabrikama za proizvodnju pića imaju visok sadržaj šećera u sebi, razlažu se u vodi, i uklanjaju se relativno lako. Neefikasna sanitacija u fabrici za proizvodnju pića može umanjiti prihvatljivost proizvoda, jer se mikroorganizmi koji izazivaju kontaminaciju teško uklanjaju iz okruženja. Stroga kontrola sirovih materijala je ključna za obezbeđivanje metode za detoksikaciju završnog proizvoda koji je kontaminiran.

Bakterije koje imaju najveći značaj u pivarama su bakterije koje ne formiraju spore. Najefikasnije sredstvo za sprečavanje kvarenja pića je kontrola infekcija putem usklađenih programa čišćenja i saniranja, koji je specifičan za svaku fabriku posebno. Čišćenje šmrkom je najefikasnije, uz primenu sredstva za čišćenje koje ne peni previše i pomešano je u pravom odnosu, i koje ima specifične osobine čišćenja u odnosu na nečistoću koju treba ukloniti. Za konačno pranje posuda za fermentaciju, traka za hladnu pripremu za fermentaciju i hladnjaka, preporučuje se korišćenje sanitarnih sredstava kao što su hlor, jod ili kiseli anjonski rastvarač.

Zahtevi za sanitacijom se povećavaju tokom procesa pravljenja vina i vrhunac dostižu prilikom flaširanja. Obično je kombinacija mokrog i suvog čišćenja najprikladnije rešenje. Opremu za proizvodnju vina bi trebalo što temeljnije rasklopiti, detaljno oprati sa vodom i fosfoatnim ili ugljeničnim čistačem za nemetalne površine i kaustičnom sodom ili nečim sličnim za čišćenje metalnih delova; zatim sanitizovati sa hipohlorito ili jodoforom. Postavljanje cirkularnog tuša unutar rezervoara će pomoći u uklanjanju

tartarne kiseline, kao i natapanje u natrijum karbonatu i kaustičnoj sodi. Punjači, trake za flaširanje, i druga oprema za pakovanje se može čistiti CIP sistemom. Brza obrada grožđa nakon branja će umanjiti kontaminaciju koja potiče od muva.

Kontrola sirovih materijala je ključna pri pravljenju destiliranih alkoholnih pića. Ako sanitarni uslovi nisu ispunjeni ugrožena je i zarada i prihvatljivost proizvoda na tržištu.

Zašto su se pojavili psihotropni i drugi patogeni

Kako bi dodatno poboljšali metode otkrivanja patogena, navodimo i ostale razloge zbog kojih se ovi mikroorganizmi pojavljuju. Primeri su sledeći:

1. Promene u navikama ishrane. Neki „organski uzgojeni“ proizvodi koji se doživljavaju zdravim nisu zdravstveno bezbedni. Pojava listerioze je bila vezana za salatu napravljenu od kupusa koji je fertilizovan sa ovčijim gnojivom.
2. Promene u doživljavanju i svesnosti o tome šta čini opasnosti, rizike i higijenu. Napredak u epidemiologiji, pogotovo u prikupljanju podataka korišćenjem kompjutera, su doprineli otkrivanju listerioze koja se prenosi putem hrane.
3. Demografske promene. Bolesni ljudi i oni kojima je narušen imuni sistem se danas drže u životu mnogo duže, što povećava mogućnost za pojavu novih infekcija. Turizam i imigracija mogu uticati na pojavu određenih bolesti.
4. Promene u proizvodnji hrane. Masovna proizvodnja sirovih namirnica povećava mogućnost stvaranja ekoloških niša u kojim mikroorganizmi mogu da se razvijaju i odakle mogu da se šire. Voće i povrće uzgojeno u državama koje imaju manje stroge higijenske procedure je dovelo do pojave dodatne kontaminacije.
5. Promene u obradi hrane. Upotreba vakuumskih pakovanja i hladnog skladištenja hrane mogu uticati na preživljavanje fakultativnih

mikroorganizama.

6. Promene u načinu rukovanja i pripremi namirnica. Duži vek trajanja hrane kao što je povrće, salate, blagi sirevi, i namirnice od mesa mogu dovesti do povećanja broja psihotropnih patogena, kao što je *L. monocytogenes*.

7. Promene u ponašanju mikroorganizama. Mnogi od faktora koji su odgovorni za patogenost i određeni plazmidima koji mogu biti preneti sa jedne vrste na drugu. Pojava bolesti koje se prenose putem hrane je rezultat složenih međusobnih interakcija više faktora. Nove mikroorganizmiološke opasnosti mogu biti rezultat promene u ponašanju mikroorganizama koji ranije nisu smatrani patogenima i pojave uslova koji su im omogućili da ispolje te promene.

## Mikotoksini

Autor: dipl. ing. *Zdravko Šumić*

### 1. [Literatura](#)

Mikotoksini (mykes – grč. gljiva, toxikon – grč. otrov) su ekstracelularni metaboliti

plesni, koji su toksični ili imaju druge negativne biološke efekte po ljude i životinje (Tabela 5). Ta jedinjenja vrlo različitih hemijskih struktura onečišćuju žitarice i druge namirnice posebno u tropskim krajevima, jer viša temperatura i vlažnost pogoduju rastu plesni. Čovek je najčešće izložen mikotoksinima putem hrane, no u nekim slučajevima može doći do njihovog udisanja, prolaska kroz kožu ili parenteralne izloženosti.

Akutna i hronična oštećenja zdravlja izazvana mikotoksinima nazivaju se mikotoksikoze. Za neke mikotoksine se pretpostavlja ili je dokazano da su kancerogeni za ljude. Mikotoksikoze nisu uobičajene kod ljudi (Marriott & Gravani, 2006).

Plesni koje imaju značaj za prehrambenu industriju zbog potencijalne proizvodnje mikotoksina uključuju članove rodova: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Trichothecium*, *Byssochlamys* i *Sclerotinia* (Tabela 6).

**Tabela 5.** Bolesti ljudi koje se povezuju s unošenjem toksičnih količina mikotoksina (Katalenić, 2004)

Sistem	Zdravstveni problemi	Mikotoksini
krvotok	smanjena elastičnost žila, unutrašnja krvarenja	aflatoksini, satratoxini, roridini
digestivni sistem	proliv, povraćanje, krvarenje iz creva, oštećenje jetre, nekroze, ibrioze, rane na mukoznim membranama, anoreksija	aflatoksini, T-2 toksini, deoksinivalenol (vomitoksin)

respiratorni sistem	ozbiljne poteškoće s disanjem, krvarenje iz pluća	trikotehekeni
nervni sistem	drhtavica, nekoordinirani pokreti, depresija, glavobolja	tremogeni, trikotehekeni
koža	osip, fotosenzitivnost	trikotehekeni
urinarni sistem	oštećenje bubrega	ohratoksin, citrinin
reproduktivni sistem	sterilnost, promene u reproduktivnim ciklusima	T-2 toksin, zearalenon
imuni sistem	promene ili potpuno uništenje	mnogi mikotoksini

**Tabela 6.** Glavne toksinogene vrste plesni i njihovi glavni mikotoksini (Mašek i Šerman, 2006)

Vrsta plesni	Mikotoksin
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoksini
<i>Aspergillus flavus</i>	Ciklopiazonična kiselina
<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>Penicillium cyclopium</i>	Ohratoksin: A
<i>Penicillium expansum</i>	Patulin
<i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium. graminearum</i> , <i>Fusarium sporotrichioides</i>	Deoxynivalenol (DON)
<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>Fusarium poae</i>	T -2
<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium poae</i>	Diacetoxyscirpenol (DAS)
<i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium sporotrichioides</i>	Zearalenon
<i>Fusarium moniliforme</i>	Fumonisini

Acremonium coenophialum	Ergot alkaloidi
Acremonium lolii	Lolitrem B
Phomopsis leptostromiformis	Fomopsini
Pithomyces chartarum	Sporidesmini

Ove plesni kontaminiraju žitarice pre i posle žetve, prilikom neadekvatnog skladištenja i posledično se mogu naći u hrani za životinje i ljude. Žitarice su najčešće kontaminirane aflatoksinom, deoksini-valenolom (vomitoksin, DON), zearalenonom, fumonizinima i T-2 toksinom (Sokolović, 2005). Mikotoksini mogu da uđu u namirnice putem direktne kontaminacije, uzrokovane razvojem plesni na hrani. Takođe, kontaminacija može biti i indirektna, putem korišćenja kontaminiranih sastojaka pri obradi hrane ili preko konzumacije hrane koja sadrži ostatke mikotoksina (Marriott & Gravani, 2006).

Iako se preradom žitarica u krajnje proizvode vidljiva plesan može ukloniti, većina mikotoksina neće biti promenjena. Mikotoksini su vrlo stabilni. Ne inaktivišu ih uobičajeni postupci proizvodnje i prerade hrane, zbog čega redovno dolazi i do kontaminacije gotovih krmnih smesa. Daljnji postupci skladištenja hrane takođe mogu povoljno delovati na proizvodnju mikotoksina.

Kontrola proizvodnje mikotoksina je složena i teška. Informacije koje se tiču toksičnosti, kancerogenosti, i teratogenosti po ljude, stabilnosti mikotoksina u hrani, i opsegu kontaminacije su nedovoljne. To znanje je potrebno kako bi se uspostavile smernice za rad i potrebne doze za tretman mikotoksina. Najbolji pristup za uništavanje mikotoksina u hrani je sprečavanje rasta plesni u svim fazama proizvodnje, prikupljanja, transporta, obrade, skladištenja i prodaje. Sprečavanje

štete koju čine insekti i mehaničke štete tokom celog procesa od proizvodnje do konzumacije, kao i kontrola vlažnosti, su ključni faktori. Mikotoksini se proizvode na nivoima aw iznad 0,83, ili približno 8% do 12% vlažnosti zrna, što zavisi od tipa žitarice (Marriott & Gravani, 2006). Stoga je neophodno, brzo i temeljno sušenje i skladištenje u suvim uslovima. U industriji proizvodnje kikirikija se koriste fotoelektrične „oči“ kako bi se pregledala i pneumatski uklonila zrna promenjene boje koja možda sadrže aflatoksine, što pomaže u kontroli i izbegavanju teškog, monotonog i skupog procesa ručnog sortiranja.

Zemlje članice EU su uskladile zakonsku regulativu o maksimalnim dopuštenim koncentracijama mikotoksina u hrani za životinje i ljude (EC/576/2006 i EC/1881/2006). U žitaricama i njihovim prerađevinama namenjenim ljudskoj prehrani maksimalno dozvoljene koncentracije za g/kg (dečja  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , odnosno 20  $\mu\text{ohratoksin}$  i zearalenon kreću se od 0,5 g/kg (neprerađene žitarice). U stočnoj  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , odnosno 200  $\mu\text{hrana}$ ) do 5 hrani su najveće dopuštene koncentracije između 0,05 i 0,25 mg/kg za ohratoksin te između 0,1 i 3 mg/kg za zearalenon (Pepeljnjak i sar. 2008).

Aflatoksini. Od svih mikotoksina, aflatoksin se smatra najvećom potencijalnom pretnjom po zdravlje ljudi. On je proizvod *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*, koje su sveprisutne u prirodi zbog spora koje se raznose

vazдушnim strujanjima. Ove plesni se često nalaze među žitaricama, bademima, orasima, kikirikijem, pamučnim semenom i kineskom šećernom trskom. Razvoj mikroorganizama se može javiti kao posledica oštećenja namirnica od strane insekata, sporog sušenja i uskladištenja u vlažnim uslovima.

Aflatoksini su mešavina srodnih hemijskih jedinjenja. Serija aflatoksina sa oznakom B ima u strukturi molekula ciklopentanski prsten koji je u seriji G zamenjen laktonom. Aflatoksini B fluoresciraju plavo (blue), a aflatoksini G zeleno (green). Tri strukturne varijacije molekula aflatoksina daju familiju od osam aflatoksina, a od osamnaest do sada poznatih toksina aflatoksin B1 je najvažniji u pogledu zastupljenosti i toksičnosti (Sinovec i sar. 2006).

Klinički znaci akutne aflatoksikoze uključuju gubitak apetita, bezvoljnost, gubitak u težini, neurološke poremećaje, žuticu mukoznih membrana, i grčeve. Mogu se takođe javiti i edemi u telesnim šupljinama i krvarenje bubrega i crevnog trakta. Epidemiološki dokazi ukazuju na povezanost između primarnog raka jetre, aflatoksina, i načina ishrane. U velikim dozama, aflatoksini su akutno toksični, izazivajući značajno oštećenje jetre uz crevno i peritonealno krvarenje, što na kraju dovodi do smrti (Marriott & Gravani, 2006).

Ohratoksin A. To je nefrotoksin s potencijalnim kancerogenim delovanjem; dovodi se i u vezu s razvojem endemske nefropatije. Glavni producenti ohratoksina A su: *Aspergillus ochraceus* i *Penicillium verrucosum* koji često kontaminiraju uskladištene žitarice. Okratoksin A je primarno nefrotoksičan, a u velikim dozama je i hepatotoksičan. Prema IARC-u (The International Agency for Research on Cancer) ohratoksin je mikotoksin s

mogućim kancerogenim delovanjem (Pepeljnjak i sar. 2008).

Trihoteceni. Trihoteceni predstavljaju grupu od gotovo 170 mikotoksina koje proizvode različite vrste plesni iz roda *Fusarium*, te rodova *Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Stachybotrys*, *Verticimonosporium* i nekih drugih. Sve ih karakteriše tetraciklični, seskviterpenoidni, 12,13-epoksi-trihotecenski prsten. Hemijski, dele se na tip A (T-2 toksin, diacetoksiscirpenol), tip B (deoksinivalenol, nivalenol), tip C (krotocin, bakarín) i D (satratoksin, roridin).

Proizvodnji trihotecena najbolje pogoduje vlažna tropska klima s visokom vlagom vazduha i širokim rasponom temperature od 6-24°C. Prirodna pojava trihotecena u hrani zavisi i o oštećenju zrna žitarica, vlažnosti hrane, koncentraciji kiseonika i ugljen dioksida, te od prisutnosti drugih vrsta plesni. Istovremeno postojanje različitih vrsta plesni može imati sinergistički ili antagonistički toksični učinak.

Trihoteceni su vrlo stabilni. Ne inaktivira ih autoklaviranje. Delotvorna inaktivacija postiže se zagrevanjem na 200-210°C u trajanju od 30-40 minuta, kao i 3-5 %-tnim rastvorom natrijum hipohlorita (Sokolović, 2005).

Zearalenon. Zearalenon sintetišu vrste *Fusarium* (*F. graminearum*). Najintenzivniji rast *Fusarium* plesni odvija se pri relativnoj vlažnosti vazduha od preko 70%, dok rosa i magla u periodu vegetacije žitarica posebno pogoduju razvoju plesni. Optimalna temperatura za razvoj plesni ove grupe je od 18-24°C, s tim da je najveća produkcija zearalenona zapažena prilikom naizmeničnog smenjivanja srednjih i viših temperatura. Optimalna pH vrednost medijuma za rast

plesni i produkciju zearalenona je od 4,0 do 6,5, a sinteza se odvija pri aw višoj od 0,9 (Sinovec i sar. 2006).

Fusarium vrste kontaminiraju zrna još u polju, ali se rast Fusarium plesni i sinteza toksina nastavlja i u skladištima, posebno u koševima. Zearalenon se najčešće može naći u kukuruzu, ali treba uzeti u obzir činjenicu da su spore ubikvitarne, tako da se zearalenon nalazi i u drugim žitaricama (ječam, proso, pirinač, soja, pšenica).

Zearalenon je mikotoksin s uterotropnim, estrogenim i anaboličkim delovanjem kod domaćih životinja. Odgovoran je za reproduktivne poremećaje kod domaćih životinja, posebno svinja. Veže se za estrogene receptore uzrokujući hormonsku neravnotežu što dovodi do hipersetrogenizma, prolapsusa vagine i rektuma, resorpcije fetusa i pobačaja. Osim toga, izloženost velikim dozama zearalenona u hrani dovodi se u vezu s preuranjenim pubertetom (Pepeljnjak i sar. 2008).

Mikotoksini zahvataju gotovo sve procese proizvodnje uključujući uzgoj žitarica, preradu, transport, uzgoj životinja i, preko rezidua u hrani animalnog ili biljnog porekla, prehranu ljudi. Većina namirnica je podložna ovim ili drugim gljivama tokom neke od faza proizvodnje, obrade, transporta, skladištenja ili prodaje. Ako postoji razvoj plesni može doći i do proizvodnje mikotoksina. Postojanje plesni u namirnicama, međutim, ne mora neophodno da ukaže i na prisustvo mikotoksina. Pored toga, nedostatak plesni na namirnicama ne ukazuje i na to da su one bez mikotoksina, zato što toksin može postojati i nakon što plesan nestane.

Kako bi se sprečili štetni uticaji mikotoksina preventivu treba započeti sprečavanjem rasta plesni na žitaricama u polju, prilikom žetve, tokom skladištenja i prerade hrane. U slučaju pojave

mikotoksikoze najbolje je promeniti hranu, ukoliko sadrži mikotoksine. Upotreba inhibitora i adsorbensa plesni, kiselina ili drugih hemijskih jedinjenja može smanjiti količinu plesni, ali istovremeno neće imati nikakav uticaj na mikotoksine koji su već proizvedeni, pa čak ako se i plesni uklone. U novije vreme primenjuju se i različiti biološki adsorbensi koji kompetitivno vežu mikotoksine i time onemogućavaju njihovo štetno delovanje. Međutim, najbolji način sprečavanja pojava mikotoksikoza je upotreba kvalitetnih i mikrobiološki i hemijski ispravnih sirovina.

## Mikrobiološka kontrola mleka i mlečnih proizvoda

Autor: dipl. biolog - master **Vladimir Vukić**

1. [Uvod](#)
2. [Mikrobiološki pregled mleka](#)
  1. [Uzimanje uzoraka i priprema razređenja](#)
  2. [Određivanje ukupnog broja mikroorganizama u 1 ml ili 1 g](#)
3. [Mikrobiološki pregled fermentisanih mlečnih proizvoda](#)
4. [Mikrobiološki pregled sira](#)
5. [Patogeni mikroorganizmi u mleku i mlečnim proizvodima](#)
  1. [Koliformne bakterije](#)
  2. [Escherichia coli](#)
  3. [Salmonella](#)
  4. [Proteus](#)
  5. [Staphylococcus](#)
  6. [Clostridium](#)
  7. [Aerobne mezofilne sporogene bakterije tipa \*Bacillus subtilis\* – određivanje ukupnog broja u 1 ml mleka](#)
  8. [Aerobne termofilne sporogene bakterije tipa \*Bacillus \(Geobacillus\) stearothermophilus\* – dokazivanje prisustva u mleku](#)



9. [Lipolitičke bakterije – izolovanje, identifikacija i određivanje ukupnog broja u 1 ml ili 1 g](#)
6. [Literatura](#)

- ugljeni hidrati (laktoza) – 4,84 %,
- masti 3,76 %,
- mineralne materije (mikro i makro elementi) – 0,8 %,
- gasovi (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>),
- ostali sastojci (vitamini, enzimi, ostale azotne materije).

## Uvod

Ispravnost životnih namirnica je esencijalna za zdravlje potrošača. Zbog toga se mora vršiti njihova stroga kontrola kvaliteta. Namirnice mogu biti neispravne usled neispravnih sirovina, greške u proizvodnji (tehnologija proizvodnje, zagađenje neorganskom ili organskim jedinjenjima, kontaminacija mikroorganizmima) ili dugog stajanja pre upotrebe (umnožavanje mikroorganizama). Porastom trgovine i uvoza prehrambenih proizvoda, produžava se vreme transporta namirnica do krajnjih potrošača, a time i povećava mogućnost razvoja nepoželjnih mikroorganizama.

U ovom seminar kom radu će biti obrađena mikrobiološka kontrola ispravnosti mleka i mlečnih proizvoda.

Pod mlekom, u širem smislu reči, podrazumeva se tečnost bele boje, specifičnog mirisa i ukusa, koju izlučuje mlečna žlezda izvesno vreme posle partusa ženki sisara i koja služi za ishranu mladunaca. Mleko različitih vrsta sadrži iste komponente, ali njihov međusobni odnos može biti veoma različit (Đorđević, 1982).

Sastav mleka zavisi od mnogih faktora (vrsta, rasa, period laktacije, ishrana i dr.). Prosečan hemijski sastav mleka domaćeg govečeta je sledeći (www.tehnologijahrane.com):

- voda – 87,5 %,
- proteini (kazein, proteini surutke) – 3,13 %,

## Mikrobiološki pregled mleka

Zbog svog sastava mleko predstavlja veoma pogodnu podlogu za razvoj mikroorganizama, među kojima mogu biti patogeni za čoveka. Nakon muže mleko sadrži oko 1000 mikroorganizama u 1 ml. Vremenom se njihov broj uvećava, i usled njihovog metabolizma menjaju se senzorna, fizička i hemijska svojstva mleka. Kao kontaminanti mleka najčešće se navode mikrokoke (*Micrococcus*, *Staphylococcus*), fekalne enterokoke (*Enterococcus faecalis*), enterokoke mastitisa (*Enterococcus agalctiae*, *E. dysgalctiae*), asporogene i sporogene grampozitivne štapičaste bakterije (*Microbacterium*, *Corynebacterium*, *Arthobacter*, *Kurthia*, *Bacillus*) i asporogene gramnegativne bakterije (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Serratia*, *Alcaligenes*).

S obzirom da su mnogi mikroorganizmi prisutni u mleku štetni za čoveka, Pravilnikom o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu, propisane su obavezne mikrobiološke analize mleka („Sl. List SRJ“, br. 26, 1993):

- Određivanje ukupnog broja bakterija u 1 ml ili 1 g,
- Izolovanje i identifikaciju vrsta roda *Salmonella*,
- Izolovanje i identifikaciju koagulaza pozitivnih stafilokoka,

- Izolovanje i identifikaciju vrsta roda *Proteus*,
- Izolovanje i identifikaciju *E. coli*,
- Izolovanje i identifikaciju sulforedukujućih bakterija.

Mikrobiološkom kontrolom je obuhvaćeno:

- Sirovo mleko,
- Sterilizovano mleko,
- Pasterizovano mleko dok se nalazi u mlekari,
- Pasterizovano mleko u času prodaje potrošačima,
- Mleko u prahu,
- Zgusnuto zaslađeno mleko,
- Zgusnuto zaslađeno obrano mleko,
- Zgusnuto nezaslađeno mleko,
- Zgusnuto nezaslađeno obrano mleko.

### ***Uzimanje uzoraka i priprema razređenja***

Način uzimanja uzoraka zavisi od načina pakovanja, koji se razlikuje pri otkupu, proizvodnji i prodaji potrošačima. Uzorci se uzimaju u aseptičkim uslovima, i moraju biti reprezentativni za celokupnu količinu mleka. Ako se mleko nalazi u cisternama ili kantama, uzorci se uzimaju sterilnim priborom i pakuju se u sterilne, suve posude i potrebno je uzeti najmanje 200 ml. Uzorci se moraju ispitati u roku 24 sata. Ukoliko se mleko nalazi u originalnom pakovanju, uzima se jedno pakovanje ili najmanje 500 ml. Ukoliko je pakovanje male mase, uzimaju se uzorci ukupne mase 100 g.

S obzirom da mleko može biti kontaminirano mikroorganizmima u većem stepenu, potrebno je napraviti odgovarajuća razblaženja. Osnovno razblaženje je 1:10.

### ***Određivanje ukupnog broja mikroorganizama u 1 ml ili 1 g***

- Direktan (neposredan) metod

Ovaj metod podrazumeva direktno brojanje ćelija u razmazu mleka pod mikroskopom.

Sterilnom mikropipetom se nanese 0,01 ml uzorka na pločicu sa ucrtanim kvadratom površine 1 cm<sup>2</sup>. Preparat se boji prostim bojenjem (metilensko plavo) i posmatra pod mikroskopom (imerzioni objektiv). Nedostatak ovog metoda je što se broje i žive i mrtve ćelije, što stvara grešku u proceni stepena kontaminiranosti uzorka.

- Indirektan (posredan) metod

Princip metoda je pretpostavka da jedna ćelija obrazuje jednu koloniju. Da bi se ispunio ovaj preduslov, moraju se koristiti određena razređenja.

U ovom postupku 1 ml odgovarajućeg razređenja se otpipetira u sterilnu Petri ploču i prelije sa 15 ml otopljene i na 45 oS ohlađene podloge za ukupan broj bakterija. Radi preciznosti rezultata, zasejavanje se vrši u tri ponavljanja. Inkubacija se vrši na 30 oS u toku 72 sata, a za brojanje se odabiraju ploče sa 30 do 300 kolonija. Broje se sve izrasle kolonije. Dobijeni broj se množi faktorom razblaženja i time se dobija broj bakterija u 1 ml.

- Određivanje ukupnog broja bakterija utvrđivanjem vremena redukcije (reduktaza ogled).

U sterilnu epruvetu se otpipetira 10 ml mleka i doda 5 ml 0,01 % vodenog rastvora metilenskoplavog. Zapušena epruveta se stavi u vodeno kupatilo na temperaturu od 37 oS i prati vreme potrebno da se sadržaj obezboji. Smatra se da je mleko kontaminirano nedozvoljenim brojem bakterija ako je 4/5

uzoraka mleka obezbojeno u vremenu kraćem od dva sata. Prilikom očitavanja rezultata, gornji sloj mleka u visini od 1-2 mm treba zanemariti jer može doći do obezbojenja usled oksidacije iz vazduha (Škrinjar, 2001).

### **Izolovanje i identifikacija vrsta roda *Salmonella***

Vrste roda *Salmonella* ne smeju se nalaziti u 25 ml svih vrsta mleka i napitaka od mleka, niti u 25 g mleka u prahu. Izolovanje i identifikacija salmonela iz mleka su dati u poglavlju 5.3.

### **Izolovanje i identifikacija koagulaza pozitivnih stafilokoka**

Koagulaza pozitivne stafilokoke ne smeju se nalaziti u 0,01 ml sirovog mleka, niti u 1 ml pasterizovanog mleka u originalnom pakovanju dok se nalazi uskladišteno u mlekari, niti u 1 ml zgusnutog zaslađenog, niti zgusnutog zaslađenog obranog mleka, niti u 0,1 g mleka u prahu. Izolovanje i identifikacija koagulaza pozitivnih stafilokoka iz mleka su dati u poglavlju 5.5.

### **Izolovanje i identifikacija vrsta roda *Proteus***

Nalaz roda *Proteus* ukazuje na fekalnu kontaminaciju uzorka. Vrste roda *Proteus* ne smeju se nalaziti u 0,001 ml sirovog mleka, niti u 1 ml pasterizovanog mleka u originalnom pakovanju dok se nalazi uskladišteno u mlekari, niti u 1 ml zgusnutog zaslađenog niti zgusnutog zaslađenog obranog mleka, niti u 0,1 g mleka u prahu. Izolovanje i identifikacija roda *Proteus* iz mleka su dati u poglavlju 5.4.

### **Izolovanje i identifikacija *E. coli***

*E. coli* ne sme se nalaziti u 0,001 ml sirovog mleka, sterilisanog mleka i

sterilisnih mlečnih proizvoda. Pasterizovano mleko u originalnom pakovanju dok se nalazi uskladišteno u mlekari ne sme sadržati *E. coli* u 1 ml, niti u 1 ml zgusnutog zaslađenog niti zgusnutog zaslađenog obranog mleka. Ne sme se nalaziti u 0,1 ml pasterizovanog mleka i mlečnih proizvoda u trenutku prodaje potrošačima niti u 0,1 g mleka u prahu.

Izolovanje i identifikacija *E. coli* iz mleka su dati u poglavlju 5.2.

### **Izolovanje i identifikacija sulforedukujućih klostridija**

Sulforedukujuće klostridije ne smeju se nalaziti u 0,01 ml sirovog mleka, sterilizovanog mleka i mlečnih proizvoda, 1 ml pasterizovanog mleka u originalnom pakovanju dok se nalazi uskladišteno u mlekari, niti u 1 ml zgusnutog zaslađenog niti zgusnutog zaslađenog obranog mleka, niti u 0,01 g mleka u prahu. Izolovanje i identifikacija sulforedukujućih klostridija iz mleka su dati u poglavlju 5.6.

### **Određivanje broja aerobnih mezofilnih sporogenih i aerobnih termofilnih sporogenih bakterija u 1 ml**

Postupak za određivanje broja aerobnih mezofilnih sporogenih bakterija dat je u poglavlju 5.7, a za određivanje broja aerobnih termofilnih sporogenih bakterija u poglavlju 5.8.

### **Mikrobiološki pregled fermentisanih mlečnih proizvoda**

Fermentisani mlečni proizvodi se proizvode širom sveta pod raznim imenima. U Evropi su najčešći: jogurt, kiselo mleko, acidofilno mleko i kefir.

Fermentisani mlečni proizvodi nastaju radom mikroorganizama (starter kultura) koji fermentišu laktozu. U zavisnosti od

vrste mikroorganizama razlikuju se krajnji produkti fermentacije. Uglavnom je to mlečna kiselina, ali može biti i sirćetna kiselina, etanol i CO<sub>2</sub> kao što je slučaj kod kefira. U toku fermentacije snižava se pH što produžava rok trajanja proizvoda. Mlečna kiselina podstiče peristaltiku creva i poboljšava resorpciju kalcijuma i fosfora. Karakterističan izgled i aromu daju nastali acetaldehid i diacetil (Koprivica, 2008). Kao starter kulture koriste se:

Proizvod	Starter kultura
Jogurt	<i>Enterococcus thermophilus</i>
	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>
	<i>Lactobacillus lactis</i>
Acidofilno zrno	<i>Lactobacillus acidophylus</i>
Kefir	<b>Kefirno zrno:</b>
	<i>Lactobacillus lactis ssp. lactis</i>
	<i>Candida kefir</i>
	<i>Lactobacillus acidophylus</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>

Iako snižen pH inhibira rast većeg broja štetnih mikroorganizama, pojedini mikroorganizmi mogu rasti u tim uslovima.

### Uzimanje uzoraka i priprema razređenja

Uzimanje uzoraka za mikrobiološke analize se izvodi na isti način kao kod

mleka. Pravilnikom o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu propisane su obavezne mikrobiološke analize fermentisanih mlečnih proizvoda („Sl. List SRJ“, br. 26, 1993):

### Izolovanje i identifikacija *E. coli*

Kiselo mleko, jogurt, kefir i drugi fermentisani mlečnokiselni proizvodi ne smeju sadržati *E. coli* u 0,1 ml dok se nalaze u mlekari, niti u 0,01 ml u trenutku prodaje potrošačima. Izolovanje i identifikacija *E. coli* iz mleka su dati u poglavlju 5.2.

### Izolovanje i identifikacija vrsta roda *Proteus*

Kiselo mleko, jogurt, kefir i drugi fermentisani mlečnokiselni proizvodi ne smeju sadržati *Proteus* u 0,1 ml dok se nalaze u mlekari, niti u 0,01 ml u trenutku prodaje potrošačima. Izolovanje i identifikacija roda *Proteus* iz mleka su dati u poglavlju 5.4.

### Izolovanje i identifikacija koagulaza pozitivnih stafilokoka

Kiselo mleko, jogurt, kefir i drugi fermentisani mlečnokiselni proizvodi ne smeju sadržati koagulaza pozitivne stafilokoke u 0,1 ml dok se nalaze u mlekari. Izolovanje i identifikacija koagulaza pozitivnih stafilokoka iz mleka su dati u poglavlju 5.5.

### Izolovanje i identifikacija vrsta roda *Salmonella*

Salmonele se ne smeju nalaziti u 25 ml fermentisanih mlečnih proizvoda. Izolovanje i identifikacija salmonela iz mleka su dati u poglavlju 5.3.

### Izolovanje i identifikacija sulforedukujućih klostridija

Kiselo mleko, jogurt, kefir i drugi fermentisani mlečnokiselni proizvodi ne smeju sadržati koagulaza pozitivne stafilokoke u 0,1 ml dok se nalaze u mlekari, niti u 0,01 ml u trenutku prodaje potrošačima. Izolovanje i identifikacija sulforedukujućih klostridija iz mleka su dati u poglavlju 5.6.

### **Mikrobiološki pregled sira**

Kazeinski (obični) sir nastaje koagulacijom kazeina u mleku usled dodatka enzima za koagulaciju. Takođe, od nastale surutke može se proizvesti sir inkubiranjem na visokoj temperaturi (sir od surutke). Različiti tipovi sireva nastaju pod uticajem različitih sojeva mikroorganizama koji se dodaju kao starter kulture u procesu proizvodnje (*Lactococcus lactis*, *L. thermophilus*, *L. delbruecki*).

Sir predstavlja pogodnu podlogu za razmnožavanje različitih saprofitnih, pa i patogenih mikroorganizama. Stepent kontaminacije sira zavisi od kvaliteta mleka od koga je napravljen, sastava i konzistencije sira, građe, načina i uslova proizvodnje. Takođe, veoma važnu ulogu ima i higijena uređaja i opreme za proizvodnju, higijena radnika, mikrobiološki sastav vazduha, kao i higijenska ispravnost vode.

Na osnovu konzistencije, građe i sadržaja vode, kao i vremena zrenja, sirevi se dele na: tvrde, polutvrde, meke, sveže i sirne namaze. Tvrđi sirevi sazrevaju ujednačeno kroz celu masu. Zreo tvrđi sir nije podložan kvarenju pod uticajem mikroorganizama. Mikroorganizmi koji učestvuju u procesu zrenja mekih sireva razvijaju se na površini, dok njihovi produkti difunduju ka unutrašnjosti i izazivaju karakteristične promene (Škrinjar, 2001).

### **Uzimanje uzoraka i priprema razređenja**

Način uzimanja uzorka zavisi od vrste i pakovanja sira. Kod manjih pakovanja uzimaju se originalna pakovanja. Ukoliko se radi o većim koturima sira uzorci se uzimaju sterilnim nožem ili bušenjem sondom. Kod tvrdih i polutvrdih sireva površinski sloj se skida sterilnim nožem i uzorak se uzima iz dubine. Kod belih sireva koji se nalaze u kantama, uzorak se uzima sterilnom kašikom sa površine, iz sredine i sa dna. Masa uzorka treba da bude najmanje 200 g.

Od uzorka sira se odmeri 20 g i usitnjava sterilnim tučkom uz postepeno dodavanje 180 ml 2 % rastvora natrijum-cirtata, zagrejanog na 45 oS. Time se vrši emulgovanje uzorka i dobija osnovno razređenje 1:10.

Pravilnikom o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu propisane su obavezne mikrobiološke analize sira („Sl. List SRJ“, br. 26, 1993):

### **Određivanje ukupnog broja mikroorganizama u 1 g**

U 1 g topljenog sira ne sme se nalaziti više od 10 000 mikroorganizama. Postupak određivanja ukupnog broja bakterija opisan je u poglavlju 2.2.

### **Izolovanje i identifikacija sulforedukujućih klostridija**

Sulforedukujuće klostridije ne smeju se nalaziti u 0,1 g tvrdih i topljenih sireva, niti u 0,01 g polutvrdih sireva. Izolovanje i identifikacija sulforedukujućih klostridija iz mleka su dati u poglavlju 5.6.

### **Izolovanje i identifikacija koagulaza pozitivnih stafilokoka**

Koagulaza pozitivne bakterije ne smeju se nalaziti u 0,1 g tvrdih i topljenih sireva, niti u 0,01 g polutvrdih sireva. Izolovanje i identifikacija koagulaza pozitivnih stafilokoka iz mleka su dati u poglavlju 5.5.

#### **Izolovanje i identifikacija *E. coli***

*E. coli* ne sme se nalaziti u 0,1 g tvrdih i topljenih sireva, niti u 0,01 g polutvrdih sireva. Izolovanje i identifikacija *E. coli* iz mleka su dati u poglavlju 5.2.

#### **Izolovanje i identifikacija vrsta roda *Proteus***

Vrste roda *Proteus* ne smeju se nalaziti u 0,1 g tvrdih i topljenih sireva, niti u 0,01 g polutvrdih sireva. Izolovanje i identifikacija roda *Proteus* iz mleka su dati u poglavlju 5.4.

#### **Izolovanje i identifikacija vrsta roda *Salmonella***

Vrste roda *Salmonella* ne smeju se nalaziti u 25 g svih vrsta mekih, tvrdih i topljenih sireva. Izolovanje i identifikacija salmonela iz mleka su dati u poglavlju 5.3.

#### **Izolovanje i identifikacija lipolitičkih bakterija**

Dokazivanje prisustva lipolitičkih bakterija nije obavezno, ali je poželjno zbog njihovog uticaja na organoleptička svojstva sireva. Izolovanje i identifikacija lipolitičkih bakterija iz mleka su dati u poglavlju 5.9.

#### **Patogeni mikroorganizmi u mleku i mlečnim proizvodima**

#### ***Koliformne bakterije***

Koliformne bakterije se definišu kao štapićaste, gramnegativne, nesporogene bakterije. Mogu biti aerobne ili fakultativno anaerobne i obično imaju sposobnost fermentacije laktoze pri čemu nastaju kiselina i gas, stvaraju enzim  $\beta$ -galaktozidazu i oksidaza negativne su (The microbiology of drinking water, 2002).

U grupu koliformnih bakterija spadaju različiti rodovi enterobakterija. Najčešći kontaminanti životnih namirnica su rodovi iz familije ***Enterobacteriaceae***: ***Escherichia***, ***Kluyvera***, ***Citrobacter***, ***Klebsiella***, i ***Enterobacter***. Ovi rodovi i njihove vrste se međusobno razlikuju po morfološkim i biohemijskim osobinama, kao i po antigenskoj strukturi. Najčešće se za njihovu identifikaciju koristi set od četiri fiziološke reakcije (IMVIC). Ovaj test obuhvata:

1. Proveru nastanka indola za vreme razmnožavanja na tečnoj podlozi sa triptofanom pomoću Erliche-ovog ili nekog drugog testa.
2. Reakcija metilcrvenog, kojom se ispituje kiselost glukoznog bujona u kome se nalazi bakterija koja ima sposobnost razlaganja glukoze.
3. Voges-Proskauer-ova reakcija, kojom se utvrđuje sposobnost produkcije acetil-metil-karbonila u glukoznom bujonu.
4. Ispitivanje rasta bakterija na podlozi koja sadrži limunsku kiselinu, ili njene soli, kao jedini izvor ugljenika.

Na IMVIC testu koliformni rodovi daju rezultate prikazane u tabeli 1.

Tabela 1: Rodovi koliformnih bakterija na osnovu IMViC testa

Rod	Produkcija indola	Reakcija metil-crvenog	Voges-Proskauer-ova reakcija	Korišćenje citrata
Escherichia	+	+	-	-
Kluyvera	+	+	-	+
Citreobacter	v	+	-	+
Klebsiella	-	v	v	v
Enterobacter	-	-	+	+
Serratia	-	-	v	+

+ = pozitivna reakcija; - = negativna reakcija; v = varijabilno (Škrinjar, 2001)

Takođe, *Escherichia* se razlikuje od većine drugih koliformnih bakterija po sposobnosti da fermentiše laktozu i na 44 oC (The microbiology of drinking water, 2002).

### ***Escherichia coli***

Rod *Escherichia* spada u familiju *Enterobacteriaceae* i sadrži samo jednu vrstu, *Escherichia coli*.

*E. coli* su gramnegativne štapičaste bakterije veličine između 2 i 6 µm. Većina sojeva ima sposobnost kretanja i snadbevena je peritrihijalnim flagelama. *E. coli* su aerobne i fakultativno anaerobne bakterije, čija optimalna temperatura za razmnožavanje iznosi 37 oS, a mogu rasti i na 44 oS.

*E. Coli* se odlikuje velikom otpornošću i brzim razmnožavanjem. Može opstati na temperaturama znatno ispod nule, dok je temperature preko 60 oS u trajanju od 15

minuta ubijaju. Osetljiva je na hlór i hlorna jedinjenja, dok je prema antibioticima različito osetljiva (Škrinjar, 2001).

Neki sojevi sintetišu toksična jedinjenja kao što su: enterotoksini (izazivaju kretanje vode iz tkiva u lumen creva, što izaziva dijareju), adhezini (stimulišu adheziju i kolonisanje na površinu crevne mukoze), hemolizini (imaju antigenska svojstva) i endotoksini (Škrinjar, 2001).

*E. coli* ima veliku fermentativnu i oksidativnu sposobnost, što joj omogućuje rast na svim hranjivim podlogama. Na osnovu razlika u fiziološkim i biohemijskim osobinama *E. coli* se može diferencirati od drugih rodova familije *Enterobacteriaceae* (tab. 2).

Tabela 2: Fiziološke osobine *E. coli*

Osobine	Reakcija
β-galaktozidaza	+

Simons citrat	-
Dekarboksilaza	
- arginina	v
- lizina	+
- ornitina	v
Likvefakcija želatina	-
Oksidacija glukonata	-
Produkcija H <sub>2</sub> S	-
Produkcija indola	+
Fermentacija metanola	-
Razmnožavanje u KCN podlozi	-
Pokretljivost	v
Reakcija metil-crvenog	+
Fenilgroždana kiselina iz fenilalanina	-
Produkcija ureaze	-
Voges-Proskauer-ova reakcija	-

v = varijabilno (Škrinjar, 2001)

Identifikacija *E. coli* se vrši inkubacijom 1 ml uzorka na brilijant zelenom žućnom bujonu (ili neke druge pogodne podloge) sa Duramovom epruvetom u toku 24 do 48 sati na 44 oS. Ukoliko dođe do izdvajanja gasa (SO<sub>2</sub>) i promene boje podloge može

se sumnjati na priustvo *E. coli*. Nakon toga se vrši potvrdni test presejavanjem sadržaja ezom na površinu ljubičasto-crvenog žućnog agara. Inkubacija se ponovo vrši 24 do 48 sati na 44 oS. Pojava karakterističnih ljubičastocrvenih kolonija gram negativnih štapićastih bakterija, predstavnja potvrdu prisustva *E. coli*.

U novije vreme se za njenu identifikaciju koriste gotovi, komercijalni testovi. Broj *E. coli* se utvrđuje zasejavanjem 1 ml razblaženja na selektivnoj podlozi i brojanjem kolonija nakon inkubacije u toku 24-48 sati na 45 oS.

### ***Salmonella***

Rod ***Salmonella*** spada u familiju ***Enterobacteriaceae***.

Salmonele su gramnegativne, štapićaste, asporogene bakterije koje imaju sposobnost kretanja pomoću flagela i fimbrija. Morfološki su ujednačene i slične koliformnim bakterijama. Salmonele su aerobni i fakultativno anaerobni organizmi.

Salmonele spadaju u manje otporne bakterije. Najpogodnije sredine za njihov rast su organski zagađene vode i zemljište. U prehrambenim proizvodima najbolje uspeavaju u namirnicama životinjskog porekla.

Osetljive su na hlor, što hlor čini pogodnim dezinfekcionim sredstvom protiv salmonela (hlorisanje vode).

Od toksina, salmonele sintetišu endotoksin i ređe egzotoksin. Iskustva su pokazala da su sve salmonele štetne za čoveka. Najznačajnije oboljenje izazvano salmonelom je crevni tifus. Simptomi su; mučnina, povraćanje, grčevi u stomaku, dijareja. Posle razmnožavanja u crevima, salmonela se može lokalizovati u kostima, zglobovima ili unutrašnjim organima,



izazivajući bakteriemiju. Takođe, može doći i do oslobađanja endotoksina nakon razlaganja bakterijskih ćelija u crevima, što dovodi do gastroenteritisa.

Salmonele rastu i razmnožavaju se na svim hranjivim podlogama. Budući da se teško razlikuju od većine enterobakterija, za njihovo izolovanje se koriste različite selektivne podloge. Salmonele proizvode H<sub>2</sub>S, ne razgrađuju laktozu, saharozu i ureu.

Identifikacija salmonela se vrši prenošenjem 25 g (ml) uzorka u Erlenmajer bocu sa staklenim zrcima i dodavanjem 225 ml podloge za obogaćenje, selenit bujona. Inkubacija se vrši na 37 oS u toku 18-24 časa. Nakon inkubacije ezom ili pipetom se vrši zasejavanje na površinu SS (Salmonella i Shigella) i Wilson-Blair bizmut sulfidnog agara. Inkubacija se vrši na 37 oS u roku od 24-48 sati. Na SS agaru obrazuju se beličaste kolonije, a na Wilson-Blair podlozi rastu u vidu smeđih do crnih kolonija s metalnim sjajem. Nakon toga se boji po Gramu i ako se uoče gramnegativne štapičaste bakterije, vrši se zasejavanje na Klingerov dvostruki šećer, nakon čega se vrši identifikacija skraćenim bohemijским nizom. To podrazumeva tri zasejavanja na podloge sa ureom, KCN-om i indolom. Inkubacija se vrši na 37 oS u toku 24-48 sati. Salmonela daje sve tri reakcije negativne (Škrinjar, 2001).

### **Proteus**

Rod *Proteus* spada u porodicu Enterobacteriaceae i sadrži više vrsta. U životnim namirnicama najčešće su *P. vulgaris* i *P. mirabilis*.

U rod *Proteus* spadaju štapičaste, gramnegativne nekapsulirane bakterije snadbevene peritrihijalnim flagelama. Spadaju u relativno otporne bakterije. Pri

temperaturi od 55 oS, u vlažnim uslovima, umiru u roku od 1 sata. Osetljive su na razna dezinfekciona sredstva, posebno na fenolna i halogenska.

I *P. vulgaris* i *P. mirabilis* imaju sposobnost sinteze bakteriocine. Izazivači su sepsa, meningitisa i urinarnih infekcija.

Brzo se razmnožavaju na običnim hranjivim podlogama, šire se po površini podloge i stvaraju terasasti pokrivač. Takav oblik kolonije se naziva rojenje. Ova pojava u velikoj meri otežava analizu uzoraka koji sadrže Proteus na prisustvo drugih vrsta. Usled toga, selektivne podloge koje se koriste za identifikaciju drugih vrsta, sadrže inhibitore rasta za vrste roda Proteus.

Za izolovanje vrsta roda Proteus zasejava se 1 g (ml) uzorka na hranjivom bujonu ili na površinu brilijant zelenog agara i inkubira u roku od 24 do 48 sati na 37 oS. Nakon bojenja po Gramu mogu se videti gramnegativne štapičaste bakterije. Izrasle kolonije se zasejavaju na dvostruki šećer po Klingeru i na kraju se vrši identifikacija urea, KCN, fenil-alanin testom na koje je su vrste roda Proteus pozitivne za razliku od *Salmonella-e* i *Escherichia-e*. Identifikacija pojedinih vrsta roda *Proteus* se može uraditi na osnovu sposobnosti fermentacije pojedinih šećera i drugih biohemijских svojtava.

### **Staphylococcus**

Rod *Staphylococcus* spada u familiju *Micrococcaceae* i sadrži više vrsta. Zbog učestalosti pojave u pojedinim životnim namirnicama i oboljenjima koja izaziva, za ljude je najvažnija vrsta *S. aureus*.

*S. aureus* su grampozitivne, fakultativno anaerobne, nepokretne, većinom nekapsulirane bakterije loptastog do jajolikog oblika, veličine od 0,8 do 1 µm.

Pri razmnožavanju na površini čvrstih podloga, deoba se odvija u tri ili više ravni usled čega nastaju grozdaste nakupine. Na tečnim podlogama obrazuju parove ili kratke lance. Kolonije su obično žućkaste boje.

Sve vrste roda *Staphylococcus* su veoma otporne bakterije. Na temperaturi od 60 oS mogu izdržati do jednog sata, a mogu neko vreme biti vijabilne i na 80 oS. Veoma su tolerantne na sušu, te mogu opstati i u suvom zemljištu. Sojevi koji nemaju sposobnost produkcije enzima penicilinaze (razgrađuje  $\beta$ -laktamski prsten penicilina) osetljivi su na penicilin. Među najznačajnije ekstracelularne toksine koje luči *S. aureus* ubrajaju se hemolitički toksini, leukocidin, enterotoksini i epidermolitički toksin. Klinički najvažniji su enterotoksini koji imaju antigenske osobine. Sojevi koji proizvode enterotoksine izazivaju alimentarno oboljenje koje se manifestuje mučninom i dijarejom. *S. aureus* može izazvati i oboljenja sluznice nosa, grla, sinusa, probavnog i urogenitalnog trakta.

*S. aureus* je veoma tolerantna na natrijumhlorid, koji inhibira rast većine gramnegativnih i mnogih grampozitivnih bakterija. Zbog toga selektivne podloge za izolovanje stafilokoka sadrže visoke koncentracije natrijumhlorida. Svi sojevi fermentišu glukozu i manitol do kiseline uz izdvajanje gasa.

Identifikacija roda *Staphylococcus* se vrši zasejavanjem na slanom bujonu za obogaćenje. Nakon toga se zasejava na površinu ETGP podloge po Baird-Parkeru koja usporava rast drugih bakterija, a pospešuje rast koagulaza pozitivnih stafilokoka. Inkubacija se vrši 24 do 48 sati na 37 oS. Kolonije su crne, sjajne i konveksne, prečnika 1 do 5 mm. Oko kolonije se obrazuje prozirna zona usled lipolitičke aktivnosti. Nakon 48 sati inkubacije pojavljuju se tamni prstenovi

koji nastaju kao posledica lipolitičke aktivnosti. Nakon toga se vrši provera produkcije koagulaze. U tu svrhu se koristi test koagulaze plazme. Test se izvodi pomoću standarda (poznatog soja koagulaza pozitivnih stafilokoka), ispitivanog uzorka i kontrole. Inkubacija se vrši na 37oS, a rezultati se očitavaju nakon 2, 4, 8 i 24 sata. Pozitivnom reakcijom se smatra ukoliko u prva dva slučaja dođe do potpune koagulacije, dok u trećem dolazi do koagulisivanja.

### *Clostridium*

Rod *Clostridium* spada u familiju Bacillaceae i sadrži više vrsta od kojih je za ljude najznačajnija *C. perfringens*.

U rod *Clostridium* spadaju štapičaste, grampozitivne, sporogene bakterije. Neke vrste obrazuju kapsulu. Većina vrsta su saprofiti, žive u vodi, zemljištu i raspadnutim organskim materijama životinjskog i biljnog porekla. Skoro sve vrste su snadbene flagelama i pokretne su. Položaj spora može biti plektridijalni (na jednom polu) ili (klostridijalni). Na osnovu položaja spora može se vršiti identifikacija vrsta roda *Clostridium*. Veoma interesantna osobina je gubitak grampozitiviteta u toku kultivisanja.

Većina vrsta su striktni anaerobi, dok neke mogu rasti u prisustvu male koncentracije kiseonika. Vrste roda *Clostridium* su biohemijski aktivne i sintetišu veliki broj enzima koji im između ostalih daju saharolitičke i proteolitičke osobine. *C. perfringens* se optimalno razmnožava na 37 °S do 44 °S.

Vrste roda *Clostridium* sintetišu jake egzotoksine koji se ponašaju kao antigeni i sadrže više antigenskih faktora. *C. perfringens* sintetiše pet letalnih egzotoksina i jedan endotoksin, a takođe i više hemolizina i enzima koji se smatraju

štetnim po čoveka jer imaju ulogu u širenju patoloških procesa.

*C. perfringens* spada u sulforedukujuće bakterije, jer ima sposobnost redukcije natrijumsulfita ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) do natrijumsulfida ( $\text{Na}_2\text{S}$ ). Na osnovu ove osobine se vrši njihova identifikacija, kroz sulfidni agar. Nastali natrijumsulfid sa solima gvožđa stvara gvoždesulfid ( $\text{FeS}$ ) koji daje karakterističnu boju kolonijama klostridija.

Izolovanje i identifikacija sulforedukujućih klostridija se vrši pipetiranjem odgovarajućeg razređenja u epruvetu i ostavljanjem da odstoji 10 minuta na 80 oS. Nakon toga se sipa sulfidni agar i inkubira 3 do 5 dana na 37 oS. Ukoliko se primete crne loptaste kolonije, pristupa se potvrdnom testu koji se sastoji u bojenju po Gramu. Ukoliko su nalaz grampozitivne štapičaste bakterije sa ili bez spora, radi se o sulforedukujućim klostridijama.

**Aerobne mezofilne sporogene bakterije tipa *Bacillus subtilis* - određivanje ukupnog broja u 1 ml mleka**

*Bacillus subtilis* spada u familiju *Bacillaceae*. *B. subtilis* su štapičaste grampozitivne, katalazapozitivne, sporogene bakterije. Smatraju se striktnim aerobima, međutim neka istraživanja pokazuju da mogu biti i fakultativni anaerobi. Obrazuju endospore, koje su veoma otporne na temperaturu, kiselost sredine i soli, što im omogućuje preživljavanje ekstremnih uslova spoljašnje sredine (Nakano and Zuber, 1998).

*B. subtilis* se ne ubraja u patogene za čoveka, međutim može izazvati neispravnost prehrambenih proizvoda i trovanje. Luči proteolitički enzim subtilisin.

U dve epruvete se otpipetira po 10 ml mleka, koje se zatim stave u vodeno kupatilo i drže na temperaturi od 97 oS u toku 2 minuta, nakon čega se uzorci brzo hlade prenošenjem na led. U sterilne Petri ploče se zaseje po 1 ml i sipa sterilan otopljen i na oko 45 oS ohlađen tripton agar. Inkubacija se vrši na 30 oS, a rezultati se očitavaju nakon 24 i 72 sata. Broje se kolonije i rezultati se množe faktorom razblaženja. Na taj način se dobija broj bakterija u 1 ml (posredno određivanje broja mikroorganizama).. Nalaz grampozitivnih sporogenih štapičastih bakterija dokazuje prisustvo *B. subtilis*.

**Aerobne termofilne sporogene bakterije tipa *Bacillus (Geobacillus) stearothermophilus* - dokazivanje prisustva u mleku**

*Bacillus stearothermophilus* spada u familiju *Bacillaceae*. *B. stearothermophilus* su štapičaste grampozitivne, sporogene bakterije. Termofilne su i rastu na raznim zemljištima i u termalnim izvorima.

U pet epruveta se otpipetira po 10 ml uzorka mleka, u drugih pet po 1 ml uzorka mleka i 9 ml obranog i sterilisanog mleka, a u trećih pet po 0,1 ml uzorka mleka i 9,9 ml obranog i sterilisanog mleka. Sve epruvete se stave u vodeno kupatilo na temperaturu od 97 °S -100 °S u toku 5 minuta, nakon čega se uzorci brzo hlade prenošenjem na led. Nakon hlađenja vrši se inkubacija na 50 oS do 55 oS u toku 72 sata. Zgrušavanje mleka ukazuje na prisustvo aerobnih termofilnih sporogenih bakterija tipa *B. stearothermophilus*. Na osnovu broja epruveta sa pozitivnom reakcijom, pomoću Mac Gradye-ove tablice može se odrediti najverovatniji broj spora u 1 ml mleka.

**Tabela 3: Mac Gradye-ove tablica**

Broj epruveta*	Broj bakterija	Broj epruveta	Broj bakterija	Broj epruveta	Broj bakterija
000	0,0	200	0,9	300	2,5
001	0,3	201	1,4	302	6,5
010	0,3	202	2,0	310	4,5
011	0,6	210	1,5	311	7,5
020	0,6	211	2,0	312	11,5
100	0,4	212	3,0	313	16,5
101	0,7	220	2,0	320	9,5
102	1,1	221	3,0	321	15,0
110	0,7	222	3,5	322	20,0
111	1,1	223	4,4	323	30,0
120	1,1	230	3,0	330	25,0
121	1,5	231	3,5	331	45,0
130	1,6	232	4,0	332	110,0

\*prvi broj predstavlja broj pozitivnih epruveta iz prvih 5 epruveta, drugi broj iz drugih pet, a treći broj iz trećih pet epruveta.

**Lipolitičke bakterije – izolovanje, identifikacija i određivanje ukupnog broja u 1 ml ili 1 g**

Lipolitičke bakterije sintetišu enzime lipaze, koji vrše razgradnju mlečne masti uz oslobađanje masnih kiselina i glicerida. Oslobađanje nižih masnih kiselina ima za posledicu pojavu neprijatnog mirisa i ukusa što se naziva hidrolitička užeglost (Đorđević, 1982). Lipolitičke bakterije imaju sposobnost rasta pri relativno niskim temperaturama (5 °S) što otežava zaštitu proizvoda od njihovog delovanja.

Najznačajniji predstavnici lipolitičkih bakterija su vrste rodova *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Klebsiela* i *Bacillus*.

**U sterilne Petri ploče otpipetira se 1 ml odgovarajućeg razređenja i zalije sa oko 15 ml otopljenog i na 45 °S ohlađenog tributirin agara. Inkubacija se vrši na 30 °S u toku 72 sata. Ukoliko se pojave kolonije sa koncentričnom, svetlom, prozirnom zonom, veće od 1 mm, može se zaključiti da se radi o lipolitičkim bakterijama. Broje se kolonije i rezultati se množe faktorom razblaženja. Na taj način se dobija broj bakterija u 1 ml (posredno određivanje broja mikroorganizama). Unapređenje tehnologije sušenja šljiva sorte stenlej**

### Šljiva

dipl. ing. **Marković Vojislav**  
 Milovana Glišića br. 1 Vladimirci  
 Tel/fax: 015 / 513-227 .

1. [Uvod](#)
2. [Osnovni podaci o šljivi](#)
3. [Sorte šljiva za sušenje](#)
  1. [Osnovne karakteristike sorti šljiva za sušenje](#)
4. [Tehnološka svojstva šljiva za sušenje](#)

1. [Tehnološka zrelost šljiva](#)
2. [Mehanički sastav](#)
3. [Hemijski sastav](#)
5. [Sušenje](#)
  1. [Faktori koji utiču na brzinu sušenja](#)
  2. [Uređaji za sušenje šljiva](#)
6. [Tehnološki postupak sušenja šljiva sorte stenlej](#)
  1. [Tehnički nivo opremljenosti i primena tehnologije u objektima za sušenje šljiva](#)
  2. [Sušenje šljiva sa tunelskim sušarama](#)
  3. [Uslovi kvaliteta šljiva za sušenje](#)
  4. [Prijem šljiva za sušenje](#)
  5. [Priprema šljiva za sušenje](#)
  6. [Sušenje - dehidracija šljiva sorte stenlej](#)
7. [Zaključak](#)
8. [Literatura](#)

## Uvod

U pored dugotrajnih selekcijskih poduhvata, masovno su se u svetu razvijale dve osnovne sorte šljiva podesne za sušenje, a to su aženka u Francuskoj, koja je prenesena u SAD i požegača na Balkanu i mnogim evropskim zemljama

Mada je krupnoća plodova samo jedan od faktora kvaliteta suvih šljiva, najveći proizvođači u svetu, kao što su SAD i Francuska, nametnuli su tržištu krupnoću plodova kao najbitniji faktor kvaliteta, a koji se postiže stvaranjem novih sorti i selekcijom postojećih, namenjenih isključivo za sušenje.

Od 19. veka izvoz suvih šljiva iz Srbije bazirao se na domaćoj sorti požegači, sorti koja nije mogla da se izborisa sortama krupnijih plodova na svetskom tržištu. Zbog toga je krajem 20. veka i prestao izvoz suvih šljiva proizvedenih od

požegače, a i izvoz suvih šljiva iz Srbije. Sada je izvoz iz Srbije za 20 puta manji nego u prethodna dva veka, a izvozi se osušena sorta stenlej.

Srbija je bila poznata po suvim šljivama i sve do kraja 20. veka nalazila se u vrhu proizvodnje i izvoza suvih šljiva u svetu, dok je sada nema na kartama sveta ni kao proizvođača suvih šljiva.

Sredinom prošlog veka počela su intenzivna istraživanja sortimenta šljiva u Srbiji, ali ti rezultati se vide danas. Da nije uvedena u proizvodnju šljiva sorte stenlej u Srbiji ne bi bilo sada šljiva za sušenje.

U prošlom veku, sve do kraja sedamdesetih godina, kod nas se sušila samo sorta požegača. Tada se probno počela sušiti i nova sorta stenlej. Ova sorta šljiva je planirana za druge namene, jer se na požegači bazirala proizvodnja suvih šljiva u Srbiji. Zato je samo sušenju ove sorte bila posvećena domaća naučna i stručna literatura.

I domaća mašinogradnja proizvodila je tehnološku opremu za sušenje i sušare, koje su bile namenjene za ovu sortu šljiva.

Sada se za sušenje koriste stare sušare iz tog vremena, ali se suši samo sorta stenlej, o čemu ima malo stručne literature. Na osnovu tehničkih karakteristika sušara, količina i režimi sušenja moraju se prilagoditi karakteristikama plodova sorte stenlej.

Zato će ovde biti govora o sušenju šljiva sorte stenlej, na osnovu vlastitih iskustava autora i istraživanja koja je vršio uporednim sušenjem sorti: požegača, stenlej i čačansjka rodna, a koja nisu objavljivana.

Na to je ukazivao i profesor dr. Jovan Zarić još 1969. godine, naučnik iz Srajeva, koji se najviše bavio proučavanjem procesa

sušenja šljiva u prošlom veku: *»Neophodno je odmah pristupiti rešavanju procesa sušenja i drugih sorti šljiva sušilica, tako da se kapacitet agregata koristi kroz duži vremenski period ne samo na bazi produžetka čuvanja sorte požegača u rashladnim komorama već i pronalaženjem sortimenta sračunatim na to da mu prispeće bude znatno pre požegače.«*

### Osnovni podaci o šljivi

Šljiva je jedna od najstarijih voćnih vrsta. Još u drevnim vremenima nju je čovek koristio za ishranu. Prvi pisani spomenici o šljivi potiču iz Grčke (6 vekova pre n.e.) (Stančević, 1982).

Rimljani su posle osvajanja Sirije (44 godine pre n.e.) preselili u Italiju sorte plemenitih šljiva. Rimski imperator Prob (232 – 282 godine n.e.) i Dioklecijan (243 – 316 godine n.e.) podizali su šljivike u Podravini, Posavotamnavi i Bosni. Sloveni su pri naseljavanju Balkanskog poluostrva zatekli šljivike podizane za vreme Rimljana.

Smatra se da šljiva potiče iz Zapadne Azije i da je nastala spontanom hibridizacijom crnog trna (*Prunus spinosa*) i džanarike (*Prunus cerasifera*) u šumama na severnom Kavkazu (Mišić, 1979).

Šljiva (*Prunus domestica* L.) gaji se na svim kontinentima i u voćarstvu sveta zauzima četvrto mesto. Na području Srbije gaji se od davnina i predstavlja najviše gajenu voćnu vrstu. Srbija se do kraja prošlog veka nalazila u samom vrhu svetske proizvodnje šljive.

Prema statističkim podacima, koji ne odražavaju pravo stanje površina i prinosa u Srbiji, sadašnja situacija u proizvodnji šljiva je sledeća:

- površine pod zasadima su oko 140.000 hektara,
- broj stabala je oko 43.000.000,
- prosečna godišnja proizvodnja oko 350.000 tona,
- prosečan rod po stablu oko 8 kilograma.

Sadašnji nivo proizvodnje bi se mogao postići sa 5 do 6 puta manjim brojem rodnih stabala i na taj način bi se oslobodile velike površine zemljišta za druge kulture. Tačna zastupljenost pojedinih sorti ne postoji, jer takve podatke statistika ne registruje.

### Sorte šljiva za sušenje

U celom svetu su se koristile dve sorte šljiva za sušenje i njihovi tipovi, a to su aženka i požegača. Šljivarski razvijene zemlje i dalje pretežno suše aženku i njene tipove, dok je sušenje požegače prestalo zbog sitnih plodova i virusne bolesti – šarke šljive. Inače požegača se najviše sušila u Srbiji.

I pored toga što je Srbija važila kao region sa razvijenim šljivarstvom, sortni sastav šljiva za sušenje nije ni približno bio na nivou šljivarski razvijenih zemlja. Sve do kraja sedamdesetih godina prošlog veka u Srbiji se sušila samo sorta požegača. Tada se probno počela sušiti i nova sorta stenlej, koja se sada najviše suši kod nas. Pored stenleja suše se i vrlo malo domaće selekcije (čačanska rodna).

### Osnovne karakteristike sorti šljiva za sušenje

Aženka. Ovo je dobro poznata francuska sorta koju su kolonisti preneli u Ameriku. Plod je sitan do srednje krupan (21,7 g) (Ogašanović, 1985), jajastog oblika sa dosta pepeljka. Meso je žuto, srednje čvrsto, sočno i slatko. Koštica je sitna

(1,15 g) (Ogašanović, 1985), teško se odvaja od mesa – glođuša. Pogodna je za razne vidove prerade, a posebno za sušenje.

Stenlej (Stanley). Potiče iz SAD. Sazreva u drugoj polovini avgusta i početkom septembra. Plod je krupan oko 36 g (Mišić, 1979) i tamnoplave boje. Sortna mu je mana pojava dvojnih plodova – blizanaca. Meso je zelenkastožuto, čvrsto, dosta sočno, sladunjavog ukusa. Koštica je krupna i odvaja se od mesa, mada sa nekih područja ovo nije slučaj. Transport dobro podnosi, ako nije prezrela.

Čačanska rodna. Sazreva u trećoj dekadi avgusta, skoro približno kao i stenlej. Plod je srednje krupan do krupan (28 do 42 g) (Mišić, 1979), jajast, tamnoplav, privlačan. Meso je žućkasto, čvrsto, srednje sočno, aromatično i slatko. Koštica se lako odvaja od mesa. Plod je svestrane upotrebne vrednosti.

Ove karakteristike čačanske rodne odnose se i na ostale sorte Instituta za voćarstvo iz Čačka namenjene sušenju.

Karakteristike plodova sorte aženka su iz eksperimentalnog zasada Instituta za voćarstvo iz Čačka.

### **Tehnološka svojstva šljiva za sušenje**

Sve faze sušenja, dorade i pakovanja suvih šljiva imaju važan uticaj na organoleptička svojstva finalnog proizvoda, ali odlučujuću ulogu ima kvalitet sirovine. Suva šljiva dobrog kvaliteta može se dobiti samo od tehnološki kvalitetne sveže šljive, jer čak i najbolji postupak sušenja ne može da nadoknadi nedostatke u sastavu svežih plodova.

Plodovi podesni za sušenje moraju biti zdravi, da ne sadrže ostatke hemijskih

sredstava, niti da imaju bilo kakav fizički ili patološki nedostatak, a da su dostigli optimalnu zrelost.

Tehnološka svojstva šljiva za sušenje su:

- tehnološka zrelost,
- mahanički sastav i
- hemijski sastav

### ***Tehnološka zrelost šljiva***

Tehnološka zrelost šljiva je stadijum u kom su kvalitetne karakteristike dostigle maksimum, koji predstavlja uslov za proizvodnju kvalitetnih osušenih plodova. Ona se može odrediti na više načina:

1. Po odvajanju peteljke od rodnog drveta.
2. Promeni osnovne boje plodova.
3. Promeni čvrstine (konzistencije) plodova.
4. Promeni suve materije.

Ovo se ne odnosi na crvljive plodove.

Tehnološka zrelost praćena je uočljivom promenom boje pokožice, koja postaje modro plava (tamno plave boje) i pokrivena suvim pepeljkom (vošatan prevlaka).

Javlja se takođe i promena boje mesnatog dela, jer od zelenkaste boje prelazi u zlatno žutu.

Iz izloženog se vidi da tačno određivanje zrelosti plodova nije jednostavno, ali se mora težiti da se samo na osnovu toga obavlja berba plodova za sušenje, ako se želi da sirovina za sušenje bude dobrog kvaliteta.

### **Mehanički sastav**

Mehanički sastav predstavlja odnos mase pojedinih delova ploda (mezokarp, pokožica, koštica i peteljka) i osnovni je uslov za rentabilnu proizvodnju.

Sa tehnološkog stanovišta važan je odnos delova ploda, koji se prerađuje i delova koji se otklanjaju, odnosno predstavlja otpadak. Ovaj odnos se naziva randmanom.

Randman je specifikum vrste i sorte, ali varira unutar jedne sorte, u zavisnosti od uslova gajenja.

Jedno od pravila prilikom prerade je da se količina otpatka svede na minimum, kako

izborom sorte sa najboljim randmanom, tako i primenom adekvatnog tehnološkog postupka.

Kod sušenja šljiva randman je utrošak svežih plodova za 1 kg osušenog proizvoda, pa je odnos tkiva i koštice najvažniji element kvaliteta sirovine. U šljivarski razvijenim zemljama su već odavno utvrdili i određen broj karakteristika, koje moraju da ispunjavaju plodovi šljiva namenjenih sušenju. U Francuskoj su to odnos mesnatog dela prema koštici, koji mora da bude najmanje 14 (Jouret i sar., 1971).

Prosečne fizičke osobine plodova šljiva za sušenje su prikazane u tabeli 1.

**Tabela-1. Fizičke osobine plodova nekih šljiva za sušenje.**

Sorta	Plod			Koštica		
	Visina	Širina	Debljina	Visina	Širina	Debljina
	mm	mm	mm	mm	mm	mm
Stenlej	48,2	35,1	33,9	29,3	15	9
Čač. Rodna	41,2	31,7	28,6	23	13,2	7,3
Aženka	39,9	30,2	30,4	23,1	13,8	7,4

LIT. IZVOR: Ogašanović, 1985. godine



***Tabela – 2. Biofizičke osobine nekih plodova šljiva za sušenje***

Obeležja			
Sorta	Masa ploda g	Masa koštice g	Učešće koštice u masi g
Stenlej	33,4	1,78	5,48
Čač. Rodna	26,4	1,11	4,5
Aženka	21,7	1,15	5,29

LIT. IZVOR: Ogašanović 1985. godine

### **Hemijski sastav**

Hemijski sastav šljive je sadržaj svih sastojaka uključujući i vodu. Njihova količina i međusobni odnos utiče na formiranje bioloških, hranljivih i organoleptičkih osobina.

Hemijski sastav je karakterističan za pojedine sorte, ali zavisi i od uticaja klimatskih i agrotehničkih faktora, kao i stadijuma zrelosti.

Sa tehnološkog gledišta, kvalitetnija se smatra sirovina, koja ima veći sadržaj suve materije.

Pošto ukupan sadržaj suvih materija ima ogroman uticaj na kvalitet

osušenih plodova i ekonomičnost sušenja, to za šljivu aženku namenjenu sušenju najmanji dozvoljen sadržaj je 21,00 % (Jouret i sar., 1971). Pored minimalnih sadržaja rastvorljivih materija uzima se u obzir i kiselost, koja može da iznosi maksimalno 0,80 %, a pH treba da je oko 3,7. Rastvorljivi pektini treba da iznose 50 % ukupno sadržanih pektinskih materija, da bi se obezbedila dobra konzistencija ploda (Jouret i sar., 1971).

Hemijski sastav plodova šljiva prikazan je u tabeli 3. i prosečan je za ispitivane sorte.

**Tabela – 3. Prosečan hemijski sastav šljive**

Sorta		Sastojak (%)		
		Stenlej	Čač. Rodna	Aženka
1.	Suva materija	16,2	19,6	19,9
2.	Rastvorljiva SM	13,9	17,8	18,3
3.	Ukupni šećeri	8,38	10,56	11,74
4.	Glukoza	3,37	4,36	5,56
5.	Fruktoza	0,94	1,75	2,77
6.	Saharoza	4,07	4,35	3,38
7.	Ukupna kiselost	0,83	0,92	0,61
8.	Ph	3,63	3,57	3,68
9.	Pektinske materije	0,714	0,626	0,366

10.	Antocijani mg/100g	69,93	25,83	5,32
11.	Askorbinska kiselina	5,53	5,13	7

LIT. IZVOR: Ogašanović, 1985. Godine

### **Hemijski sastav**

Hemijski sastav šljive je sadržaj svih s

astojaka uključujući i vodu. Njihova količina i međusobni odnos utiče na formiranje bioloških, hranljivih i organoleptičkih osobina.

Hemijski sastav je karakterističan za pojedine sorte, ali zavisi i od uticaja klimatskih i agrotehničkih faktora, kao i stadijuma zrelosti.

Sa tehnološkog gledišta, kvalitetnija se smatra sirovina, koja ima veći sadržaj suve materije.

Pošto ukupan sadržaj suvih materija ima ogroman uticaj na kvalitet osušenih plodova i ekonomičnost sušenja, to za šljivu aženku namenjenu sušenju najmanji dozvoljen sadržaj je 21,00 % (Jouret i sar., 1971). Pored minimalnih sadržaja rastvorljivih materija uzima se u obzir i kiselost, koja može da iznosi maksimalno 0,80 %, a pH treba da je oko 3,7. Rastvorljivi pektini treba da iznose 50 % ukupno sadržanih pektinskih materija, da bi se obezbedila dobra konzistencija ploda (Jouret i sar., 1971).

Hemijski sastav plodova šljiva prikazan je u tabeli 3. i prosečan je za ispitivane sorte.

**Tabela – 3. Prosečan hemijski sastav šljive**

Sorta		Sastojak (%)		
		Stenlej	Čač. Rodna	Aženka
1.	Suva materija	16,2	19,6	19,9
2.	Rastvorljiva SM	13,9	17,8	18,3
3.	Ukupni šećeri	8,38	10,56	11,74
4.	Glukoza	3,37	4,36	5,56
5.	Fruktoza	0,94	1,75	2,77
6.	Saharoza	4,07	4,35	3,38
7.	Ukupna kiselost	0,83	0,92	0,61

8.	Ph	3,63	3,57	3,68
9.	Pektinske materije	0,714	0,626	0,366
10.	Antocijani mg/100g	69,93	25,83	5,32
11.	Askorbinska kiselina	5,53	5,13	7

LIT. IZVOR: Ogašanović, 1985. godine

## Sušenje

Hemijski sastav voća i povrća pokazuje da oni sadrže znatnu količinu vode, koja im ograničava trajnost u svežem stanju, jer pruža mogućnost iniciranja i odvijanja raznih biohemijskih i mikrobioloških procesa.

Metod konzerviranja sušenjem počiva na odstranjivanju vode iz proizvoda, čime se povećava koncentracija sadržanih sastojaka i onemogućuje rad mikroorganizama. Ovaj proces sprečavanja razvoja mikroorganizama poznat je kao kseroanabioza.

Postoje razni postupci i tipovi uređaja za sušenje, ali svima je zajedničko odstranjivanje vode iz proizvoda koji se suši, bez bitnih promena drugih sastojaka, što dovodi osušeni proizvod u trajno stanje, koje ne podleže kvarenju.

### **Faktori koji utiču na brzinu sušenja**

Faktori od kojih zavisi brzina i kvalitet sušenja su sledeći:

- fizičke karakteristike medijuma za sušenje,
- fizičke i hemijske osobine proizvoda,

- debljine sloja kroz koji difunduje voda i
- karakteristika uređaja za sušenje.

Brzina sušenja je rezultanta svih ovih činioaca.

Oslobađanje vode iz proizvoda postiže se dovođenjem energije, pa intenzitet sušenja zavisi od temperature vazduha, brzine prenođenja toplote na proizvod i brzine kretanja vode prema površini proizvoda

### **Uređaji za sušenje šljiva**

Za sušenje šljiva najčešće se koriste konvekcione sušare, a koje mogu biti: komorne, trakaste i tunelske.

Zajednička karakteristika konvekcioni sušara je da koriste vazduh kao medijum za sušenje i rasprostiranje plodova u jednom sloju na lesi ili traci za sušenje.

Komorne sušare sa lesama su se jedino koristile za sušenje šljiva sve do pojave tunelskih i trakastih sušara. One spadaju u sušare sa malim kapacitetom i rade u etapama. Jednostavne su konstrukcije i dosta jeftine. Zadovoljavaju potrebe zemljoradnika.

Način rada ovih sušara je takav, da se plodovi rasporede po lesama, a lese naslagane na kolica ubace u komoru za sušenje. Vazduh se zagreva indirektno čvrstim gorivom, a cirkulacija vazduha vrši se pomoću ugrađenog ventilatora, s tim da se smer ventilatora automatski periodično menja. Ove sušare se popularno zovi mini sušare. Sušeje u njima traje oko 24 sata, a kapacite je najčeše 1.000 kg u jednoj šarži, a ima i kapaciteta 2.000 kilograma.

Trakaste sušare su kontinualne sušare, odavno su prizvedene, ali se koriste samo za sušenje povrća. Nisu pogodne za sušenje šljiva zbog curenja soka.

Tunelske sušare se najviše koriste za sušenje šljiva. Ova sušara ima jednostavan princip rada i može da radi kako na istostrujnom, tako protivstrujnom principu.

Kod nas se koriste ove sušare tipa »Cer« sa protivsmernim načinom sušenja. Vreme sušenja je oko 24 sata, a dnevni kapacitet oko 10.000 kg svežih šljiva. Početna temperatura sušenja je oko 44 °C, a krajnja oko 75 °C. Sušara tipa »Cer« je projektovana za sušenje šljiva sorte požegača, sorte sa sitnim plodovima, do se sada na njima suši stenlej.

### **Tehnološki postuak sušenja šljiva sorte stenlej**

### ***Tehnički nivo opremljenosti i primena tehnologije u objektima za sušenje šljiva***

Šljiva se sada u Srbiji suši sa kontinualnim tunelskim sušarama i komornim sušarama malog kapaciteta.

Industrijski način sušenja šljiva počeo je da se primenjuje krajem pedesetih godina prošlog veka, izgradnjom tunelskih sušara tipa »Cer«. U narednim godinama podignuto je oko 270 sušara u Srbiji.

U početnim godinama podizani su masovno objekti za sušenje šljiva u šljivarski razvijenim područjima. To praktično nisu bili pogoni za sušenje, sa neophodnom opremom, već samo instalisane tunelske sušare, najčeše pod običnim nastrešnicama. Najviše je podizano po tri sušare u jednom objektu, a najveći broj su bile pojedinačne sušare.

Način sušenja šljiva u Srbiji i konstrukcija bivših, a praktično i sadašnjih sušara, odavno je prevaziđen. Mada se u svim šljivarski razvijenim zemljama koristi istosmerni način sušenja, koji ima velike prednosti, kod nas se zadržao protivsmerni, gde postoji veliki rizik obezbeđenja kvaliteta suvih plodova.

I sadašnji način renoviranja starih i izrada novih sušara je stihijska bez plana i programa, pa ne garantuje poboljšanje kvaliteta i ekonomičnosti sušenja, kako bi suva šljiva bila konkurentna na svetskom tržištu. U svetu se mnogo uradilo na usavršavanju tehnologije sušenja šljiva, a u cilju povećanja ekonomičnosti ove proizvodnje. Proces sušenja je potpuno mehanizovan, konstruktivno i građevinski uprošćen da bi dao maksimum ekonomičnosti.

### ***Sušenje šljiva sa tunelskim sušarama***

Potreban kvalitet suvih plodova može se obezbediti samo sušenjem sirovine, koja ispunjava potrebne uslove kvaliteta. Nekvalitetne plodove na

treba ni primati niti sušiti. Samo kvalitativnim prijemom svežih šljiva za sušenje mogu se obezbediti uslovi kvaliteta koje suve šljive moraju da ispune posle pripreme prerade i pakovanja

Propisi EU definišu minimalne uslove kvaliteta za sve kategorije, kakve suve šljive treba da budu:

- proizvedene od zrelih plodova,
- cele, bez peteljki (sa i bez košticea),
- neoštećene pokožice (za suhu šljivu sa košticom), naborane i nerasprsnute, bez peteljki
- čiste, praktično bez stranih vidljivih materija,
- zdrave, posebno bez buđi, truleži, bez vidljivih tragova oštećenja od insekata i bez živih i mrtvih insekata,
- sočne, elastične i fleksibilnog mesa,
- bez mirisa ili nepoznatog ukusa.

Zato treba definisati kvalitet svežih plodova šljiva, način kontrole i prijema u sušari, da bi osušene šljive ispunjavale propisane uslove kvaliteta. Tehnološki postupak sušenja sastoji se iz tri dela:

1. Berbe i transporta šljiva do objekata za sušenje.
2. Pripremnih tehnoloških operacija presušenja.
3. Tehnološkog postupka sušenja – dehidracije.

## Tehnološka blok šema sušenja šljiva



Tehnološka blok šema

### Uslovi kvaliteta šjiva za sušenje

Pošto kvalitet šljiva za sušenje zavisi od stepena zrelosti u kojem se obavlja berba, potrebno je znati koje karakteristike i svojstva treba da imaju plodovi da bi se brali za sušenje.

Za ovaj vid prerade koriste se kod na saorte stenlej i čačnaska rodna. Šliva za sušenje mora odgovarati sledećim minimalnim uslovima kvaliteta, da bi se od osušenih plodova mogla proizvoditi i suva šljiva bez koštica.

**Spoljašnji izgled.** Sveži, sočni, rukom brani bez peteljke, celi, čisti, da nisu crvljivi, bez otvorenih mehaničkih povreda, vidljivih znakova oštećenja i razaranja tkiva od bolesti i štetočina, sredstava za zaštitu bilja i ožegotina od sunca, bez pojave gnjlenja i plesni.

**Zrelost i boja.** Plodovi zreli, boje ujednačene i karakteristične za sortu.  
**Veličina.** Najviše do 30 komada u kilogramu.

**Suva materija.** Najmanje 18 % mereno refraktometrom na 20 °C.

**Uslovi i način berbe i transporta.** Pre početka berbe obavezno protresti stbla, da otpadnu crvljivi plodovi.

Berba se vrši ručno i bez peteljki u plastične holandeze 12/1, sa punjenjem 3 cm ispod ivice holandeza.

Transportna vozila moraju biti čista i bez stranih mirisa i moraju imati cirađu. Naročita pažnja se mora posvetiti pri pakovanju holandeza, da u transportnom vozilu ne bi došlo do rušenja holandeza i gnječenja plodova. Obrana šljiva mora se u toku od 10 do 12 sati dopremiti do sušare.

#### **Prijem šljiva za sušenje**

U svakoj sušari prijem sirovine treba dobro organizovati, kako bi se u svako doba imao uvid koliko je primljeno šljiva, od kog proizvođača i kakvog je kvaliteta sirovina. Celokupna količina pre nego što se primi za sušenje mora da prođe kontrolu kvaliteta, a utvrđeni kvalitet se registruje u štampane obrasce.

Posle kvalitativnog i kvantitativnog prijema vrši se istovar. Uobičajeno je da se holandezi stavljaju na palete na kojima se stavlja oznaka datuma prijema, da bi se šljive sušile redosledom prijema.

Kod prijema šljiva za sušenje voditi računa da na zalihama ima uvek sveže šljive za dnevni kapacitet sušenja. To je potrebno da bi došlo do prekida sušenja usled vremenskih nepogoda i verskih praznika kada voćari ne rade.

Primljenu šljivu za sušenje na bilo kom objektu, sa jednom ili više sušara, treba pripremiti za sušenje.

#### **Priprema šljiva za sušenje**

Priprema šljiva za sušenje, koja podrazumeva: kalibriranje, pranje, inspekciju i slaganje na lese mora se obaviti bez obzira koliki je broj sušara u objektu za sušenje. Objekti sa više sušara treba da imaju tehnološku opremu za pripremu, a u objektima sa jednom ili dve sušare ova priprema mora da se sprovede u diskontinualnom postupku sa pomoćnom opremom.

Kod komornih sušara u domaćoj radinosti, priprema se može obezbediti sa malim improvizovanim kalibratorom. Taj kalibrator može biti sa dva do tri rotaciona valjka, koja se mogu pomerati. Na njima izdvojiti sitne plodove koje ne treba sušiti. Krupne plodove prati potapanjem kalibrirane šljive sa ambalažom u kadu sa vodom, ali zu čestu promenu vode. Inspekcija plodova može se izvršiti na lesi pre slaganja na kolica za sušenje.

#### **Sušenje - dehidracija šljiva sorte stenlej**

Sada se za sušenje šljiva koriste tunelske sušare tipa »Cer« proizvedene u prošlom veku i nekoliko novih, koje imaju skoro isti princip rada. Koriste se i komorne sušare, takođe iz ranijeg perioda, koje su instalisane na seoskim posedima.

Sve te sušare konstruisane su za sušenje šljiva sorte požegača, jer se na toj sorti bazirala proizvodnja suvih šljiva u Srbiji. Ova sorta ima sitne plodove, čija je prosečna masa 18,5

grama (Ogašanović, 1985), a koštice 0,86 grama.

Sva tadašnja istraživanja, u cilju poboljšanja procesa sušenja, bazirala su se na karakteristikama plodova sorte požegače.

Sitna suva šljiva mogla je tada da se plasira samo u bivši SSSR, jer je konkurencija na tržištu Evrope nametnula kao prvi i osnovni uslov kvaliteta krupnoću plodova, koji sorta požegača nije mogla da ispuni. Sa prestankom izvoza u SSSR po državnim robnim listama, prestala je i mogućnost plasmana suvih šljiva požegače. Postojala je mogućnost plasmana osušenog stenleja, čija je sadašnja proizvodnja prestigla dominaciju požegače.

Sada se suši samo sorta stenlej, o čemu nema skoro nikakve stručne literature. Na osnovu tehničkih karakteristika sušara tipa »Cer«, količina i režimi sušenja moraju se prilagoditi karakteristikama plodova sorte stenlej. Plodovi ove sorte imaju prosečnu masu 33,4 g (Ogašanović, 1985) i masu koštice 1,78 grama.

Dimenzije tunelske sušare, kapacitet toplotnog agregata i ventilatora, predviđeni su za projektovani kapacitet od 8.000 do 10.000 kg svežih šljiva sorte požegače na dan. Konstruktor je predvideo da se prilikom sušenja sadržaj vode u plodovima, sa početnih 80 % smanji na 25 %, tako da se proizvede 2,600 kg suvih šljiva na dan.

Ovaj kapacitet se postže, kada se po 1 m<sup>2</sup> suši 16,5 kg sirovine, sa temperetuirom ulaznog vazduha od 75 °C i izlaznog oko 44 ° C. Utrošak goriva D-2 je 0,240 kg po kilogramu osušenog proizvoda, a 0,100 kWh električne energije.

Zato će ovde biti govora o sušenju šljiva sorte stenlej, na osnovu vlastitih iskustava autora i istraživanja koja je vršio uporednim sušenjem sorti: požegača, stenlej i čačnska rodna, a koja nisu objavljivana.

Na osnovu tih istraživanja, koja se odnose na ispitivanje kvaliteta osušenih i prerađenih suvih šljiva u zavisnosti od polaznih kvalitativnih karakteristika svežih plodova i sortnih svojstava, mogu se izvući sledeći zaključci za sortu stenlej:

1. Sa stanovišta krupnoće plodova, sorta stenlej se pokazala kao najkvalitetnija sa prosečnih 33 komada plodova u 1 kg. Krupnoća čačanske rodne bila je 42, a požegače 51 komad u 1 kg.
2. Sa aspekta randmana, stenlej je od ispitivanih sorti sa 3,97 najpogodniji za sušenje, jer je imao najmanje neuslovnih plodova. Randman čačanske rodne bio je 4,19, a požegače 4,28.
3. Plodovi stenleja sa suvom materijom 22 % ossušili su se za 14 sat.
4. S obzirom da se tržišna vrednost suvih plodova određuje na bazi krupnoće plodova, može se konstatovati da je prednost suvog stenleja sa prosečnom masom od 9,59 g u odnosu na požegaču (7,30 g) i čačansku rodnu (7,30 g).
5. Zbog ujednačenosti veličine svežih plodova, sušenjem sorte stenlej dobijaju se samo četiri kalibraže osušenih plodova: 30/40; 40/50; 50/60; 60/70.

Cilj sušenja je optimalno iskorišćenje svojstava sirovine i mogućnosti sušare, radi dobijanja sušenog proizvoda željenog kvaliteta uz određenu ekonomičnost i same proizvodnje. Idealno sušenje bi se moglo postići u slučaju kada bi se parametri sušenja,



kao što su strujanje vazduha, promene u pogledu temperature i vlažnosti vazduha mogli tačno podesiti prema sirovini.

Sušare tipa »Cer«, koje se kod nas koriste, imaju optimalna radna područja, koja se mogu koristiti, ali se ne mogu koristiti postojeće lese, koje su konstruisane za sušenje požegače.

Sve stare tunelske sušare opremljene su lesama, koje su predviđene za ručno slaganje plodova sorte požegača. To su metalne pocinkovane lese sa ramom, koje sa donje strane na uglovima lesa imaju nastavke za postizanje razmaka između lesa. Površina za plodove je od rešetkaste pocinkovane mreže.

Mada je bilo problemi sa korišćenjem ovih lesa i kod sušenja požegače, najveći problemi su nastali kod sušenja sorte stenlej. Ova sorta ima skoro dva puta krupnije plodove, pa gornja lesa praktično leži na plodovima donje lese. Cirkulacija toplog vazduha za sušenje bila je nedovoljna, jer se vazduh više kretao oko kolica sa lesama nego preko plodova. Pošto ovih lesa može da se složi i do 33 na kolica u sušaru se stavljalo i preko 10 tona sirovine, što prevazilazi tehničke mogućnosti sušare. Ako bi se na kolica stavilo 25 lesa, što odgovara kapacitetu sušare, pojavio bi se veliki slobodan prostor iznad lesa, kuda bi se topao vazduh kretao, a ne preko plodova.

U obadva slučaje plodovi sorte stenlej suše se neujednačeno i nekontrolisano, a plodovi posle sušenja imaju otisak mreže na pokožici.

Najbolje bi bilo uraditi odgovarajuće lese za sušenje sorte stenlej, a da se lese mogu koristiti i kod mehanizovanog slaganja lesa na kolica. To su lese sa drvenim ramom i

pletivom od inox materijala sa otvorima 3 mm. Ove lese se mogu koristiti i za sušenje drugog voća, povrća i šumskog bilja.

Sadašnje lese mogu se prepraviti, da ispunjavaju uslove za korišćenje u prehrambenoj industriji. To podrazumeva da se na postojeće lese postavi inox pletivo, koje mora biti dobro pričvršćeno zbog manipulacija sa lesom, a pre svega kod skidanja osušenih plodova. Razmak između lesa mora se povećati, da bi se obezbedila cirkulacija toplog vazduha oko plodova. Ako se uzmu u obzir radna područja sušara »Cer«, ova sušara će sušiti manju količinu šljiva sorte stenlej iz sledećih razloga:

- plodovi sorte stenlej su krupniji preko dva puta od požegače,
- zbog toga na lesu stane veća masa plodova,
- krupniji plodovi imaju manju površinu sušenja u odnosu na masu,
- odstranjivanje vode iz krupnijih plodova je sporije pa je sušenje duže.

Koliki će biti kapacitet sušenja teško je teoretski odrediti, ali se moraju uzeti u obzir mogućnosti sušare i karakteristike plodova sorte stenlej. Autor je sušio jednu sezonu ovu sortu i došao da sledećih rezultata:

1. U tunel se unosilo 11 kolica sa po 23 lese, koje su razmaknute za plodove stenleja.
2. Na lesu se nalagalo oko 26 kg svežih plodova u jednom sloju.
3. Količina šljiva u sušari 6.578 kg.
4. Režimi sušenja: ulazna temperatura vazduha 75 ° C, a izlazna oko 50 ° C.

5. Sušenje je trajalo od 25 do 26 sati i ako su bile visoke dnevne temperature (kraj avgusta).
6. Vlažnost osušenih plodova 18 do 21 %.
7. Randman 3,9 kg za 1 kg osušenih plodova.

Ovom količinom svežih šljiva sušara je ravnomerno opterećena u dobijeni su plodovi sa ujednačenim sadržajem vlage.

Pre sušenja izvršena je priprema plodova za sušenje: pranje, inspekcija, kalibriranje. Za zagrevanje vazduha koristila se vodena para. Šljiva se sušila na starim metalnim lesama na kojima su urađeni produžeci za veći razmak između lesa. Takvih lesa bilo je 23 na kolicima i donja lesa sa limom za iscureli sok. Gornja lesa bila je ispod tavanice tunela onoliko koliki je bio i razmak između lesa. Krupnoća plodova pre kalibriranja bila je do 35 komada u 1 kg. Prosečan sadržaj suvih materija u sirovini bio je do 19 % u celini, sa manjim količinama zrelijih plodova. Bilo je i zelenijih plodova, naročito na početku sušenja.

Potvrda ovakog načina sušenja šljiva sa krupnijim plodovima je u podacima iz SAD, kada se kod njih sušila šljiva u jednotunelskoj protivstrujnoj sušari. Na lesu se stavljalo 17 do 21 kg plodova u zavisnosti od krupnoće i zrelosti plodova, što znači da se na kolicima sa 25 lesa nalazilo oko 420 do 525 kg plodova. Ako je u sušari 12 kolica tada se suši 5.040 do 6.300 kg šljiva. Kapacitet sušenja bio je 80 do 100 kg/h sa vlagom plodova od 18 do 20 %. Takav tip sušara je usvojio i proizvodio »Cer«.

Sušenje šljiva sorte stenlej bilo bi i brže ako se obezbede plodovi sa višim sadržajem suvih materija. Sušenje se

ubrzava ako se kolica sa složenim lesama stavljaju ispred ulaza u tunel, gde se do ubacivanjaplodovi zagreju izlaznim toplim vazduhom.

Nakon sušenja sa lesa se izdvajaju vlaži i nedovoljno osušeni plodovi. Kada se ovih plodova skupi za jedna kolica, kolica se ubacuju na kraju sušare, gde se dosuše do potrebne vianosti. Osušeni plodovise istresaju u holandeze 12/1 da bi se ohladili. Ohlaženi plodovi se tada skladište u rasutom stanju ili u boks paletama sve do upotrebe. Suva šljiva se može koristiti tek nakon 1 do 2 nedelje, da bi se izvršilo izjednačavanje vlage u celoj masi proizvoda.

Za uskladištenje suve šljive treba obezbediti što hladnije uslove, suvi vazduh (ispod relativne vlažnosti 70 %) i tamne prostorije zu istovremenu zaštićenost od infekcije grinjama i insektima.

Bilo bi najbolje osušenu šljivu, posle kondicioniranja kalibrirati i kalibriranu skladištiti do upotrebe. Time se dobija podatak koliko koje kalibraže ima od osušenih šljiva, što daje sigurnost prodaje.

## Zaključak

Unapređenje tehnologije sušenja šljiva zavisi od više faktora, ali su dva najbitnija:

1. Položaja šljive i suve šljive u privredi Srbije.
2. Naučno – israživačkog rada.

Što se tiče položaja, proizvođači i prerađivači suvih šljiva su neorganizovani.

Mora se nažalost priznati da još nije utvrđen jasan i i dugoročan pravac koje sorte treba razvijati kao najbolje za sušenje. Tek sada se vidi da je sorta stenlej, koja se već odomacila jedina koju imamo za sušenje, mada ona nije uvedena u proizvodnju za ovu namenu. Zato smo sada nespremno dočekali sušenje stenleja, jer se proizvodnja suvih šljiva u ranijem periodu uvek bazirala na sorti požegača.

Na ovom primeru se vidi da nije bilo sprege selekcionara i korisnika šljiva.

Naučno istraživački rad u oblasti sušenja šljiva u potpunom je mirovanju. Skoro da se ni jedna naučna institucija ne bavi sistematski i trajno unapređenjem sušenja šljiva, kao i prerade ipakovanja suvih.

Zato je i ovaj Prilog proučavanju sušenja stenleja početni korak unapređenju tehnologije sušenja ove sorte u sadašnjim uslovima. Iz ovog referata može se zaključiti:

1. Sorta stenlej može se sušiti na postojećim tunelskim sušarama uz korekciju količina koje se suše i režima sušenja.
2. Sa stanovišta krupnoće plodova, sorte stenlej, sa prosečnih 33 komada plodova u 1 kg može da obezbedi krupnoću osušenih plodova koja je potrebna za proizvodnju suvih šljiva bez koštica i prodaju.
3. Sorta stenlej je povoljna i sa aspekta randmana, samo ako se suše tehnološki zreli plodovi krupnože do 33 komada u 1 kg.
4. Vreme sušenja ove sorte se jako se skraćuje kada se suše plodovi sa 22 % suve materije
5. Osušeni plodovi imaju mali broj kalibraža visoke krupnoće: 30/40; 40/50; 50/60; 60/70

6. Sorta stenlej se ne suši nigde u svetu osim kod nas. Posto se u bliskoj budućnosti ne vidi uvođenje neke nove za sušenje, potrebno je raditi na unapređenju tehnologije sušenja ove već odomacene sorte, a prihvaćene od kupaca.
7. Proizvođači tehnološke opreme za sušenje i sušara to treba da imaju u vidu i da rekonstrukciju postojećih i konstrukciju novih sušara prilagode sorti stenlej.

Kvalitet suvih šljiva u Srbiji mora se popraviti da bi zadovoljio zahteve svih tržišta.

Ovaj zadatak se mora posmatrati sa dva aspekte. Unapređenja tehnologije sušenja i načina prerade i pakovanja suvih šljiva.

Ako bi se upoređivalo, koja od ove dve oblasti više utiče na kvalitet srpskih suvih šljiva, može se slobodno reći da je to pre svega način sušenja. Preradom i pakovanjem ne može se popraviti kvalitet loše osušenih plodova. Zbog toga je neophodno uključiti nauku u problematiku sušenja, prerade i pakovanja osušenih plodova sorte stenlej.

## Kupina

Autor: mr **Dobriła Randelović**  
e-mail : [dobrilarandjelovic@beotel.net](mailto:dobrilarandjelovic@beotel.net)

1. [Sorte kupine sa trnjem](#)
2. [Sorte kupine bez trnja](#)
3. [Berba kupine](#)
4. [Hranljiva i upotrebna vrednost plodova kupine](#)
5. [Literatura](#)

Kupina (*Eubatus Focke*), je kao voćna vrsta, a posebno u našoj zemlji, vrlo mlada kultura. U Evropi i Severnoj Americi nalaze se brojne prirodne populacije kupina. Međutim, kupina je kao kulturna voćka počela da se gaji relativno kasno. Kao prva plemenita sorta (Evergreen) u Evropi se gaji od 1809.godine. Zatim je u Americi u kulturu uvedena sorta Dorčester (Dorchester), koja je otkrivena 1840. godine.

Na Balkanu su plemenite sorte kupine uvedene u proizvodnju 1936.godine, i to prvo u Bugarskoj. U našoj zemlji su plemenite sorte kupine introdukovane tek 1951.godine, i to prvo za eksperimentalne svrhe, a u proizvodnju su počele da se uvode pre 25.godina.

Plemenite sorte kupine se sada u našoj zemlji gaje na relativno maloj površini, od oko 1200 hektara. Prosečna proizvodnja kupina iznosi oko 16000 tona (Blagojević, 2000).

Morfologija kupine - kupina je po habitusu slična većini vrsta (npr. malini) koje pripadaju grupi jagodastog voća. Ona je najčešće u obliku žbuna - frutex ili polužbuna - subfrutex, sa višegodišnjim podzemnim i dvogodišnjim nadzemnim delovima. Može da živi više od dvadeset godina, a zasadi se mogu komercijalno eksploatirati 12 - 15 godina (Mratinić, 1998).

Plod kupine - u periodu porasta plodovi su zelene boje u kojima se odvija asimilacija isto kao i u listovima. Usled stvaranja i skladištenja organske materije, plodovi povećavaju masu i zapreminu. U ovom periodu plodovi su tvrdi, dosta kiseli i opori, bez karakterističnih aromatičnih komponenti - usled čega nisu upotrebljivi za ishranu.

Posle perioda porasta dolazi do zrenja, što se manifestuje promenom boje pokožice. Istovremeno plod omekšava a odnos između pojedinih sastojaka se menja (skrob se hidrolizuje do šećera, smanjuje se sadržaj organskih kiselina i taninskih materija, protopektin prelazi u pektin i dr.) pa se obrazuju karakteristična bojena ali i aromatična jedinjenja.

Prezrevanje se karakteriše gubitkom poželjnih organoleptičkih osobina. Tada su plodovi manje otporni prema mikrobiološkoj aktivnosti, pa se lakše i kvare.

U pogledu zrelosti ploda razlikuju se: **Tehnološka zrelost** se odlikuje karakterističnim osobinama za dotičnu vrstu i sortu u pogledu hemijskog sastava, ukusa, mirisa i boje, a konzistencija najbolje odgovara za odgovarajuću vrstu proizvoda. **Konzumna zrelost** nastaje kada plod sadrži maksimum poželjnih organoleptičkih svojstava i kao takav je najpogodniji za potrošnju u svežem stanju.

**Fiziološka (botanička) zrelost** se odlikuje time što je seme u stanju da klija, tj., sposobno je za reprodukciju (Vereš, 1991).

Plod kupine je zbirna koštunica sastavljena od većeg broja monokarpnih, sitnih i sočnih koštunica koje su srasle sa cvetnom ložom, a koje se pri berbi ne odvajaju (slika 25) ([Blagojević, 2000](#)).



Sorta Darou, Sorta Tornfri - Plod kupine

Plod kupine može biti različitog oblika i krupnoće: okruglast, izduženo kupast, zatupasto kupast i ovalan. Prema krupnoći plod može biti: vrlo krupan (mase preko 7g), krupan (5-7g), srednje krupan (3-5g) i sitan (mase manje od 3g).

Boja površine ploda kupine može biti crna i sjajna. Interesantno je istaći da se boja površine ploda i boja soka mogu razlikovati (npr. površina crna, a sok crven i sl.).

Kao posebno važna osobina ploda kupine smatra se čvrstoća, jer od nje u znatnoj mjeri zavisi transportabilnost, odnosno namena plodova. Pri izboru sorti više se cene one koje imaju čvrste plodove (Mratinić, 1998).

#### Sorte kupine sa trnjem

**Jang** (Young) je sorta koja sazreva rano, u prvoj dekadi juna. Žbun je bujan sa letorastima dužine 3-4 m. Srednje je trnovita. Samooplodna je. Plod je vrlo krupan (oko 7g), izduženo cilindričnog oblika. Meso ploda je meko, sočno, slatko nakiselog ukusa, prijatne arome, dobrog kvaliteta. Slabe je transportabilnosti. Pogodan je za zamrzavanje i sve vidove prerade (Mratinić, 1998).

**Eboni King** (Ebony King) je američka sorta, nepoznatog porekla. Sazreva početkom treće dekade jula. Vrlo je rodna. Period sazrevanja traje 20-25 dana. Plod je srednje krupan, izduženokupastog oblika, sjajno crne boje. Meso ploda je čvrsto, sočno, slatko, aromatičnog, dobrog kvaliteta. Može da se koristi za različite namene:

duboko zamrzavanje, za preradu i za stonu potrošnju (Mratinić, 1998).

**Darou** (Darrow) sorta stvorena u SAD. Sazreva od sredine treće dekade jula do kraja prve dekade avgusta. Samooplodna je i vrlo rodna. Plod je srednje krupan (3-4g), izduženokupastog oblika, sjajno crne boje, čvrst, vrlo ukusan i kvalitetan. Darou je jedna od najboljih sorti sa trnjem (Mratinić, 1998).

**Himalaja** (Himalaya) je nemačka sorta. Sazreva krajem jula i u prvoj dekadi avgusta. Puzećeg je porasta i otporna prema niskim temperaturama (izdrži i -30°C). Samooplodna je i vrlo rodna. Plod je srednje krupan do krupan (oko 5g), okruglastog oblika, sjajan, intenzivno crne boje. Ukusa je slatko-nakiselog, sa karakterističnom prijatnom aromom, odličnog kvaliteta. Plodovi su slabe transportabilnosti (Mratinić, 1998).

#### Sorte kupine bez trnja

**Dirksen Thornles** (Dirksen Thornless) poreklom je iz SAD. Sazreva sredinom avgusta. Period sazrevanja traje 20-25 dana. Plod je srednje krupan do krupan (oko 5g). Oblika je izduženookruglastog, tamnocrvene boje. Prijatnog je ukusa, izražene čvrstoće i dobrog kvaliteta. Može da se koristi za različite namene (za stonu potrošnju, preradu i zamrzavanje). Rađa obilato. Otporna je prema mrazu (Mratinić, 1998).

**Hal Thornles** (Hull Thornless) poreklom je iz SAD. Sazreva u prvoj polovini avgusta. Plodovi su krupni, čvrsti, crne boje, slatkog ukusa i visokog kvaliteta. Pogodni su za različite namene (za potrošnju u

svežem stanju, preradu i zamrzavanje).  
Dobre je rodnosti (Mratinić, 1998).

**Čačanska bestrna** je nova domaća sorta stvorena u Institutu za voćarstvo u Čačku, nastala je ukrštanjem sorti Dirksen i Blek Satin. Sazreva sredinom jula, a završava u drugoj polovini avgusta. U odgovarajućim uslovima gajenja i nege može dati prinos i preko 20 t/ha. Plodovi su izuzetno krupni, prosečno oko 9,3g, sa pojedinačnim koji dostiže i do 15,4g. Plod je crn, sjajan, izduženokupastog oblika, slatkog, aromatičnog ukusa. Lako se odvaja u berbi. Pogodni za potrošnju u svežem stanju i za preradu (Mratinić, 1998).

**Džinovka** (Gigante dell Giardino) je italijanska sorta. Sazreva kasno, avgusta i septembra. Umerene je rodnosti. Veoma je dekorativnog izgleda, što je preporučuje za gajenje na okućnicama. Plod je sitan do srednje krupan, okruglastog oblika, sjajno crne boje, dobrog kvaliteta. Pogodan je za preradu i zamrzavanje (Mratinić, 1998).

**Tornfri** (Thornfree) sorta stvorena u SAD. Sazreva kasno. Bere se u avgustu i septembru, a često i u oktobru. Samooplodna je i vrlo rodna sorta. Prinosi mogu da budu veći od 25 t/ha. Plod je srednje krupan do krupan (oko 5g), loptastog do zatupasto kupastog oblika, čvrst, sjajno crne boje, nakiselog ukusa sa srednje izraženom aromom, dobrog kvaliteta. Plod je transportabilan, pogodan za zamrzavanje i sve vidove prerade (Mratinić, 1998).

**Smutsten** (Smoothsten) je stvorena u SAD. Sazreva vrlo kasno. Bere se od polovine avgusta do kraja oktobra. Samooplodna je i rađa dobro. Plod je srednje krupan (oko 4g),

zatupastokupastog oblika, tamnocrne boje, čvrst, nakiselog, slabo aromatičnog ukusa, solidnog kvaliteta. Po rodnosti zaostaje za tornfrijem (Mratinić, 1998).

**Blek Satin** (Black Satin) je poreklom iz SAD. Sazreva početkom avgusta. Naročito dobre rezultate daje u uslovima navodnjavanja. Plod je vrlo krupan (oko 7g), izduženokupastog oblika, crnoljubičaste boje sa crvenkastom nijansom. Meso je srednje čvrsto, sočno, nakiselog ukusa, aromatično i vrlo kvalitetno. Nešto je lošije manipulativnosti i transportabilnosti. Plod je pogodan za industrijsku preradu (Mratinić, 1998).

Pored opisanih sorti, kao značajnijih predstavnika grupa, postoje i tzv. hibridne sorte kupine. U ovu grupu su svrstane sorte koje su dobijene planskim međuvrtnim ukrštanjem maline i kupine. One se međusobno znatno razlikuju: po boji, vremenu zrenja plodova, načinu razmnožavanja, stepenu obraslosti izdanaka bodljama i drugim osobinama.

Među njima su najinteresantnije sorte: Loganberi (Logenberry), Teksas (Texas), Morison (Morrison) i dr. Za većinu ovih sorti je svojstveno da su vrlo krupnog ploda. Tako plodovi sorte Teksas mogu biti i do 10g, odnosno 4 cm dužine (Mratinić, 1998).

### **Berba kupine**

Kupina, kao i većina jagodastog voća, ima nežne plodove sa izraženom respiracijom, neravnomernim sazrevanjem i nemogućnošću dozrevanja posle berbe. Zbog toga se berba obavlja u 1-10 navrata i u zavisnosti od sorte i uslova gajenja može da traje više od 40 dana. Sorte se

međusobno razlikuju po dinamici sazrevanja plodova. Sorte bez bodlji se beru na svakih 5-6 dana.

Vreme ili momenat berbe određuje se na osnovu zrelosti ploda, namene plodova i načina i dužine transporta. S obzirom na to da plodovi kupine ne mogu dozreti posle berbe, potrebno je berbu organizovati u optimalnom stepenu zrelosti u zavisnosti od namene.

Ukoliko su plodovi namenjeni stonj potrošnji ili zamrzavanju potrebno ih je brati u punoj zrelosti (kada su najkvalitetniji, najukusniji, najaromatičniji, najobojeniji) ili 1-3 dana pre (u zavisnosti od udaljenosti tržišta, odnosno tipa transportnog sredstva).

Nikako berbu ne treba organizovati ranije (jer ostaju kiseli, manje ukusni i slabije obojeni plodovi) niti kasnije, jer su prezreli plodovi neukusni i brzo propadaju.

Stepen zrelosti kupine za berbu može se odrediti organoleptički (po karakterističnoj intenzivno crnoj, sjajnoj boji pokožice, čvrstoći i ukusu mesa ploda) ili nekom od egzaktnih metoda (najčešće hemijskom - na osnovu sadržaja suve materije, šećera, kiselina ili njihovog odnosa i dr.).

Plodovi kupine su izuzetno nežni, pa se moraju brati pažljivo da ne bi došlo do mehaničkih oštećenja. Usled mehaničkih oštećenja ne dolazi samo do pogoršanja tržišne i organoleptičke vrednosti ploda već nastale promene ubrzavaju biohemijske i mikrobiološke promene, što direktno vodi bržem kvarenju ploda. Berba se uglavnom obavlja ručno, ali može i mašinski čiji je učinak 4ha za jedan radni dan.

Za berbu su najpogodniji rani jutarnji ili kasni večernji sati, kada su spoljašnje temperature relativno niske. Plodovi se ne beru ako su vlažni, jer su vrlo podložni truljenju i slepljivanju prilikom zamrzavanja. Pri samoj berbi treba vršiti grubo klasiranje plodova, jer kupina ne podnosi pretresanje. Najbolji plodovi se beru za svežu potrošnju i za duboko zamrzavanje (tzv. rolend). Ostali plodovi se beru za preradu (sokovi, koncentri i dr.).

Ambalaža, a to su najčešće plastični holandezi, mora da bude čista, neškodljiva za ljudsko zdravlje, da nije zaražena gljivicama, jer bi to ubrzalo kvarenje plodova (Janković i sar., 1991).

### **Hranljiva i upotrebna vrednost plodova kupine**

Plod kupine je lepog, atraktivnog izgleda, specifične crne boje, skladnog slatko-nakiselog ukusa, izražene arome. Ima veliku hranljivu, lekovitu i zaštitnu vrednost, koja u mnogome zavisi od sorte, stepena zrelosti, rodnosti i primenjene agrotehnike.

Plod kupine je izuzetno visoke biološke vrednosti (tabela 7). Smatra se bogatim izvorom gvožđa, kalijuma i vitamina C (Steger-Mate, M., 2006).

Sveži plodovi i sok kupine su odlično laksativno sredstvo, mineralne supstance i organske kiseline regulišu pH krvi, poboljšavaju krvnu sliku i utiču na sniženje krvnog pritiska. Vitamini jačaju otpornost organizma, pektini doprinose zaštiti od arterioskleroze i infarkta dok celuloza utiče na poboljšanje varenja. Plod kupine ima prednosti kao hrana nad ostalim namirnicama i po tome što je

male energetske vrednosti (Mratinić, 1998).

Plodovi kupine su vrlo pogodni za razne namene: za duboko zamrzavanje, razne oblike prerade, bojadisanje drugih proizvoda od voća, za potrošnju u svežem stanju i u kulinarstvu za spravljanje raznih poslastica. Za duboko zamrzavanje su najpogodniji plodovi sorti: Tornfri, Smutsen, Darou, Jang i dr.

Tabela 7. Prosečan hemijski sastav ploda kupine računato na 100 g ploda (Vračar, 2001)

Voda	84,5 %
Ukupni šećeri	7,3 %
Vrednost pH	3,2
Ukupne kiseline	1,5 %
Pektin	0,4 %
Belančevine	1,2 %
Masti	0,9 %
Celuloza	4,1 %
Vitamin C	21 mg
Sadržaj K	180 mg
Sadržaj Ca	40 mg
Sadržaj Mg	30 mg
Sadržaj Fe	0,9 mg
Sadržaj vitamina B1 (tiamin)	0,03 mg

Sadržaj vitamina B2 (riboflavin)	0,04 mg
----------------------------------	---------

Za industrijsku preradu u sokove, sirupe, kompote, džemove, slatka vrlo su pogodni plodovi samoniklih vrsta kupine i sorti: Himalaja, Bojsen, Tornfri i dr. Kao bojadiseri proizvoda od voća mogu se koristiti plodovi svih sorti kupine, ali kao najbolji pokazali su se plodovi samonikle kupine i sorte Smutsen, jer su sa najintenzivnije obojenim sokom. Od kupine se mogu proizvoditi i specijalna vina, sirće i drugi proizvodi (Mratinić, 1998).

### Senzorska ocena voća i povrća

Autor: mr **Dobriła Randelović**  
e-mail : [dobrilarandjelovic@beotel.net](mailto:dobrilarandjelovic@beotel.net)

1. [Izgled](#)
2. [Boja](#)
3. [Miris](#)
4. [Ukus](#)
5. [Konzistencija](#)
6. [Literatura](#)

Pregled sirovina voća i povrća mora da obuhvati mehaničku, senzorsku, hemijsku i mikrobiološku kontrolu, kao i primedbe na sortu. Senzorska ocena je od bitnog značaja u ocenjivanju kvaliteta proizvoda. U senzorska svojstva spadaju ona koja se mogu ispitati i oceniti ljudskim čulima: izgled, boja, miris, ukus, konzistencija i uopšte stanje proizvoda. Prva faza senzorske kontrole je vizuelni pregled, koji obuhvata posmatranje izgleda, boje, veličine komada, promene na spoljašnosti plodova, prozračnost naliva i sl.(Vračar, 2001).



## Izgled

Plodovi i delovi plodova u nehomogenim proizvodima treba da su ujednačeni po obliku i veličini. Plodovi treba da su što pravilnijeg oblika, bez deformacija, mehaničkih oštećenja bez većih defekata kao što su naboranost, flekavost, naprslost.

## Boja

Boja proizvoda je veoma značajan faktor kvaliteta i senzorske ocene. Na osnovu nijansi boje može se uspešno odrediti i stepen zrelosti ili prezrelosti plodova voća i povrća. Osnovno merilo za senzorsku ocenu boje je komparacija sa prirodnom bojom sirovine. Kvalitet boje zavisi od sirovine a gubitak ili promena najčešće je rezultat neadekvatnog tehnološkog procesa proizvodnje.

## Miris

Miris je rezultat prisustva velikog broja različitih aromatskih isparljivih jedinjenja (alkoholi, etri, estri, organske kiseline, aldehidi, ketoni). Miris se dosta uspešno može odrediti instrumentalno ali je takav postupak skup i složen pa se senzorska ocena prihvata kao veoma jednostavna a uz to dovoljno uspešna.

## Ukus

Ukus je glavno merilo na osnovu kojeg se hrana može oceniti kao zadovoljavajuća ili ne. U praktičnoj senzorici ukus se definiše kao četverodimenzionalni fenomen: slano, slatko, kiselo, gorko. Manje značajne nedostatke u pogledu boje, konzistencije itd., potrošač može

i da prevaziđe ukoliko je ukus sasvim zadovoljavajući.

## Konzistencija

Konzistencija proizvoda ili pojedinih čvrstih komponenata, pored instrumentalnog određivanja, vrlo jednostavno i jeftino se utvrđuje senzorski (čulom pipanja, jezikom, nožem, kašikom, itd.). Konzistencija treba da je specifična za svaku vrstu proizvoda ali se utvrđuju i druge manje greške od kojih zavisi opšti utisak i kvalitet (Vračar, 2001).

Klasifikacija važnijih metoda senzorske ocene

Postoji više metoda senzorske analize namirnica kao u narednom pregledu.

## Pregled senzorskih metoda i njihove karakteristike

Pokazatelji	Vrste metoda i karakter prema nameni			Kontrola kvaliteta
	Ispitivanje razlike	Ocena pojedinih obeležja	Proučavanje želje	
Najčešće upotrebljavane metode	1.Upoređivanje parova 2.Metod DUO-TRIO 3.Metod trougla	1.Bodovanje 2.Određivanje redosleda (rangiranje) 3.Hedonsko stepenovanje 4.Indeks razblaženja 5.Metod profila	1.Metod glasanja 2.Metod anketiranja 3. Frekvencija potražnje 4. Parni i trojni testovi 5.Skala preferancije	1. Bodovanje (poentiranje) 2. Određivanje redosleda (rangiranje)
Način merenja kvaliteta	Fiziološki	Fiziološki i psihološki	Psihološki	Fiziološki
Broj lica u ocenjivačkoj komisiji	3-10	3-10	40 i više	1-4
Provere osetljivosti čula	Pre svakog ocenjivanja	Za svaki zadatak bira se odgovarajuća komisija	Ne proverava se	Povremena provera senzornih minimuma
Obuka članova ocenjivačke komisije	Permanentno specijalno obučavanje	Kvalifikovani specijalisti sa proverenom osetljivošću čula	Bez obuke (prosečni potrošači)	Specijalist (ekspert sa proverenom osetljivošću čula)
Primena dobijenih rezultata	Isključivo za naučno istraživanje	Za istraživanje, za ocenu kvaliteta na sajmovima (izložbama)	Utvrđivanje stepena prihvatljivosti proizvoda od strane potrošača	Interna kontrola u preduzeću, inspeksijska kontrola i sl.