

Uticaj izbora omotača na odabrane parametre bezbednosti i kvaliteta fermentisanih kobasica

Ivanović Jelena¹, Pećanac Biljana², Janjić Jelena¹, Glišić Marija¹, Đorđević Vesna³, Stanišić Mirko¹, Glamočlija Nataša¹, Baltić Ž. Milan¹

S a d r Ź a j: Proizvodnja fermentisanih kobasica u domaćinstvima na našim prostorima ima dugu tradiciju, posebno u Vojvodini, ali i u pojedinim delovima Srbije (Sandžak, Zlatibor, Piroć). U ovom ogledu je ispitan uticaj izbora omotača (prirodni i veštački) fermentisanih kobasica različitih dijametara (uži i širi) proizvedenih na tradicionalan način (nekontrolisani uslovi) na mikrobiološki status (ukupan broj bakterija, ukupan broj bakterija mlečne kiseline, ukupan broj enterobakterija) i promene fizičkih osobina (pH vrednost i aktivnost vode). Rezultati pokazuju da je mikrobiološki status zavisio od dijametara fermentisanih kobasica, pri čemu je ukupan broj bakterija na kraju zrenja bio statistički značajno veći kod kobasica šireg dijametara u odnosu na kobasice užeg dijametara. Prosečan ukupan broj bakterija mlečne kiseline je rastao tokom procesa zrenja, gde su 31. dana ispitivanja utvrđene statistički značajne razlike između poređenih grupa kobasica. Na kraju proizvodnog procesa, kobasice užeg dijametara su imale višu vrednost pH u odnosu na kobasice šireg dijametara. Prosečna vrednost aktivnosti vode je imala trend opadanja kod svih ispitivanih grupa fermentisanih kobasica, tokom proizvodnog procesa. Proizvodnja tradicionalnih fermentisanih kobasica proizvedenih u domaćinstvu i pored nekontrolisanih uslova, ima svoja opravdanja, ne samo zbog kvaliteta ovih proizvoda, već i zbog autentične proizvodnje koja je sastavni deo tradicije našeg naroda.

ključne reči: fermentisane kobasice, kvalitet, izbor omotača, mikrobiološki status.

Uvod

Poslednjih godina se kao mera prevencije kardiovaskularnih oboljenja preporučuje ishrana sa visokim odnosom nezasićenih masnih kiselina prema zasićenim (Bošković i dr., 2015; Baltić i Bošković, 2015). Kako postoje dokazi i naučna istraživanja da ishrana bogata zasićenim masnim kiselinama povećava nivo holesterola u krvi, rizičnim kategorijama savetuje se redukcija unosa animalnih masti, što nikako ne umanjuje značaj mesa i proizvoda od mesa u ishrani ljudi (Higgs, 2000; Heinz i Hautzinger, 2007; Rubio i dr., 2007). Takođe, danas se ulažu veliki naponi, na globalnom nivou, da se proizvede što veća količina hrane, u koju spada i meso (Marković i dr., 2011).

Zastupljenost fermentisanih kobasica u ishrani ljudi, jednog od najsloženijeg procesa proizvodnje, kao i tehnologija proizvodnje mesa zauzima

značajno mesto. Složenost ovakve proizvodnje bazira se na činjenici da se fermentisane kobasice proizvode od biološki aktivnog materijala, kao i da se sam proces zrenja odvija bez uticaja visokih temperatura, sa ciljem dobijanja kvalitetnog proizvoda. Za proizvodnju fermentisanih kobasica kvalitet sirovine je od izuzetnog značaja, pa se izboru sirovine mora posvetiti velika pažnja (Vuković, 2012). Odgovarajući odabir sirovog mesa i masnog tkiva ukazuje na to da je proizvodnja fermentisanih kobasica zasnovana na kontrolisanju biohemijskih procesa enzimske i mikrobiološke prirode (Andres i Cava, 2002). Živković i dr. (2011) navode da se u proizvodnji kobasica od svinjskog mesa najčešće koristi meso tovnih svinja starosti oko šest meseci. Međutim, vrsta mesa koja se koristi za proizvodnju fermentisanih kobasica zavisi od navika, običaja, tipa kobasice, pa i rasa životinja u geografskom području gde se obavlja proizvodnja (Vuković,

Napomena: Rad je finansiran sredstvima projekta broj TR 31034 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (2011–2015).

¹Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Republika Srbija;

²Ju Veterinarski institut „Dr Vaso Butozan“, Branka Radičevića 18, 78000 Banja Luka, Republika Srpska;

³Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija.

Autor za kontakt: Ivanović Jelena, 1310jecko@gmail.com

2012; Baltić i dr., 2011; Baltić i dr., 2009). Pored vrste mesa, značajnu ulogu u tehnologiji fermentisanih kobasica imaju i različiti dodaci. Kao dodaci proizvodima od mesa koriste se začini, aditivi, arome, enzimski preparati, šećeri, ugljeni hidrati, vlakna kao i proteini biljnog porekla. Takođe, za začinjavanje se koriste prirodne i veštačke materije koje imaju uticaj na miris i ukus samog proizvoda. Tu se, pre svega, ubrajaju proizvodi dobijeni preradom začina, ekstrakti začina, esencije začina i etarska ulja, arome, šećeri i aditivi (kiseline i pojačivači aroma) (Vuković, 2012). Pored začina, u fermentisane kobasice se dodaje i kuhinjska so. Dodavanjem kuhinjske soli u nadev kobasica, povećava se osmotski pritisak i snižava a_w vrednost, odnosno količina vode koja je na raspolaganju mikroorganizmima. Ispod određene a_w vrednosti mikroorganizmi prestaju da se razmnožavaju, ali ne izumiru potpuno (Vuković, 2012). Industrija proizvodnje fermentisanih kobasica u cilju očuvanja kvaliteta ovih proizvoda počela je upotrebu starter kultura. Starter kulture čine bakterije mlečne kiseline, najčešće iz roda *Lactobacillus* i *Pediococcus*, zatim *Staphylococcus*, *Micrococcus* spp. (Hammes i Hertel, 1998; Lücke, 2000; Lopez i dr., 2006, Casaburi, 2007). Svaki od navedenih grupa mikroorganizama poseduje specifične metaboličke profile, a samim tim ima bitnu ulogu sa higijenskog (inhibira rast patogenih mikroorganizama kao što su *Listeria monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica*) i tehnološkog stanovišta (Ammor i Mayo, 2007; Rašeta i dr., 2010).

Među faktorima koji bitno utiču na proces zrenja i konverziju nadeva u gotov proizvod je i izbor omotača. Značaj omotača fermentisanih kobasica je posebno izražen kod proizvodnje sirovih fermentisanih kobasica, jer propustljivost omotača i njegova osobina da prati promenu zapremine kobasice do kojih dolazi u toku proizvodnje, imaju ključnu ulogu u zrenju i direktno utiču na kvalitet finalnog proizvoda (Đorđević i dr., 2015). Finalni proizvod je rezultat niza interakcija između omotača i nadeva u toku procesa proizvodnje. Kobasice se suše do postizanja potrebne količine vlage, odnosno a_w vrednosti. Takođe, svi omotači služe kao mikrobiološka barijera koja štiti kobasice u toku proizvodnje, skladištenja i distribucije (Savić i Savić, 2004). Pravilno odabrani omotači kobasica takođe aktivno učestvuju u stimulaciji rasta poželjnih mikroorganizama. Ono što je posebno značajno kod odabira omotača za kobasice jeste propustljivost za vlagu. Propustljivost za vlagu kod kolagenog omotača u odnosu na prirodno crevo niža je u odnosu na veštački (poliamidni) omotač, tj. praktično je nepropusna kod barenih kobasica. Odabirom omotača se može uticati na kvalitet i bezbednost kobasica. U sirovim fermentisanim

kobasicama odvija se proces fermentacije, u toku koga, pod uticajem mikroorganizama, dolazi do razlaganja ugljenih hidrata, prvenstveno do mlečne kiseline. Kao rezultat ovog procesa, pH vrednost se spušta do 4,9 (do 5,2). Mikrobiološka bezbednost tradicionalnih fermentisanih kobasica prvenstveno zavisi od niske a_w vrednosti i pH vrednosti (Savić i Savić, 2004). Pored omotača, dijametar creva je veoma važan za predviđanje vremena potrebnog za fermentaciju i kontrolu pH vrednosti. Kada se uporede proizvodi sa istom recepturom, na kraju proizvodnje, proizvodi sa širim dijametrom imaju niže pH vrednosti, u odnosu na proizvode sa užim dijametrom. U kobasicama šireg dijametra, opadanje a_w vrednosti je sporije, što pogoduje razvoju bakterija mlečne kiseline (Radetić, 1997; Savić i Savić, 2004).

Shodno značaju izbora omotača i dijametra creva, cilj našeg ispitivanja je bio utvrditi efekat izbora omotača i dijametra creva na mikrobiološke parametre (ukupan broj bakterija, ukupan broj bakterija mlečne kiseline, ukupan broj enterobakterija) i promene fizičkih osobina (pH vrednost i aktivnost vode) fermentisanih kobasica, proizvedenih na tradicionalan način, tj. u nekontrolisanim uslovima.

Materijal i metode rada

U eksperimentu je korišćeno svinjsko meso prve i druge kategorije (meso leđa, plećke, buta, meso sa masnim i vezivnim tkivom) kao i određeni udeo leđne slanine svinja. Odnos ovih sastojaka zasnovan je na empirijskom iskustvu samog proizvođača. Meso je poticalo od svinja rasa landras, starosti 12 meseci i prosečne telesne mase oko 180 kg. Priprema osnovne sirovine za izradu nadeva kobasica obuhvatala je sečenje mesa na komade, odstranjivanje mekog masnog tkiva i grubljeg vezivnog tkiva. Za usitnjavanje mesa i masnog tkiva korišćena je mašina za mlevenje mesa, pri čemu je prečnik otvora ploče bio 8 mm. Usitnjeno meso je ostavljeno da se ohladi pri temperaturi 0–5°C. Nakon 24 h, dodata je kuhinjska so, biber, slatka i ljuta crvena paprika i ekstrakt belog luka. Nakon ručnog mešanja svih sastojaka, nadev je odstojao četiri sata u cilju boljeg sjedinjavanja svih komponenti, a nakon toga uz pomoć ručne punilice, punjen u prirodne i veštačke omotače različitog dijametra, tako da se kobasice bile podeljene u četiri grupe. Prva grupa (I) su bile kobasice punjene u prirodne omotače (svinjsko zadnje-ravno crevo) užeg dijametra (34–36 mm), druga grupa (II) su bile kobasice punjene u veštačke omotače (kolageno crevo) užeg dijametra (35 mm), treća grupa (III) su bile kobasice punjene u prirodne omotače (svinjsko tanko crevo) šireg dijametra

(55–60 mm), a četvrta grupa (IV) su bile kobasice punjene u veštačke omotače (kolageno crevo), šireg dijametra (60 mm). Kobasice su povezane kanapom, pažljivo obeležene po grupama i okačene u pušnicu. Nakon ceđenja, kobasice su podvrgnute procesu dimljenja hladnim postupkom. Dimljenje je obavljeno u klasičnoj pušnici sa otvorenim ložištem, uz upotrebu bukovog drveta, prema tradicionalnoj tehnologiji. Kobasice koje su punjene u omotače užeg dijametra dimljene su tri puta svaki treći dan uz provetranje, dok su kobasice punjene u omotače šireg dijametra dimljene četiri puta po istoj dinamici. Sušenje i zrenje kobasica, punjenih u omotače užeg dijametra (I i II grupa) trajalo je 31 dan, a za kobasice punjene u omotače šireg dijametra (III i IV grupa) proces proizvodnje se završio 61. dana. Proizvodni proces nije vođen u kontrolisanim uslovima. Spoljašnja temperatura vazduha u vreme eksperimenta bila je od 5°C do 10°C, a relativna vlažnost vazduha od 80% do 90%.

Za mikrobiološke i fizičke analize korišćene su kobasice uzorkovane u različitim fazama proizvodnog procesa, 0, 7, 14, 21, 31, 41, 51. i 61. dana u zavisnosti od grupe kobasica. Tako je uzorkovanje kobasica punjenih u omotače manjeg dijametra završeno 31. dana, a kobasica punjenih u omotače šireg dijametra 61. dana proizvodnog procesa. Mikrobiološke metode su podrazumevale određivanje:

1. Ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija prema EN ISO 4833-1:2014 Mikrobiologija lanca hrane — Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama — Deo 1: Brojanje kolonija na 30°C tehnikom nalivanja ploče;
2. Ukupnog broj bakterija iz familije *Enterobacteriaceae* prema ISO 21528-2:2009, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Enterobacteriaceae* – Deo 2: Metoda brojanja kolonija;
3. Bakterija mlečne kiseline prema metodi ISO 15214:1998 (MRS, Merck); Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique at 30°C.

Za ispitivanje osnovnog hemijskog sastava uzorci kobasica su uzimani nultog i poslednjeg dana proizvodnog procesa obe grupe kobasica. Metode koje su korišćene su:

1. Za određivanje sadržaja – određivanje gubitka mase pri sušenju homogenizovanog uzorka

pri 105 ± 1°C do konstantne mase (ISO 1442:1998)

2. Za određivanje sadržaja masti – metoda po Soxhletu, ekstrakcijom masti iz osušenog uzorka petrol etrom, destilacijom i sušenjem pri 105 ± 1°C do konstantne mase (ISO 1443:1992)
3. Za određivanje sadržaja proteina – metoda po Kjeldalh-u primenom uređaja firme Tecator (ISO 937:1992)
4. Za određivanje pepela – sagorevanje uzorka pri 550°C do konstantne mase (ISO 936:1999).
5. Sadržaj natrijum-hlorida po Valhard (ISO 1841-1:1999).

Uzorci za određivanje pH vrednosti kobasica uzeti su nultog dana, i svakih sedam dana do 21. dana, a nakon toga, svakih 10 dana do kraja proizvodnog procesa. Za merenje je korišćena direktna metoda ubodnim pH-metrom Testo 150 (Testo, Nemačka), prema uputstvu proizvođača.

Određivanje a_w vrednosti vršeno je prema Gimenezu i Dalgaard (2004):

$$a_w = 1 - 0,0052471 \times SVF - 0,00012206 \times SVF^2$$

SVF – sadržaj soli u vodenoj fazi

$$SVF = \% \text{ soli} \times 100 / (\% \text{ soli} + \% \text{ vode})$$

Statistička analiza dobijenih rezultata odradena je u programu GraphPad Prism version 5.00 za Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com, dok su rezultati predstavljeni u programu Microsoft Office Excel 2007. Za ispitivanje razlika korišćen je grupni test ANOVA, a zatim pojedinačni Tukey test.

Rezultati i diskusija

Hemijski sastav nadeva kobasica punjenih u prirodne i veštačke omotače prikazan je u tabeli 1. Između hemijskih parametara kvaliteta (sadržaj vode, proteina, masti, pepela i NaCl) poređenih grupa kobasica nisu uočene statistički značajne razlike ($p > 0,05$).

Na početku proizvodnog procesa, prosečan sadržaj proteina iznosio je 14,62%, što je u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli *Jokanović i dr.* (2010) i *Jahansson i dr.* (1994). Shodno fizičko-hemijskim promenama koje su se odvijale tokom procesa fermentacije, uočeno je povećanje prosečnog sadržaja proteina (tabela 1). Ovakav proces se zapravo i očekivao, usled gubitka vode, kao posledica dehidracije i proporcionalnom koncentrisanju ostalih komponenti u nadevu, što se slaže sa rezultatima koje su prikazali

Tabela 1. Hemijski sastav nadeva uzoraka kobasica (srednja vrednost \pm standardna devijacija)
Table 1. Chemical composition of the sausage stuffing (mean \pm standard deviation)

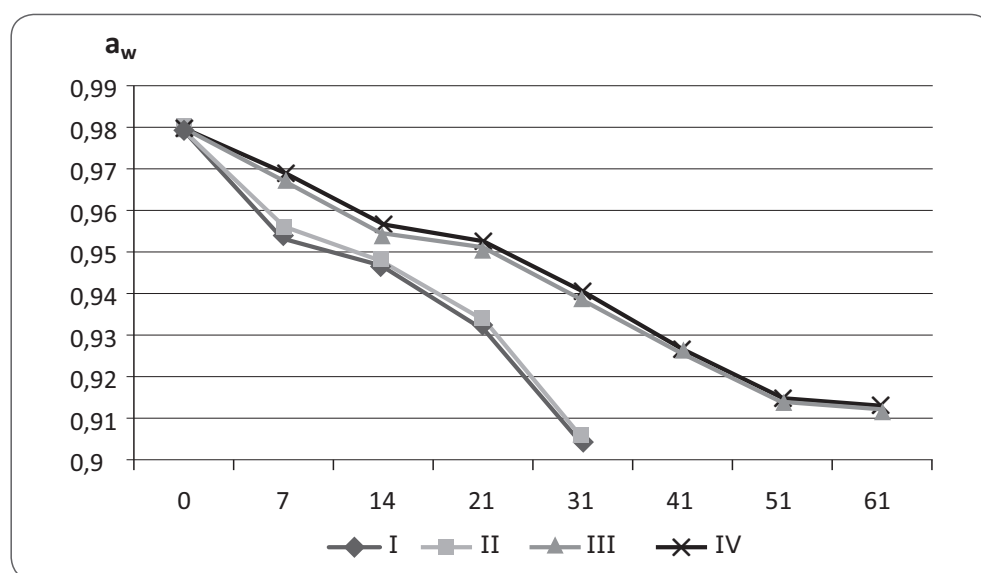
Parametar/ Parameter (%)	Dani ispitivanja/Day of testing				
	0 dan/0 day	31. dan*/Day 31*		61. dan**/Day 61**	
	Nadev/ stuffing	I grupa/ Group I	II grupa/ Group II	III grupa/ Group III	IV grupa/ Group IV
Voda/Water	55,16 \pm 3,11	28,33 \pm 1,04	29,19 \pm 1,21	30,82 \pm 1,23	30,83 \pm 1,44
Proteini/Proteins	14,62 \pm 0,28	26,41 \pm 0,85	25,91 \pm 0,87	25,25 \pm 0,74	25,00 \pm 0,80
Mast/Fat	26,87 \pm 0,99	41,16 \pm 3,11	39,94 \pm 2,32	39,00 \pm 2,94	39,18 \pm 2,98
Pepeo/Ash	3,35 \pm 0,02	5,10 \pm 0,05	4,96 \pm 0,05	4,93 \pm 0,05	4,99 \pm 0,05
NaCl	2,13 \pm 0,01	3,97 \pm 0,04	3,84 \pm 0,04	3,81 \pm 0,04	3,86 \pm 0,04

Legenda/Legend: * Kraj proizvodnog procesa kobasica užeg dijametra, ** Kraj proizvodnog procesa kobasica šireg dijametra/* The end of the manufacturing process of the smaller diameter sausage, ** The end of the manufacturing process of the wider diameter sausage

Comi i dr. (2005). Rezultati naših ispitivanja sadržaja proteina u finalnom proizvodu slični su sa rezultatima do kojih su došli Moretti i dr. (2004), kao i Vuković i dr. (2011), ali su veći od rezultata do kojih su došli Comi i dr. (2005). Na osnovu rezultata ispitivanja, vidi se da izbor omotača nema značajniji uticaj na hemijski sastav ispitivanih grupa kobasica.

Aktivnost vode je mera slobodne, fizički i hemijski nevezane vode, dostupne mikroorganizmima i od posebnog je značaja za procenu mikrobiloške stabilnosti namirnica. Aktivnost vode fermentisanih kobasica se smanjuje za vreme zrenja kao posledica

sušenja, a stepen smanjenja a_w vrednosti zavisi od sastava kobasica, temperature, relativne vlažnosti vazduha i dužine zrenja (Vuković, 2012). U nadevu kobasica na početku proizvodnog procesa, a_w vrednost je bila $0,9796 \pm 0,0001$ (grafikon 1). Na kraju proizvodnog procesa za kobasice užeg dijametra utvrđene su manje prosečne a_w vrednosti u odnosu na prosečne a_w vrednosti kobasica punjenih u omotače šireg dijametra. Takođe, uočeno je sporije opadanje a_w vrednosti kod kobasica šireg dijametra, što je slično sa rezultatima do kojih su došli Radetić (1997) i Savić i Savić (2004).



Grafikon 1. Promena a_w vrednosti ispitivanih grupa fermentisanih kobasica tokom procesa zrenja
Graph 1. Changes in a_w values of tested groups of fermented sausages during ripening process

Tabela 2. Promena pH vrednosti ispitivanih grupa kobasica
Table 2. Changes of pH values between groups of sausages

Dani Ispitivanja/ Day of test	Ispitivana grupa kobasica/Analyzed group of sausages			
	I	II	III	IV
0.	5,47±0,03	5,47±0,03	5,47±0,03	5,47±0,03
7.	5,60 ^A ±0,03	5,62 ^B ±0,03	5,60 ^C ±0,07	5,74 ^{A,B,C} ±0,03
14.	5,46 ^{A,B,C} ±0,05	5,37 ^{A,D,E} ±0,02	5,18 ^{B,D,F} ±0,03	5,09 ^{C,E,F} ±0,04
21.	5,70 ^{A,B,C} ±0,07	5,56 ^C ±0,07	5,29 ^{A,D} ±0,06	5,00 ^{B,D} ±0,07
31.*	5,36 ^{A,B,C} ±0,10	5,32 ^{A,a} ±0,10	5,07 ^{B,a} ±0,16	4,72 ^C ±0,25
41.	/	/	4,91 ^A ±0,07	4,45 ^A ±0,12
51.	/	/	5,11 ^a ±0,14	4,95 ^a ±0,04
61.**	/	/	5,21±0,03	5,12±0,10

Legenda/Legend: Ista slova u redu označavaju statističku značajnost na nivou/ The same letters in a row indicate statistical significance at the level of: ^{A,B,C,D,E,F} $p < 0,01$, ^a $p < 0,05$; *Kraj proizvodnog procesa kobasica užeg dijametra/The end of the manufacturing process of the smaller diameter sausage; ** Kraj proizvodnog procesa kobasica šireg dijametra/ The end of the manufacturing process of the wider diameter sausage

Talon i dr. (2007) navode da se aktivnost vode u tradicionalnim fermentisanim kobasicama (Francuska, Španija, Portugalija i Italija) na kraju zrenja bila je od 0,83 do 0,93. Prema ispitivanju Lebert i dr. (2007) aktivnost vode se smanjivala u toku procesa proizvodnje za 0,054 – 0,142. U nadevu, aktivnost vode iznosila je 0,962 do 0,977, a nakon fermentacije se kretala od 0,960 do 0,966, da bi u gotovom proizvodu iznosila od 0,835 do 0,922. Isti autori ukazali su na smanjenje broja patogenih mikroorganizama kao posledica smanjenja a_w vrednosti. Prema Heinzu i Hautzingeru (2007), a_w vrednost sirovih fermentisanih kobasica se kreće od 0,70 do 0,96 a najčešće iznosi 0,91.

Na početku ispitivanja pH vrednost ispitivanih grupa kobasica iznosila je 5,47. Tokom procesa zrenja, uočen je pad pH vrednosti fermentisanih kobasica (tabela 2). Na kraju proizvodnog procesa, za pojedine eksperimentalne grupe, pH vrednost je bila u rasponu od 5,12 (IV grupa) do 5,36 (I grupa). Dobijeni rezultati potvrđuju brojne podatke iz literature (Hierro i dr., 1997; Radetić, 1997; Rubio i dr., 2007; Heinz i Hautzinger, 2007). Tokom proizvodnog procesa, utvrđena je statistički značajna razlika između pH vrednosti poređenih grupa kobasica ($p < 0,01$; $p < 0,05$), posebno nakon 7, 14, 31, 41. i 51. dana ispitivanja (tabela 2). Kobasice sa većim dijametrom imaju niže pH vrednosti u odnosu na proizvode sa manjim dijametrom, što je u saglasnosti sa navodima Radetić (1997) i Savić i Savić (2004).

Vuković (2012) navodi da pH vrednost gotovih fermentisanih kobasica se kreće od 4,60 do 5,00. Radetić (1997) navodi da je pH vrednost fermentisanih kobasica sa sporim zrenjem u rasponu od 5,30 do 5,80, a prema navodima Heinz i Hautzinger (2007), pH vrednost ove grupe kobasica je u rasponu od 4,8 do 6,0. Prema navodima Hierro i dr. (1997), pH vrednost nadeva tradicionalnih fermentisanih kobasica treba da bude niža od 5,30, što je slučaj u našem eksperimentu kod kobasica u omotaču šireg dijametra. Takođe, isti autor navodi da su pH vrednosti rezultat velikog broja faktora, od kojih najznačajnije mesto ima količina i vrsta dodatih šećera, vrsta mišićnog tkiva, sastav usitnjenog nadeva, dodate bakterije mlečne kiseline, kao i drugi elementi zrenja sirovih kobasica. Velike varijacije pH vrednosti utvrdili su Lebert i dr. (2007), čiji su rezultati pH vrednosti gotovih fermentisanih kobasica bili u rasponu od 5,21 do 6,39.

Mikrobiološki status fermentisanih kobasica

Ispitivanje ukupnog broja bakterija

Nultog dana ispitivanja, prosečan ukupan broj bakterija u nadevu kobasica bio je od 3,19 do 3,45 log CFU/g, pri čemu nisu utvrđene statistički značajne razlike (tabela 3). Tokom procesa zrenja fermentisanih kobasica utvrđene su statistički značajne razlike između ukupnog broja bakterija poređenih grupa kobasica ($p < 0,01$; $p < 0,05$). Značajnije

Tabela 3. Promene ukupnog broja bakterija u uzorcima fermentisanih kobasica tokom procesa zrenja (log CFU/g)**Table 3.** Changes in the total number of bacteria in samples of fermented sausages during ripening process (log CFU / g)

Dani Ispitivanja/ Day of test	Ispitivana grupa kobasica/Analyzed group of sausages			
	I	II	III	IV
0.	3,33±0,22	3,19±0,20	3,30±0,27	3,27±0,19
7.	3,45±0,22	3,36 ^a ±0,23	3,14 ^A ±0,36	3,74 ^{Aa} ±0,39
14.	4,21 ^{a,b} ±0,29	4,02 ^{A,B} ±0,14	4,58 ^{a,A} ±0,27	4,59 ^{b,B} ±0,27
21.	4,31±0,12	4,18±0,17	4,18±0,30	4,17±0,30
31.*	4,01 ^A ±0,04	3,96 ^{B,a} ±0,05	4,34 ^{A,B} ±0,27	4,24 ^a ±0,27
41.	/	/	4,36±0,22	4,43±0,25
51.	/	/	4,20 ^a ±0,10	3,98 ^a ±0,17
61.**	/	/	4,10±0,13	3,97±0,07

Legenda/Legend: Ista slova u redu označavaju statističku značajnost na nivou/ The same letters in a row indicate statistical significance at the level of: ^{A,B} $p < 0,01$; ^a $p < 0,05$; *Kraj proizvodnog procesa kobasica užeg dijametra/ The end of the manufacturing process of the smaller diameter sausage; **Kraj proizvodnog procesa kobasica šireg dijametra/ The end of the manufacturing process of the wider diameter sausage

povećanje ukupnog broja bakterija uočeno je 14. dana zrenja, kada je ukupan broj bakterija u kobasicama šireg dijametra bio statistički značajno veći, od ukupnog broja bakterija u kobasicama punjenih u veštačke omotače užeg dijametra.

Na kraju proizvodnog procesa za kobasice šireg dijametra (61 dan) nije utvrđena statistički značajna razlika između ukupnog broja bakterija kobasica III i IV grupe. Iako su rezultati naših ispitivanja ukupnog broja bakterija niži od navoda drugih autora (*Comi i dr.*, 2005; *Drosinos i dr.*, 2005), registrovan je sličan trend rasta ukupnog broja bakterija. Ove razlike u prosečnom broju bakterija mogu se objasniti uticajem niza faktora, od kojih najveći uticaj imaju specifični mikroklimatski uslovi u toku procesa proizvodnje, pri kojima se aktivira prisutna mikroflora mesa kao i enzimi mesa i masnog tkiva koji su odgovorni za složene biohemijske i mikrobiološke procese (*Rašeta i dr.*, 2010). Step enicijalne kontaminacije mesa zavisi od mikrobiološkog kvaliteta upotrebljene sirovine i dodataka mesu. Ono što se jasno može videti iz naših rezultata je činjenica da ukupan broj bakterija zavisi od dijametra omotača. Međutim, isti autori navode i uticaj vrste omotača na navedene promene, što u našem ispitivanju nije utvrđeno. Manji ukupan broj bakterija može da bude vezan za različite činioce od kojih su u našem ispitivanju posebno značajne niske temperature u toku proizvodnje (od 5 do 10°C) i dug proces

proizvodnje (31 dan kod kobasica užeg i 61 dan kod kobasica šireg dijametra).

Ispitivanje promene broja bakterija mlečne kiseline

Na početku zrenja, nultog dana ispitivanja, ukupan broj bakterija mlečne kiseline se kretao od 1,00 do 1,76 log CFU/g, kada je ukupan broj bakterija mlečne kiseline bio statistički značajno veći ($p < 0,01$) u uzorcima kobasica III grupe. Naglo povećanje prosečnog ukupnog broja bakterija mlečne kiseline utvrđeno je nakon 14. dana proizvodnog procesa (zrenja), kada je statistički značajno manji ($p < 0,01$) broj bakterija mlečne kiseline utvrđen kod kobasica koje su punjene u omotače užeg dijametra (tabela 4). Posmatrajući trend rasta ukupnog broja bakterija mlečne kiseline kod kobasica punjenih u omotače šireg dijametra, primećuju se prilično konstantne vrednosti ispitivanih mikroorganizama do kraja proizvodnog procesa (61. dan).

Bakterije mlečne kiseline su od posebnog značaja za proizvodnju fermentisanih kobasica. Njihova sposobnost da smanje pH vrednost nadeva proizvodnjom kiseline od šećera, dovodi do razvoja poželjnih organoleptičkih svojstava, sprečava rast patogenih mikroorganizama i utiče na stabilnost i bezbednost finalnog proizvoda (*Urso i dr.*, 2006; *Ammor i Mayo*, 2007).

Tabela 4. Promene ukupnog broja bakterija u uzorcima fermentisanih kobasica tokom procesa zrenja (log CFU/g)**Table 4.** Changes in the total number of bacteria in samples of fermented sausages during ripening process (log CFU / g)

Dani ispitivanja/ Day of test	Ispitivana grupa kobasica/Analyzed group of sausages			
	I	II	III	IV
0.	1,42 ^{A,B} ±0,09	1,40 ^{C,D} ±0,15	1,76 ^{A,C} ±0,14	1,00 ^{B,D} ±0,01
7.	1,67 ^{A,B} ±0,05	1,73 ^{C,D,E} ±0,04	1,97 ^{A,C,F} ±0,05	2,34 ^{B,D} ±0,21
14.	4,30 ^{A,B,C} ±0,25	4,63 ^{A,D,E} ±0,26	4,99 ^{B,D} ±0,11	4,83 ^{C,E} ±0,14
21.	4,47 ^{A,B} ±0,28	4,45 ^{C,D} ±0,29	4,84 ^{A,C} ±0,12	4,82 ^{B,D} ±0,12
31.*	5,16 ^{A,B,C,D} ±0,19	5,02 ^{B,E,F} ±0,05	4,78 ^{A,C,E,G} ±0,14	4,91 ^{D,E,G} ±0,15
41.	/	/	4,93±0,07	4,99±0,15
51.	/	/	4,92±0,11	5,02±0,15
61.**	/	/	4,85±0,25	4,95±0,12

Legenda/Legend: Ista slova u redu označavaju statističku značajnost na nivou/ The same letters in a row indicate statistical significance at the level of: A, B, C, D, E, F, G $p < 0,01$; *Kraj proizvodnog procesa kobasica užeg dijametra/The end of the manufacturing process of the smaller diameter sausage; **Kraj proizvodnog procesa kobasica šireg dijametra/The end of the manufacturing process of the wider diameter sausage

Rezultati prosečnog ukupnog broja bakterija mlečne kiseline dobijeni analizom ispitivanih grupa kobasica su niži od rezultata do kojih su došli drugi autori (*Copola i dr.*, 2000; *Mauriello i dr.*, 2004). Međutim, utvrđene promene ukupnog broja bakterija i pH vrednost pratile su trend promena broja bakterija mlečne kiseline, što je u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli *Drosinos i dr.* (2005).

Posebno treba naglasiti da je, bez obzira na niži prosečan broj bakterija mlečne kiseline u ispitivanim grupama kobasica, na kraju proizvodnog procesa, utvrđena njihova dominantnost u sastavu mikroflore, kao jednom od uslova kvalitetnog i bezbednog proizvoda, što je slično sa rezultatima do kojih su došli i drugi autori (*Rubio i dr.*, 2007; *Talon i dr.*, 2007; *Drosinos i dr.*, 2005).

Ispitivanje ukupnog broja enterobakterija

Jedan od najznačajnijih faktora rizika, prilikom proizvodnje fermentisanih kobasica, jeste unakrsna kontaminacija, posebno između sirovine i radne površine (*Bisbini i dr.*, 2000). U proizvodnji fermentisanih kobasica pridaje se značaj mikroorganizmima iz roda *Enterobacteriaceae*, jer se smatraju najčešćim uzročnicima alimentarnih infekcija. Poseban značaj posvećuje se mesu kao izvoru *Salmonella spp.* (*Ivanović i dr.*, 2013) i *Yersinia spp.* (*Ivanović i dr.*, 2014; 2015).

Na početku proizvodnog procesa, nultog dana ispitivanja, u nadevu kobasica nisu uočene statistički značajne razlike u prosečnom broju enterobakterija. Tokom proizvodnog procesa, uočen je pad prosečnog broja enterobakterija (tabela 5).

U nadevu kobasica, nultog dana ispitivanja, neki autori su zabeležili znatno manji broj enterobakterija, što u ovom ispitivanju nije slučaj (*Samelis i dr.*, 1998; *Talon i dr.*, 2007). Uočene razlike mogu se objasniti higijenskim uslovima radne sredine, stepenom kontaminacije ulaznih sirovina i načinom klanja i pripreme nadeva u domaćinstvu.

Rezultati naših ispitivanja su u saglasnosti sa rezultatima *Leberta i dr.* (2007) koji su utvrdili 4,00 logCFU/g enterobakterija u nadevu kobasica. Takođe, rezultati naših ispitivanja, kroz dalji proces zrenja, pokazuju postepeno smanjenje prosečnog broja enterobakterija, kod svih ispitivanih grupa kobasica. Statistički značajne razlike između poređenih grupa kobasica, utvrđene su 21. dana ispitivanja ($p < 0,01$). Tokom proizvodnog procesa kobasica punjenih u omotače šireg dijametra, rezultati pokazuju trend opadanja prosečnog broja enterobakterija. U toku zrenja kobasica, 51. dana utvrđen je statistički značajno veći ($p < 0,01$) broj enterobakterija III grupe i odnosu na kobasice IV grupe.

Naši rezultati su slični sa rezultatima do kojih su došli *Sawitzki i dr.* (2008), *Kozačinski i dr.* (2006). Nakon 31. dana (kraj proizvodnje) u kobasicama užeg dijametra i nakon 61. dana (kraj

Tabela 5. Promene broja enterobakterija u uzorcima fermentisanih kobasica tokom procesa zrenja (log CFU/g)**Table 5.** Changes in the number of enterobacteria in samples of fermented sausages during ripening process (log CFU / g)

Dani ispitivanja/ Day of test	Ispitivana grupa kobasica/Analyzed group of sausages			
	I	II	III	IV
0.	4,29±0,22	4,26±0,19	4,42±0,19	4,34±0,28
7.	4,17±0,20	4,18±0,18	4,18±0,20	4,19±0,24
14.	3,79±0,32	3,76±0,20	3,79±0,27	3,78±0,27
21.	2,87 ^{A,B} ±0,14	2,96 ^{C,D} ±0,09	4,08 ^{A,C} ±0,18	4,14 ^{B,D} ±0,19
31.*	0	0	3,48±0,30	3,69±0,33
41.	/	/	3,48±0,14	3,60±0,21
51.	/	/	2,65 ^A ±0,12	3,32 ^A ±0,20
61.**	/	/	0	0

Legenda/Legend: Ista slova u redu označavaju statističku značajnost na nivou/The same letters in a row indicate statistical significance at the level of: $p < 0,01$; $p < 0,05$; *Kraj proizvodnog procesa kobasica užeg dijametra/The end of the manufacturing process of the smaller diameter sausage ** Kraj proizvodnog procesa kobasica šireg dijametra/The end of the manufacturing process of the wider diameter sausage

proizvodnje) u kobasicama šireg dijametra enterobakterije nisu izolovane. Eliminacija enterobakterija može se pripisati procesu acidifikacije, povećanoj količini soli, smanjenju a_w vrednosti i prisustvu bakterija mlečne kiseline, odnosno njihovih produkata (bakteriocini) (Lücke, 2000). Slični rezultati dobijeni su ispitivanjem brzo fermentisanih kobasica (Drosinos i dr., 2005). Međutim, drugi autori su u svojim istraživanjima utvrdili mali broj enterobakterija na kraju procesa zrenja fermentisanih kobasica (Lopez i dr., 2006). Iako se enterobakterije smatraju korisnim indikatorom naknadne kontaminacije, kao razlog prisustva enterobakterija neki od ovih autora navode specifične uslove proizvodnje, koji nisu bili takvi da eliminišu ove mikroorganizme.

Zaključak

Intenzitet promena ukupnog broja bakterija je zavisio od dijametra kobasica i na kraju proizvodnog procesa utvrđen je statistički značajno veći ukupan broj bakterija u kobasicama šireg dijametra u odnosu na kobasice užeg dijametra. Utvrđen je značajan uticaj dijametra i vrste omotača na intenzitet promena ukupnog broja bakterija mlečne kiseline, jer na kraju proizvodnog procesa kod kobasica užeg dijametra prosečan broj bakterija mlečne kiseline bio statistički značajno manji u odnosu na kobasice punjene u omotače šireg dijametra. Kod kobasica šireg dijametra na kraju proizvodnog procesa utvrđene su i niže vrednosti pH u odnosu na pH vrednosti kod kobasica užeg dijametra.

Literatura

- Ammor M. S., Mayo B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science*, 76,1, 138–146.
- Andrés A. I., Cava R., Ruiz J., 2002. Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. *Journal of Chromatography A* 963, 1, 83–88.
- Baltić Ž. M., Baltić T., Mitrović R., Mitrović-Stanivuk M., Popović Lj., 2009. Banijska kobasica – proizvod sa tradicijom”. Zbornik kratkih sadržaja – međunarodno 55. Saветovanje industrije mesa international, 66–69.
- Baltić Ž. M., Pećanac B., Šarić M., Mantić S., Filipović I., Đurić J., Dojčinović S., 2011. Fermentisane kobasice – proizvodi sa tradicijom. *Veterinarski Žurnal Republike Srpske*, XI, 1, 5–11.

- Baltić M. Z., Bosković M., 2015.** When Man Met Meat: Meat in Human Nutrition from Ancient Times till Today. *Procedia Food Science*, 5, 6–9.
- Bisbini P., Leoni E., Nanetti A., 2000.** An outbreak of *Salmonella* Hadar associated with roast rabbit in a restaurant. *European Journal of Epidemiology*, 16,7, 613–618.
- Bošković M., Baltić M. Ž., Ivanović J., Đurić J., Dokmanović M., Marković R., Baltić T., 2015.** The impact of pork meat and lard on human health. *Tehnologija mesa*, 56,1, 8–15.
- Casaburi A., Aristoy M. C., Cavella S., Di Monaco R., Ercoolini D., Toldrá F., Villani F., 2007.** Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science*, 76, 2, 295–307.
- Comi G., Urso R., Iacumin L., Rantsiou K., Cattaneo P., Cantoni C., Cocolin L., 2005.** Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*, 69, 3, 381–392.
- Coppola S., Mauriello G., Aponte M., Moschetti G., Villani F., 2000.** Microbial succession during ripening of Naples-type salami, a southern Italian fermented sausage. *Meat Science*, 56,4, 321–329.
- Djordjević J., Pecanac B., Todorović M., Dokmanović M., Glamoclija N., Tadić V., Baltić M. Z., 2015.** Fermented Sausage Casings. *Procedia Food Science*, 5, 69–72.
- Drosinos E. H., Mataragas M., Xiraphi N., Moschonas G., Gaitis F., Metaxopoulos J., 2005.** Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*, 69, 2, 307–317.
- Hammes W. P., Hertel C., 1998.** New developments in meat starter cultures. *Meat Science*, 49, 125–138.
- Heinz G., Hautzinger P., 2007.** Meat processing technology for small- to medium - scale producers. Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional office for Asia and Pacific. RAP Publication. Bangkok.
- Hierro E., Lorenzo de la Hoz, Ordóñez J., 1997.** Contribution of microbial and meat endogenous enzymes to the lipolysis of dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 8, 2989–2995.
- Higgs J. D., 2000.** Leaner meat: an overview of the compositional changes in red meat over the last 20 years and how these have been achieved. *Food Science and Technology Today*, 14,1, 22–26.
- ISO 4833-1:2014** Mikrobiologija lanca hrane — Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama — Deo 1: Brojanje kolonija na 30°C tehnikom nalivanja ploče.
- ISO 21528-2:2009**, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja Enterobacteriaceae – Deo 2: Metoda brojanja kolonija.
- ISO 15214:1998**; Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique at 30°C.
- ISO 1442:1998** – Za određivanje sadržaja – određivanje gubitka mase pri sušenju homogenizovanog uzorka pri 105 ± 1°C do konstantne mase.
- ISO 1443:1992** – Za određivanje sadržaja masti – metoda po Soxhletu, ekstrakcijom masti iz osušenog uzorka petrol etrom, destilacijom i sušenjem pri 105 ± 1°C do konstantne mase.
- ISO 937:1992** – Za određivanje sadržaja proteina – metoda po Kjeldalhu primenom uređaja firme „Tecator“.
- ISO 936: 1999** – Za određivanje pepela– sagorevanje uzorka pri 550°C do konstantne mase.
- ISO 1841-1:1999** – Sadržaj natrijum-hlorida po Valhard.
- Ivanović J., Baltić M. Ž., Karabasil N., Dimitrijević M., Antić N., Janjić J., Đorđević J., 2013.** Ispitivanje mikrobiološke kontaminacije površina koje dolaze u kontakt sa mesom u objektu za preradu mesa. *Tehnologija mesa*, 54, 2, 110–116.
- Ivanović J., Janjić J., Bosković M., Baltić M., Dokmanović M., Djordjević V., Glamoclija N., 2014.** Survival *Yersinia enterocolitica* in Ground Pork Meat in Different Packages. *Journal of Pure and Applied microbiology*, 8, 6, 4317–4323.
- Ivanović J., Janjić J., Đorđević V., Dokmanović M., Bošković M., Marković R., Baltić M., 2015.** The Effect of Different Packaging Conditions, pH and *Lactobacillus* spp. on the Growth of *Yersinia enterocolitica* in Pork Meat. *Journal of Food Processing and Preservation*. **10.1111/jfpp.12528**
- Johansson G., Berdagué J. L., Larsson M., Tran N., Borch E., 1994.** Lipolysis, proteolysis and formation of volatile components during ripening of a fermented sausage with *Pediococcus pentosaceus* and *Staphylococcus xylosum* as starter cultures. *Meat Science*, 38, 2, 203–218.
- Jokanović M., Petrović L., Ikonić P., Tomović V., Džinić N., Savatić S., Tasić T., 2010.** Sensory properties of Petrovska Klobása (dry-fermented sausage) ripened in traditional and industrial conditions. *Journal on Processing and Energy in Agriculture (Serbia)*.
- Kozačinski L., Hadžiosmanović M., Zdolec N., 2006.** Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Veterinarski arhiv*, 76, 4, 305–313.
- Lebert I., Leroy S., Talon R., 2007.** Microorganisms in traditional fermented meats. *Handbook of fermented meat and poultry*, 113–124.
- López C., Medina L. M., Priego R., Jordano R., 2006.** Behaviour of the constitutive biota of two types of Spanish dry-sausages ripened in a pilot-scale chamber. *Meat science*, 73,1, 178–180.
- Lücke F. K., 2000.** Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 56, 2, 105–115.
- Marković R., Baltić M. Ž., Dokmanović M., Radulović S., Đurić J., Todorović M., Drljačić A., 2011.** Ishrana i kvalitet mesa svinja – pogled u budućnost. *Veterinarski Žurnal Republike Srpske*, XI, 1, 30–37.
- Mauriello G., Casaburi A., Blaiotta G., Villani F., 2004.** Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy. *Meat Science*, 67,1, 149–158.
- Moretti V. M., Madonia G., Diaferia C., Mentasti T., Paleari M. A., Panseri S., Gandini G., 2004.** Chemical and microbiological parameters and sensory attributes of a typical Sicilian salami ripened in different conditions. *Meat science*, 66, 4, 845–854.
- Radetić P., 1997.** Sirove kobasice. Monografija. Izdavač: autor.
- Rašeta M., Vesković-Moračanin S., Borović B., Karan D., Vranić D., Trbović D., Lilić S., 2010.** Mikroklimatski uslovi tokom zrenja kobasica proizvedenih na tradicionalan način. *Tehnologija mesa*, 51, 1, 45–51.
- Rubio B., Martínez B., Sánchez M. J., García-Cachán M. D., Rovira J., Jaime I., 2007.** Study of the shelf life of a dry fermented sausage “salchichón” made from raw material enriched in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids and stored under modified atmospheres. *Meat science*, 76, 1, 128–137.

- Samelis J., Metaxopoulos J., Vlassi M., Pappa A. 1998.** Stability and safety of traditional Greek salami – microbiological ecology study. *International Journal of Food Microbiology*, 44, 1, 69–82.
- Savić Z., Savić I., 2004.** Sausage Casings. *Victus*. Vienna.
- Sawitzki M. C., Fiorentini Â. M., Cunha Junior A., Bertol T. M., Sant'Anna E. S., 2008.** *Lactobacillus plantarum* AJ2 isolated from naturally fermented sausage and its effects on the technological properties of Milano-type salami. *Food Science and Technology (Campinas)*, 28, 3, 709–717.
- Talon R., Lebert I., Lebert A., Leroy S., Garriga M., Aymerich T., Lauková A., 2007.** Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1: Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Science*, 77, 4, 570–579.
- Urso R., Comi, G., Cocolin L., 2006.** Ecology of lactic acid bacteria in Italian fermented sausages: isolation, identification and molecular characterization. *Systematic and Applied Microbiology*, 29, 8, 671–680.
- Vuković I., Saičić S., Vasilev D., 2011.** Contribution to knowledge of major quality parameters of traditional (domestic) kulen. *Tehnologija mesa*, 52,1, 134–140.
- Vuković I., 2012.** Osnove tehnologije mesa. Četvrto dopunjeno izdanje. Veterinarska komora Srbije, Beograd.
- Živković D., Tomović V., Perunović M., Stajić S., Stanišić N., Bogičević N., 2011.** Senzorna prihvatljivost sremske kobasice izrađene od mesa svinja različite starosti. *Tehnologija mesa*. 52, 2, 252–261.

The impact of casing on selected parameters of safety and quality of fermented sausages

Ivanović Jelena, Pećanac Biljana, Janjić Jelena, Glišić Marija, Đorđević Vesna, Stanišić Mirko, Glamočlija Nataša, Baltić Ž.Milan

S u m m a r y : The production of fermented sausages in households in our region has a long tradition, especially in Vojvodina and in some parts of Serbia (Sandžak, Zlatibor, Pirot). In this experiment, the impact of the selected casings (natural and artificial) of different diameters (broader or narrower) produced in the traditional way (uncontrolled conditions), used in the production of fermented sausages, on the microbiological status (total number of bacteria, total number of lactic acid bacteria, the total number of enterobacteria) and changes of physical properties (pH and water activity). The results show that the microbiological status depended on the diameter of fermented sausages, wherein the total number of bacteria at the end of the ripening was significantly higher in the sausage of a wider diameter as compared to the smaller diameter of the sausage. The average total number of lactic acid bacteria increased during the ripening process, and at day 31 of the testing statistically significant difference between the examined groups of sausages were determined. At the end of the manufacturing process, the smaller diameter sausages had higher pH value as compared to sausages of a wider diameter. The average value of water activity had a trend of decline among all groups of fermented sausages during the manufacturing process. The production of traditional fermented sausages, despite uncontrolled conditions, is justified not only because of the quality of these products, but also because of the authentic production which is an integral part of the tradition of our people.

Key words: fermented sausages, quality, choice of layer, microbiological status.

Rad primljen: 3.12.2015.

Rad prihvaćen: 10.12.2015.