

Utjecaj dodatka pivskog tropa na zdravstvenu ispravnost i senzorska svojstva kuhanih kobasica

Biondić, Helena

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:999440>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#) / [Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-04**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Helena Biondić

**UTJECAJ DODATKA PIVSKOG TROPA NA ZDRAVSTVENU
ISPRAVNOST I SENZORSKA SVOJSTVA KUHANIH KOBASICA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, Rujan, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za tehnologiju mesa i mlijeka
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Autohtoni mesni proizvodi

Tema rada je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2022./2023. održanoj 2. svibnja 2023.

Mentor: prof. dr. sc. *Krešimir Mastanjević*

Komentor: dr. sc. Irena Perković, zn. sur.

Utjecaj dodatka pivskog tropa na zdravstvenu ispravnost i senzorska svojstva kuhanih kobasica

Helena Biondić, 0011163359

Sažetak:

Cilj ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj dodatka vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) na zdravstvenu ispravnost i senzorska svojstva uzoraka kuhanih kobasica tijekom skladištenja od 7 dana pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ispitivana je prisutnost enterobakterija, aerobnih mezofilnih bakterija, sulfitoreducirajućih klostridija, koagulaza-pozitivnih stafilokoka/*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*. Od senzorskih svojstava ispitivana je boja, miris, okus, tekstura i ukupna prihvatljivost. Dodatak vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) za sve vremenske intervale skladištenja pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ nije imao utjecaj na cfu/g enterobakterija, sulfitoreducirajućih klostridija, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*. cfu/g aerobnih mezofilnih bakterija pokazao je povećanje s povećanjem masenog udjela vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) i vremena skladištenja pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dodatak vlažnog pivskog tropa nije statistički značajno ($p > 0,05$) utjecao na boju, miris, okus, teksturu i ukupnu prihvatljivost kuhanih kobasica s izuzetkom uzoraka s dodatkom 9% pivskog tropa nakon 3 dana skladištenja na $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Rezultati ovog istraživanja upućuju na zaključak da je moguće proizvesti zdravstveno ispravne kuhane kobasice s dodatkom vlažnog pivskog tropa zadovoljavajućih senzorskih svojstava.

Ključne riječi: vlažni pivski trop, zdravstvena ispravnost, senzorska svojstva, kuhane kobasice

Rad sadrži: 48 stranica
13 slika
8 tablica
32 literaturne reference

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|---|---------------|
| 1. prof.dr.sc. Dragan Kovačević | Predsjednik |
| 2. izv.prof.dr.sc. Krešimir Mastanjević | član-mentor |
| 3. dr.sc. Irena Perković, znan.sur. | član-komentor |
| 4. Izv.prof.dr.sc. Antun Jozinović | zamjena člana |

Datum obrane: 22. rujna, 2023.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18 Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Technology of Meat and Dairy
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program: Food engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food Technology

Course title: Autochthonous Meat Products

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII held on May 2nd 2023

Mentor: *Krešimir Mastanjević*, PhD, full prof.

Co-Supervisor *Irena Perković*, PhD, sci. assoc.

The effect of the addition of brewer's grains on health safety and sensorial properties of cooked sausages
Helena Biondić, 0011163359

Summary:

The aim of this thesis was to examine the influence of the addition of wet brewers spent grain (w = 0 - 9%) on the safety and sensory properties of cooked sausage samples during 7-day storage at 4 °C. The presence of enterobacteria, aerobic mesophilic bacteria, sulfite-reducing clostridia, coagulase-positive staphylococci/*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* was examined. Sensory properties such as color, smell, taste, texture and overall acceptability were tested as well. Addition of wet brewers spent grain (w = 0 - 9%) for all time intervals of storage at 4 °C had no influence on cfu/g of enterobacteria, sulphite-reducing clostridia, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. cfu/g of aerobic mesophilic bacteria showed a statistically significant increase ($p < 0.05$) with increasing mass fraction of wet brewers spent grain (w = 0 - 9%) and storage time at 4 °C. The addition of wet brewers spent grain did not statistically significantly ($p > 0.05$) affect the color, smell, taste, texture and overall acceptability of cooked sausages, with the exception of samples with the addition of 9% brewers spent grain after 3 days of storage at 4 °C. The results of this research point to the conclusion that it is possible to produce microbiological safe cooked sausages with the addition of wet brewers spent grain with satisfactory sensory properties.

Key words: wet brewer's spent grains, microbiological safety, sensory properties, cooked sausages

Thesis contains: 48 pages
13 figures
8 tables
32 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|---|-------------|
| 1. | <i>Dragan Kovačević</i> , PhD, full prof. | chairperson |
| 2. | <i>Krešimir Mastanjević</i> , PhD, full prof. | Supervisor |
| 3. | <i>Irena Perković</i> , PhD, sci. assoc. | co-mentor |
| 4. | <i>Antun Jozinović</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defense date: September 22nd, 2023

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek

Iskreno se zahvaljujem mentoru prof.dr.sc. Krešimiru Mastanjević na uloženom vremenu, trudu i neizmjernoj pomoći oko izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem i svojim prijateljima, a ponajviše Ivoni koja je od kolegice sa fakulteta postala prijatelj za cijeli život.

Zahvaljujem se svojim roditeljima, bratu i sestrama na povjerenju u mene svih ovih godina i pružanju potpore.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. Meso i mesne prerađevine	4
2.1.1. Polutrajne kobasice	7
3.1.2. Mikrobiološka i senzorska svojstva crvenog mesa	13
2.3. Pivski trop	18
3.3.3. Dobivanje pivskog tropa	20
3.3.3. Primjena pivskog tropa.....	21
3. EKSPERIMENTALNI DIO	23
3.1. Zadatak rada	24
3.2. Materijali i metode	24
3.2.1. Materijali	24
3.2.1.2. Proizvodnja kuhanih kobasica	25
3.2.2. Metode	28
3.2.2.1. Mikrobiološke analize pivskog tropa i kuhanih kobasica	28
3.2.2.2. Određivanje senzorskih karakteristika kuhanih kobasica	35
4. REZULTATI	37
5. RASPRAVA.....	41
6. ZAKLJUČCI	45
7. LITERATURA	47

Popis oznaka, kratica i simbola

MUFA	Jednostruko nezasićene masne kiseline (<i>engl.</i> monounsaturated fatty acids)
NaCl	Natrijev klorid
SFA	Zasićene masne kiseline (<i>engl.</i> saturated fatty acids)
PUFA	Višestruko nezasićene masne kiseline (<i>engl.</i> polyunsaturated fatty acids)

1. UVOD

Kobasice su proizvodi koji se proizvode punjenjem prirodnih ili umjetnih ovitaka smjesom različitih vrsta i količina mljevenog mesa, masnog tkiva, kože, jestivih unutrašnjih organa, ostataka vezivnog tkiva i drugih sastojaka. Kobasice, kao i ostali mesni proizvodi, općenito se prepoznaju kao vrijedni izvori visokokvalitetnih proteina, vitamina, minerala i bioaktivnih tvari te su to neki od razloga zašto predstavljaju savršene uvjete za rast i razmnožavanje mikroorganizama. Mikroorganizmi koji uzrokuju kvarenje svojim rastom i enzimskim reakcijama mijenjaju okus hrane kroz promjenu arome, teksture ili boje, dok patogeni mikroorganizmi mogu izazvati bolesti i na taj način ugroziti njezinu zdravstvenu ispravnost. (Duraković i sur., 2002; Aviles i sur., 2020).

U posljednje vrijeme, primjećuje se sve veća sklonost potrošača prema obrađenim namirnicama koje sadrže meso ili sastojke na bazi mesa. Još jedna značajna suvremena zabrinutost usmjerena je prema neučinkovitosti proizvodnje proteina životinjskog podrijetla. Jedno potencijalno rješenje tih problema je smanjenje oslanjanja na proteinske izvore životinjskog podrijetla te njihova zamjena alternativnim izvorima proteina. Ova strategija pruža mogućnost smanjenja količine mesa dok istovremeno poboljšava nutritivnu vrijednost mesnih proizvoda putem uključivanja funkcionalnih elemenata iz drugih sirovina. Nemasniji sastojci s visokim udjelom proteina također mogu imati pozitivan utjecaj na različite fizičke i kemijske karakteristike proizvoda, uključujući zadržavanje vode, teksturu, okus, izgled, a neki zamjenski sastojci čak mogu produljiti rok trajanja proizvoda. Primjer takvog alternativnog izvora proteina je pivski trop, nusproizvod nastao tijekom proizvodnje piva (Aviles i sur., 2020). Konkretno, žitarica koja se koristi za proizvodnju piva je ječam, čiji su zrna iznimno bogata proteinima. Njegova znatna nutritivna vrijednost, ekonomska isplativost te mogućnost ponovne uporabe otpada kao nove hrane ili prehranbenog dodatka čine ječam izuzetno privlačnim proizvodom, pogodnim za distribuciju kroz cijeli prehranbeni lanac – kao hrana za životinje, dodatak ili za izravnu konzumaciju. Iskorištavanje nusproizvod prehranbene industrije koji se mogu koristiti kako bi se poboljšala nutritivna kvaliteta i produljila održivost novih proizvoda, opravdano privlači značajnu pažnju znanstvene zajednice (Lippi, 2019).

Cilj ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj dodatka vlažnog pivskog tropa na zdravstvenu ispravnost i senzorska svojstva kuhanih kobasica.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Meso i mesne prerađevine

Pripadajući životinjskom izvoru hrane, meso ima iznimnu važnost u prehrambenoj praksi ljudi. Postoji niz sličnih objašnjenja, odnosno definicija za meso i njegove prerađene oblike. U uskome kontekstu, pojam "meso" označava mišiće lišene kostiju i većih krvnih žila, kao i mišiće koji nemaju značajne nakupine vezivnog ili masnog tkiva. Izraz "meso" se često koristi isključivo u smislu mišićnog tkiva (skeletni mišić uz svo pričvršćeno vezivno tkivo ili mast). Prerađeno meso odnosi se na proizvod koji sadrži 30 % ili više mesa te koje je prošlo kroz određenu tehniku konzerviranja (isključujući smrzavanje). Ovo uključuje prerađeno meso kao i dehidrirano i/ili sušeno meso, obuhvaćajući proizvode poput kobasica i konzerviranog mesa. (Williams, 2007; Kovačević, 2004)

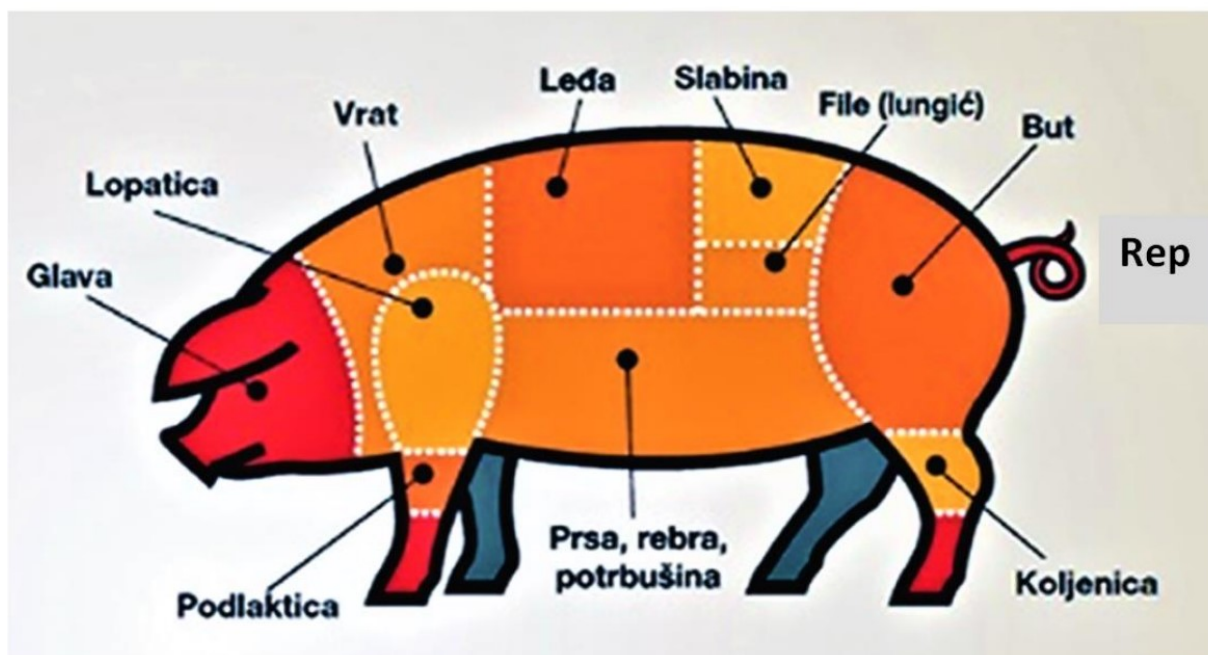
Unutar područja mesne industrije, pojam "crveno meso" obuhvaća meso goveda, ovaca i koza. U osnovi, to uključuje govedinu, teletinu, janjetinu, ovčetinu i kozje meso. U određenim državama, pojam "crveno meso" također obuhvaća svinjsko meso (npr. svinjetinu, slaninu, šunku) i rjeđe nekonvencionalna mesa poput divljači (poput bizona i deva). (Williams, 2007)

Kategorizacija mesa može se provesti prema porijeklu, dobi i klasifikaciji. U kontekstu kategorizacije prema podrijetlu, meso se dijeli u tri osnovne skupine: 1. divljač, 2. stoka i 3. domaća perad. (Kovačević, 2004; Kovačević, 2001)

Dob je kriterij prema kojem se meso dijeli na teleće, juneće ili goveđe. Na primjer, razlikovanje svinjskog mesa temelji se na težini životinje. Meso prasadi ima težinu trupla u rasponu od 5 do 15 kg, prasad (masa trupa 15,1 – 30 kg), mlade svinje (masa trupa 30,1 – 49,9 kg), svinje za klanje (masa trupa 50 – 120 kg), meso od mladih nerastova (masa trupa 50 – 120 kg), meso starijih nerastova i kastriranih mužjaka, meso krmača i meso znatno mesnatijih krmača (čija masa trupa prelazi 120 kg). (Kovačević, 2001)

Klasifikacija mesa u kategorije temelji se na razlikama u osnovnim anatomskim segmentima kod različitih životinja. Iako postoje određene varijacije, ovaj proces kategorizacije ostaje relativno uniforman. Osnovne diferencijacije se odvijaju tako da su zadnji dio i potkoljenica smješteni straga, dok se leđa i slabina nalaze u gornjem dijelu tijela. Donji dio tijela sadrži trbuh, bokove i rebra. Prednji dio svake životinje uključuje glavu, vrat, rame i podlakticu. Osnovni dijelovi tijela, polovine i četvrtine kod zaklanih životinja obuhvaćaju slabine, zadnji dio, rame (lopatica), podlakticu, leđa, vrat, rebra, prsa, trbuh, podlakticu i potkoljenu, a kod

nekih životinja također su podrazumijevani i donji dijelovi nogu i glava. (**Slika 1.**) (Kovačević, 2001)



Slika 1. Dijelovi svinjetine (Kunčić, 2019)

Što se tiče nutritivnog sastava mesa, ono je bogato gotovo svim makromolekularnim komponentama. Osnovni gradivni elementi mesa uključuju proteine, vodu, masti, ugljikohidrate i minerale. Kemijski sastav i omjer ovih temeljnih komponenata pružaju ključne uvide u energetska vrijednost, kvalitetu i tržišnu vrijednost mesa, budući da meso s višim udjelom proteina u odnosu na ostale komponente ima veću tržišnu vrijednost. Što se tiče raspona masenih udjela osnovnih komponenata u mesu, voda ima najveći udio, zatim slijede proteini, masti i komponente s dušikom. Proteini čine značajnih 16-20 % masenog udjela, uključujući sve esencijalne aminokiseline, masti se kreću između 3-30 %, voda se kreće u rasponu od 65-75 %, a komponente s dušikom čine 1-2 % masenog udjela. Preostali nutritivni profil uključuje enzime, vitamine, minerale, organske kiseline, itd. (Kovačević, 2004)

Prerađeno meso se opisuje kao proizvod koji se obično dobiva od crvenog mesa, izrađen putem postupaka kao što su sušenje, soljenje ili dimljenje (npr. šunka ili slanina) kako bi se produžio rok trajanja i poboljšao okus i boja. Prerađena mesa često sadrže primjetne količine sitno mljevenog masnog tkiva (npr. kobasice). (Rohrmann i Linseisen, 2015)

Postupak soljenja uključuje dodavanje natrijevog klorida (NaCl) mesu, čime se produžava njegovo očuvanje smanjenjem sadržaja vode i time inhibira rast mikroorganizama. Osim toga, važan korak je i proces konzerviranja, koji uključuje upotrebu soli obogaćene nitratima i

nitritima kako bi se sačuvali proizvodi od mesa. Ovaj postupak obrade mesa potiče nastanak N-nitrozni spojeva, čime se povećava inicijalno niski sadržaj soli (NaCl) u svježem mesu. Slično kao kod dimljenja, ovaj postupak je doživio napredak i poboljšanja u proizvodnoj praksi. Primjerice, dodavanjem askorbinske kiseline značajno je smanjen udio nitrata i nitrita uvedenih u prerađene mesne proizvode u većini europskih zemalja tijekom posljednjeg desetljeća. (Rohrmann i Linseisen, 2015)

Postupak dimljenja mesa inaktivira enzime i mikroorganizme, poboljšavajući njegov okus. Međutim, negativna strana dimljenja je prisutnost policikličkih aromatičnih ugljikovodika u dimu, koji nastaju pirilitičkim procesima pri visokim temperaturama dimljenja (oko 400-1000°C). Količinu nastalih policikličkih aromatičnih ugljikovodika utječu faktori poput vrste drva, temperature, upotrebe aditiva za okus dima i odabira tehnike dimljenja (izravno ili neizravno, vruće ili hladno). Zahvaljujući napretku u postupcima dimljenja mesa, količina nastalih policikličkih aromatičnih ugljikovodika značajno se smanjila posljednjih desetljeća. Osim što povećava koncentraciju policikličkih aromatičnih ugljikovodika u mesu, postupak dimljenja također povećava koncentraciju N-nitrozni spojeva u hrani. (Rohrmann i Linseisen, 2015)

Meso predstavlja jednu od najvažnijih namirnica u ishrani ljudi. Važan je izvor proteina, masti, esencijalnih aminokiselina, minerala, vitamina i drugih hranjivih tvari. Prvenstveno predstavlja bogat izvor proteina koji sadrže sve esencijalne aminokiseline u optimalnom odnosu. Nadalje, proteini mesa imaju visok stupanj probavljivosti (oko 0,92) što je skoro 50 % više od stupnja probavljivosti nekih leguminoza. Proteini mišićnog tkiva imaju vrlo visoku biološku vrijednost (preko 75 %) te imaju važnu funkciju sudjelovanja u različitim biološkim funkcijama kao što su izgradnja stanica, mišića i tkiva te stvaranje hormona i antitijela. Meso predstavlja i dobar izvor vitamina B grupe (posebno niacina), te minerala željeza, magnezija, bakra, kobalta, fosfora, kroma i nikla. Međutim, postoje i negativni aspekti utjecaja mesa na ljudsku prehranu i zdravlje te se to odnosi najvećim dijelom na mesne prerađevine. Naime, visoka konzumacija prerađene hrane može dovesti do povećanog unosa zasićenih masti, kolesterola, soli, nitrita, hem željeza, policikličkih aromatskih ugljikovodika, a i heterocikličkih amina. Sva istraživanja ukazuju na to da su prisutni mogući mehanizmi povezivanja konzumacije prerađenog mesa i rizika od kroničnih bolesti kao što su kardiovaskularne bolesti, dijabetes melitus ili neke vrste raka. (Rohrmann i Linseisen, 2015)

2.1.1. Polutrajne kobasice

Polutrajne kobasice proizvode se upotrebom različitih vrsta mesa koji su mehanički razdvojeni, uključujući masnoće i vezivna tkiva, kao i unutarnje organe (koji se moraju prethodno toplinski obrađeni), uz dodatak krvi i dodatnih komponenti (kako je prikazano na **Slici 2**). Unutar granica Hrvatske proizvodi se i stavlja na tržište niz kobasica, uključujući trajne, polutrajne, kuhane, za kuhanje i pečenje. Stručnost u izradi kobasica razvila se unutar sektora prerade mesa temeljem njihove proizvodnje. Punjenje se ubacuje u prirodne ili sintetičke ovojnice te potom prolazi kroz termičku obradu kako bi se postigla temperatura od barem 75°C u središtu kobasice. Ako se proizvod stavi na tržište bez da je umetnut u prirodne ili sintetičke ovojnice, nužno je da bude zapakiran u odgovarajuću ambalažu. (Živković, 1986; Majić i Filipović, 2006)



Slika 2. Polutrajne kobasice - kuhane kobasice (Izvor: web 1 preuzeto: 15.9.2023)

Kuhane kobasice su kategorizirane prema svom sastavu konkretno kao kobasice s krvi i jetrene kobasice. Druga klasifikacija ovisi o sirovinama koje se koriste tijekom proizvodnje i načinu izrade, rezultirajući proizvodima poput "tlačnice" ili "švargla" (kao što je prikazano na **Slici 3**), krvnih kobasica i pašteta. Prilikom izrade krvnih kobasica, mekani dijelovi svinjskih glava služe kao osnovna sirovina, kombinirani s mješavinom svinjske i goveđe krvi u omjeru 2/3 : 1/3, koja je unaprijed dobro ohlađena i stabilizirana. S obzirom na njihove koloidno-kemijske karakteristike, kuhane kobasice spadaju u kategoriju tipičnih emulzija gdje voda tvori

diskontinuiranu fazu, a mast kontinuiranu fazu. Za poboljšanje formiranja emulzije, uvode se emulgatori, uvijek u količinama manjim od 2% kako bi se izbjegao negativan utjecaj na okus proizvoda. Svaki jestivi dio svinjskog trupa može se koristiti, omogućujući iskorištavanje cijelog nutritivnog potencijala kobasice. (Toldra, 2010)

Kuhane kobasice predstavljaju omiljenu hranu spremnu za konzumaciju, prikladnu za hladnu ili toplu konzumaciju, bilo kao dio većeg obroka ili samostalno. Zahtijevaju minimalno vrijeme pripreme i ne zahtijevaju posebne kulinarske vještine. Također, sigurnost i rok trajanja poboljšavaju se dodatkom soli, nitrita i kuhanja, što nadmašuje svojstva svježeg mesa. Iako su obično napravljene od govedine i svinjetine, koriste se i alternativne vrste mesa poput peradi. U pravilu sadrže 30% - 40% nemasnog mesa i 15% - 30% masti. Meso je obično fino mljeveno, iako mogu biti prisutne i krupnije čestice. Budući da se obično konzumiraju vruće, sadržaj soli je relativno nizak (1,6% - 1,8%). Punjenje se obavlja u prirodne ovojnice debljine 18 - 22 mm, iako se također često koriste umjetne ovojnice. Također, često su podvrgnute procesu dimljenja. (Oluški, 1973)



Slika 3. Tlačénica ili švargl (Web 2, preuzeto: 7.7.2023)

"Tlačénica" ili "švargl" predstavlja oblik mesa, klasificiran kao polutrajna kobasica ili hladetina, pri čemu se narezani dijelovi svinjske glave stavljaju u želudac svinje, nakon čega slijedi dodavanje različitih sastojaka (kao što je češnjak). S druge strane, "krvavica" je kuhana kobasica koja sadrži najviše 20% krvi, unutarnjih organa, svinjskog i govedeg mesa, masnog tkiva, do 10 % čvaraka, do 15 % kožica, bujona i do 20 % kruha, ječmene kaše, prosa, heljde ili kukuruznog brašna, te do 2 % obranog mlijeka u prahu ili nekog drugog emulgatora. Stoga je

razumljivo da je "tlačunica" ("švargl") u osnovi slična "krvavici" s primjetnim isključenjem krvi. (Majić i sur., 2006)

Sukladno zakonima Republike Hrvatske, omjer bjelančevina mesa i kolagena smatra se ključnom odrednicom kvalitete mesnih proizvoda. Općenito, kvaliteta bjelančevina mesa i povezanih proizvoda temelji se na količini izvanstaničnih proteina koji se nalaze u vezivnim tkivima unutar kostiju, srčanog i glatkog mišićnog tkiva, uključujući kolagen, elastin, proteoglikane i ostale. Kvaliteta mesa niže kvalitete i odgovarajućih proizvoda (onih s većim udjelom vezivnog tkiva) može se uočiti procjenom sadržaja kolagena ili hidroksiprolina. Nadalje, upotreba različitih vrsta i kategorija mesa u proizvodnji kobasica naglašava važnost praćenja kako sirovinskih materijala, tako i konačnih rezultata, čime se osigurava usklađenost kvalitete proizvoda na tržištu i zaštita interesa potrošača. Prosječan udio proteina u kuhanim kobasicama obično varira od 11,29 % do 12,50 %, dok udio hidroksiprolina obuhvaća raspon od 0,258 % do 0,241 %, a udio kolagena se kreće od 2,06 % do 1,93 %. (Peinović i sur., 2018)

Unatoč negativnim posljedicama koje konzumacija mesa i mesnih proizvoda može imati na zdravlje, oni se i dalje široko konzumiraju među potrošačima koji ih smatraju važnim sastavnicama svoje svakodnevne prehrane. Općenito, kobasice predstavljaju vodeću i najrasprostranjeniju kategoriju unutar područja mesnih proizvoda dostupnih na tržištu. S obzirom na dvostruku prirodu negativnih i pozitivnih povezanosti između konzumacije kobasica i zdravstvenih ishoda, koje prvenstveno proizlaze iz njihova sadržaja masti i masnih kiselina, izuzetno je važno usmjeriti pažnju prema tom aspektu. Distribucija specifičnih skupina masnih kiselina unutar sastava trajnih, polutrajnih, kobasica od mesa u komadima, obarenih i kuhanih vrsta kobasica obično se kreće silaznom putanjom: mononezasićene masne kiseline (MUFA) (45,32 % - 47,11 %) > zasićene masne kiseline (SFA) (39,44 % - 40,68 %) > polinezasićene masne kiseline (PUFA) (12,20 % - 14,49 %). U kontekstu kuhanih kobasica (pašteta), karakteristična je veća prisutnost linolne kiseline (12,78 % ± 1,90 %) u usporedbi sa stearinskom kiselinom (9,00 % ± 4,07 %). Kvaliteta masti i indeksi masnih kiselina u različitim vrstama kobasica detaljno su prikazani u **Tablici 1**. (Lešić i sur., 2017).

Tablica 1. Indeksi kvalitete masti analiziranih industrijskih kobasica (prilagođeno iz Lešić i sur., 2017)

Skupina kobasica	Indeksi kvalitete masti				
	n-6/n3	PUFA/SFA	AI	HH	TI
Trajne kobasice	16,75±4,29	0,35±0,06	0,50±0,03	2,04±0,11	1,23±0,10
Polutrajne kobasice	17,00±2,51	0,36±0,04	0,50±0,02	2,06±0,09	1,20±0,06
Kobasice od mesa u komadima	13,60±3,59	0,30±0,04	0,51±0,04	1,96±0,13	1,25±0,12
Obarene kobasice	17,15±2,54	0,34±0,01	0,50±0,01	2,05±0,04	1,20±0,02
Kuhane kobasice	13,69±3,47	0,36±0,07	0,57±0,14	1,81±0,35	1,22±0,22

SFA = zasićene masne kiseline; PUFA = višestruko nezasićene masne kiseline, n-3 = omega 3 masne kiseline; n-6 = omega-6 masne kiseline; HH = omjer hipo-/hiper-kolesterolemičnih masnih kiselina = $(C18:1n-9 + C18:2n-6 + C20:4n-6 + C18:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3)/(C14:0 + C16:0)$; AI = aterogeni indeks = $[(12:0 + (4 \times 14:0) + 16:0)]/[\text{sum MUFA} + \text{PUFA n-6} + \text{PUFA n-3}]$; TI = trombogeni indeks = $(14:0 + 16:0 + 18:0)/[(0.5 \times \text{sum of MUFA} + 0.5 \times \text{PUFA n-6} + 3 \times \text{PUFA n-3}) + (\text{PUFA n-3} / \text{PUFA n-6})]$; Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost (n= 5) ± standardna devijacija

Proizvodnja polutrajnih kobasica uključuje ključne parametre koji utječu na njihovu kvalitetu. Kvaliteta izravno odražava odabir materijala i metoda. S pažljivo osmišljenim procesom, materijali bi trebali doseći očekivane standarde kvalitete. Sastojci zahtijevaju pripremu kako bi zadovoljili standarde kvalitete kobasica. Detaljne specifikacije za svaku sirovinu obuhvaćaju ključne faktore koji oblikuju kvalitetu proizvoda. To uključuje definiranje osnovnih fizikalnih, kemijskih i mikrobioloških uvjeta. (Badpa i Ahmad, 2014)

U procesu proizvodnje kobasica, mogu se koristiti svježije i visokokvalitetne vrste mesa poput janjetine, govedine, svinjetine, ovčetine i peradi, uključujući različite dijelove glave i ostataka. Dodatne komponente također se koriste, uključujući sol (koja obogaćuje okus, izdvaja proteine iz mesa, pojačava okus, smanjuje mikrobiološko kvarenje i povećava sposobnost vezanja vode), led (pomaže u procesu miješanja i olakšava otapanje proteina mesa solju), sredstva za konzerviranje (ograničavaju rast mikroorganizama, daju ružičastu boju mesu i pojačavaju okus), začine (doprinosu ukusu proizvoda), veziva (olakšavaju zadržavanje masti i vlage) i vezivne tvari (smanjuju troškove formulacije). (Badpa i Ahmad, 2014)

Sirovine upotrijebljene u proizvodnji kobasica trebaju biti kvalitetne i podvrgnute mikrobnjoj analizi. Svi sastojci bi trebali biti pravilno odmjereni prema svakom posebnom receptu prije miješanja. Meso koje se koristi je uglavnom svježije ili smrznuto. Sam izbor mesa treba se

temeljiti na njegovoj sposobnosti vezivanja vode, koja treba biti visoka. Potrebno je oko 20 % udjela masti za dobru teksturu, okus i aromu. Mogu se koristiti tvrde i meke masti; svinjska mast, goveđa mast, ovčja mast, pileća mast ili se čak mogu koristiti biljna ulja. Goveđa i janjeća mast imaju vrlo jak okus koji se može prikriti pažljivim izborom začina. (Badpa i Ahmad, 2014)

Koraci u tehnološkom procesu proizvodnje kobasica su drobljenje i mljevenje mesa, punjenje, dodavanje kože, kuhanje te hlađenje i pakiranje.

Usitnjavanje mesa i masnih sastojaka dio je dugotrajne prakse koja se nastavlja i danas, posebno među malim proizvođačima koji se specijaliziraju za određene proizvode. Nemasno meso se prvo melje kroz ploču s rupama veličine 3-6 mm, dok masni dijelovi prolaze kroz ploču s rupama veličine 6-9 mm. Tripice i nadjevi se često dvostruko drobe kroz ploče s rupama veličine 3-4 mm, a potom kroz finiji mlin. Grublje usitnjavanje povećava kapacitet stroja i zagrijava meso, dok finije drobljenje poboljšava vezivanje i emulgiranje. Dodaju se soli za stvrdnjavanje, a smjesa se mehanički miješa radi bolje disperzije sastojaka. Stvrdnjavanje se može provoditi preko noći na temperaturi od 1-4°C ili nakon posljednjeg usitnjavanja, čak i tijekom dimljenja. U postupcima izrade kobasica sličnih emulzijama, nakon početnog drobljenja u mlincu, slijedi dodatno usitnjavanje radi boljeg i ujednačenijeg smanjenja veličine. Ovaj korak obično ne postiže finu konzistenciju. (Badpa i Ahmad, 2014)

Prilikom pripreme kobasica, nakon mljevenja, meso se fino usitnjava kako bi se olakšala ekstrakcija proteina, omogućujući proteinima vezivanje vode i održavanje raspršenih masnih kapljica. Stvaranje emulzije za kobasice uključuje dvije glavne faze. Na početku, nemasno meso se sjecka i usitnjava uz dodatak soli za stvrdnjavanje, fosfata/citrata i određene količine leda/vode. Više soli u vodenoj fazi smjese poboljšava ekstrakciju proteina i stabilnost emulzije. Preporučuje se mljevenje nemasnog mesa oko 6-8 minuta. Zatim se dodaju masni ostaci, mast, začini i preostala voda te se mljevenje nastavlja dok se ne postigne temeljito usitnjavanje, pri temperaturi ispod 18 °C. Dezintegrirani mesni komadi upijaju vodu tijekom ove faze. Natrijev askorbat, ako se koristi, dodaje se na kraju. Popularne metode uključuju istodobno sjeckanje mesa i masti. Otapanje polifosfata i sredstava za stvrdnjavanje u toploj vodi poboljšava njihov učinak na svojstva mesa. Veća količina soli i produljeno mljevenje ekstrahiraju više proteina, što poboljšava kvalitetu vezivanja. Fosfati nisu potrebni ako se koristi vruće otkoštano meso. (Badpa i Ahmad, 2014)

Sljedeći korak u proizvodnji kobasica uključuje punjenje smjese u nadjeve. Prije toga, važno je eliminirati kisik iz smjese pomoću opreme za vakuumsko punjenje, pri čemu se temperatura smjese održava ispod 2 °C. Koriste se različite vrste ovojnica, uključujući prirodne ovojnice od životinjskih crijeva te umjetne ovojnice izrađene od modificiranog kolagena ili celuloze. Uklanjanje zraka poboljšava stabilnost boje i vizualnu privlačnost, smanjuje oksidaciju masti, rast bakterija i proteolizu, čime se konačno produžava rok trajanja kobasica. (Badpa i Ahmad, 2014)

Nadjevi, također poznati kao koža ili crijeva, imaju ključnu ulogu u proizvodnji kobasica, prvenstveno u porcioniranju. Podijeljeni su na prirodne i umjetne kategorije. Prirodna crijeva od svinja ili ovaca su česta, često se uvijaju nakon punjenja i kuhanja. Umjetni nadjevi, izrađeni od kolagena, celuloze ili plastike, pružaju raznovrsne mogućnosti upotrebe. Kolagen se dobiva iz životinjskog vezivnog tkiva, što poboljšava proizvodnju. Osim oblikovanja kobasica, nadjevi produljuju rok trajanja zadržavajući vlagu i odolijevajući kisiku zahvaljujući čvrstim brtvama. Konačno, nadjevi minimiziraju gubitak težine tijekom kuhanja. (Badpa i Ahmad, 2014)

U proizvodnji kobasica koriste se različite metode kuhanja, uključujući uganjanje u posudu za kuhanje, toplo tuširanje u komorama za dimljenje s mlaznicama i vruće tuširanje u odvojenim odjeljcima nakon dimljenja. Suha toplinska obrada uključuje povećanje temperature komore i ispiranje toplom vodom. Rasporedi kuhanja variraju, s metodama vodenih sprejeva na temperaturi od 80-82 °C i posuda za kuhanje na 73-76 °C. Optimalna unutarnja temperatura kobasice za trajnost i okus iznosi 68 °C. Pravilno planiranje kuhanja uzima u obzir željeni prinos i kvalitetu. Nakon kuhanja, kobasice se ispiraju vrućom vodom kako bi se uklonila preostala mast. Kobasice treba ispirati na 3,3-4,4 °C, a zatim ohladiti na -15 °C za pakiranje. Pakiranje štiti meso od kontaminacije i fizičkih promjena. Materijali za pakiranje trebaju dobro izgledati kupcima. Vakuumsko pakiranje produžuje rok trajanja, posebno za hrenovke i kuhane kobasice. Vakuumski zatvorene kriške su idealne za sendviče ako su sterilizirane. Pravilno pakiranje plastičnim folijama održava kvalitetu tijekom hlađenja. Vakuumski zatvoreno meso bizona pokazuje bolju stabilnost. (Badpa i Ahmad, 2014).

2.1.2. Mikrobiološka i senzorska svojstva crvenog mesa

Prilikom ocjenjivanja kvalitete mesa pa tako i kobasica, glavni fokus je na procjeni senzorskih karakteristika. Te senzorske značajke obuhvaćaju vizualne aspekte kao što su izgled presjeka i boja mesa i masnog tkiva (tj. nadjeva), konzistenciju ili teksturu, miris i okus kobasice. Ovi parametri mogu se mijenjati zbog pogrešaka koje se događaju tijekom procesa proizvodnje kobasica ili različitih tehnoloških nepravilnosti. Spomenute pogreške odnose se na promjene u vanjskom izgledu, nadjevu, mirisu i okusu, i ne samo da narušavaju kvalitetu kobasice, već također izazivaju zabrinutost u vezi s njezinom prikladnošću za ljudsku potrošnju. (Oluški, 1973; Majić i Filipović, 2006). Promjene mirisa i okusa su jedne od najvažnijih promjena koje ukazuju na greške kobasica te su prikazane u **Tablici 2**.

Najčešći problemi koji utječu na vanjski izgled kobasica uključuju: 1. Nabore na ovojnica zbog prekomjernog ili brzog sušenja, 2. Odvajanje ovojnica zbog visoke vlage u komori za sazrijevanje polutrajnih kobasica, 3. Masnoća na ovojnica uzrokovana jakim dimljenjem ili visokim udjelom masti, što može dovesti do razdvajanja masti ispod ovojnice zbog prekomjerne upotrebe mekane masti ili izrazito visokih obradnih temperatura. Faktori poput niske kvalitete emulgatora, pregrijavanja mesne smjese ili prekomjerne uporabe masti također mogu pridonijeti ovim problemima. 4. Pucanje ovojnica zbog visokih temperatura kuhanja i 5. Nepoželjna zelena plijesan na ovojnici polutrajnih kobasica zbog neadekvatne kontrole vlage tijekom sazrijevanja. Osim promjena u vanjskom izgledu kobasica, moguća su i nepoželjna odstupanja u nadjevu koja često uzrokuju varijacije u teksturi ili boji. Ta odstupanja uključuju da nadjev razvija tamni rub zbog niske vlage i visokih temperatura zraka tijekom sazrijevanja, postaje porozan i šupljikav zbog nepravilnog punjenja i zračnih džepova u nadjevu ili pokazuje slabu povezanost zbog nedostatnog sazrijevanja. Također, može promijeniti boju u zelenu zbog neadekvatnog slanog postupka uzrokovanog aktivnošću bakterije *Lactobacillus* spp., postati svjetliji (ponovno zbog nedostatnog soljenja), pokazivati zatvorenu strukturu ako je meso od starijih životinja ili postati mramoran. Crne mrlje u nadjevu ukazuju na reakciju askorbinske kiseline u smjesi s metalnim dijelovima stroja, dok svijetli sivi rub sugerira nedostatno soljenje. S druge strane, tamni prsten na rubu kobasica rezultat je otapanja velikih kristala leda tijekom odmrzavanja mesa, što oslobađa značajnu količinu topline iz mesa. Visoke temperature dimljenja i sazrijevanja također pridonose brzom rastu bakterija i enzimske aktivnosti u nadjevu.

Tablica 2. Neželjene promjene mirisa, okusa i teksture kobasica i njihovi uzroci (prilagođeno iz Majić i Filipović, 2006)

Promjena mirisa, okusa ili teksture	Uzrok
Kiselkasti miris	Intenzivna bakterijska razgradnja dodanog šećera i GDL-a; kiselo vrenje mesa tijekom salamurenja
Truležni miris	Dugotrajno vlažno salamurenje mesa koje na višoj temperaturi podliježe procesima smrdljivog vrenja i gnjiljenja
Neugodan miris	Gnjiljenje
Ranketljiv okus	Oksidacija masti u nadjevu; upotreba nedovoljno očišćenih ili predugo čuvanih crijeva
Slani okus	Upotreba soljenih crijeva koja prije upotrebe nisu isprana u mlakoj vodi
Sluzave niti na prerezu ili prijelomu kobasice	Ostavljanje prerezane kobasice na sobnoj temperaturi
Osip ovitka kobasice	Pohrana u vlažnim prostorijama s nedovoljnom cirkulacijom zraka
Nespecifičan, pljesniv miris	Greške tehnološkog procesa sušenja i zrenja; djelovanje plijesni <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> i <i>Mucor</i>

Sivi srednji dio kobasica posljedica je nedovoljnog slanog postupka pri nižim temperaturama ili podmazivanja nadjeva uzrokovanog aktivnošću bakterija mliječne kiseline, mikrokoka te sporogenih i koliformnih bakterija u nadjevu. Također može nastati zbog nedovoljnog cijedenja i hlađenja masti prije punjenja kobasica. (Majić i Filipović, 2006)

Općenito je poznato da većina bakterija prisutnih na crvenom mesu potječe s kože. Početno, tkivo ispod površine kože ostaje bez bakterija. Međutim, nakon izlaganja okolini, postaje

podložno kontaminaciji bakterijama tijekom postupaka prerade i iz okoline. Tijekom procesa uklanjanja kože, bakterije s kože mogu se prenijeti na potkožno tkivo. Kasnije, bakterije se mogu širiti kroz aerosole i prašinu koji potječu s kože tijekom uklanjanja, kao i putem kontakta s rukama radnika ili putem kontakta između izložene površine tkiva i kože ili vune. Za razliku od ovaca i goveda, svinjska koža obično se ne uklanja već se prelijeva kipućom vodom i ostavlja na truplima. Pranje vrelom vodom smanjuje broj mikroba na koži, ali ponovna kontaminacija može nastati tijekom procesa uklanjanja dlaka zbog ostataka u strojevima za uklanjanje dlaka. Metode opaljivanja, koje se koriste za uklanjanje ostataka dlaka s trupala, djelomično ubijaju prirodno prisutne mikrobe. Međutim, određeni dijelovi površine trupala možda neće primiti adekvatan toplinski tretman. Nadalje, mikrobi u dubljim slojevima površinskih tkiva ostaju zaštićeni od topline tijekom postupaka osmuđivanja. (Kegalj, 2012)

Tijekom procesa evisceracije, mikroorganizmi mogu kontaminirati trupove, posebno ako je probijen bilo koji dio probavnog sustava ili ako fekalni materijal iz rektuma dođe u kontakt s drugim trupovima. Pažljiva evisceracija smanjuje ovaj rizik. Bakterije se također mogu unijeti s okolišnih izvora u prostoru za preradu, uključujući površine, noževe i ruke radnika. Brzo smrzavanje trupova pri niskim temperaturama i visokoj vlažnosti zraka, uz snažno strujanje zraka, smanjuje populaciju bakterija. Međutim, blagi uvjeti smrzavanja mogu pogodovati rastu psihrotrofa pred mesofilima, koji uspijevaju na temperaturama iznad 15°C. Prilikom rezanja mesa u maloprodaji, bakterije se mogu prenijeti s površina tkiva na svježije površine mesa putem noževa i ruku radnika. To je posebno važno kod mljevenog mesa, gdje se mikroorganizmi mogu širiti kroz proizvod, strojeve i mesne ostatke. Mikroorganizmi u prerađenom mesu potječu ne samo iz samog mesa, već i iz dodataka poput začina, soli i praha od mlijeka. Injicirani proizvodi poput šunki koriste otopinu soli odabrane mikrobiološke kvalitete u svojoj proizvodnji. (Kegalj, 2012)

Zdrava tkiva životinja posjeduju prirodnu obranu od infekcija, uključujući fizičke barijere i imunološki sustav, što rezultira relativno niskim razinama mikroorganizma u njihovim unutarnjim organima i mišićima. Kako bi se osigurala sigurnost mesa za ljudsku potrošnju, od presudne je važnosti koristiti meso isključivo iz zdravih životinja, budući da se neke bolesti mogu prenositi s životinja na ljude. Koža (krzno) i probavni sustav su dijelovi tijela koji su najviše naseljeni mikrobima, predstavljajući potencijalne rizike za kontaminaciju mesa. Vrste i količine mikroba na tim područjima odražavaju lokalni mikrobni okoliš životinje. Primjerice,

životinjsko krzno nosi raznoliku mikrobnu populaciju, uključujući mikrokoke, stafilokoke, pseudomone, kvasce, plijesni i organizme iz izvora poput tla i izmeta.

Pravilni higijenski standardi igraju značajnu ulogu u smanjenju kontaminacije opreme i osoblja u odnosu na kontaminaciju od strane samih životinja. Primarni rizik za takvu kontaminaciju javlja se tijekom obrade mesa, posebice pri uklanjanju glave, nogu, viška masnoće, sadržaja crijeva i iznutrica iz tijela i mišića životinje. Uklanjanje kože može širiti kontaminaciju s krzna na svježe izložene površine životinje putem izravnog kontakta i korištenja noževa za skidanje kože ili opreme za obradu. Iako pranje životinja prije klanja može smanjiti broj mikroorganizama na koži, najučinkovitiji pristup je vješto i higijensko uklanjanje kože. Crijeva sadrže veliku populaciju mikroba, uključujući potencijalne patogene, što zahtijeva pažljivo postupanje kako bi se spriječila kontaminacija dijelova tijela, što može nastati uslijed probijanja ili curenja tijekom uklanjanja. Nakon što se koža ukloni, životinjska trupla peru se kako bi se uklonile vidljive nečistoće. Nakon tog postupka, trupla se hlade na niskim temperaturama, što potencijalno smanjuje broj mikroba uslijed hladnog šoka. Pri tim temperaturama, mikrobni rast ograničen je na psihrotrofe, a njihov razvoj može ometati naknadno djelomično sušenje površine. Psihrotrofni mikrobi prvotno čine mali postotak mikroflore, ali mogu postati dominantni kada se meso skladišti na niskim temperaturama. Iako se broj mikroba povećava tijekom rezanja i kosturenja, taj porast nije značajan jer se procesi završavaju unutar nekoliko sati na temperaturama ispod 10°C. Najveći rizik od kontaminacije nastaje s novootvorenim površinama mesa i opremom poput noževa, pile i stolova za obradu mesa. (Kegalj, 2012)

Nadalje, plijesni ne rastu u crvenom mesu pohranjenom ispod -5 °C. Propadanje mesa, posebice kad je visok sadržaj vode i u uvjetima visoke vlage, uglavnom uzrokuju bakterije. U anaerobnim uvjetima, određene bakterije poput *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Moraxella* i *Aeromonas* dominiraju i razgrađuju proteine u mesu putem putrefakcije. Taj proces proizvodi neugodne mirise zbog razgradnje aminokiselina, čineći meso nejestivim. Primjerice, pokvarena jaja mirišu na vodikov sulfid, a kad meso postane smrdljivo i sluzavo, to ukazuje na mikrobno propadanje. U aerobnim uvjetima razgradnja proteina možda neće stvarati loše mirise, ali može dovesti do pojave sluzi zbog bakterija poput *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Micrococcus* i *Lactobacillus*.

Vrsta mikroorganizama odgovornih za propadanje ovisi o svježini mesa. Propadanje svježeg mesa uglavnom uzrokuju bakterije mliječne kiseline poput *Lactobacillus*, *Leuconostoc* i *Streptococcus*, dok se u manje svježem mesu razvijaju vrste iz rodova *Pseudomonas*, *Achromobacter* i *Micrococcus*. Većina bakterija uzročnika propadanja, uključujući i vrste iz roda *Pseudomonas*, koristi glukozu kao svoj glavni izvor hrane. Ako je glukoza na površini mesa, mora pokriti veliko područje da bi podržala rast bakterija. Kako se glukoza iz dubljih tkiva smanjuje, bakterije počinju koristiti laktoze i aminokiseline. Razgradnja aminokiselina od strane mikroflore koja uzrokuje propadanje rezultira stvaranjem spojeva poput amonijaka, vodikovog sulfida, indola, skatola, amina i drugih. Ti spojevi stvaraju neugodne mirise, okuse i boje kada njihove koncentracije postanu detektirane ljudskim osjetilima. Vrste iz rodova *Acinetobacter* i *Moraxella* igraju manju ulogu u propadanju jer, za razliku od vrsta iz roda *Pseudomonas*, očigledno nemaju sposobnost brze proizvodnje neugodnih mirisa razgradnjom aminokiselina. (Kegalj, 2012)

Polutrajne kobasice su podložne brzom mikrobiološkom kvarenju, često zbog nepravilne i nedovoljne toplinske obrade te kontaminacije sirovinama bakterijama. Također, kobasice koje sadrže značajnu količinu jetre, posebno kada se jetra grubo sjecka na velike dijelove, posebno su osjetljive na ubrzano mikrobiološko kvarenje. Kako bi se spriječio ili barem usporio proces kvarenja, ključno je koristiti visokokvalitetnu i čistu jetru kao sirovinu. Također, važno je napomenuti da se jetra kontaminira različitim vrstama bakterija odmah nakon klanja životinje. Nadalje, jetra je bogata glikogenom, što predstavlja izvrsnu podlogu za daljnji rast bakterija. Učinkovita metoda za smanjenje broja bakterija je brzo hlađenje kobasica nakon zagrijavanja u što kraćem mogućem vremenskom razdoblju. Jednako je bitno osigurati da temperature tijekom zagrijavanja i dimljenja ne pogoduju razvoju bakterija. (Živković, 1986)

Tekstura mesnih proizvoda igra ključnu ulogu u oblikovanju njihovih senzorskih karakteristika. Ističe se kao temeljni čimbenik koji doprinosi njihovoj ukupnoj kvaliteti, izravno utječući na potrošače dok oblikuju svoje dojmove putem svojih osjetila. Tekstura, u biti, predstavlja način na koji se naša osjetila odazivaju na taktilne aspekte kontakta između dijela tijela i hrane. Kolagenski proteini, poznati po svojoj sposobnosti stvaranja gelaste i viskozne konzistencije, široko se koriste u mesnoj industriji radi poboljšanja različitih tehnoloških svojstava, uključujući zadržavanje vode, stabilizaciju mesnih emulzija, geliranje i druge. Karakteristična molekularna struktura kolagena, nazvana "trostruki heliks", preuzima ključnu ulogu u širokom

spektru funkcionalnih svojstava. To uključuje formiranje gela, emulzifikaciju, površinsku aktivnost, razvoj filma i mnoge druge. Utjecaj ovih proteina na teksturna svojstva proizvoda ostaje središnja točka opsežnih istraživanja. (Peinović i sur., 2018)

2.3. Pivski trop

Pivo se svrstava kao peti najčešće konzumirani napitak u svijetu, što zaostaje za čajem, kavom, mlijekom i gaziranim napitcima. Unatoč tome, proces proizvodnje piva generira značajnu količinu sporednih proizvoda, uključujući vodu, ostatak slada, kvasac, ugljični dioksid i klice ječmenog slada. Kako bi se iskoristile ekonomske i ekološke prednosti, provode se inicijative za recikliranje ovih otpadnih materijala i njihova upotreba u procesima proizvodnje piva kao sirovina ili izvor energije ili kao sirovina u različitim drugim industrijskim sektorima (Miličević, 2014; Šakić, 2005).

Ostatak slada dobiva se na kraju hidroliznog procesa i predstavlja mješavinu razgrađenih i netaknutih komponenata slada u vodi. Ekstrahirana vodena otopina naziva se sladovina, dok netaknute komponente čine ostatak slada, koji je glavni nusproizvod pivovarstva i čini otprilike 85 % svih ukupnih nusproizvoda (**Slika 4.**) (Pejin i sur., 2013).

Unatoč velikoj dostupnosti, odlaganje ostataka slada (pivskog tropa) često predstavlja izazov. Međutim, njegova glavna primjena obično se svodi na ishranu životinja, iako atraktivnost njegova potencijalnog dodavanja ljudskoj prehrani leži u konstantnoj, visokoj ponudi, ekonomičnosti i potencijalnoj nutritivnoj vrijednosti. Kao ilustracija konstantne ponude, Turska godišnje proizvede otprilike 50 000 tona pivskog tropa (Özvural i sur., 2009).

Pivski trop ima brojne pozitivne zdravstvene učinke. Osnovne komponente u pivskom tropu koje su posebno zanimljive zbog njihovih potencijalnih zdravstvenih koristi uključuju dijetalna vlakna poput arabinoksilana i β -glukana, fenolne spojeve kao što je hidroksicimetna kiselina i proteinske frakcije s povoljnim profilom aminokiselina, osobito s visokom koncentracijom esencijalnih aminokiselina koja je manja u drugim žitaricama (Jakšić, 2022).



Slika 4. Pivski trop (Vincetić, 2016)

Arabinoksilan sve više dobiva priznanje kao dijetalno vlakno, pri čemu se znatan dio može ekstrahirati u vodenom okolišu debelog crijeva i djelovati kao probiotik. Nadalje, arabinoksilan prolazi fermentaciju kada je izložen mikroflori debelog crijeva, koja se uglavnom sastoji od bifidobakterija i laktobacila. Ovi mikroorganizmi služe kako bi zaštitili domaćina od patogenih organizama putem poticanja imunološkog odgovora, smanjenja sinteze kolesterola, poticanja cirkulacije krvi u debelom crijevu, poboljšanja kontrakcija mišića crijeva te smanjenja rizika od raka debelog crijeva. Također, pokazalo se da arabinoksilan ima potencijal za smanjenje glikemijskog indeksa. Lignin se također klasificira kao dijetalno vlakno i ponaša se kao inertna tvar u probavnom traktu, otporna na metaboličke procese crijevne mikroflore. Drugo dijetalno vlakno prisutno u pivskom tropu je β -glukan, koji je osobito obilan u ječmu. Konzumacija integralnih žitarica povezana je s smanjenim rizikom od koronarne bolesti srca, a taj se učinak pripisuje β -glukanu. Fiziološki učinak β -glukana povezan je s njegovom sposobnošću da formira gelu sličnu mrežu, povećavajući tako viskoznost sadržaja probavnog trakta. Smatra se da to smanjuje apsorpciju žučnih kiselina i potiče sintezu žučnih kiselina iz kolesterola, doprinoseći tako njegovom snižavanju. (Jakšić, 2022).

Esencijalne aminokiseline čine otprilike 30% ukupnog sadržaja proteina u pivskom tropu, pri čemu je lizin najzastupljenija među njima. Hidrolizati proteina izolirani iz raznih poljoprivrednih kultura, uključujući soju, uljanu repicu, pšenicu, suncokret i ječam, pokazuju antioksidacijske i antihipertenzivne osobine. Istraživanja su provedena u vezi potencijala hidrolizata proteina iz pivskog tropa da djeluju kao sastojci za liječenje dijabetesa i hipertenzije. S obzirom na to da se većina fenolnih spojeva ječma nalazi u ljusci, a hidroksicimetna kiselina u staničnoj membrani, pivski trop se pojavljuje kao vrijedan izvor ovih

fenolnih spojeva. Među njima, hidroksicimetna kiselina, najzastupljenija u pivskom tropu, pokazuje najjače antioksidacijsko djelovanje. Slijede je kafeinska kiselina, sinapinska kiselina, esteri ferulne kiseline, i na kraju, p-kumarična kiselina. Osim potencijala za antioksidaciju, fenolne kiseline također imaju antikancerogeno i imunomodulatorno djelovanje. Nadalje, sadržaj fenolnih spojeva u pivskom tropu ovisi o vrsti slada iz kojeg potječe. S obzirom na ove prednosti i prisutnost ovih bioaktivnih spojeva, pivski trop predstavlja isplativu nusproizvodnu komponentu. (Jakšić, 2022)

2.3.3. Dobivanje pivskog tropa

Pivo predstavlja omiljeni osvježavajući napitak te nastaje kroz složeni, višestruki proces ukorijenjen u biološkoj konverziji različitih sirovina u konačni proizvod. Temeljne komponente koje se koriste u vještjoj izradi piva obuhvaćaju ječam, vodu, hmelj, aditive i nezamjenjivi pivski kvasac. Središnji dio ovog procesa temelji se na pretvorbi ječma u slad kroz pažljivo usklađeni niz koraka. Ovaj postupak transformacije poznat je kao sladovanje i započinje potapanjem zrna ječma u vodu, nakon čega slijedi klijanje namočenih zrna te završni korak, sušenje proklijalih zrna.

Temeljni dio procesa izrade piva oko sebe okreće stvaranje tvari poznate kao sladovina, postignuto kroz alkemijski postupak poznat kao ukomljavanje. Ovaj presudni korak uključuje miješanje sitno mljevenog slada s vodom koji se često naziva "ukomljavanje". Nakon toga, komponente sladovine izmame i izvuku u rezultirajuću smjesu, poznatu kao ekstrakt, ili preciznije, sastojke sladovine. Međutim, alkemijski postupak ukomljavanja ostavlja iza sebe kominu, ostatak neekstrahiranih i neizvučenih sastojaka koji lebde u vodenom mediju.

U ovoj kompoziciji, tekući dio koji obuhvaća izvučene elemente se zove sladovina, glavna sirovina za proizvodnju piva. Komina, odnosno ostaci koji se nisu ekstrahirali čine ono što se zove pivski trop. U osnovi, pivski trop čini mješavinu ljusaka, klica ječma i drugih komponenata ječma koji nisu ukomljeni te postoje ostaju neekstrahirani. Važno je prepoznati da se u proizvodnji piva za veliku transformaciju u pivo bira samo sladovina. Stoga je proces odvajanja pivskog tropa od sladovine od presudne važnosti i postiže se kroz postupak prikladno nazvan cijedenje.

Kako se odvija tehnološki proces proizvodnje piva, stvara se značajna količina različitih nusproizvoda. Među tim nusproizvodima, dva se ističu kao najzastupljeniji: pivski trop i pivski

kvasac. Ovi ostaci proizvodnje piva svaki posjeduju svoje jedinstvene karakteristike i potencijalne primjene, dodajući dubinu složenom procesu izrade piva. (Pejin i sur., 2013)

2.3.3. Primjena pivskog tropa

Pivski trop nudi bogatstvo potencijalnih primjena. Prvo, istraživao je zbog svoje uloge u proizvodnji mliječne kiseline. Hidrolizat pivskog tropa sadrži komponente koje dosad nisu bile identificirane, a koje povećavaju proizvodnju mliječne kiseline kada se kombiniraju s komponentama de Mana, Rogose i Sharpe (MRS) bujona. Ovo povećanje prinosa može se pripisati potencijalnom kapacitetu hidrolizata za održavanje konstantnog pH-a, što utječe na fermentaciju. Hidrolizat pivskog tropa dobiva se enzimskim razgradnjom pivskog tropa uz dodatak Na-citratnog pufera (pH 4,8), koji nije prisutan u sastavu MRS bujona.

Osim toga, ekstrakt pivskog tropa dobiven pod visokim tlakom učinkovito smanjuje stvaranje pjene tijekom fermentacije piva bez negativnog utjecaja na karakteristike piva. Pivski trop, s nepravilno oblikovanim česticama i nehomogenim kemijskim sastavom, sadrži aktivna mjesta za vezivanje i imobilizaciju kvasca. Ispitan je kao nosač za stanice pivskog kvasca u kontinuiranoj fermentaciji piva, nudeći brojne prednosti, uključujući visoki kapacitet vezivanja stanica kvasca, jednostavnu primjenu bez potrebe za kemijskom modifikacijom, mogućnost regeneracije ispiranjem, kompatibilnost s procesom fermentacije, netoksičnost i ekonomičnost.

Osim toga, pivski trop pokazuje potencijal kao podloga za uzgoj mikroorganizama, gljiva i proizvodnju enzima zbog visokog udjela vlage i povoljnog kemijskog sastava. Također je istraživao kao lignocelulozni materijal za proizvodnju bioetanol.

Pivski trop također može služiti kao isplativa sirovina za proizvodnju ksilitola, umjetnog zaslađivača. Proizvodnja ksilitola fermentacijom uz korištenje pivskog tropa ekonomski je povoljnija od kemijskih procesa, što pridonosi ekološkoj održivosti u prehrambenoj industriji.

Pululan, glukozni homopolisaharid, pokazuje vrijedne karakteristike u različitim industrijama. Pivski trop može poboljšati njegovu proizvodnju, jer pululan tvori netopljiva vlakna i folije koje imaju primjenu u prehrambenoj, farmaceutskoj i elektroničkoj industriji.

Naposljetku, pivski trop se može koristiti za proizvodnju bioplina putem anaerobne fermentacije organskih nusproizvoda, što doprinosi recikliranju resursa i ekološkoj održivosti. (Pejin i sur., 2013)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak rada

Ciljevi ovog istraživanja bili su:

- pripremiti uzorke kuhanih kobasica s dodatkom vlažnog pivskiog tropa ($w = 0 - 9\%$),
- provesti mikrobiološku analizu uzoraka kuhanih kobasica koja uključuje prisutnost enterobakterija, aerobnih mezofilnih bakterija, sulfidoreducirajućih klostridija, koagulaza-pozitivnih stafilokoka/*Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* i *Listeria monocytogenes* tijekom sedmodnevnog skladištenja pri 4 °C,
- odrediti senzorska svokstva uzoraka kuhanih kobasica (boju, miris, okus i ukupna prihvatljivost), tijekom sedmodnevnog skladištenja pri 4 °C.

3.2. Materijali i metode

3.2.1. Materijali

3.2.1.1. Svinjsko meso

Za izradu kuhanih kobasica upotrijebljene su svinjske glave, jezici, srca i koža. (Slika 5.)



Slika 5. Upotrijebljene kuhane svinjske glave, jezici, srca i koža za izradu kuhanih kobasica (Izvor:autor)

3.2.1.2. Proizvodnja kuhanih kobasica

Postupak proizvodnje kuhanih kobasica je započeo kuhanjem svinjskih glava, jezika i srca. Tijekom kuhanja dodan je lovorov list (nekoliko listova) i crni papar u zrnu (desetak zrna), a 1 sat prije kraja kuhanja dodana je i svinjska koža (**Slika 6.**). Kada se čitava smjesa ohladila, provedeno je mljevenje čitave mase te su nakon toga dodani dodaci i začini (**Slika 9.**).

U **Tablici 7.** prikazana je receptura osnovnih sastojaka, začina i dodataka upotrijebljenih pri izradi kuhanih kobasica. Pripremljeni nadjev je nakon toga razdvojen u dijelove te je svakoj pojedinoj masi dodano 3, 6 i 9 % pivskog tropa. Masa kojoj nije dodan pivski trop bila je kontrolni uzorak. Nakon toga, uslijedilo je punjenje u svinjska tanka crijeva (38/42 mm) (**Slika 8.**). Nakon punjenja, kobasice su još obarene pri temperaturi od 80°C u trajanju od 10 minuta te su naglo ohlađene na temperaturu od 4°C. S postupkom hlađenja završen je tehnološki proces proizvodnje kuhanih kobasica (**Slika 9.**).

Tablica 3. Receptura osnovnih sastojaka, začina i dodataka upotrebljenih pri izradi kuhanih kobasica

	MASENI UDIO(%)
Meso svinjskih glava	30
Svinjska srca	25
Svinjski jezici	25
Svinjske kože	15,8
Kuhinjska sol	2
Slatka paprika	0,6
Ljuta paprika	0,6
Češnjak u prahu	0,5
Papar	0,5



Slika 6. Kuhanje svinjskih glava, jezika, srca, lovorovog lista, crnog papra u zrnju i svinjske kože (Izvor: autor)



Slika 7. Izmljevena mesna masa s dodanom kuhinjskom soli i začinima (Izvor: autor)



Slika 8. Punjenje mesne mase u crijeva (Izvor: autor)



Slika 9. Proizvedene kuhane kobasice sa 0%, 3%, 6% i 9% vlažnog pivskog troša (Izvor: autor)

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Mikrobiološke analize pivskog tropa i kuhanih kobasica

Tablica 4. Mikrobiološke analize prema Vodiču o mikrobiološkim kriterijima, treće izdanje, 2011.

1.2.3. Kuhane kobasice (krvavica, tlačenica, pašteta u ovitku i dr.)	Preporučeni			
	<i>Salmonella spp.</i>	5	0	n.n. u 25g
	<i>Enterobacteriaceae</i>	5	2	m=10 ² cfu/g M=10 ² cfu/g
	Sulfitreducirajuće klostridije	5	2	m=10 ² cfu/g M=10 ² cfu/g
	Koagulaza pozitivni stafilokoki / <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	m=10 ² cfu/g M=10 ² cfu/g
Aerobne mezofilne bakterije	5	2	m=5x10 ⁴ cfu/g M=10 ⁵ cfu/g	
Obvezni				
Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu - <i>Listeria monocytogenes</i>		Kriterij 1.2.		

n.n.= nije nađeno

n= broj elementarnih jedinica uzorka koji čine uzorak

c= broj jedinica uzorka, u kojima se dobivene vrijednosti ispitivanja mogu nalaziti između "m" i "M", pri čemu se uzorak smatra prihvatljivim, ukoliko je dobivena vrijednost ispitivanja u ostalim jedinicama uzorka jednaka "m" ili manja od "m"

m= granična vrijednost ispod koje se svi rezultati smatraju zadovoljavajućim

M= granična dopuštena vrijednost iznad koje se rezultati smatraju ne zadovoljavajućim. Ukoliko samo jedan rezultat nadilazi tu vrijednost, uzorak je nezadovoljavajući.

Priprema početne otopine

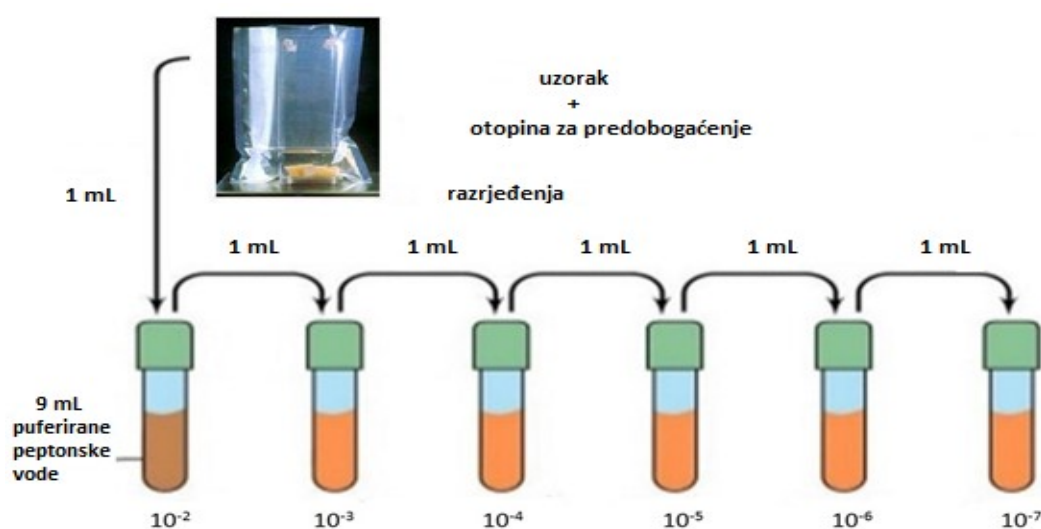
Za određivanje enterobakterija, *Salmonella spp.*, sulfitoreducirajućih klostridija, koagulaza pozitivnih stafilokoka, aerobnih mezofilnih bakterija početna otopina za inokulaciju pripremljena je na način da je u sterilnu vrećicu odvagano 25 g uzorka i dodano 225 mL puferirane peptonske vode. Pripremljena otopina je homogenizirana, te ostavljena na sobnoj temperaturi oko 30 min. Iz tako pripremljene otopine, vršila se daljnja inokulacija uzoraka. Za određivanje bakterije *Listeria monocytogenes*, početna otopina se pripremila na način da je u sterilnu vrećicu odvagano 25 g uzorka i dodano 225 mL *Listeria Fraser* bujona. Pripremljena otopina je homogenizirana u homogenizatoru, te ostavljena na sobnoj temperaturi 30 min. Iz tako pripremljene otopine, razrjeđenja 10⁻¹, vršila se daljnja inokulacija uzoraka.

Tablica 5. Mikroorganizmi i važeće ISO norme

MIKROORGANIZAM	OZNAKA NORME	NAZIV NORME
<i>Enterobacteriaceae</i>	HRN ISO 21528-2:2017	Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja <i>Enterobacteriaceae</i> – 2. dio: Postupak određivanja broja kolonija
<i>Salmonella</i> spp.	HRN EN ISO 6579-1:2017	Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanja broja i serotipizaciju <i>Salmonella</i> - 1. dio: Dokazivanje prisutnosti <i>Salmonella</i> spp.
	HRN EN ISO 6579-1:2017/A1:2020	Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizaciju <i>Salmonella</i> - 1. dio: Dokazivanje prisutnosti <i>Salmonella</i> spp. - Amandman 1 Proširenje raspona temperatura inkubacije, izmjena značaja Dodatka D i ispravak sastava MSRV i SC
<i>Listeria monocytogenes</i>	HRN EN ISO 11290-1:2017	Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja <i>Listeria monocytogenes</i> i drugih <i>Listeria</i> spp. – 1. dio: Metoda dokazivanja prisutnosti
KPS/ <i>Staphylococcus aureus</i>	HRN EN ISO 6888-1:2021	Horizontalna metoda određivanja broja koagulaza-pozitivnih stafilocoka (<i>Staphylococcus aureus</i> i ostale vrste) - 1. dio: Postupak primjene Baird-Parker agara
Sulfitoreducirajuće <i>Clostridium</i> spp.	HRN ISO 15213-1:2023	Horizontalna metoda za dokazivanje i određivanje broja <i>Clostridium</i> spp. - 1. dio: Određivanje broja sulfitoreducirajućih <i>Clostridium</i> spp. tehnikom brojenja kolonija
Aerobne mezofilne bakterije	HRN EN ISO 4833-1: 2013	Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama - 1. dio: Određivanje broja kolonija pri 30 °C tehnikom zalijevanja podloge

Priprema decimalnih razrjeđenja

U sterilnu epruvetu s 9 mL puferirane peptonske vode, mikropipetom je dodano 1 mL početne otopine (10^{-1}), sve se dobro homogeniziralo na laboratorijskoj miješalici. Na taj način se dobilo razrjeđenje 10^{-2} . Nadalje su pripremana i ostala decimalna razrjeđenja prema shemi na **Slici 12** koja su nasađivana na hranjive podloge tehnikom nalijevanja ili razmazivanja, ovisno o mikroorganizmu koji se analizira.



Slika 10. Shema pripreme decimalnih razrjeđenja (*Izrada shematskog prikaza: Perković, I., 2018.*)

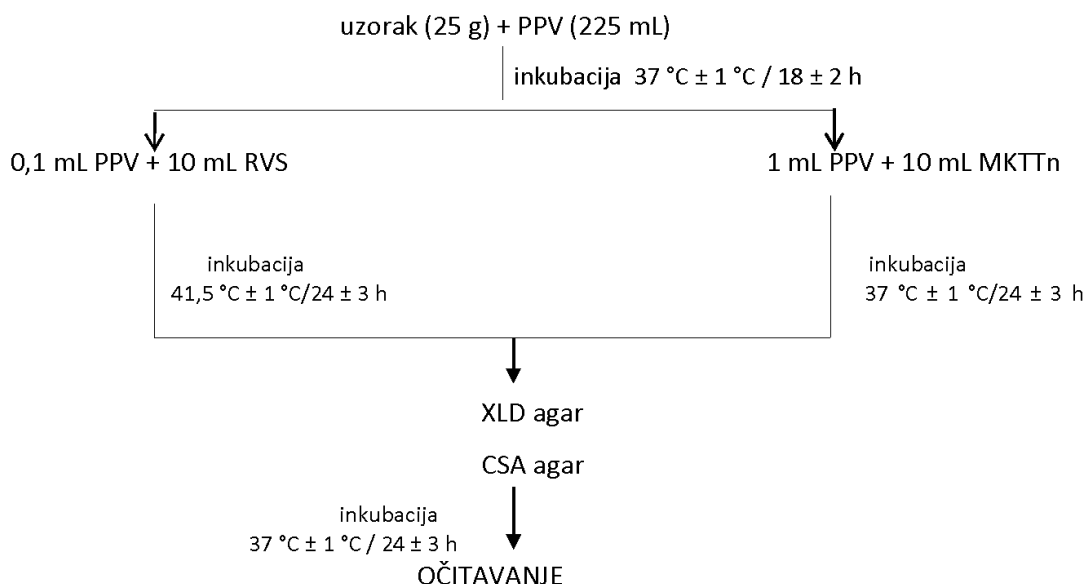
Izolacija bakterija Enterobacteriaceae

Izolacija i identifikacija enterobakterija provedena je u skladu s normom HRN EN ISO 21528-2 (HZN, 2017.). U svaku od dvije sterilne Petrijeve zdjelice mikropipetom je stavljeno 1 mL početne otopine. U druge dvije Petrijeve zdjelice mikropipetom stavljeno je po 1 mL prvog decimalnog razrjeđenja početne otopine (10^{-2}). U svaku Petrijevu zdjelicu stavljeno je oko 10 mL otopljenog i ohlađenog na 44 °C do 47 °C VRBG agara. Pažljivo je promiješan inokulum s medijem, horizontalnim pokretima. Nakon potpunog ujednačenja podloge, dodan je

pokrovni sloj od oko 15 mL VRBG agara. Ohlađene Petrijeve zdjelice inkubirane su u termostatu pri 37 °C kroz $24 \pm 2\text{ h}$.

Izolacija *Salmonella* spp.

Izolacija i identifikacija *Salmonella* spp. provedena je u skladu s normom HRN EN ISO 6579-1 (HZN, 2020.). Postupak izolacije *Salmonella* spp. prikazan je na **Slici 13**.



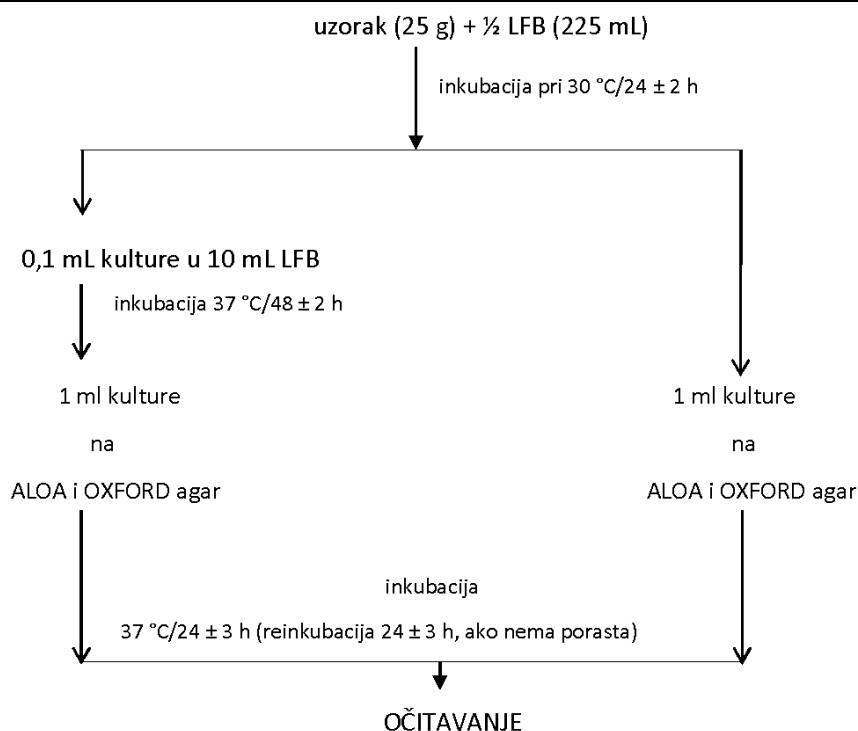
Slika 11. Dijagram procedure horizontalne metode za izolaciju *Salmonella* spp. (Izrada shematskog prikaza: Perković, I., 2018.)

Izolacija bakterije *Listeria monocytogenes*

Izolacija bakterije *Listeria monocytogenes* provedena je u skladu s normom HRN EN ISO 11290-1 (HZN, 2017.). Postupak izolacije bakterije *Listeria monocytogenes* prikazan je na **Slici 14**.

Izolacija koagulaza pozitivnih stafilokoka/*Staphylococcus aureus*

Izolacija koagulaza pozitivnih stafilokoka/*Staphylococcus aureus* provedena je u skladu s normom HRN EN ISO 6888-1 (HZN, 2021.). Sterilnom mikropipetom preneseno je 1 mL homogenizata (10^{-1}), na svaku od dvije Petrijeve zdjelice (promjera 140 mm) s hranjivom podlogom (BP agar). Inokulum je razmazan po površini agara uporabom razmazivača (štipića "L" oblika). Petrijeve zdjelice su nakon toga inkubirane pri $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ tijekom $24 \pm 2\text{ h}$, a onda reinkubirane tijekom daljnjih $24 \pm 2\text{ h}$.



Slika 12. Dijagram procedure horizontalne metode za izolaciju bakterije *Listeria monocytogenes* u hrani (Izrada shematskog prikaza: Perković, I., 2018.)

Izolacija sulfitoreducirajućih Clostridium spp.

Izolacija sulfitoreducirajućih klostridija napravljena je u skladu s normom HRN EN ISO 15213-1 (HZN, 2023.). Po 1 mL početne otopine je zagrijan na temperaturu od 80 °C tijekom 10 min. Nakon toga je inokuliran 1 mL volumena pojedinačnog decimalnog razrjeđenja u svaku od dvije Petrijeve zdjelice. U svaku Petrijevu zdjelicu naliveno je približno 12 mL do 15 mL (90 mm) odnosno 45 mL do 50 mL (140 mm) otopljenog i u vodenoj kupelji ohlađenog na 44 °C do 47 °C sulfit-željeznog agara (ISA). Nakon što se agar stvrdnuo, dodano je približno 5 mL (90 mm) odnosno 10 mL (140 mm) ISA podloge u Petrijevu zdjelicu kao pokrovni sloj. Petrijeve zdjelice su inkubirane okrenute s podlogom prema gore, u anaerobnim uvjetima pri 37 °C.

Izolacija aerobnih mezofilnih bakterija

Izolacija aerobnih mezofilnih bakterija napravljena je u skladu s normom HRN EN ISO 4833-1 (HZN, 2022.). U svaku od dvije Petrijeve zdjelice mikropipetom se prenijelo 1 mL ispitnog uzorka te se izlilo oko 12 mL do 15 mL PCA podloge, temperature između 44 °C do 47 °C. Inokulum je pažljivo promiješan s agarom. Pripremljene Petrijeve zdjelice s agarom okrenutim prema gore, inkubirane su pri 30 °C ± 1 °C tijekom 72 ± 3 h.

Hranjive podloge

- a) Podloga za predobogaćenje bakterija
- Puferirana peptonska voda, PPV (Biolife, Milano, Italija), sastav: pepton g/L; natrijev klorid 5,0 g/L; dinatrijev hidrogen fosfat anhidrid 3,5 g/L; monokalijev fosfat 1,5 g/L
- b) Podloga za izolaciju i identifikaciju Enterobacteriaceae
- VRBG agar (Violet Red Bile Glucose agar) (Biolife, Milano, Italija), sastav podloge: pepton 7,0 g/L; ekstrakt kvasca 3,0 g/L; natrijev klorid 5,0 g/L; žučne soli br. 3 1,5 g/L; glukoza 10,0 g/L; neutralno crvenilo 0,03 g/L; kristal violet 0,002 g/L; agar 15,0 g/L
 - PGA agar (Purple Glucose agar) (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italija), sastav podloge: enzimatski digest kazeina 10,0 g/L; ekstrakt kvasca 1,5 g/L; glukoza 10,0 g/L; natrijev klorid 5,0 g/L; bromokrezol ljubičasti 0,015 g/L; agar 12,2 g/L
- c) Podloge za izolaciju bakterija roda Salmonella spp.
- RVS bujon (Rappaport Vassiliadis Soy) (Biolife, Milano, Italija), sastav bujona: soja pepton 4,5 g/L; natrijev klorid 7,2 g/L; kalijev dihidrogen fosfat 1,260 g/L; dikalijev hidrogen fosfat 0,180 g/L; magnezijev klorid 13,4 g/L; malahit zeleni oksalat 0,036 g/L
 - MKTT bujon (Mueller Kauffmann Tetrathionate) (Biolife, Milano, Italija), sastav bujona: enzimatski mesni digest 4,3 g/L; enzimatski digest kazeina 8,6 g/L; natrijev klorid 2,6 g/L; kalcijev karbonat 38,7 g/L; natrijev tiosulfat anhidrid 30,3 g/L; goveđa žuč 4,78 g/L; brilijantno zelenilo 9,60 mg
 - XLD (Xylose Lysine Desoxycholate) (Biolife, Milano, Italija), sastav podloge: ksiloza 3,75 g/L; L-lizin 5,0 g/L; laktoza 7,5 g/L; sukroza 7,5 g/L; natrijev klorid 5,0 g/L; ekstrakt kvasca 3,0 g/L; natrijev dezoksikolat 1,0 g/L; natrijev tiosulfat 6,8 g/L; željezo amonijev citrat 0,8 g/L; fenolno crvenilo 0,08 g/L; agar 14,5 g/L
 - CSA (Chromogenic Salmonella agar) (Biolife, Italija), sastav podloge: pepton 10,0 g/L; selektivne komponente 12,0 g/L; kromogena smjesa 0,9 g/L; agar 15,0 g/L
- d) Podloge za izolaciju Listeria monocytogenes
- Listeria Fraser bujon (Biolife, Milano, Italija), sastav bujona: proteoza pepton 5,0 g/L; tripton 5,0 g/L; goveđi ekstrakt 5,0 g/L; ekstrakt kvasca 5,0 g/L; natrijev klorid 20,0 g/L; dinatrijev hidrogen fosfat anhidrid 9,5 g/L; kalijev dihidrogen fosfat 1,35 g/L; eskulin 1,0 g/L; litijev klorid 3,0 g/L; akrilflavin HCl 0,025 g/L; nalidiksična kiselina 0,02 g/L
 - Listeria Fraser bujon polovična koncentracija (Biolife, Milano, Italija), sastav bujona: proteoza pepton 5,0 g/L; tripton 5,0 g/L; goveđi ekstrakt 5,0 g/L; ekstrakt kvasca 5,0 g/L;

natrijev klorid 20,0 g/L; dinatrijev hidrogen fosfat anhidrid 9,5 g/L; kalijev dihidrogen fosfat 1,35 g/L; eskulin 1,0 g/L; litijev klorid 3,0 g/L; akrilflavin HCl 0,0125 g/L; nalidiksična kiselina 0,01 g

- ALOA agar (Agar Listeria acc. to Ottaviani & Agosti) (Biolife, Milano, Italija), sastav podloge: mesni pepton 18,0 g/L; tripton 6,0 g/L; ekstrakt kvasca 10,0 g/L; natrijev piruvat 2,0 g/L; glukoza 2,0 g/L; magnezijev glicerofosfat 1,0 g/L; magnezijev sulfat 0,50 g/L; natrijev klorid 5,0 g/L; litijev klorid 10,0 g/L; dinatrijev hidrogen fosfat anhidrid 2,5 g/L; 5-bromo-4-kloro-3-indolil- β -D-glukopiranozid 0,05 g/L; agar 15,0 g/L; nalidiksična kiselina 20 mg; ceftazidim 20 mg; cikloheksimid 50 mg; polimiksin B 76700 IU; L- α -fosfatidilinositol 2,0 g

e) Podloga za izolaciju sulfitoreducirajućih Clostridium spp.

- Željezov sulfit agar (Iron sulfite agar) (Biolife, Milano, Italija), sastav podloge: pepton 15,0 g/L; enzimatska digestija soje 5,0 g/L; ekstrakt kvasca 5,0 g/L; natrijev disulfit 0,5 g/L; željezo (III) amonijev citrat 1,0 g/L; agar 9,0 do 18,0 g/L

f) Podloga za izolaciju koagulaza pozitivnih stafilokoka/ Staphylococcus aureus

- Baird Parker agar (Biolife, Milano, Italija), sastav podloge: pankreatin 10,0 g/L; goveđi ekstrakt 5,0 g/L; kvaščečev ekstrakt 1,0 g/L; natrijev piruvat 10,0 g/L; glicin 12,0 g/L; litijev klorid 5,0 g/L; agar 15,0 g/L

g) Podloga za izolaciju aerobnih mezofilnih bakterija

- Plate count agar (Biolife, Milano, Italija), sastav podloge: enzimatski digestiran kazein 5,0 g/L; ekstrakt kvasca 2,5 g/L; glukoza, anhidrozna 1,0 g/L; agar 9,0 do 18,0 g/L

Laboratorijski pribor

- sterilne vrećice
- škare
- skalpel
- laboratorijske pincete
- rukavice latex bez pudera
- mikrobiološke ušice
- plastične petrijeve zdjelice \varnothing 90 mm
- staklene petrijeve zdjelice \varnothing 140 mm
- plastični štapići po Drigalskom
- mikropipete 100-1000 μ L, Acura 825, Socorex, Ecublens, Švicarska
- mikropipete za pripremu razrijeđenja 1 mL + 0,1 mL, Acura 810, Socorex, Ecublens,

Švicarska

- mikropipete 0,1-2,5 μL ; 0,5-10 μL ; 10-100 μL ; 20-200 μL ; 100-1000 μL ; Eppendorf Research, Hamburg, Njemačka
- laboratorijski stalci
- staklene epruvete od 10 mL.

Laboratorijski uređaji

- termostat pri 30 °C, Sutjeska, Bosna i Hercegovina
- termostat pri 37 °C, BD 240 E2, Binder, Bohemia, SAD
- termostat pri 41,5 °C, INE 200, Memmert, Schwabach, Njemačka
- analitička vaga, Kern & Sohn GmbH, EW6000 1M, Balingen, Njemačka
- mješalica (vorteks), MS1 minshaker, IKA®Works, Inc. Wilmington, SAD
- homogenizator, BagMixer 400, Interscience, Saint Nom, Francuska
- mikrovalna pećnica
- plinski plamenik
- vodena kupelj Grant, Amsterdam, Nizozemska

3.2.2.2. Određivanje senzorskih karakteristika kuhanih kobasica

Petero treniranih senzorskih ispitivača su ocjenjivali kuhane kobasice s dodatkom vlažnog pivsko tropa ($w = 0 - 9\%$) tijekom sedmodnevnog skladištenja pri 4 °C (1, 3, 5 i 7 dan) na temelju boje, mirisa, okusa, teksture te ukupne prihvatljivosti. Za ocjenjivanje uzoraka korišten je bodovni sustav analitičko-deskriptivnih testova na ljestvici od 1 do 9. Svaka ocjena na ljestvici predstavlja određenu razinu kvalitete. Tako ocjena 1 predstavlja neprihvatljivu kvalitetu, odnosno izmijenjeno i netipično svojstvo, dok ocjena 9 predstavlja optimalnu razinu kvalitete, odnosno izuzetno i tipično svojstvo uzorka. Ocjenjivači su imali priliku opisno definirati promjenu mirisa i okusa kuhanih kobasica ako su primijetili promjene. Ocjenjivački listić je prikazan u nastavku.

Slika 13. Ocjenjivački listić za senzorsko ocjenjivanje uzoraka kuhanih kobasica

Datum: _____ Serija ocjenjivanja: _____
 Ocjenjivač: _____ Šifra uzorka: _____

BOJA									
MIRIS									
OKUS									
TEKSTURA									
UKUPNA PRIHVATLJIVOST									

3.2.2.3. Statistička obrada rezultata

Rezultati senzorskog ocjenjivanja kuhanih kobasica (boja, miris, okus, tekstura i ukupne prihvatljivost) prikazani su kao srednje vrijednosti od pet ocjenjivača. Analiza varijance (one-way ANOVA) i potom Fischer-ov LSD test najmanje značajne razlike (engl. least significant difference) provedeni su upotrebom programa Statistica 13.0 (TIBCO Software Inc., SAD), a statistički značajne razlike izražene su na razini vjerojatnosti od 95% ($p < 0,05$).

4. REZULTATI

Rezultati istraživanja, odnosno provedbe eksperimentalnog dijela diplomskog rada:

1. Mikrobiološke analize vlažnog pivskog tropa (**Tablica 6.**),
2. Mikrobiološke analize kuhanih kobasica bez vlažnog pivskog tropa te s dodatkom 3%, 6% te 9% vlažnog pivskog tropa tijekom sedmodnevnog skladištenja pri 4 °C (**Tablica 7.**),
3. Senzorsko ocjenjivanje kuhanih kobasica bez dodatka vlažnog pivskog tropa te kuhanih kobasica s udjelima od 3%, 6% te 9% vlažnog pivskog tropa tijekom sedmodnevnog skladištenja pri 4 °C (**Tablica 8.**).

Tablica 6. Rezultati mikrobiološke analize vlažnog pivskog tropa.

E (cfu/g)	AMB (cfu/g)	SRK (cfu/g)	KPS/SA (cfu/g)	SAL
<10	2,1x10 ⁴	<10	<10	n.n. u 25 g

E - enterobakterije; AMB - aerobne mezofilne bakterije; SRK - sulfitoreducirajuće klostridije; KPS/SA - koagula pozitivni stafilocoki/Staphylococcus aureus; SAL - Salmonella spp.; LM - Listeria monocytogenes; n.n. - nije nađeno.

Tablica 7. Rezultati mikrobiološke analize uzoraka kuhanih kobasica sa i bez dodatka vlažnog pivskog tropa nakon skladištenja na 4 °C.

w pivskog tropa (%)	E (cfu/g)	AMB (cfu/g)	SRK (cfu/g)	KPS/SA (cfu/g)	SAL
1 dan					
0	<10	7,5x10 ²	<10	<10	n.n. u 25g
3	<10	9,6x10 ³	<10	<10	n.n.u 25 g
6	<10	1,8x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
9	<10	2,3x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
3 dan					
0	<10	1,7x10 ³	<10	<10	n.n.u 25 g
3	<10	2,9x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
6	<10	3,5x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
9	<10	4,1x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
5 dan					
0	<10	5,0x10 ³	<10	<10	n.n.u 25 g
3	<10	1,3x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
6	<10	2,5x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
9	<10	3,7x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
7 dan					
0	<10	2,6x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
3	<10	3,9 x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
6	<10	4 x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g
9	<10	4,9 x10 ⁴	<10	<10	n.n.u 25 g

E - enterobakterije; AMB - aerobne mezofilne bakterije; SRK - sulfitoreducirajuće klostridije; KPS/SA - koagula pozitivni stafilokoki/Staphylococcus aureus; SAL - Salmonella spp.; LM - Listeria monocytogenes; n.n. - nije nađeno.

Tablica 8. Senzorska svojstva uzoraka kuhanih kobasica sa i bez dodatka vlažnog pivskog tropa nakon skladištenja na 4 °C.

w pivskog tropa (%)	Boja	Miris	Okus	Tekstura	Ukupna prihvatljivost
1 dan					
0	8,5a	9,0a	9,0a	9,0abc	9,0a
3	8,75a	8,75a	8,75a	8,75a	8,75a
6	7,5a	8,25a	7,75a	7,5abc	7,75ab
9	8,0a	8,5a	8,0a	8,0abc	8,0ab
3 dan					
0	8,0a	8,0a	7,75a	8,5ab	7,75ab
3	8,0a	8,25a	8,5a	8,25abc	8,25ab
6	7,75a	7,75a	7,5a	7,5abc	7,25ab
9	7,75a	7,75a	7,0a	7,0c	7,0b
5 dan					
0	7,75a	7,5a	7,5a	8,0abc	7,5ab
3	8,0a	8,25a	8,0a	8,25abc	8,0ab
6	7,5a	7,75a	7,5a	7,75abc	7,5ab
9	8,0a	7,75a	7,5a	7,25bc	7,5ab
7 dan					
0	7,75a	7,5a	7,75a	7,75abc	7,5ab
3	8,25a	8,25a	8,0a	8,5ab	8,0ab
6	7,75a	8,25a	8,25a	8,0abc	8,0ab
9	7,5a	8,25a	8,25a	7,5abc	8,0ab

Prikazani rezultati su srednja vrijednost; razlike vrijednosti unutar stupca označene istim slovom (a-b) nisu statistički značajne ($p < 0,05$).

5. RASPRAVA

U ovom radu ispitivane su kuhane kobasice s različitim udjelima pivskog tropa: 3%, 6% i 9%, te kobasice bez dodatka pivskog tropa, koje su služile kao kontrolna skupina. Zdravstvena ispravnost, odnosno mikrobiološka svojstva kuhanih kobasica određena su izolacijom i identifikacijom određenih skupina bakterija čiji su rezultati prikazani u **Tablici 6 i 7**.

Broj formiranih kolonija (cfu/g) vlažnog pivskog tropa za enterobakterije, sulfitoreducirajuće klostridije i za *Staphylococcus aureus* iznosio je < 10, za aerobne mezofilne bakterije $2,1 \times 10^4$, dok *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes* nisu pronađene u 25 g (**Tablica 6.**)

Broj kolonija (cfu/g) enterobakterija za sve uzorke kuhanih kobasica s dodatkom vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C iznosio je <10. Broj kolonija (cfu/g) sulfitoreducirajućih klostridija za sve uzorke kuhanih kobasica s dodatkom vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C iznosio je < 10. Broj kolonija (cfu/g) koagula pozitivnih stafilokoka/*Staphylococcus aureus* za sve uzorke kuhanih kobasica s dodatkom vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C iznosio je < 10. Broj kolonija (cfu/g) *Salmonella* spp. za sve vrste ispitivanih uzoraka kuhanih kobasica i sve vremenske intervale iznosio je 0, odnosno *Salmonella* spp. nije nađena u 25 g uzorka. Broj kolonija (cfu/g) *Listeria monocytogenes* za sve uzorke ispitivanih uzoraka kuhanih kobasica (kontrolni uzorak, uzorak s 3 % pivskog tropa, uzorak sa 6 % pivskog tropa i uzorak sa 9% pivskog tropa) iznosio je 0, odnosno *Listeria monocytogenes* nije nađena u 25 g uzorka (**Tablica 7.**).

Broj kolonija (cfu/g) aerobnih mezofilnih bakterija bio je najveći u kuhanim kobasicama s dodatkom 9% pivskog tropa nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C ($4,9 \times 10^4$). Kontrolni uzorak (bez dodatka pivskog tropa) imao je najmanji broj aerobnih mezofilnih bakterija, za sve vremenske intervale skladištenja (**Tablica 7**). Dodatak vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) rezultirao je povećanjem broja kolonija (cfu/g) aerobnih mezofilnih bakterija za sve intervale skladištenja pri 4 °C, što je najvjerojatnije posljedica prisustva (cfu/g) aerobnih mezofilnih bakterija u vlažnom pivskom tropu (**Tablica 6.**)

Uzorci kuhanih kobasica s dodatkom vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) za sve vremenske intervale skladištenja bile se zdravstveno ispravne u pogledu broja kolonija: aerobnih mezofilnih bakterija, enterobakterija, sulfitoreducirajućih klostridija, koagulaza pozitivnih stafilokoka/*Staphylococcus aureus* *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*.

Senzorska svojstva kuhanih kobasica određena su ocjenama boje, mirisa, okusa, teksture i ukupne prihvatljivosti uz pomoć petero treniranih ocjenjivača. Svojstva kontrolnog uzorka kobasice te kobasica sa dodatkom 3, 6 i 9% pivskog tropa su ocjenjivana na kobasicama starosti jedan, tri, pet i sedam dana (4 °C) te su prikazana u **Tablici 8**.

Najvišu ocjenu za boju imao je uzorak kuhane kobasice s dodatkom 3% vlažnog pivskog tropa nakon jedan dan skladištenja pri 4 °C. Najniže ocjenjeni (7,5) su bili uzorci kuhanih kobasica s dodatkom 6% vlažnog pivskog tropa nakon 1 dan skladištenja pri 4 °C, 6% vlažnog pivskog tropa nakon 5 dana skladištenja pri 4 °C i 9% vlažnog pivskog tropa nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C. Općenito, dodatak vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$), za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C nije statistički značajno ($p > 0,05$) utjecao na boju kuhanih kobasica.

Najbolje senzorsko svojstvo mirisa pokazali su uzorci kuhanih kobasica bez dodatka vlažnog pivskog tropa starosti jedan dan (4 °C). Najniže ocjene za miris imali su uzorci kuhanih kobasica bez dodatka vlažnog pivskog tropa nakon 5 i 7 dana skladištenja pri 4 °C. Slično kao i kod boje, dodatak vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$), za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C nije statistički značajno ($p > 0,05$) utjecao na miris kuhanih kobasica.

Najviše ocjene (9) za senzorsko svojstvo okusa dobili su uzorci kuhanih kobasica bez dodatka vlažnog pivskog tropa nakon 1 dan skladištenja pri 4 °C, dok su najniže bili ocjenjeni uzorci kuhanih kobasica s dodatkom 9% vlažnog pivskog tropa nakon 5 dana skladištenja pri 4 °C. Dodatak vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$), za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C nije statistički značajno ($p > 0,05$) utjecao na okus kuhanih kobasica.

Najbolje senzorsko svojstvo teksture imala je kobasica bez dodatka vlažnog pivskog tropa starosti jedan dan (4 °C). Najniže ocjene za teksturu pokazali su uzorci kuhanih kobasica s dodatkom 9% vlažnog pivskog tropa nakon 3 dana skladištenja pri 4 °C. Općenito dodatak pivskog tropa nije statistički značajno ($p > 0,05$) mijenjao teksturu kuhanih kobasica, s izuzetkom uzorka s dodatkom 9% vlažnog pivskog tropa nakon 3 dana skladištenja pri 4 °C.

Najbolju ukupnu prihvatljivost imala je kobasica bez dodatka vlažnog pivskog tropa starosti jedan dan (4 °C). Najniže vrijednosti ocjena za ukupnu prihvatljivost pokazali su uzorci s dodatkom 9% vlažnog pivskog tropa nakon 3 dana skladištenja pri 4 °C. Ukupna prihvatljivosti kuhanih kobasica nije se statistički značajno ($p > 0,05$) mijenjala s dodatkom vlažnog pivskog

tropa ($w = 0 - 9\%$), za sve vremenske intervale skladištenja pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ s izuzetkom uzorka s dodatkom 9% vlažnog pivskog tropa nakon 3 dana skladištenja pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih u ovom diplomskom radu mogu se izvući sljedeći zaključci:

- Dodatak vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) u kuhane kobasice nije imao utjecaj na broj formiranih kolonija enterobakterija, kolonija sulfitoreducirajućih klostridija, kolonija koagulaza pozitivnih stafilokoka/*Staphylococcus aureus*, kolonija *Salmonella* spp. i kolonija *Listeria monocytogenes* za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C.
- Broj formiranih kolonija aerobnih mezofilnih bakterija pokazao je povećanje s povećanjem masenog udjela vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C, ali su svi uzorci kuhanih kobasica bili zdravstveno ispravni.
- Boja, miris i okus, tekstura i ukupna prihvatljivost kuhanih kobasica nisu pokazali statistički značajnu ($p > 0,05$) ovisnost o dodatku vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$) za sve vremenske intervale skladištenja pri 4 °C, s izuzetkom uzorka s dodatkom 9% vlažnog pivskog tropa nakon 3 dana skladištenja pri 4 °C.
- Rezultati ovog istraživanja upućuju na zaključak da je moguće proizvesti zdravstveno ispravne i senzorski prihvatljive kuhane kobasice s dodatkom vlažnog pivskog tropa ($w = 0 - 9\%$).

7. LITERATURA

- Aviles VM, Naef EF, Abalos RA, Loud LH, Olivera DF, Garcia–Segovia P: Effect of familiarity of ready-to-eat animal-based meals on consumers' perception and consumption motivation. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 21:100225, 2020.
- Badpa A, Ahmad S: Development in sausage production and practices – A review. *Journal of Meat Science and Technology* 2:40-50, 2014.
- Duraković S, Delaš F, Duraković L: Moderna mikrobiologija namirnica – knjiga prva. Kugler, Zagreb, 93-132., 2002.
- Jakšić J: Uticaj dodatka pivskog tropa i ekstrakta korijandera na održivost toplotno obrađenih ćufti. *Diplomski rad*. Tehnološki fakultet Novi Sad, Novi Sad, 2022.
- Kegalj A: Raznolikost mikroflore u mesu i mesnim proizvodima. *Meso: Prvi hrvatski časopis o mesu* 14:239-346, 2012.
- Kovačević D: Sirovine prehrambene industrije (meso i riba). Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek (Sveučilišni udžbenik), 2004.
- Kovačević D: Kemija i tehnologija mesa i ribe. Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, 2001.
- Kunčić R: Određivanje sastava aminokiselina i masnih kiselina u raznim vrstama mesa. *Diplomski rad*. Sveučilišni odjel za forenzične znanosti, Split, 2019.
- Lešić T, Krešić G, Kolarić Kravar S, Pleadin J: Nutritivna kvaliteta masti industrijskih kobasica. *Meso* 14:496-503, 2017.
- Lippi N: Evaluation of pork sausages quality by the addition of brewer's spent grains. *Diplomski rad*. Universita Politecnica Delle Marche, 2019.
- Majić S, Filipović I: Greške kobasica. *Meso* 3:6-9, 2006.
- Majić T, Škrivanko M, Hadžiosmanović M: Krvavice. *Meso* 7:86-89, 2006.
- Miličević V: Anaerobna digestija pivskog tropa. *Diplomski rad*. Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Mostaru, Mostar, 2014.
- Oluški V: Prerada mesa. Institut za tehnologiju mesa, Beograd, 1973.
- Özvural EM, Vural H, Gökbulut I, Özboy-Özbaş Ö: Utilization of brewer's spent grain in the production of Frankfurters. *International Journal of Food Science and Technology* 44:1093–1099, 2009.
- Peinović L, Kozačinski L, Pleadin J, Dergestin Bačun L, Cvrtila Ž: Kvaliteta kobasica s hrvatskog tržišta. *Meso* 3:229-233, 2018.
- Pejin JD, Radosavljević MS, Grujić OS, Mojivić LjV, Kocić-Tanackov SD, Nikolić SB, Djukid-Vukovid AP: Mogućnosti primjene pivskog tropa u biotehnologiji. *Hemijska industrija* 67:277–291, 2013.
- Rohrmann S, Linseisen J: Processed meat: the real villain? *Proceedings of the Nutrition Society*, 75:233–241, 2016.

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

Vincetić A: Proizvodnja bioplina iz pivskog tropa. *Završni rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2016.

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, treće izdanje, 2011.

HZN, Hrvatski zavod za norme: Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja Enterobacteriaceae – 2. dio: Postupak određivanja broja kolonija. HRN ISO 21528-2:2017.

HZN, Hrvatski zavod za norme: Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanja broja i serotipizaciju Salmonella - 1. dio: Dokazivanje prisutnosti Salmonella spp. HRN EN ISO 6579-1:2017.

HZN, Hrvatski zavod za norme: Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizaciju Salmonella - 1. dio: Dokazivanje prisutnosti Salmonella spp. - Amandman 1 Proširenje raspona temperatura inkubacije, izmjena značaja Dodatka D i ispravak sastava MSRV i SC. HRN EN ISO 6579-1:2017/A1:2020.

HZN, Hrvatski zavod za norme: Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja Listeria monocytogenes i drugih Listeria spp. – 1. dio: Metoda dokazivanja prisutnosti. HRN EN ISO 11290-1:2017.

HZN, Hrvatski zavod za norme: Horizontalna metoda za dokazivanje i određivanje broja Clostridium spp. - 1. dio: Određivanje broja sulfitreducirajućih Clostridium spp. tehnikom brojenja kolonija. HRN EN ISO 15213-1:2023.

HZN, Hrvatski zavod za norme: Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama - 1. dio: Određivanje broja kolonija pri 30 °C tehnikom zalijevanja podloge HRN EN ISO 4833-1:2013.

HZN, Hrvatski zavod za norme: Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama - 1. dio: Određivanje broja kolonija pri 30 °C tehnikom zalijevanja podloge - Amandman 1: Pojašnjenje područja primjene. HRN EN ISO 4833-1:2013/A1:2022.

Williams PG: Nutritional composition of red meat. *Nutrition & Dietetics* 64:113-119, 2007.

Živković J: Kakvoća i prerada. U: Higijena i tehnologija mesa. II dio. Sveučilište u Zagrebu, 1986

Web 1 : <https://gospodarski.hr/wp-content/uploads/naslovna-po-sirini-kobasica.jpg>

Web 2 <https://www.pinterest.com.au/pin/344666177705181922/>