

Utjecaj dodatka autohtone bakterijske starter kulture na kvalitetu Slavenskog kulena

Ćosić, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2014

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:415413>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**

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**

Katarina Ćosić

**UTJECAJ DODATKA AUTOHTONE BAKTERIJSKE STARTER KULTURE
NA KVALITETU SLAVONSKOG KULENA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad 2014.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za tehnologiju mesa i ribe
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija mesa i ribe
Tema rada je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 10. Srpnja 2014.
Mentor: *Krešimir Mastanjević*, doc. dr. sc.
Pomoć pri izradi:

UTJECAJ DODATKA AUTOHTONE BAKTERIJSKE STARTER KULTURE NA KVALITETU SLAVONSKOG KULENA

Katarina Ćosić, 190-DI

Sažetak:

Ovo istraživanje provedeno je s ciljem ispitivanja utjecaja dodatka autohtone bakterijske starter kulture na kvalitetu Slavonskog kulena. Mesu i slanini koje je upotrijebljeno za izradu nadjeva, kao i samom nadjevu, određena su osnovna fizikalno-kemijska svojstva te je provedena mikrobiološka analiza istih. Daljnje istraživanje sastojalo se od kontinuiranog mjerenja pH vrijednosti tijekom dvadesetodnevnne fermentacije na 12 °C i 20 °C referentnog uzorka, uzoraka s dodatkom autohtone bakterijske starter kulture (ASK) i 0,8% glukoze te maltodekstrina. Nakon završenog procesa fermentacije uzorcima su određena fizikalno-kemijska svojstva te je provedeno određivanje ukupnog broja i identifikacije mliječne kiseline i bakterija iz roda *Staphylococcus*. Nakon završetka procesa proizvodnje (90 dana) provedena je senzorska analiza uzoraka gotovog Slavonskog kulena. Dobiveni rezultati pokazali su kako dodatak autohtone bakterijske starter kulture uz dodatak 0,8% šećera glukoze uz temperaturu od 20°C, najviše utječu na kvalitetu Slavonskog kulena jer je takav ocijenjen najvišim ocjenama prilikom senzorske analize.

Ključne riječi: Slavonski kulen, kvaliteta, starter kultura

Rad sadrži: 51 stranica
13 slika
23 tablica
00 priloga
20 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

| | | |
|----|--|---------------|
| 1. | prof. dr. sc. <i>Dragan Kovačević</i> . | predsjednik |
| 2. | doc. dr. sc. <i>Krešimir Mastanjević</i> | član-mentor |
| 3. | prof. dr. sc. <i>Srećko Tomas</i> | član |
| 4. | prof. dr. sc. <i>Mate Bilić</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 6. listopada 2014.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, 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 Fish
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Technology of Meat and Fish

Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. X. held on July 10, 2014.

Mentor: *Krešimir Mastanjević*, doc. dr. sc.

Technical assistance:

INFLUENCE OF SUPPLEMENTS INDIGENIOUS BACTERIAL STARTER CULTURES ON THE QUALITY OF SLAVONIAN KULEN

Katarina Ćosić, 190-DI

Summary:

This study was conducted to test effect of authentic bacterial starter culture on the quality of Slavonski kulen. The basic physic-chemical properties and also microbiological analysis was determined for the meat and bacon, which was used for making the stuffing, and also for the stuffing it selves. Further more, study was consisted of continuous measuring the pH value during twenty day fermentation on 12°C and 20 °C of the reference sample, sample with added authentic bacterial starter culture and 0,8% glucose and maltodextrin. After the process of fermentation was finished, physic-chemical properties were determined and total number and identification of lactic acid bacteria and bacteria genus *Staphylococcus*. Thereafter completion of the production (ninety days) sensory analysis of Slavonski kulen was done. The results showed that the addition of the authentic bacterial starter culture and 0,8% of glucose, on the 20°C temperature, had the most effect on the quality of Slavonski kulen, it was rated with the highest score on analysis.

Key words: Slavonski kulen, quality, starter culture

Thesis contains: 51 pages
13 figures
23 tables
00 supplement
20 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|--|--------------|
| 1. | prof. dr. sc. <i>Dragan Kovačević</i> | chair person |
| 2. | doc. dr. sc. <i>Krešimir Mastanjević</i> | supervisor |
| 3. | prof.dr. sc. <i>Srećko Tomas</i> | member |
| 4. | prof.dr. sc. <i>Srećko Tomas</i> | stand-in |

Defense date: 6th October , 2014

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem svom mentoru doc. Dr. sc. Krešimiru Mastanjeviću i prof. dr. sc. Draganu Kovačeviću na uloženom trudu, stručnom vodstvu i savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Od sveg srca zahvaljujem mojim dragim roditeljima, tati Zoranu i mami Marici što su mi omogućili studiranje i bili uz mene u svim lijepim i lošim trenucima. Također iskreno zahvaljujem seki Barbari na podršci i savjetima tijekom studiranja i izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem Dejanu na tehničkoj podršci i savjetima te mom dragom Tihomiru na podršci i strpljenju.

Sadržaj

| | |
|--|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 5 |
| 2.1. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE SLAVONSKOG KULENA | 6 |
| 2.2. FIZIKALNA, KEMIJSKA, MIKROBIOLOŠKA I SENZORSKA SVOJSTVA KULENA | 13 |
| 2.2.1. Fizikalno-kemijska svojstva kulena | 13 |
| 2.2.2. Mikrobiološka svojstva kulena | 14 |
| 2.2.3. Senzorska svojstva kulena | 15 |
| 2.3. PRIMJENA STARTER KULTURA U PROIZVODNJI SLAVONSKOG KULENA | 16 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 21 |
| 3.1. ZADATAK | 22 |
| 3.2. MATERIJALI I METODE | 22 |
| 3.2.1. Metode za određivanje fizikalno-kemijskih svojstava kulena..... | 23 |
| 3.2.2. Mikrobiološke analize..... | 29 |
| 3.2.3. Metode za određivanje senzorskih svojstava | 30 |
| 4. REZULTATI | 33 |
| 4.1. Rezultati mjerenja i analiza | 34 |
| 5. RASPRAVA | 43 |
| 6. ZAKLJUČAK | 47 |
| 7. LITERATURA | 49 |

Popis oznaka, kratica i simbola

| | |
|-----------|------------------------------|
| <i>Rh</i> | relativna vlažnost |
| <i>T</i> | temperatura |
| NN | Narodne Novine |
| V | brzina |
| BMK | bakterije mliječne kiseline |
| BMV | blijedo, mekano i vodnjikavo |
| SpVV | sposobnost vezanja vode |
| TČS | tamno, čvrsto i suho |
| a_w | aktivitet vode |

1. UVOD

Među potrošačima raste trend konzumacije autohtonih tradicionalnih mesnih proizvoda. Popularni su sušeni proizvodi poput pršuta, šunke i pečenice, ali i fermentirani sušeni proizvodi kao što su kobasice. Među najistaknutijim je vrhunska sporo fermentirana trajna kobasica, kulen. Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (NN br. 131/12), trajna kobasica je proizvod od mesa, masnog tkiva i dodatnih sastojaka koji se nakon obrade i punjenja podvrgavaju postupcima fermentacije, sušenja i zrenja, sa ili bez dimljenja.

Slavonski kulen je trajna kobasica koja se proizvodi prema tradicionalnoj recepturi na području Zapadne i Istočne Slavonije, Baranje i Srijema te Posavine i Podravine. Proizvodnja Slavenskog kulena započinje u 18. stoljeću s pojavom prvih obiteljskih gospodarstava, tzv. salaša, a sam naziv kulen ili kulin označava nešto okruglo i stisnuto (Babić, 2011.). U to vrijeme počinje i intenzivniji uzgoj svinja. Zabilježene su prve primjene i danas korištenih metoda konzerviranja kao što su soljenje, dimljenje i sušenje. Slavonski je kulen zaštićen oznakom zemljopisnog podrijetla. Proizvod je sastavni dio hrvatske gastronomske ponude te je prihvaćen i cijenjen, kako od strane hrvatskih potrošača, tako i od strane turista.

Tradicionalno se fermentacija kulena odvija u prirodnim nekontroliranim uvjetima, a fermentaciju provode autohtoni sojevi bakterija koji su već prisutni na mesu ili u proizvod dospijevaju iz okoline. Fermentacija, sušenje i zrenje tradicionalnog kulena ovise o vremenskim prilikama, ne kontrolira se temperatura, vlažnost zraka i brzina strujanja zraka, što znatno utječe na stabilnost samog procesa i na kvalitetu konačnog proizvoda. Kao posljedica loših nekontroliranih uvjeta proizvodnje nastaje Slavonski kulen nepoželjnih senzorskih svojstava. Tradicionalna proizvodnja je isključivo sezonskog karaktera pa proizvođač ne može osigurati standardnu kvalitetu proizvoda, niti kontinuiranu proizvodnju i opskrbu tržišta proizvodom. Šarže su neujednačene kvalitete, veličine i izgleda, a pojavljuju se i ostale greške kao što su: užeglost, suhoća nadjeva, loše narezivanje, nehomogenost i mrvljenje, pojava nepoželjnih plijesni i kvarenje kulena (Frece i sur., 2009.).

U svrhu poboljšanja kvalitete Slavenskog kulena i uklanjanja senzorskih grešaka tijekom pripreme nadjeva može se dodavati i iz kulena izolirana prirodna autohtona mikrobna populacija. Autohtona bakterijska starter kultura se izolira iz samog mesnog proizvoda te kao takva prilagođava rastu u određenim specifičnim mesnim proizvodima, a ima metaboličke sposobnosti koje značajno utječu na kvalitetu i sigurnost proizvoda. Prema dosadašnjim spoznajama, mikroorganizmi zaslužni za specifičnu aromu i miris kulena su

bakterije mliječne kiseline i to iz roda *Lactobacillus*, te bakterije iz roda *Staphylococcus* i *Micrococcus* (Frece i sur., 2010.).

U ovom istraživanju smjesi Slavenskog kulena dodana je autohtona starter kultura i 0,8% šećera glukoze i 0,8% maltodekstrina. Fermentacija je bila intenzivnija, što smo pratili mjerenjem pH vrijednosti. Nakon sušenja i zrenja provedena je senzorska analiza referentnog uzorka, odnosno uzoraka pripremljenih prema tradicionalnoj recepturi bez dodatka starter kulture i uzoraka s dodatkom autohtone bakterijske starter kulture.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE SLAVENSKOG KULENA

Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (NN br. 131/12), trajne kobasice su proizvodi od mesa, masnog tkiva i dodatnih sastojaka koji se nakon obrade i punjenja podvrgavaju postupcima fermentacije, sušenja i zrenja sa ili bez dimljenja. Trajne kobasice su mesni proizvodi s najviše 40% vode. Količina bjelančevina mesa u proizvodu mora biti najmanje 16%. Kulen je jedna vrsta trajnih kobasica. Proizvodi se od usitnjenog svinjskog mesa, masnog tkiva, kuhinjske soli, aditiva, začina i ekstrakta začina, šećera, starter kultura, a može se dodati i do 10% goveđeg mesa. Nadjev se puni u prirodne ili umjetne ovitke. Ovitak kulena može biti presvučen plemenitom plijesni. Količina bjelančevina u mesu mora biti minimalno 22% (NN br. 131/12).

Slavonski kulen je tradicionalna trajna kobasica koja se proizvodi na području od Zapadne Slavonije, Posavine i Podravine do Istočne Slavonije, Baranje i Srijema (Karolyi, 2004.). Slavonski kulen se od kulena propisanog Pravilnikom o mesnim proizvodima razlikuje u recepturi, koja je tradicionalna. Prema toj recepturi, Slavonski kulen se proizvodi od svježeg svinjskog mesa I. kategorije (meso buta, slabina, leđa, unutarnje pečenice) te do 20% mesa II. kategorije (lopatica, vrat). Za razliku od kulena propisanog recepturom pravilnika, u Slavonski kulen se ne dodaje goveđe meso, ali se može dodati do 5% tvrde leđne slanine. Meso za proizvodnju kulena mora biti očišćeno od vezivnog i masnog tkiva te krvnih žila (Babić, 2011.). U tradicionalnoj proizvodnji Slavenskog kulena, koriste se kuhinjska sol 1,8 – 2,2% na masu mesa, a od začina se koriste slatka začinska paprika 0,8 – 1,0%, ljuta začinska paprika 0,6 – 0,8% i češnjak 0,15 – 0,25%. Aditivi i drugi začini kao i starter kulture tradicionalno se ne koriste u proizvodnji Slavenskog kulena (Kovačević, 2001.)

Potrebno je razlikovati tradicionalan i industrijski postupak proizvodnje. Kod tradicionalnog postupka koristi se svinjsko meso dobiveno od križanaca plemenitih pasmina (križanci landrasa, jorkšira, duroka), starosti od minimalno godinu dana i „žive vage“ 150 i više kilograma (Babić, 2011.). Za proizvodnju se koristi očišćeno meso I. kategorije i do 20% mesa II. kategorije. Izbjegava se meso zahvaćeno BMV (blijedo, mekano i vodnjikavo) i TČS (tamno, čvrsto i suho) promjenama boje. Navedene promjene boje prvenstveno su odraz patološkog stanja životinje te su uobičajene kod mesa svinja koje su prije klanja pretjerano zamarane i izložene stresu. Poseban tehnološki problem je pojava BMV mesa kojega uzrokuje ubrzana postmortalna glikoliza, zbog koje se 45 minuta nakon klanja povećava

temperatura mesa na 35 – 46 °C i snižava pH vrijednost ispod 5,6. Uslijed takvih uvjeta dolazi do denaturacije proteina što uzrokuje migraciju stanične vode u izvanstanični prostor. Takvo meso je blijedo, mekano i tjestasto te podložno oksidativnim promjenama. Također stvara komplikacije prilikom proizvodnje Slavenskog kulena jer se teško salamuri, a sušenjem postaje suho i neukusno (Kovačević, 2001.).

Kod tradicionalne proizvodnje Slavenskog kulena, nakon klanja i rasijecanja, polovice se hlade dok se ne postigne temperatura od +4 °C u sredini buta i pH vrijednost manja od 6 i dopremaju na mjesto prerade pazeći na temperaturu rashladnog lanca transporta. Prvi korak prerade je iskoštavanje i čišćenje odabranog mesa I. i II. kategorije. U prostorijama za preradu temperatura mora biti niža od 10 °C. Nakon čišćenja, meso se reže na vrpce dimenzija 30 x 10 x 3 cm (dužina x širina x debljina). Izrezane vrpce mesa slažu se na perforirane ukošene plohe od nehrđajućeg čelika na kojima se cijede od mesnog soka oko 12 sati. Temperatura mesa se održava na -2 do -5 °C, a pH vrijednost bi trebala biti manja od 5,9. Pripremljeno se meso nakon cijedenja usitnjava u stroju za mljevenje mesa „vuku“ s perforacijama promjera 8 – 12 mm. I dalje je potrebno održavati nisku temperaturu mesa od -2 do -5 °C kako bi se olakšalo rezanje i spriječila denaturacija proteina uslijed povišenja temperature, čime se ujedno izbjegava i oslobađanje unutar mišićne masti što dovodi do narušavanja kvalitete gotovog proizvoda (Kovačević i sur., 2010.).

Usitnjenom mesu dodaje se mineralna kuhinjska sol (NaCl) u količini od 1,8 – 2,2% na masu mesa te začini, slatka začinska paprika 0,8 – 1,0% , ljuta začinska paprika 0,6 – 0,8% i usitnjeni češnjak 0,15 -0,25%. Začini u proizvodnji Slavenskog kulena nemaju samo ulogu razvoja okusa, arome i boje proizvoda. Začini poput crvene začinske paprike i češnjaka, inhibiraju rast patogenih mikroorganizama, a neki njihovi sastojci djeluju kao antioksidansi (Adams 1986.; Roca i sur., 1990.). Međutim, začini mogu biti i izvor kontaminacije patogenim mikroorganizmima. Slavonski kulen se od ostalih fermentiranih kobasica razlikuje i po uporabi malog broja začina i dodataka. Nadjev usitnjenog mesa, kuhinjske soli i začina se miješa u miješalici, pri čemu temperatura smjese treba biti između 0 i 4 °C, a pH vrijednost ispod 5,9. Miješanje je bolje ako se provodi u vakuum miješalici. Ukoliko je pH vrijednost viša, dodaju se brzo razgradivi šećeri (najbolje glukoza) u količini do 0,05%.

Pripremljeni nadjev se pomoću punilice puni isključivo u svinjska slijepa crijeva (lat. *caecum*). Najbolje je punjenje obaviti pomoću vakuum punilica jer sprječavaju stvaranje zračnih džepova, moguću kontaminaciju aerobnim mikroorganizmima te se u konačnici dobije proizvod poželjnije boje i arome. Crijeva se konzerviraju soljenjem pa ih je prije punjenja potrebno odsoliti. Odsoljavanje se vrši namakanjem u mlakoj vodi s lukom, octom i natrijevim hidrogenarbonatom koji se dodaje zbog eliminacije nepoželjnog mirisa na crijeva. Nakon namakanja crijeva se ocijede i spremna su za nadijevanje.

Nadjeveni kulen se „šnira“ konopljinim konopcem. Šniranje je poseban način ispreplitanja konopca oko kulena s tri do pet omči na svakih 4 do 5 cm dužine, a krajevi konopca se pri vrhu vežu u omču za vješanje. Osim karakterističnog izgleda kulena, šniranje doprinosi i pravilnom rasporedu nadjeva i pritiska na nadjev prilikom vješanja kulena (Babić, 2011.).

Sljedeća faza proizvodnje je vješanje Slavenskog kulena na kolica i odlaganje u komore za zrenje i dimljenje. Temperatura u komorama se postupno snižava od 20 do 15 °C kroz šest do sedam sati ili kroz 24 sata, a relativna vlažnost zraka iznosi 65 do 75%. Tijekom tog vremena suši se površina omotača i izjednačava temperatura nadjeva s temperaturom predzrenja kako bi bila jednaka u svim slojevima nadjeva (16 do 18 °C). Preporučljivo je kulen držati još dan do dva na toj temperaturi kako bi započeo proces fermentacije u svim slojevima nadjeva. Naime, autohtona bakterijska kultura koju najvećim dijelom čine bakterije mliječne kiseline (BMK), započinje fermentaciju pri 15 °C tek nakon 20 sati. Tijekom fermentacije BMK razgrađuju šećere koji su prirodno prisutni u mesu i proizvode mliječnu kiselinu koja snižava pH vrijednost nadjeva, stvara se poželjna boja i smanjuje se otpuštanje vode iz nadjeva. Struktura mišićnih vlakana postaje otvorenija što poboljšava tijekom difuzijskih procesa i prodiranje vode i soli u sve slojeve nadjeva. Tako se osigurava lakše i učinkovitije vođenje procesa dimljenja, sušenja i zrenja (Kovačević i sur., 2010.).

Iza fermentacije dolazi faza dimljenja. Kod tradicionalne proizvodnje provodi se u pušnicama, a kod industrijske proizvodnje u komorama za dimljenje. Tijekom dimljenja, a istovremeno i sušenja, razvija se ugodan okus i miris po dimu, nastaje tamnosmeđa boja ovitka te se oblikuje čvrsta i elastična konzistencija Slavenskog kulena. Provodi se hladni postupak dimljenja pri temperaturama od 16 do 22°C, kako bi se izbjeglo smanjivanje propusnosti ovitka i zadržavanje vlage u unutrašnjosti (Casaburi i sur., 2007.).

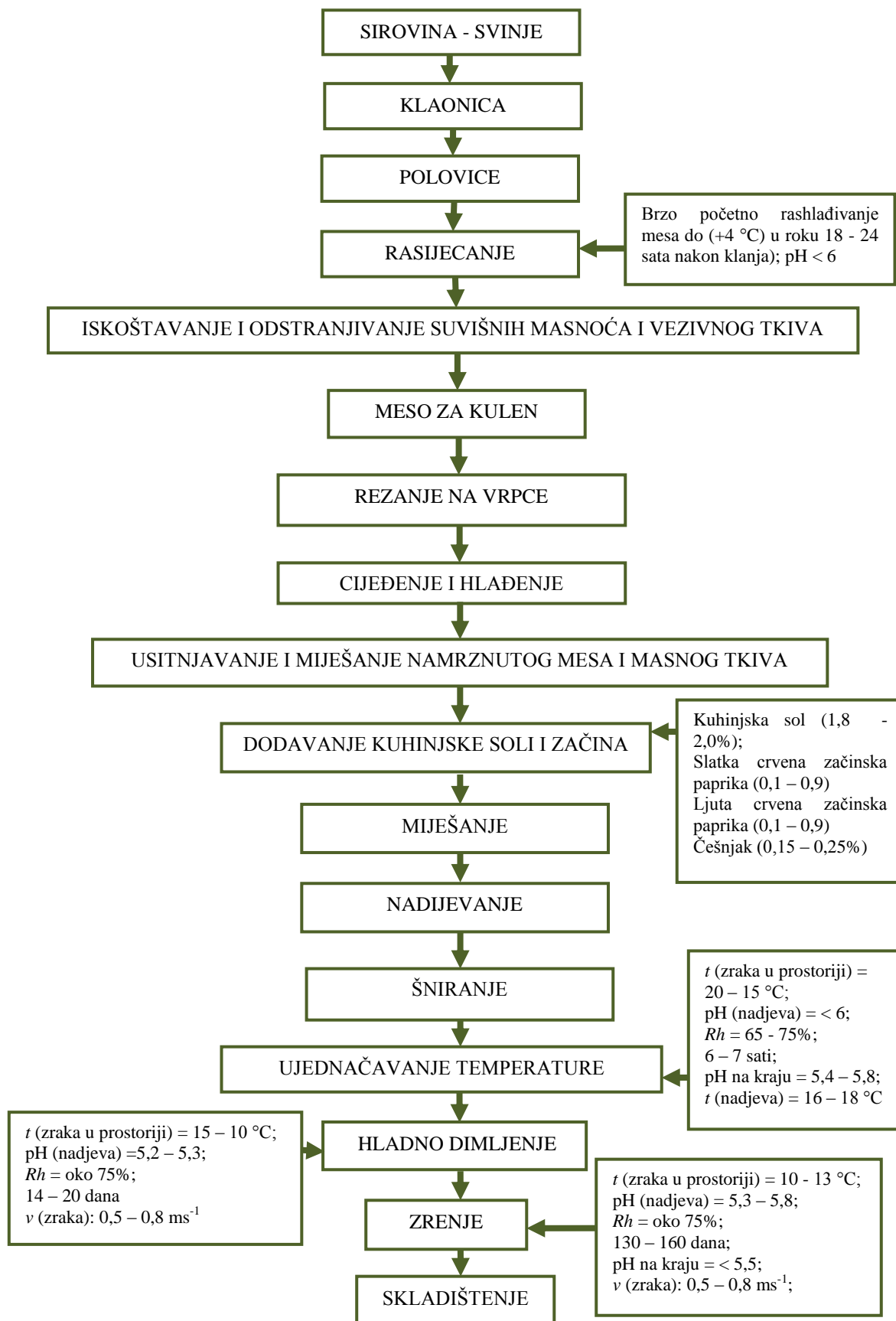
Dimljenje traje dva tjedna, tijekom čega se kulenovi ne smiju međusobno dodirivati, a temperatura u komorama za dimljenje treba biti između 10 i 15 °C, dok relativna vlažnost zraka treba iznositi oko 75%. Vlažnost zraka postiže se vlaženjem piljevine. U komorama za dimljenje i sušenje, brzina strujanja zraka iznosi 0,5 – 0,8 m/s. Vrijednost pH u ovoj fazi proizvodnje treba biti od 5,2 do 5,3. Za proizvodnju dima koriste se cjepanice i/ili piljevina određenih vrsta drveta (jasen, grab i bukva). Dimljenje je oblik kemijskog konzerviranja pomoću kojeg se meso čuva dulje vrijeme. Konzervirajuće djelovanje dima zasniva se na antioksidativnom i baktericidnom djelovanju dima. Antioksidativno djelovanje dima je posljedica aktivnosti fenola te, manjim dijelom, kiselina, dok su za baktericidno djelovanje odgovorni formaldehidi, smole, masne kiseline, octena i mravlja kiselina, alkoholi, itd. Dimljenje se uvijek kombinira s drugim metodama konzerviranja kao što su: soljenje, salamurenje i sušenje. No, osim konzervirajućeg djelovanja, uloga dima je i stvaranje specifičnog, ugodnog mirisa i okusa mesa po dimu te zlatnožute boje mesnih proizvoda (Babić, 2011.).

Kada je faza dimljenja završena, kulenovi se premještaju u komore za zrenje gdje zriju i više od 90 dana. U komori za zrenje održavaju se sljedeći uvjeti: temperatura u rasponu od 10 do 13 °C, relativna vlažnost zraka oko 75% i brzina strujanja zraka od 0,05 do 0,1 m/s. Glavni cilj zrenja je razvoj specifične boje, okusa i arome. Tijekom ove faze događaju se i značajne fizikalne promjene nadjeva, odnosno dolazi do gubitka vode, pri čemu količina vode koja migrira od centra prema periferiji nadjeva mora biti jednaka količini vode koja napušta proizvod. Cilj je postići maksimalan udio vode od 40% kako je i propisano Pravilnikom o mesnim proizvodima (NN br. 131/12). Nakon postignutog udjela vode, kulen se dalje skladišti u komori za zrenje pri konstantnim uvjetima. Za proizvodnju tradicionalnog Slavenskog kulena potrebno je minimalno pet mjeseci. Duži period zrenja ide u korist kakvoće kulena. Prije stavljanja na tržište, gotovi kulen se može pakirati u papirnate propusne omotače, vrećice ili kutije (Kovačević, 2001.).

Najveći problem tradicionalne proizvodnje Slavenskog kulena je nemogućnost kontinuirane proizvodnje jer je proizvodnja sezonskog karaktera (jesen/zima). Kod tradicionalne proizvodnje ne koriste se tehnološka dostignuća u vidu komora s automatskom regulacijom relativne vlažnosti zraka, temperature i regulacije brzine strujanja zraka.

Dimljenje i zrenje se odvija u vanjskim pušnicama ili podrumima gdje ti uvjeti ovise o godišnjem dobu i vremenskim uvjetima, stoga te osnovne tehnološke parametre nije moguće kontrolirati. Kao posljedica toga dolazi do neujednačenosti proizvoda, pojave zračnih džepova, odvajanje omotača od nadjeva, mikrobiološke kontaminacije nepoželjnom plijesni, suhoća, užglost, loše narezivanje, mrvljenje nadjeva i ostale greške tradicionalne proizvodnje. U industrijskoj proizvodnji koriste se komore za dimljenje i zrenje s regulatorima mikroklimе i dimnim generatorima, što omogućuje kontrolu procesnih parametara (relativna vlažnost zraka, temperatura, brzina strujanja zraka) neovisno o godišnjem dobu i vremenskim prilikama. Industrijska proizvodnja je standardizirana i kontrolirana te puno brža i ekonomičnija od tradicionalne proizvodnje. S druge strane, Slavenski kulen proizveden tradicionalnim postupkom ima puniji okus od Slavenskog kulena dobivenog industrijskim postupkom proizvodnje (Babić, 2011.).

U današnjoj mesnoj industriji cilj je spojiti tradicionalni i industrijski postupak proizvodnje Slavenskog kulena kako bi se dobila vrhunska kvaliteta, ali i postigla kontinuirana opskrba tržišta takvim proizvodom.



Slika 1 Blok shema tehnološkog procesa proizvodnje Slavonskog kulena

Tablica 1 Usporedba tradicionalnog i industrijskog postupka proizvodnje Slavonskog kulena

| TEHNOLOŠKA OPERACIJA | TRADICIONALNA PROIZVODNJA | INDUSTRIJSKA PROIZVODNJA |
|-----------------------------------|--|---|
| Dodavanje kuhinjske soli i začina | Kuhinjska sol; Slatka i ljuta začinska paprika, češnjak | Kuhinjska sol; Slatka i ljuta začinska paprika Češnjak; Nitritna i/ili nitratna sol, Askorbinska kiselina Reducirajući šećeri Starter kulture |
| Ujednačavanje temperature nadjeva | Improvizirane prostorije gdje ovisi o vremenskim uvjetima; U novije vrijeme u komorama: $T(\text{zraka u prostoriji}) = 20 - 15 \text{ } ^\circ\text{C}$ $\text{pH nadjeva} = 5,2 - 5,3$ $Rh = 65 - 75\%$ $V(\text{zraka}) = 0,5 - 0,8 \text{ m/s}$ 6 do 48 sati | Odvija se u komorama s regulatorima mikroklike, procesni parametri se kontroliraju $T(\text{zraka u prostoriji}) = 20 - 25 \text{ } ^\circ\text{C}$ $\text{pH nadjeva} = <6$ $Rh = 60 - 70\%$ $\text{pH nadjeva na kraju} = 5,4 - 5,8$ 6 do 24 sati |
| Dimljenje | U vanjskim pušnicama i podrumskim prostorijama gdje ovisi o vremenskim uvjetima. U novije vrijeme u komorama: $T(\text{zraka u prostoriji}) = 10 - 15 \text{ } ^\circ\text{C}$ $Rh = \text{oko } 75\%$ $\text{pH}(\text{gotovog proizvoda}) = 5,2 - 5,3$ 14 - 20 dana $V(\text{zraka}) = 0,5 - 0,8 \text{ m/s}$ | Odvija se u komorama za dimljenje s dimnim generatorima i regulatorima mikroklike, procesni parametri se kontroliraju $T(\text{zraka u prostoriji}) = 14 - 18 \text{ } ^\circ\text{C}$ $Rh = 70 - 90\%$ $\text{pH}(\text{gotovog proizvoda}) = 5,2 - 5,3$ 14 - 20 dana $V(\text{zraka}) = 0,5 - 0,8 \text{ m/s}$ |
| Zrenje | U improviziranim podrumskim ili tavanskim prostorijama. U novije vrijeme u komorama: $T(\text{zraka u prostoriji}) = 13 - 10 \text{ } ^\circ\text{C}$ $Rh = \text{oko } 75\%$ $\text{pH}(\text{gotovog proizvoda}) = 5,2 - 5,4$ 180 dana Punija aroma i manja kiselost | Automatizirane komore s regulatorima mikroklike $T(\text{zraka u prostoriji}) = 14 - 17 \text{ } ^\circ\text{C}$ $Rh = \text{oko } 70 - 80\%$ $\text{pH}(\text{gotovog proizvoda}) = 4,8 - 5,2$ 120 - 150 dana (ubrzano dodatkom starter kultura i šećera Kiseliji okus i slabija aroma |

2.2. FIZIKALNA, KEMIJSKA, MIKROBIOLOŠKA I SENZORSKA SVOJSTVA KULENA

Slavonski kulen od 6. svibnja 1997. nosi oznaku izvorno hrvatsko, a zaštićen je i oznakom zemljopisnog podrijetla prema Zakonu o zaštićenim oznakama izvornosti, zaštićenim oznakama zemljopisnog podrijetla i zajamčeno tradicionalnim specijalitetima poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda (NN br. 80/13). Zatražena je i registracija Slavenskog kulena na razini Europske unije.

2.2.1. Fizikalno-kemijska svojstva kulena

Prema normi ISO 9000:2000 kvaliteta je stupanj do kojega skup svojstvenih karakteristika ispunjava zahtjeve. Standardi kvalitete kulena propisani su Zakonom o hrani (NN br. 14/2012) i Pravilnikom o mesnim proizvodima (NN br. 131/2012). Fizikalno-kemijska svojstva su bitan faktor utvrđivanja kvalitete Slavenskog kulena prilikom čega se određuju sljedeća svojstva: pH vrijednost, maseni udio vode, bjelančevina, ukupnih masti i soli, aktivitet vode i tekstura kulena.

Vrijednost pH indikator je procesa fermentacije i zrenja kulena, a koristi se i pri procjeni njegove trajnosti. Proizvodi se mogu smatrati trajnima sa pH vrijednošću manjom od 5,0, pokvarljivima sa pH vrijednošću od 5,0 do 5,2 te brzo pokvarljivima sa pH vrijednošću većom od 5,2. Kod kulena je u početku proizvodnje (sirovi nadjev) pH vrijednost veća od 6, a tijekom procesa fermentacije treba pasti na 5,0 ili manje. Osim što pridonosi specifičnom okusu Slavenskog kulena, niži pH štiti kulen od mikrobiološkog kvarenja jer kisela sredina inhibira rast i razvoj mikroorganizama, uzročnika kvarenja. Kod kulena u procesu fermentacije bakterije mliječne kiseline stvaraju mliječnu kiselinu te je na taj način proizvodnja Slavenskog kulena i prirodno zaštićen proces. Dodatno ga zaštićuje kuhinjska sol, aktivni sastojci začina i dima te kontroliranje temperature i relativne vlažnosti zraka. (Kovačević i sur., 2010.).

Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (NN br.131/12) količina ukupnih bjelančevina u kulenu (%) je vrijednost dobivena množenjem količine dušika u postocima s faktorom 6,25, a količina bjelančevina vezivnog tkiva, izražena kao količina kolagena (%) je vrijednost dobivena množenjem količine hidrosiprolina (%) faktorom osam. Količina bjelančevina u Slavenskom kulenu mora biti minimalno 22%. Količina ukupnih masti ovisi općenito o recepturi, ali i o podrijetlu sirovine. U Slavenskom kulenu varira u udjelu od 14%

do 28% i više. Udio vode u trajnim kobasicama smije biti maksimalno 40% (Kovačević i sur., 2010.).

Maseni udio soli u zreloom kulenu ovisi o količini dodane soli u nadjev te o fazi sušenja i zrenja. Natrijev klorid je bitan sastojak fermentiranih kobasica, među njima i kulena. Utječe na elastičnost, tvrdoću i otpor žvakanju kulena (Ockerman, 2007.; Stahkne i sur., 2007.). Pridonosi povećanju sposobnosti vezanja vode, osigurava mikrobiološku ispravnost proizvoda, sudjeluje u formiranju boje, teksture i okusa. Prosječan maseni udio soli u nadjevu za kulen kreće se od 1,8 do 2,4%, a tijekom procesa sušenja naraste na 3,3 do 4,3% (Kovačević i sur., 2010.).

Aktivitet vode (a_w) predstavlja slobodnu vodu koja je vezana na kapilarnoj i osmotskoj osnovi te je lako dostupna za enzimske i biokemijske reakcije i rast mikroorganizama. Uz pH vrijednost i temperaturu predstavlja odlučujući faktor trajnosti kulena. Cilj sušenja kulena je smanjiti aktivitet vode s početnog 0,99 svježeg mesa na 0,82 do 0,89 zrelog proizvoda spremnog za stavljanje na tržište (Kovačević i sur., 2010.).

2.2.2. Mikrobiološka svojstva kulena

Mikrobiološke analize predstavljaju metode detekcije i karakterizacije mikroorganizama. Zasnivaju se na njihovoj metaboličkoj aktivnosti određenih tvari, mjerenju rasta, analizi dijelova stanice ili njihovom kombinacijom. Poznajemo: fizikalne metode koje se zasnivaju na mjerenju konduktivnosti, promjeni entalpije ili protoka sortiranja što odgovara metaboličkoj aktivnosti mikroorganizama, kemijske metode koje određuju metaboličke produkte ili endotoksine ili tipične bakterijske enzime (Olsen i sur., 2004.). Enzimske analize baziraju se na postojanju i određivanju termo labilnih proteina, specifičnih katalizatora velikog broja poželjnih i nepoželjnih kemijskih reakcija u poljoprivredno-prehrambenim proizvodima, a prirodno prisutnih u biljkama, životinjama i mikrobnim stanicama. Oni utječu na teksturu, okus i aromu, boju te ubrzavaju proces fermentacije. Sastav mikroflore ovisi o higijenskoj kakvoći sirovine, soli i začina, tehnološkim postupcima proizvodnje i uvjetima zrenja, a specifičan je za svaki tip fermentiranog proizvoda pa tako i kulen. U mikroflori Slavenskog kulena dominiraju bakterije mliječne kiseline i stafilokoki, koji su i inače uobičajeni u mikroflori mesnih proizvoda.

Bakterije mliječne kiseline su gram-pozitivne, nesporogene i mezofilne bakterije, koje svojim metabolizmom ugljikohidrata stvaraju mliječnu kiselinu kao krajnji produkt. Nadalje mliječna kiselina snižava pH vrijednost kulena tijekom fermentacije i zrenja. Snižavanje pH vrijednosti ima konzervirajući učinak jer je inhibiran rast patogenih mikroorganizama i mikroorganizama uzročnika kvarenja kiselom sredinom. Osim toga, pri nižoj pH vrijednosti dolazi do koagulacije proteina i stvaranja karakterističnog okusa kulena. U prvim danima fermentacije, uočen je porast koncentracije bakterija mliječne kiseline s $10^3 - 10^5$ CFU/g na $10^6 - 10^9$ CFU/g. Porast broja bakterija mliječne kiseline, a kasnije i dominacija, omogućeni su povoljnim uvjetima (temperatura, kiselost, koncentracija soli) te anaerobnom sredinom (Babić i sur., 2011.). Bakterije mliječne kiseline sudjeluju i u reakcijama stvaranja boje povećavajući redukciju nitrata u dušikove okside koji reagiraju s mioglobinom i daju specifičnu boju kulenu. U kulenu je od bakterija mliječne kiseline najzastupljeniji rod *Lactobacillus* i to vrste: *Lactobacillus delbruckii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei* i *Lactobacillus mesenterioides*.

Osim bakterija mliječne kiseline, u mikroflori kulena pronađene su i bakterije roda *Staphylococcus*. Stafilokoki su okrugle gram-pozitivne, aerobne ili fakultativno anaerobne bakterije. Pronađeni stafilokoki su koagulaza-negativni i značajni su zbog sudjelovanja u reakcijama stvaranja okusa i arome kulena. Značajni su zbog proteolitičke i lipolitičke aktivnosti prilikom čega nastaju aldehidi, slobodne masne kiseline, peptidi i amini koji su nositelji karakteristične arome kulena. Sudjeluju i u reakcijama nastajanja poželjne crvene boje, redukcijom nitrata u nitrite i sprječavaju užeglost proizvoda. Najzastupljenije su vrste *Staphylococcus xylosus* i *Staphylococcus warneri*, a mogu se detektirati i *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus equorum* i *Staphylococcus curvatus* (Babić i sur., 2011.).

2.2.3. Senzorska svojstva kulena

Senzorske analize, odnosno senzorska svojstva, značajan su čimbenik u odabiru i prihvaćanju proizvoda. Široki je raspon primjene i metodologija u senzorskoj procjeni (potrošačko prihvaćanje, metode razlika) te postoje senzorski analitičari za pojedine proizvode. Senzorska analiza uključuje analiziranje sljedećih svojstava: boja, okus, miris, izgled i konzistencija.

Slavonski kulen je valjkastog izgleda i oblika koji može varirati ovisno o veličini i obujmu svinjskog slijepog crijeva (lat.: *caecuma*), jednolične svijetlo do tamno smeđe boje bez mrlja, nabora i pukotina, povezan vezom od konopljanih vlakana koji se usijeca u prirodne nabore crijeva. Na presjeku je skladnog izgleda dobro povezanih mesnih i masnih čestica bez suvišnih vezivno-tkivnih ostataka, svijetlo do tamno crvene boje osim masnih dijelova koji su bijele do narančaste boje, bez ili blago naglašenog tamnog vanjskog ruba. Miris zrelog Slavenskog kulena je ugodan, izvana po dimu bjelogoričnog drveta, a u unutrašnjosti po fermentiranom svinjskom mesu, začinskoj paprici i češnjaku uz blagu notu dima. Konzistencija je čvrsta, ne drobljiva, proizvod se dobro narezuje i lako žvače. Okus je intenzivan i karakterističan po fermentiranom zrelom svinjskom mesu, slan i ljut bez kiselosti, gorčine ili drugih nesvojstvenih okusa koji su posljedica kvara ili grešaka u proizvodnji, a nakon gutanja u ustima ostaje dugotrajna aroma proizvoda.

2.3. PRIMJENA STARTER KULTURA U PROIZVODNJI SLAVENSKOG KULENA

Starter kultura je proizvod koji se sastoji od jedne ili više vrsta mikroorganizama, a primjenjuje se u proizvodnji mesnih proizvoda s ciljem ubrzanja zrenja i oplemenjivanja proizvoda. Jedna od glavnih uloga starter kultura je povećanje sigurnosti hrane inaktivacijom patogenih mikroorganizama i mikroorganizama kvarenja kroz proizvodnju kiselina. Fermentirani mesni proizvodi mogu se proizvoditi i bez dodatka starter kulture, ali u današnje vrijeme povećanja proizvodnje i standardizacije proizvoda starter kulture uvelike pomažu bržoj i sigurnijoj proizvodnji. Obično se kao starter kultura u industrijskoj proizvodnji kulena koriste BMK i gram-pozitivni katalaza-pozitivni stafilocoki. Koriste se i koagulaza-negativni stafilocoki (KNS) koji stabiliziraju boju kulena i sudjeluju u razvoju njegove arome. Starter kulture koje se koriste u proizvodnji kulena ne smiju kao nusprodukt svog metabolizma proizvoditi ugljikov dioksid, vodikov peroksid, mikotoksine, biogene amine i druge spojeve (Gou i sur., 2000.).

Tablica 2 Opći kriterij za izbor starter kultura (Babić, 2011.)

| OPĆI KRITERIJ ZA IZBOR STARTER KULTURA |
|--|
| 1. SIGURNOST |
| Starter mikroorganizmi ne smiju imati patogeno ili toksično djelovanje Priprava starter kulture se mora voditi pod strogo kontroliranim aseptičnim uvjetima |
| 2. TEHNOLOŠKE KARAKTERISTIKE |
| Starter mikroorganizmi moraju dominirati nad autohtonom mikroflorom Moraju provoditi određenu metaboličku aktivnost Tijekom proizvodnje ne smije doći do kontaminacije |
| 3. EKONOMSKI ASPEKTI |
| Uzgoj starter kultura mora biti izvodiv s ekonomske točke gledišta Čuvanje starter kultura može biti provedeno metodama zamrzavanja ili liofilizacije s minimalnim gubitkom metaboličke aktivnosti kulture, a njihova važna svojstva moraju ostati stabilna kroz nekoliko mjeseci |

Budući da se autohtona mikroflora kulena sastoji uglavnom od BMK i KNS, te bakterije se najčešće i koriste kao starter kulture u proizvodnji kulena. U komercionalne starter kulture se osim bakterija dodaju i kvasci te plijesni roda *Penicillium*. U industrijskoj proizvodnji se koriste mješovite starter kulture bakterija mliječne kiseline, kojima pripadaju rodovi *Lactobacillus*, *Pediococcus* i *Streptomyces*.

Tablica 3 Najčešće starter kulture za fermentirane mesne proizvode (Frece i sur., 2010.)

| TAKSONOMSKA GRUPA | MIKROORGANIZMI |
|--|---|
| Bakterije mliječne kiseline (BMK) | <i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i> |
| Koagulaza-negativni stafilokoki (KNS) | <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus warneri</i> <i>Staphylococcus equorum</i> |
| Kvasci | <i>Candida famata</i> <i>Debaromyces hansenii</i> |
| Plijesni | <i>Penicillum camemberti</i> <i>Penicillum crysogenum</i> |

U proizvodnji Slavenskog kulena proizvođači primjenjuju tradicionalnu recepturu bez dodatka autohtone starter kulture. U tom slučaju, tijekom fermentacije, dominiraju autohtoni lactobacili i koagulaza-negativni stafilokoki koji se razmnožavaju zbog fizikalno-kemijskih uvjeta tijekom procesa proizvodnje. Autohtona mikroflora daje kulen specifične arome i okusa koji se ne mogu postići uporabom komercijalnih starter kultura. Zbog toga su izolirane autohtone starter kulture koje su kompetentnije od komercijalnih.

Budući da već dominiraju u autohtonoj mikroflori kulena, BMK i KNS imaju najbolja svojstva kao starter kultura u proizvodnji kulena i daju gotov proizvod koji je po senzorskim svojstvima najbliži tradicionalno proizvedenom kulenu bez dodatka starter kultura. Razvojem proizvodnje s autohtonom starter kulturom omogućava se proizvodnja kulena ponovljivih senzorskih i higijenskih svojstava, ali s kraćim vremenom zrenja (Leroy, De Vuyst, 2005.).

Jako je važno poznavanje tehnoloških karakteristika i sigurnosti autohtone starter kulture kako bi se proces proizvodnje kulena mogao što više unaprijediti i standardizirati. Starter kulture ne smiju imati negativan utjecaj na zdravlje potrošača, odnosno toksične ili patogene metabolite. S druge strane, autohtone starter kulture omogućavaju komercijalizaciju proizvodnje regionalnih fermentiranih mesnih proizvoda (Talon i sur., 2005.).

Autohtona starter kultura Slavenskog kulena sastoji se od BMK: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus lactis*, te KNS: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus lentus* i *Staphylococcus auricularis*. Ovi sojevi pokazali su bitnu antimikrobnu aktivnost, adhezijska svojstva, inhibiciju infekcije s bakterijama iz roda *Sallmonela*, a uz to zadovoljavaju i kriterije za izbor funkcionalnih starter kultura (Babić, 2011.).

Tablica 4 Prednosti korištenja autohtonih starter kultura

| PREDNOSTI KORIŠTENJA AUTOHTONIH STARTER KULTURA | |
|---|--|
| - Produljenje trajnosti proizvoda (proizvodnja antimikrobnih spojeva: mliječna kiselina, octena kiselina, diacetil, vodikov peroksid, bakteriocini) | → bikonzerviranje → smanjenje upotrebe aditiva |
| - Dobivanje željene arome, boje i konzistencije proizvoda | |
| - Skraćeno vrijeme zrenja | |
| - Uz korištenje funkcionalnih starter kultura | → poboljšanja kakvoća proizvoda → funkcionalna hrana |
| - Dominacija i prilagođenost rasta u određenoj sirovini, budući da su iz iste izolirani | |
| - Dobivanje tradicionalnog proizvoda karakteristične arome poboljšanih svojstava | |

Funkcionalne starter kulture su mikrobne kulture koje posjeduju barem jedno funkcionalno svojstvo s krajnjim ciljem poboljšanja kakvoće konačnog proizvoda koji će imati pozitivan utjecaj na zdravlje potrošača. Pružaju dodatnu funkcionalnost u usporedbi s komercijalnim starter kulturama i na taj način unapređuju proces fermentacije kulena i drugih fermentiranih trajnih kobasica. Gotov proizvod je ukusniji, sigurniji i zdraviji. Neka od dodatnih svojstava koje moraju imati funkcionalne starter kulture su: acidifikacija, aktivnost katalaze, razvoj arome, metabolizam aminokiselina, antioksidativna svojstva, proizvodnja bakteriocina, proteolitička aktivnost, probiotička svojstva, redukciju nitrata, lipolitička aktivnost i dr. (Babić, 2011.)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Istražiti utjecaj dodatka autohtone starter kulture na kvalitetu Slavenskog kulena.

3.2. MATERIJALI I METODE

Nadjev kulena pripremljen je u pilot postrojenju istraživačkog laboratorija Katedre za tehnologiju mesa i ribe prema tradicionalnoj recepturi uz dodatak autohtone starter kulture. Receptura je sljedeća: w (kuhinjske soli) = 2%, w (slatke začinske paprike) = 0,4%, w (ljute začinske paprike) = 0,6% , w (češnjaka)= 0,2% i m (liofilizirane autohtone starter kulture) = 0,25 g. Pripremljeno je pet uzoraka od kojih je jedan referentan bez dodatka šećera i liofilizirane ASK. U drugi uzorak je dodano 0,25 g liofilizirane ASK i 0,8% šećera glukoze, a uzorak je fermentirao na temperaturi od 20°C. Treći uzorak je pripremljen isto kao i drugi, samo se fermentacija odvijala na 12°C. Četvrti uzorak je pripremljen s dodatkom 0,8% šećera maltodekstrina i 0,25g liofilizirane ASK te je fermentirao na temperaturi od 20 °C, dok je peti uzorak po istoj recepturi fermentirao na 12°C.

Tablica 5 Uzorci kulena pripremljeni za analiziranje utjecaja ASK na kvalitetu kulena

| UZORAK | DODATAK ASK I ŠEĆERA | TEMPERATURA FERMENTACIJE (°C) |
|-----------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Uzorak 1 | Bez dodatka šećera i ASK | 20 |
| Uzorak 2 | 0,8% glukoze, 0,25g ASK | 20 |
| Uzorak 3 | 0,8% glukoze, 0,25g ASK | 12 |
| Uzorak 4 | 0,8% maltodekstrina,0,25g ASK | 20 |
| Uzorak 5 | 0,8% maltodekstrina, 0,25g ASK | 12 |

Pripremljeni uzorci sirovog kulena su ovješeni na kuke u komoru sa automatskim regulatorom klimatskih uvjeta i s dimnim generatorom. U komori su se odvijali procesi fermentacije, dimljenja, sušenja i zrenja, a tijekom procesa je kontinuirano, kroz 20 dana, mjerena pH vrijednost uzoraka pomoću pH metra. Nakon završenog procesa zrenja obavljena je analiza fizikalno-kemijskih svojstava i senzorska analiza uzoraka.

Mjerenja su provedena sljedećim redoslijedom:

1. Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava slanine (1.dan)
2. Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava mesa (1.dan)
3. Određivanje mikrobioloških svojstava sirovog nadjeva (1.dan)
4. Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava sirovog nadjeva (1.dan)
5. Mjerenje pH vrijednosti mesa, slanine i sirovog nadjeva (1.dan)
6. Kontinuirano mjerenje pH vrijednosti kulena svaka 24 sata tijekom procesa fermentacije (20 dana)
7. Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava zrelog kulena (90.dan)
8. Određivanje senzorskih svojstava zrelog kulena (90.dan)

3.2.1. Metode za određivanje fizikalno-kemijskih svojstava kulena

1. Određivanje pH vrijednosti

Vrijednost pH mjerena je uređajem pH/Ion 510 – Bench pH/Ion/mV meter (Eutech Instruments Pte Ltd/Oakton Instruments, USA), prema ISO normi 2917:1999 (HRN ISO 2917, 2000) te uputama proizvođača (pH/Ion 510 Instruction Manual). Terenska mjerenja pH vrijednosti provedena su pomoću prijenosnog pH metra pH 3210/3310 tvrtke WTW. Prema normi (HRN ISO 2917: 2000), (HNZ, 2000.)



Slika 2 Prijenosni pH metar pH 3210/3310 tvrtke WTW

2. Određivanje aktiviteta vode

Aktivitet vode određen je pomoću uređaja HygroLab 3 – Multi-channel Humidity & Water Activity Analyser (ROTRONIC) (**Slika 3**), prema uputama proizvođača (HygroLab Bench Top Humidity Temperature Indicator Instruction Manual V2.0), pri sobnoj temperaturi (20 ± 2 °C).



Slika 3 Rotronic - HygroLab 3 – Multi-channel Humidity Water Activity Analyser

3. Određivanje udjela vode, bjelančevina i ukupnih masti

Određivanje udjela vode, bjelančevina i ukupnih masti provedeno je pomoću uređaja FoodScan Meat Analysera (FOSS) (**Slika 4**). Određivanje je vršeno prema AOAC (Association of Official Analytical Chemists) metodi 2007.04 (AOAC, 2007.)



Slika 4 FoodScan Meat Analyser

4. Određivanje masenog udjela pepela

Ukupni pepeo u uzorcima je masa ostatka dobivena nakon spaljivanja na temperaturi 550 °C.

Test porcija uzoraka se osuši, karbonizira i zatim spali na 550 °C ± 25 °C. Nakon hlađenja određuje se masa ostatka.

5. Određivanje profila teksture

Teksturalni profil kulena određen je uređajem Universal TA-XT2i texture analyzer (**Slika 5**). Uzorci narezani na kocke (1,5 x 1,5 x 1,5 cm) pritisnuti su kompresijskom pločom promjera 75 mm, dva puta, do 60% njihove visine prema sljedećim parametrima:

- kalibracija visine: 25 mm,
- brzina prije mjerenja: 5 mm/s,
- brzina mjerenja: 5 mm/s,
- brzina nakon mjerenja: 5 mm/s,
- dubina prodiranja cilindra: 9 mm (60%),
- vrijeme zadržavanja između dvije kompresije: 5 s,
- potrebna sila za početni signal: 5 g.

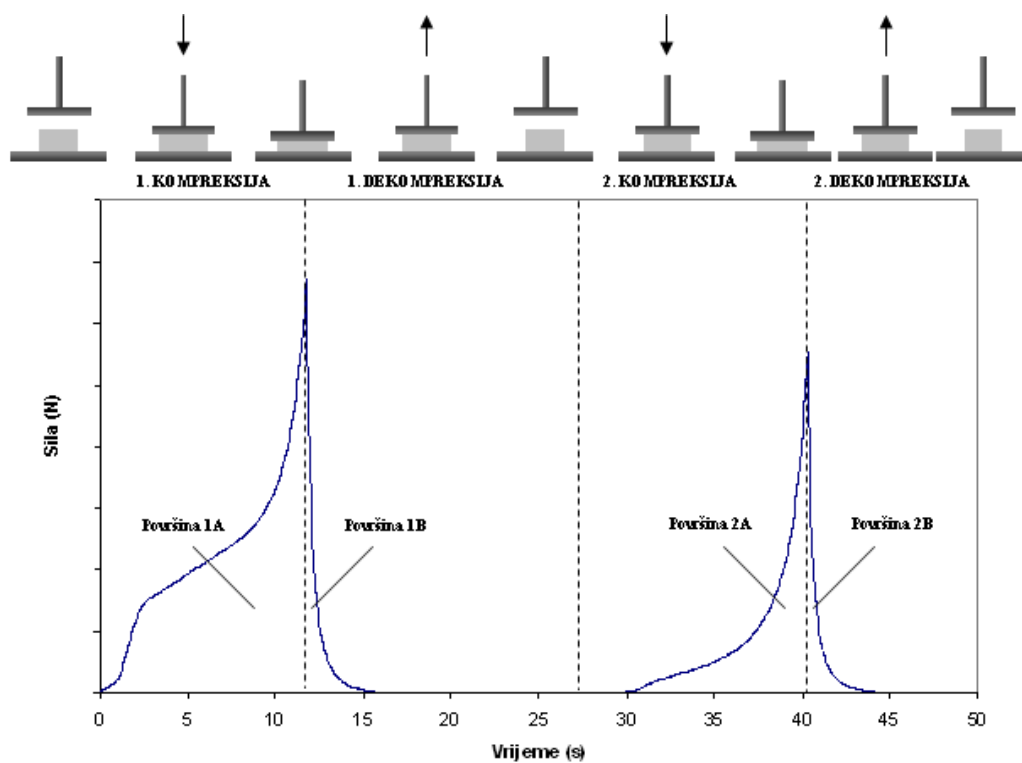
Analiza teksture provedena je pri sobnoj temperaturi. Računalni program zapisuje krivulju promjene sile potrebne za kompresiju uzorka u određenom vremenu prema sljedećim parametrima:

- 1) brzina kretanja glave uređaja od 5 mm s⁻¹,
- 2) brzina zapisa testa od 5 mm s⁻¹.

Iz dobivenih rezultata mogu se očitati.

- čvrstoća – visina prvog pika izražena u jedinicama sile (N) ili mase (g),
- kohezivnost – predstavlja snagu unutrašnjih veza materijala potrebnih da zadrže uzorak koherentnim pri deformaciji, a definirana je omjerom površina ispod drugog i prvog pika ($\text{Površina 2AiB}/\text{Površina 1AiB}$),
- elastičnost – predstavlja tzv. trenutnu elastičnost, odnosno mjeru oporavka uzorka od deformacije pri prvoj kompresiji, a definirana je omjerom površine ispod krivulje tijekom prve dekompresije i površine ispod krivulje tijekom prve kompresije ($\text{Površina 1B}/\text{Površina 1A}$),
- odgođena elastičnost – omjer visina uzorka do koje se on vraća tijekom vremena koje prođe između kraja prve kompresije i početka druge kompresije i početne visine uzorka,
- otpor žvakanju – predstavlja energiju koju je potrebno utrošiti za žvakanje uzorka, odnosno otpor uzorka žvakanju, a izračunava se kao umnožak čvrstoće, kohezivnosti i odgođene elastičnosti i izražava u jedinicama sile (N) ili mase (g).

Izračun parametara teksturalnog profila proveden je pomoću softverskog sustava Texture Exponent for Windows (version 1.0) Stable Micro Systems.



Slika 5 Tipična krivulja ispitivanja teksturalnog profila slavonskog kulena metodom dvostruke kompresije



Slika 6 Stable Micro Systems TA-XT2i analizator teksture

6. Određivanje koordinata boje u CIE- $L^*a^*b^*$ sustavu

Instrumentalno određivanje boje je provedeno uređajem MiniScan[®]XE Plus spectrophotometer (Hunter Associates Laboratory, Inc., Virginia, USA), (angle 10°, illuminant D65) **(Slika 6)**. Uređaj je prije početka rada kalibriran hvatačem svjetlosti i bijelom keramičkom pločom ($L_0 = 93.01$, $a_0 = -1.11$ i $b_0 = 1.30$).

Određene su slijedeće koordinate boje u CIE- $L^*a^*b^*$ sustavu: (L^*) - koordinata svjetline (lightness): 0 (crna) - 100 (bijela); a^* - koordinata obojenja (redness): (\pm crveno - zeleno); te b^* koordinata obojenja (yellowness): (\pm žuto – plavo). Mjerenje boje uzoraka kulena provedeno je pri sobnoj temperaturi (20 ± 2 °C). Mjerenje boje referentnog uzorka te uzoraka 2 i 4 provedeno je na deset mjesta. Uzorci su izrezani na šnite debljine 1 cm. Posebno je mjerena boja sredine šnite i boja ruba šnite (Šakić, 2014.)



Slika 7 Hunter-Lab Mini ScanXE.

3.2.2. Mikrobiološke analize

Primijenjene su klasične mikrobiološke metode izolacije mikroorganizama na selektivnim hranjivim podlogama.

3.2.2.1 Određivanje ukupnog broja i identifikacije bakterija mliječne kiseline te bakterija iz roda *Staphylococcus*

Svih pet uzoraka Slavenskog kulena je mikrobiološki analizirano, s ciljem izolacije bakterija na selektivnim podlogama (MRS – za bakterije mliječne kiseline, Baird parker za bakterije roda *Staphylococcus*). Porasle kolonije su precijepljene radi umnožavanja te su im određena klasična svojstva. Daljnja potvrda roda te identifikacija vrste izoliranih kultura provedena je biokemijskim testovima (API testovi – apiweb softver)(**Tablica 6**).

Tablica 6 Klasične mikrobiološke i biokemijske (API) metode izolacije i identifikacije mikroorganizama

| Mikroorganizmi | Metoda | Hranjive podloge | Uvjeti inkubiranja | API testovi |
|-----------------------------|----------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| Bakterije mliječne kiseline | HRN ISO 13721 | MRS agar (Biolife) | 30°C 48 – 72 sata | API 50 CHL V5.1 |
| <i>Staphylococcus</i> | HRN ISO 6888-1 | BP (Biolife) | 37° C 48 sati | API STAPH V4.1 |

3.2.2.2 Određivanje mikrobiološke ispravnosti

Pet uzoraka Slavenskog kulena analizirano je klasičnim mikrobiološkim metodama na mikrobiološku ispravnost (**Tablica 7**).

Tablica 7 Klasične mikrobiološke metode izolacije i identifikacije mikroorganizama

| Mikroorganizmi | Metoda | Hranjive podloge | Uvjeti inkubiranja |
|---------------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------------|
| Aerobne, mezofilne bakterije | HRN ISO 4833 | TGYA (Biolife) | 30 °C 48 sati |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | HRN ISO 5552 | VRBG (Biolife) | 37 °C 24 sata |
| <i>Salmonella sp.</i> | HRN ISO 6579 | RP-bujon, XLD (Biolife) | 37 °C 24 – 48 sati |
| Sulfidoreducirajući klostridiji | HRN ISO 15213 | SPS (Biolife) | 37 °C 72 sata |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | HRN ISO 11290-1 | Palcam (Merck) | 37 °C 24 sata |

3.2.3. Metode za određivanje senzorskih svojstava

Senzorska analiza provedena je na pet uzorka nakon završenog procesa fermentacije i zrenja. Ocjenjivačima je servirana po jedna kriška od svakog uzorka Slavenskog kulena debljine 0,5 cm.

Grupa od četvero treniranih senzorskih analitičara, zaposlenika Prehrambeno-tehnološkog fakulteta u Osijeku, ocjenjivala je izgled vanjske površine, konzistenciju, izgled presjeka, okus, i miris pet uzorka Slavenskog kulena. Tijekom treninga, analitičarima su objašnjeni zahtjevi senzorskih karakteristika za svako pojedino svojstvo te su im na primjerima prikazani svi nedostaci Slavenskog kulena, navedeni na ocjenjivačkom listiću. Maksimalan broj bodova iznosio je 100. Svakom svojstvu je, prema mišljenju stručnjaka, usuglašenom na organiziranoj otvorenoj raspravi, dodijeljen najveći broj bodova, uzimajući u obzir važnost svakog pojedinog parametra u ukupnoj ocjeni senzorske kvalitete Slavenskog kulena. Najveći broj bodova za izgled vanjske površine je 10, teksturu 20, izgled presjeka 30, okus 25 i miris 15. Svakom od ovih svojstava oduzimani su bodovi ukoliko se primijetio neki od nedostataka navedenih na ocjenjivačkom listiću. Ukupna ocjena senzorske kvalitete proizvoda izračunata je zbrajanjem bodova svakog pojedinog svojstva. Prosječna senzorska ocjena svakog uzorka slavenskog kulena, izračunata je dijeljenjem sume ukupnih senzorskih ocjena sa brojem senzorskih analitičara.

OBRAZAC ZA OCJENJIVANJE KULENA

UZORAK – šifra: _____

Ocjenjivač – šifra: _____

| IZGLED VANJSKE POVRŠINE (max. 10 bodova) | ODUZETI BODOVI | OCJENA (10- ukupno oduzeti bodovi) |
|--|------------------------------|---|
| -jako naboran ovitak | | |
| -ovitak se odvaja od nadjeva | | |
| -mrlje i oštećenja na ovitku | | |
| -neodgovarajući ovitak ili povez za kulen | | |
| -pretjerano pljesniva ili izraženi tragovi od plijesni | | |
| -crni ovitak zbog prekomjernog dimljenja | | |
| Ukupno oduzeti bodovi: | | |
| TEKSTURA (max. 20 bodova) | ODUZETI BODOVI | OCJENA (20 – ukupno oduzeti bodovi) |
| -previše mekana, tjestasta, neelastična | | |
| -previše tvrda (presušena) | | |
| -očito odmrznuta | | |
| -drobi se, mrvi se i nije pogodno za narezivanje | | |
| -tvrđi rub, sredina mekana | | |
| -druga odstupanja (npr. pretjerano gumenasta | | |
| Ukupno oduzeti bodovi: | | |
| IZGLED PRESJEKA (max. 30 bodova) | ODUZETI BODOVI | OCJENA (25 – ukupno oduzeti bodovi) |
| -izražen tamni rub, sredina ima svojstvenu boju | | |
| -izražen tamni rub, sredina ima boju sirovog nadjeva | | |
| -nesvojstvena boja nadjeva | | |
| -komadići mesa i slanine nisu ravnomjerno raspoređeni | | |
| -pretjerano uočljivo masno tkivo | | |
| -pretjerano uočljivo vezivno tkivo | | |
| -pukotine i šupljine | | |
| - druga odstupanja od uobičajenog izgleda presjeka | | |
| Ukupno oduzeti bodovi: | | |
| OKUS (max. 25 bodova) | ODUZETI BODOVI | OCJENA (25 – ukupno oduzeti bodovi) |
| - previše kisela | | |
| -izražena užglost | | |
| -goraka | | |
| -po plijesni | | |
| -jednostrano prezačinjena | | |
| -nedovoljno začinjena | | |
| -nema svojstven okus | | |
| -druga odstupanja od svojstvenog okusa | | |
| Ukupno oduzeti bodovi | | |
| MIRIS (max. 15 bodova) | ODUZETI BODOVI | OCJENA (55 – ukupno oduzeti bodovi) |
| -po užglosti | | |
| -po plijesni | | |
| -na kvarenje | | |
| -druga odstupanja | | |
| Ukupno oduzeti bodovi: | | |
| UKUPNA OCJENA (max. 100 bodova) | UKUPNO ODUZETI BODOVI | UKUPNAN BROJ BODOVA |

4. REZULTATI

4.1. REZULTATI MJERENJA I ANALIZA

Rezultati istraživanja, odnosno provedbe eksperimentalnog dijela diplomskog rada:

1. Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava slanine (**Tablica 8**)
2. Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava mesa (**Tablica 8**)
3. Određivanje mikrobioloških svojstava sirovog nadjeva (**Tablica 9, Tablica 10**)
4. Određivanje fizikalno-kemijskih svojstava sirovog nadjeva (**Tablica 11, Tablica 12**)
5. Mjerenje pH vrijednosti mesa i slanine (**Tablica 8**)
6. Kontinuirano mjerenje pH vrijednosti kulena svaka 24 sata tijekom procesa fermentacije (**Tablica 13, 14, 15, 16, 17 ; Slika 8, 9, 10, 11, 12**)
7. Rezultati fizikalno-kemijskih svojstava zrelog kulena (**Tablica 18, Tablica 19**)
8. Rezultati mikrobiološke analize zrelog kulena (**Tablica 20, Tablica 21**)
9. Određivanje senzorskih svojstava zrelog kulena (**Tablica 22, Tablica 23**)

Tablica 8 Osnovni fizikalno-kemijski sastav, a_w i pH slanine i mesa proizvodnju kulena

| Oznaka uzorka | % masti | % vode | % proteina | % kolagena | a_w | pH |
|---------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| Slanina | 74,04 ± 0,06 | 19,93 ± 0,03 | 7,32 ± 0,40 | 2,70 ± 0,13 | 0,96 ± 0,01 | 6,63 ± 0,01 |
| Meso | 9,00 ± 0,03 | 70,67 ± 0,08 | 19,85 ± 0,42 | 1,36 ± 0,49 | 0,95 ± 0,01 | 5,62 ± 0,01 |

Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Tablica 9 Rezultati mikrobiološke analize sirovog nadjeva

| PARAMETRI | KONCENTRACIJA (CFU/g) |
|---|-----------------------|
| <i>Listeria monocytogenes</i> – dokazivanje | |
| <i>Listeria monocytogenes</i> – brojenje | - |
| <i>Salmonella spp.</i> | Odsutno |
| Sulforeducirajuće klostridije | - |
| Enterobakterije | - |
| <i>Escherichia coli</i> | 5,5 x 10 ¹ |
| Aerobne mezofilne bakterije | 1,6 x 10 ⁴ |
| BMK | 1,4 x 10 ⁴ |

Tablica 10 Identificirani rodovi *Lactobacillus* i *Staphylococcus* u sirovom nadjevu

| IDENTIFICIRANI RODOVI | IDENTIFICIRANE VRSTE |
|-----------------------|--|
| <i>Lactobacillus</i> | <i>Lactobacillus sakei</i> |
| <i>Staphylococcus</i> | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus equorum</i> |

Tablica 11 Rezultati analize fizikalno-kemijskih svojstava nadjeva

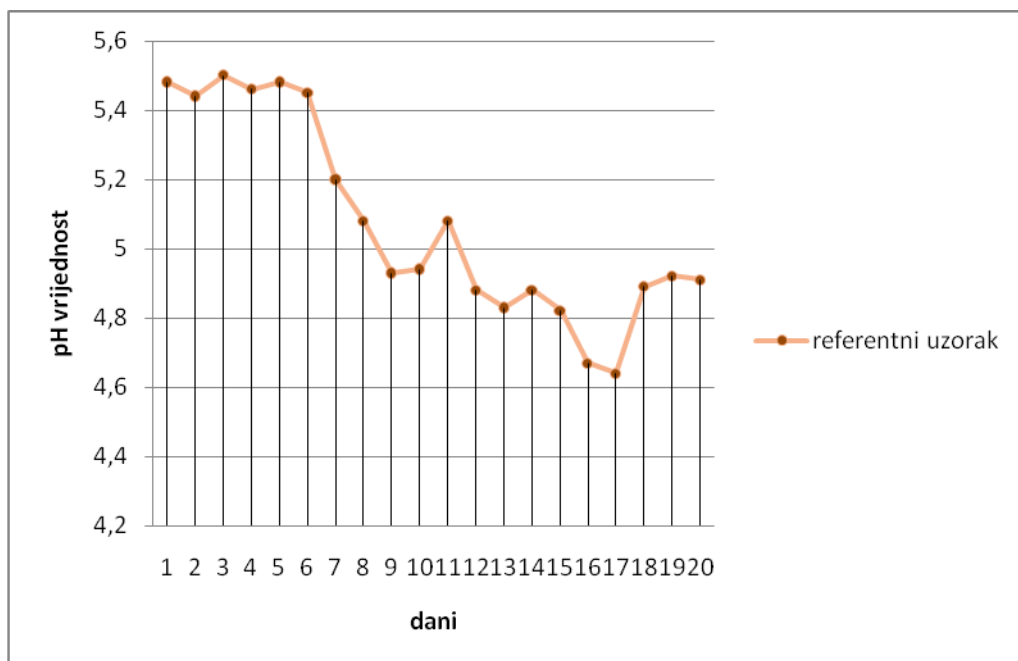
| SVOJSTVO: | Uzorak (sirovi nadjev) |
|------------------------------|------------------------|
| % masti | 12,37 |
| % vlage | 64,33 |
| % proteina | 18,18 |
| % kolagena | 1,20 |
| α_w | 0,945 |
| % NaCl | 1,98 |
| % pepela | 2,94 |
| % ugljikohidrata | 2,18 |
| Energetska vrijednost (kcal) | 192,77 |

Tablica 12 Rezultati instrumentalnog određivanja boje

| L* | a* | b* |
|-------|-------|-------|
| 55,82 | 21,66 | 35,26 |

Tablica 13 Mjerenje pH vrijednosti referentnog uzorka kulena tijekom 20 dana fermentacije pri 20 °C

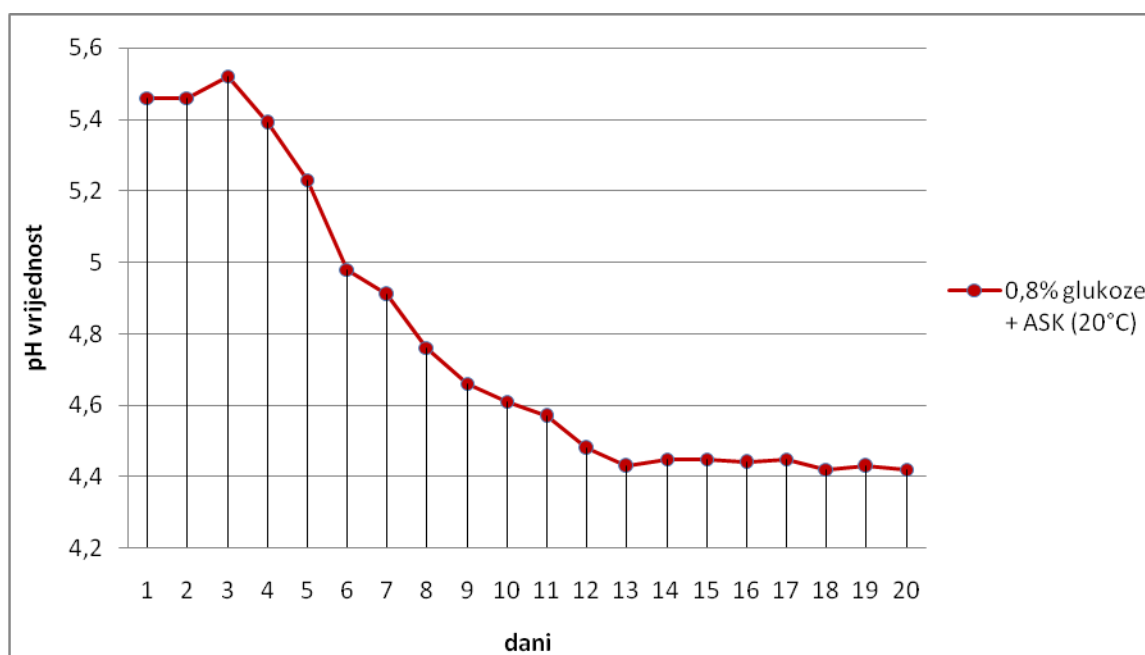
| DAN | pH vrijednost | DAN | pH vrijednost |
|-----|---------------|-----|---------------|
| 1. | 5,48 | 11. | 5,08 |
| 2. | 5,44 | 12. | 4,88 |
| 3. | 5,50 | 13. | 4,83 |
| 4. | 5,46 | 14. | 4,88 |
| 5. | 5,48 | 15. | 4,82 |
| 6. | 5,45 | 16. | 4,67 |
| 7. | 5,20 | 17. | 4,64 |
| 8. | 5,08 | 18. | 4,89 |
| 9. | 4,93 | 19. | 4,92 |
| 10. | 4,94 | 20. | 4,91 |



Slika 8 Grafički prikaz promjene pH vrijednosti referentnog uzorka kulena tijekom dvadeset dnevne fermentacije

Tablica 14 Mjerenje pH vrijednosti uzorka kulena (2) s dodatkom autohtone starter kulture i 0,8% šećera glukoze tijekom dvadeset dnevne fermentacije pri 20 °C

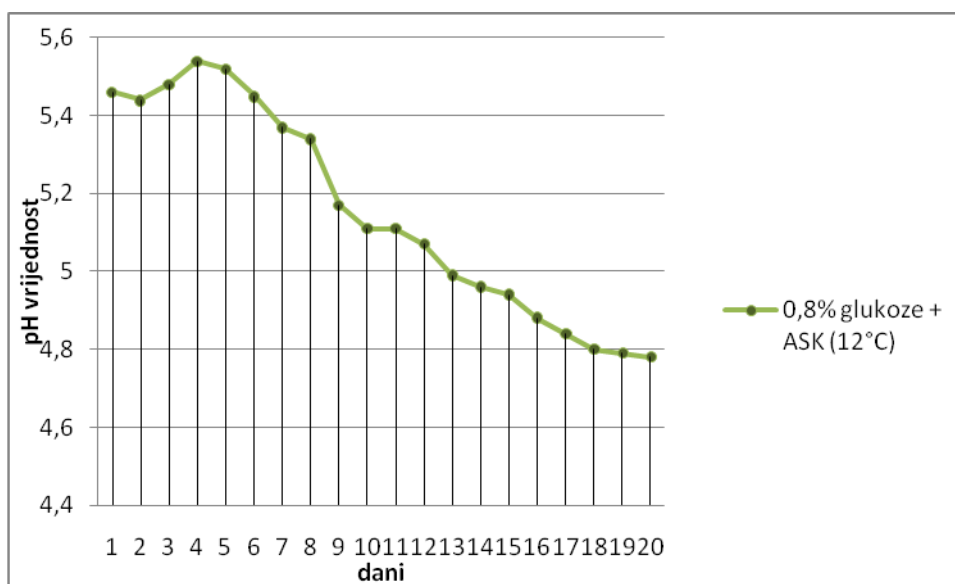
| DAN | pH vrijednost | DAN | pH vrijednost |
|-----|---------------|-----|---------------|
| 1. | 5,46 | 11. | 4,57 |
| 2. | 5,46 | 12. | 4,48 |
| 3. | 5,52 | 13. | 4,43 |
| 4. | 5,39 | 14. | 4,45 |
| 5. | 5,23 | 15. | 4,45 |
| 6. | 4,98 | 16. | 4,44 |
| 7. | 4,91 | 17. | 4,45 |
| 8. | 4,76 | 18. | 4,42 |
| 9. | 4,66 | 19. | 4,43 |
| 10. | 4,61 | 20. | 4,42 |



Slika 9 Grafički prikaz promjene pH vrijednosti tijekom dvadeset dnevne fermentacije pri 20°C kulena s dodanom ASK i 0,8% šećera glukoze

Tablica 15 Mjerenje pH vrijednosti uzorka kulena (3) s dodatkom autohtone starter kulture i 0,8% šećera glukoze tijekom dvadeset dnevne fermentacije pri 12 °C

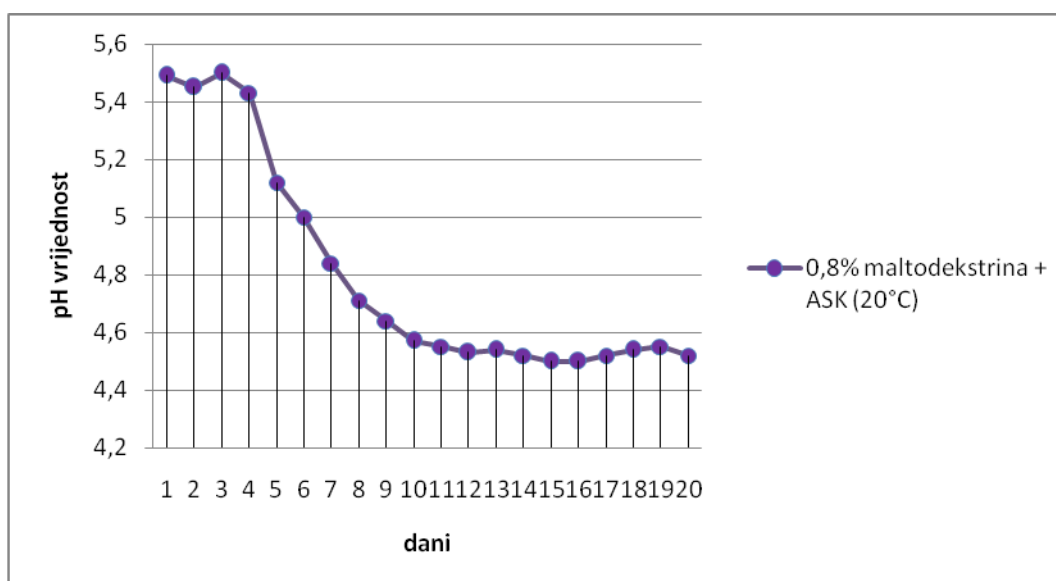
| DAN | pH vrijednost | DAN | pH vrijednost |
|-----|---------------|-----|---------------|
| 1. | 5,46 | 11. | 5,11 |
| 2. | 5,44 | 12. | 5,07 |
| 3. | 5,48 | 13. | 4,99 |
| 4. | 5,54 | 14. | 4,96 |
| 5. | 5,52 | 15. | 4,94 |
| 6. | 5,45 | 16. | 4,88 |
| 7. | 5,37 | 17. | 4,84 |
| 8. | 5,34 | 18. | 4,80 |
| 9. | 5,17 | 19. | 4,79 |
| 10. | 5,11 | 20. | 4,78 |



Slika 10 Grafički prikaz promjene pH vrijednosti tijekom dvadeset dnevne fermentacije pri 12°C kulena s dodanom ASK i 0,8% šećera glukoze

Tablica 16 Mjerenje pH vrijednosti uzorka kulena (4) s dodatkom autohtone starter kulture i 0,8% šećera maltodekstrina tijekom dvadeset dnevne fermentacije pri 20 °C

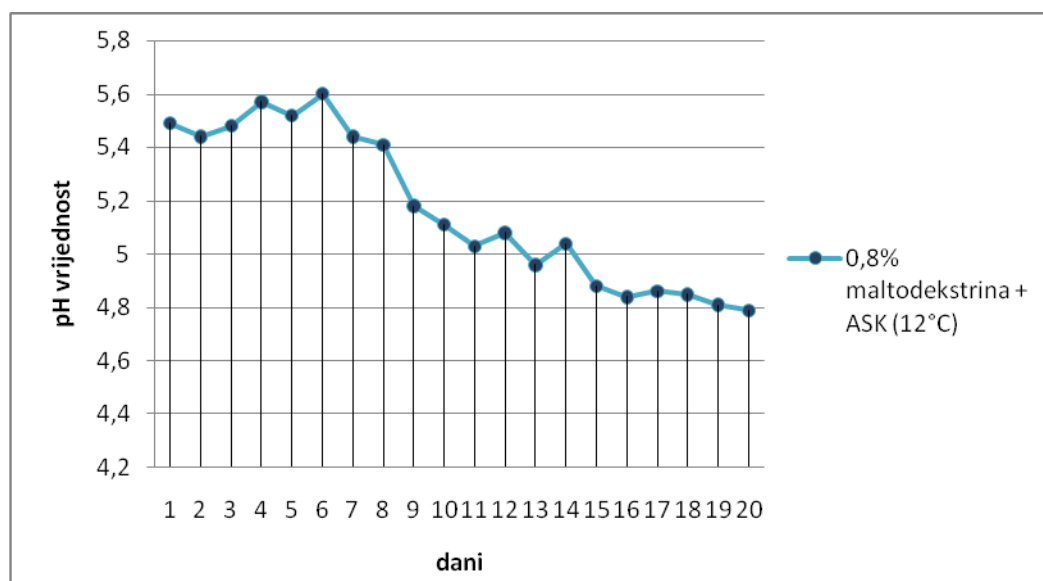
| DAN | pH vrijednost | DAN | pH vrijednost |
|-----|---------------|-----|---------------|
| 1. | 5,49 | 11. | 4,55 |
| 2. | 5,45 | 12. | 4,53 |
| 3. | 5,50 | 13. | 4,54 |
| 4. | 5,43 | 14. | 4,52 |
| 5. | 5,12 | 15. | 4,50 |
| 6. | 5,00 | 16. | 4,50 |
| 7. | 4,84 | 17. | 4,52 |
| 8. | 4,71 | 18. | 4,54 |
| 9. | 4,64 | 19. | 4,55 |
| 10. | 4,57 | 20. | 4,52 |



Slika 11 Grafički prikaz promjene pH vrijednosti tijekom dvadeset dnevne fermentacije pri 20°C kulena s dodanom ASK i 0,8% šećera maltodekstrina

Tablica 17 Mjerenje pH vrijednosti uzorka kulena (5) s dodatkom autohtone starter kulture i 0,8% šećera maltodekstrina tijekom dvadeset dnevne fermentacije pri 12 °C

| DAN | pH vrijednost | DAN | pH vrijednost |
|-----|---------------|-----|---------------|
| 1. | 5,49 | 11. | 5,03 |
| 2. | 5,44 | 12. | 5,08 |
| 3. | 5,48 | 13. | 4,96 |
| 4. | 5,57 | 14. | 5,04 |
| 5. | 5,52 | 15. | 4,88 |
| 6. | 5,60 | 16. | 4,84 |
| 7. | 5,44 | 17. | 4,86 |
| 8. | 5,41 | 18. | 4,85 |
| 9. | 5,18 | 19. | 4,81 |
| 10. | 5,11 | 20. | 4,79 |



Slika 12 Grafički prikaz promjene pH vrijednosti tijekom dvadeset dnevne fermentacije pri 12°C kulena s dodanom ASK i 0,8% šećera maltodekstrina

Tablica 18 Rezultati fizikalno-kemijske analize uzoraka Slavenskog kulena nakon 20 dana fermentacije

| SVOJSTVO | Uzorak 1 | Uzorak 2 | Uzorak 4 |
|------------------------------|----------|----------|----------|
| % masti | 17,40 | 17,05 | 16,05 |
| % vode | 54,92 | 52,64 | 55,20 |
| % proteina | 25,12 | 25,12 | 24,03 |
| % kolagena | 0,4 | 1,46 | 1,30 |
| a_w | 0,913 | 0,914 | 0,920 |
| % NaCl | 2,77 | 2,71 | 2,57 |
| % pepela | 4,24 | 3,28 | 3,38 |
| % ugljikohidrata | - | 1,37 | 0,89 |
| Energetska vrijednost (kcal) | 257,08 | 259,41 | 244,13 |

Tablica 19 Rezultati instrumentalnog određivanja boje Slavenskog kulena nakon 20 dana fermentacije

| UZORAK | | L* | a* | b* |
|----------|---------|-------|-------|-------|
| Uzorak 1 | rub | 44,26 | 18,06 | 20,06 |
| | sredina | 47,18 | 15,51 | 22,59 |
| Uzorak 2 | rub | 50,21 | 17,06 | 22,88 |
| | sredina | 50,62 | 18,34 | 23,62 |
| Uzorak 4 | rub | 49,22 | 17,48 | 22,02 |
| | sredina | 48,84 | 17,56 | 21,97 |

Tablica 20 Rezultati mikrobiološke analize uzoraka Slavenskog kulena nakon 20 dana fermentacije

| UZORAK | Uzorak 1 | Uzorak 2 | Uzorak 3 | Uzorak 4 | Uzorak 5 |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| | 20°C | 20°C | 12°C | 20°C | 12°C |
| Bakterije mliječne kiseline | $6,5 \times 10^6$ | 1×10^7 | 5×10^5 | 1×10^7 | 8×10^5 |
| Aerobne, mezofilne bakterije | 8×10^6 | $1,6 \times 10^8$ | 4×10^6 | 9×10^6 | 5×10^8 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | $4,2 \times 10^4$ | $4,5 \times 10^4$ | 9×10^4 | $1,4 \times 10^5$ | $5,2 \times 10^4$ |
| <i>Salmonella sp.</i> | - | - | - | - | - |
| Koagulaza-negativni stafilokoki | 1×10^2 | $9,6 \times 10^3$ | 1×10^2 | $1,2 \times 10^3$ | $5,1 \times 10^3$ |
| Sulfidoreducirajuće bakterije | - | - | - | - | - |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | - | - | - | - | - |

Tablica 21 Identificirani rodovi *Lactobacillus* i *Staphylococcus* u uzorcima Slavenskog kulena nakon 20 dana fermentacije

| UZORAK | IDENTIFICIRANE ROD | IDENTIFICIRANA VRSTA |
|--------------|-----------------------|---|
| Uzorak 1 | <i>Lactobacillus</i> | <i>Lactobacillus sakei</i> |
| | <i>Staphylococcus</i> | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus equorum</i> <i>Staphylococcus warneri</i> |
| Uzorak 2 i 3 | <i>Lactobacillus</i> | <i>Lactobacillus plantarum</i> |
| | <i>Staphylococcus</i> | <i>Staphylococcus curvatus</i> |
| Uzorak 4 i 5 | <i>Lactobacillus</i> | <i>Lactobacillus plantarum</i> |
| | <i>Staphylococcus</i> | <i>Staphylococcus curvatus</i> |

Tablica 22 Parametri profila teksture uzoraka Slavenskog kulena nakon 20 dana fermentacije

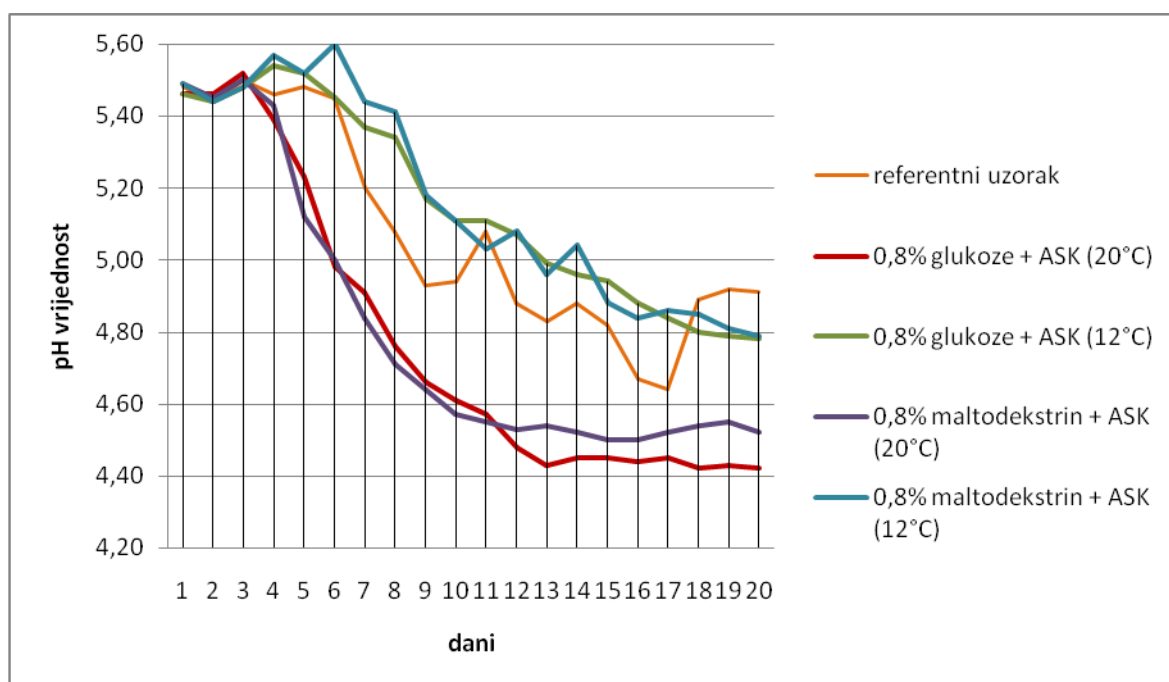
| Oznaka uzorka | Čvrstoća (kg) | Elastičnost | Kohezivnost | Otpor žvakanju (kg) |
|---------------|-------------------|-----------------|-----------------|---------------------|
| Uzorak 1 | $15,44 \pm 2,13$ | $0,62 \pm 0,08$ | $0,47 \pm 0,02$ | $4,50 \pm 2,08$ |
| Uzorak 2 | $10,28 \pm 3,20$ | $0,60 \pm 0,08$ | $0,50 \pm 0,04$ | $3,85 \pm 1,89$ |
| Uzorak 3 | $12,19 \pm 4,11$ | $0,64 \pm 0,11$ | $0,48 \pm 0,04$ | $3,74 \pm 3,34$ |
| Uzorak 4 | $13,90 \pm 4,721$ | $0,58 \pm 0,11$ | $0,52 \pm 0,06$ | $4,19 \pm 3,65$ |
| Uzorak 5 | $13,54 \pm 3,38$ | $0,57 \pm 0,15$ | $0,46 \pm 0,05$ | $3,55 \pm 3,28$ |

Prikazani podaci su srednja vrijednost \pm standardna devijacija

Tablica 23 Rezultati senzorske analize zrelih uzoraka Slavenskog kulena (test bodovanja)

| UZORAK | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------------|---|-------------|-----------|--------------|-----------|-----------|
| Ocjenjivač | 1 | 79 | 83 | 81 | 86 | 89 |
| | 2 | 71 | 88 | 88 | 91 | 91 |
| | 3 | 78 | 87 | 87 | 87 | 88 |
| | 4 | 70 | 90 | 87 | 92 | 96 |
| Ukupno: | | 298 | 348 | 343 | 356 | 364 |
| Prosječna ukupna ocjena: | | 74,5 | 87 | 85,75 | 89 | 91 |

5. RASPRAVA



Slika 13 Grafički prikaz promjene pH vrijednosti svih uzorka kulena tijekom dvadeset dnevne fermentacije

Osnovni kemijski sastav, aktivitet vode i pH vrijednost mesa i slanine koji su korišteni za pripremu nadjeva za Slavenski kulen prikazani su u tablici 8. Maseni udjeli osnovnih gradivnih tvari (vode, masti, proteina i kolagena) te vrijednosti aktiviteta vode i pH vrijednosti bili su u skladu s literaturnim podacima za svježije svinjsko meso i slaninu, (Kovačević, 2001.). pH vrijednost mesa iznosila je 5,62 što ispunjava zahtjev za meso za proizvodnju trajnih kobasica ($\text{pH} < 6$). Nakon dvadeset dana fermentacije dolazi do promjena u mesnim udjelima osnovnih gradivnih tvari, te pada pH vrijednosti i vrijednosti aktiviteta vode u svim skupinama Slavenskog kulena što je posljedica smanjenja masenog udjela vode se smanjio s početnih 64,43% za sirovi nadjev na prosječnih 55%, što je najvećim dijelom posljedica sušenja.

U **tablici 12** prikazani su parametri instrumentalno određene boja nadjeva za Slavenski kulen. Vrijednost koordinata L^* , a^* i b^* bile su slične kao u prethodnim istraživanjima (Šakić citat). U **tablici 19** prikazani rezultati instrumentalno određene boje svih skupine uzorka Slavenskog kulena fermentacije na 12 i 20°C trajanju od 20 dana. Vrijednosti parametra L^* , a^* i b^* za referentni uzorak pokazale se statistički značajne razlike u odnosu na uzorke s dodatkom ASK-a i šećera što je posljedica različite pH vrijednosti te različitog intenziteta procesa fermentacije. Kod referentnog uzorka uočene su veće razlike u parametrima boja u ruba i sredine nego kod uzorka s ASK-a i šećera. Ujednačenost

parametra L^* bila je najizraženija kod uzorka 2 i kreće se u vrijednosti 50,21 – 50,62. Kod uzorka 4 rub je nešto tamniji od sredine. Različite temperature fermentacije nisu utjecale na parametre instrumentalno određene boje (**Tablica 19**).

Mikrobiološkom analizom sirovog nadjeva utvrđena je prisutnost bakterija mliječno kiselog vrenja (BMK) i aerobnih mezofilnih bakterija (**Tablica 9**). Daljnjom identifikacijom bakterija mliječno kiselog vrenja identificirani su rodovi *Lactobacillus* i *Staphylococcus*, vrsta *Lactobacillus sakei* te rodovi *Staphylococcus saprophyticus* i *equorum* (**Tablica 10**). U **Tablici 20** prikazani su rezultati mikrobiološke analize uzoraka Slavenskog kulena nakon procesa fermentacije na 12 °C i 20 °C. Slično kao i kod nadjeva utvrđena je prisutnost bakterija mliječne kiseline, aerobnih mezofilnih bakterija, *Enterobacteriaceae* i koagulaza-negativni stafilokokoka. U uzorku Slavenskog kulena bez dodatka šećera i ASK-a od potvrđen je isto kao i u nadjevu *Lactobacillus sakei* te *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus equorum* *Staphylococcus warneri* dok je u svim uzorcima s dodatkom ASK identificiran *Lactobacillus plantarum* i *Staphylococcus curvatus*. Navedeno je posljedica sastava autohtone starter kulture koja se upravo sastoji od *Lactobacillus plantarum*. Broj BMK bio je veći u uzorcima s dodatkom ASK-a. Najveću koncentraciju BMK-a od 1×10^7 imao je uzorak Slavenskog kulena s dodatkom ASK-a i 0,8% glukoze što se može povezati s najnižom pH vrijednosti (4,42) ovog uzorka nakon dvadesetodnevne fermentacije. U svim uzorcima koji su fermentirali na 12 °C uočena je manja koncentracija BMK-a nego kod uzoraka koji su fermentirali pri temperaturi od 20 °C, što upućuje na presudan utjecaj temperature na razvoj BMK tijekom fermentacije. Također, uzorci s dodatkom šećera imali su veći broj bakterija mliječno kiselog vrenja (**Tablica 20**).

Mjerenja pH vrijednosti izvršena tijekom dvadeset dnevne fermentacije na različitim temperaturama (12 i 20 °C) i dodatkom različitih šećera prikazane su u **Tablicama 13 do 16**. Referentni uzorak je fermentirao pri temperaturi od 20 °C. U **Tablici 13** prikazane su pH vrijednosti, tijekom dvadesetodnevne fermentacije pri temperaturi od 20 °C referentnog uzorka Slavenskog kulena. pH vrijednosti pada sa početnih 5,48 do 4,91. Uzorak 2 sa dodatkom ASK-a i 0,8% glukoze pri 20 °C imao najveći pad pH vrijednosti sa 5,49 na 4,42 (**Tablica 14**). Uzorak 3 sa dodatkom ASK-a i 0,8% glukoze ali temperaturom fermentacije od 12 °C pokazao je pad pH vrijednosti sa 5,46 na 4,78 (**Tablica 15**). U **Tablici 16** prikazani su rezultati mjerenja za uzorak 4 kojemu je uz ASK dodano i 0,8% maltodekstrina. pH vrijednost uzorka 4 pri temperaturi fermentacije od 20 °C pada sa 5,49 na 4,52, a uzorku 5 istog sastava,

koji je fermentirao na 12 °C sa 5,49 na 4,79 (**Tablica 17**). Najveći pad pH vrijednosti pokazao je uzorak s dodatkom ASK-a i šećera glukoze pri temperatura od 20°C, , što je u skladu s mikrobiološkom analizom pošto je ovaj uzorak imao najvišu koncentraciju BMK (**Slika 13**).

Parametri profila teksture uzoraka Slavenskog kulena nakon završenog procesa proizvodnje prikazani su u **Tablici 22**. Rezultati određivanja čvrstoće pokazali su kako je referentni uzorak najčvršći dok su manju čvrstoću pokazali uzorci sa dodatkom ASK-a i 0,8% glukoze i maltodekstrina. Ovakvi rezultati u skladu su s ranije obavljenim istraživanjima na sličnim uzorcima (Kovačević i sur. 2010.). Rezultati određivanja elastičnosti pokazuju maju elastičnost kod uzoraka s ASK-a i 0,8% maltodekstrina koja iznosi 0,57 i 0,58. Prosječna kohezivnost kreće se između 0,50 za referentni uzorak preko 0,52 do 0,58 za uzorke s dodatkom ASK-a i 0,8% šećera i maltodekstrina. Rezultati mjerenja otpora žvakanju pokazuju najveći otpor kod referentnog uzorka dok uzorci s dodatkom autohtone bakterijske starter kulture imaju manji otpor žvakanju. Različite temperature fermentacije nisu utjecaje na parametre profila teksture.

Rezultati senzorske analize testom bodovanja uzoraka Slavenskog kulena nakon završenog procesa proizvodnje (90 dana) prikazani su u **Tablici 23**. Najviše ocjene dodijeljene su uzorcima s dodatkom autohtone bakterijske starter kulture i 0,8% šećera glukoze. Najvećim brojem bodova 96, ocijenjen je uzorak Slavenskog kulena s dodatkom autohtone bakterijske starter kulture i 0,8% šećera glukoze koji je fermentirao na temperaturi od 20 °C. Uzorci s dodatkom ASK-a i 0,8% maltodekstrina ocijenjeni su nešto nižim brojem bodova (90 i 87), s tim da je veći broj bodova dobio uzorak koji je fermentirao pri 20°C. To su uzorci s dodatkom autohtone bakterijske starter kulture i 0,8% šećera maltodekstrina. S najnižim brojem bodova 74,5, ocijenjen je referentni uzorak bez dodatka ASK-a i šećera.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, možemo zaključiti:

1. Dodatak autohtone starter kulture i različitih šećera u nadjev za proizvodnju Slavenskog kulena te povišenje temperature fermentacije na 20°C uzrokovali su veći pad pH vrijednosti u odnosu na vrijednosti pH u uzorcima Slavenskog kulena u koji nije dodana autohtona starter kultura što je posljedica veće početne koncentracije bakterija mliječne kiseline, intenzivnijeg procesa fermentacije te proizvodnje veće količine mliječne kiseline.
2. Na intenzitet fermentacije Slavenskog kulena s dodatkom autohtone starter kulture više utječe dodatak šećera glukoze nego dodatak maltodekstrina, jer pH vrijednost uzorka nakon dvadesetodnevne fermentacije pri 20 °C s dodatkom glukoze pada s početnih 5,46 do završnih 4,42, dok u uzorcima s dodatkom maltodekstrina s početnih 5,49 na 4,52.
3. Fermentacija Slavenskog kulena brže se odvija pri temperaturi od 20 °C u odnosu na 12 °C, što je rezultat činjenice da tehnološka mikroflora, odnosno bakterijske vrste koje čine autohtonu starter kulturu kulena (*Lactobacillus delbruckii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus mesenteroides*, *Staphylococcus xylosus* i *Staphylococcus warneri*) postižu optimalne uvjete rasta pri temperaturama iznad 20 °C, zbog čega se pri nižim temperaturama proces fermentacije usporava, nastaje manja količina mliječne kiseline, odnosno izmjerene su više vrijednosti pH.
4. Senzorska analiza uzoraka Slavenskog kulena pokazala je da su više senzorske ocjene, u odnosu na referentne, dobili uzorci s dodatkom autohtone bakterijske starter kulture i šećera glukoze i maltodekstrina što upućuje na zaključak da dodatak autohtone starter kulture i različitih šećera doprinosi poboljšanju fizikalno-kemijskih i senzorskih svojstava te intenziviranjem fermentacije povećava sigurnost proizvoda.

7. LITERATURA

1. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Pravilnik o mesnim proizvodima. Narodne novine 131/12, 2012.
2. Babić, I: Karakterizacija mikrobnih kultura iz autohtonoga slavenskog kulena u svrhu njihove primjene kao starter kultura. *Doktorski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2011.
3. Frece, J., Kos, B., Svetec, I. K., Zgaga, Z., Beganović, J., Leboš, A.: *Synbiotic effect of Lactobacillus helveticus M92 and prebiotics on the intestinal microflora and immune system of mice*. The Journal of Dairy Research, 2009.
4. Frece, J., Markov, K., Čvek, D., Kolarec, K., & Delaš, F.: *Comparison of conventional and molecular methods for the routine confirmation of Listeria monocytogenes in milk products produced domestically in Croatia*. The Journal of Dairy Research, 2010.
5. Karolyi D: Fizikalno-kemijska, higijenska i organoleptička karakterizacija slavenskog kulena. 2004.
6. Kovačević D: *Kemija i tehnologija mesa i ribe*. Sveučilište J.J. Strossmayera, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2001.
7. Kovačević D, Mastanjević K, Šubarić D, Jerković I, Marijanović Z: Physico-chemical, colour and textural properties of Croatian traditional dry sausage (Slavonian Kulen). *Meso* 12(5):270-275, 2010.
8. Adams MR: Fermented fresh foods. U *Progress in Industrial Microbiology*. Elsevier, Amsterdam, 159-198, 1986.
9. Roca M, Incze K: Fermented sausages. *Food Reviews International* 6:91-118, 1990.
10. Casaburi A, Aristoy MC, Cavella S, Di Monaco R, Ercolini D, Toldrá F, Villani F: Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science* 76:295-307, 2007.
11. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Zakon o zaštićenim oznakama izvornosti, zaštićenim oznakama zemljopisnog podrijetla i zajamčeno tradicionalnim specijalitetima poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda. Narodne novine 80/13, 2013.
12. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Zakon o hrani. Narodne novine 14/12, 2012.

13. Babić I, Markov K, Kovačević D, Trontel A, Slavica A, Đugum J, Čvek D, Svetec IK, Posavec S, Frece J: Identification and characterization of potential autochthonous starter cultures from a Croatian „brand“ product „Slavonski kulen“. *Meat Science*, 2011.
14. Ockerman HW, Basu L: *U Handbook of fermented meat and poultry*, prvo izdanje. Blackwell, Iowa, USA, 2007.
15. Stahnke LH, Tjener K: Influence of processing parameters on cultures performance. *U Handbook of fermented meat and poultry*, Blackwell, Iowa, USA, 2007.
16. Olesen PT, Meyer AS, Stahnke LH: Generation of flavour compounds in fermented sausages the influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time. *Meat Science*, 2004.
17. Gou HL, Chen MT, Liu DC: Biochemical characteristics of *Micrococcus varians* and *Staphylococcus xylosus* and their growth on Chinese-style beaker sausages. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2000.
18. Leroy F, De Vuyst L: Simulation of the effect of sausage ingredients and technology on the functionality of the bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* CTC 494 strain. *International Journal of Food Microbiology*, 2005.
19. Talon R, Leroy-Sétrin S: Latest development in meat bacterial starters. U *Advanced Technologies for Meat Processing*. Chapter 16, CRC Press, New York, 401-418, 2006.
20. Šakić I: Utjecaj dodataka različitih šećera na proces fermentacije Slavonskog kulena, 2014