

Utjecaj temperature i vremena pasterizacije na parametre kvalitete dagnji (*Mytilus galloprovincialis*)

Zalović, Patricia

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:226:598529>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of University Department of Marine Studies](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



**SVEUČILIŠTE U SPLITU
SVEUČILIŠNI ODJEL ZA STUDIJE MORA
DIPLOMSKI STUDIJ MORSKO RIBARSTVO**

Patricia Zalović

**UTJECAJ TEMPERATURE I VREMENA
PASTERIZACIJE NA PARAMETRE KVALITETE
DAGNJI (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*)**

Diplomski rad

Split, rujan 2023.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
SVEUČILIŠNI ODJEL ZA STUDIJE MORA
DIPLOMSKI STUDIJ MORSKO RIBARSTVO

UTJECAJ TEMPERATURE I VREMENA
PASTERIZACIJE NA PARAMETRE KVALITETE
DAGNJI (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*)

Diplomski rad

Predmet: Očuvanje i prerada proizvoda mora I

Mentor:

Prof. dr. sc. Vida Šimat

Student:

Patricia Zalović

Split, rujan 2023.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Vidi Šimat na ukazanom povjerenju, pruženim savjetima, uputama i pomoći kojima je olakšala izradu ovoga diplomskog rada.

Veliko hvala dr. sc. Martini Čagalj na stručnoj pomoći, svim savjetima i uputama prilikom provedbe laboratorijskog dijela diplomskog rada te na strpljenju i podršci tijekom samog pisanja rada.

Najveću zahvalu želim iskazati svojoj obitelji i prijateljima na pruženoj ljubavi, potpori i razumijevanju tijekom mog cjelokupnog obrazovanja.

Diplomski rad je izrađen u sklopu projekta "INNODAGNJA - Inovativni, ekološki pristup uzgoju dagnje na konopima od recikliranih materijala uz eDNA barkodiranje i pasterizaciju konzumnih školjki s ciljem podizanja kvalitete i vrijednosti finalnog proizvoda te zaštita okoliša" financiranog od strane Ministarstva poljoprivrede RH (Uprava za ribarstvo - potpora u akvakulturi u okviru mjere II.1. Inovacije (NN17/21)) te Europskog fonda za pomorstvo i ribarstvo – EFPR pod vodstvom mentorice prof. dr. sc. Vide Šimat.

Sveučilište u Splitu
Sveučilišni odjel za studije mora
Diplomski studij Morsko ribarstvo

Diplomski rad

**UTJECAJ TEMPERATURE I VREMENA PASTERIZACIJE NA PARAMETRE
KVALITETE DAGNJI (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*)**

Patricia Zalović

Sažetak

Ubrzan način života i sve veća potražnja kupaca za svježim školjkašima, kako u priobalnim tako i u kontinentalnim dijelovima zemlje, potaknuli su ideju za osmišljanjem novog načina njihovog konzerviranja kojim bi se očuvala njihova svježina i kvaliteta te produžio rok trajanja. Ovaj rad istražuje utjecaj temperature i vremena pasterizacije na parametre kvalitete pasteriziranih dagnji (*Mytilus galloprovincialis*) pakiranih u vakuumu tijekom pohrane na 4 °C. Nakon preliminarnog istraživanja, cijele dagnje pasterizirane su *sous vide* metodom tijekom 5 minuta na 80 °C i na 90 °C. Pasterizacija je djelovala baktericidno na enterobakterije i bakterije roda *Pseudomonas*, međutim zabilježen je rast bakterija *Bacillus spp.* koje su s mikrobiološke strane uzrokovale kvarenje uzoraka. Nutritivna analiza i pH vrijednost dali su zadovoljavajuće rezultate dok su rezultati tiobarbiturnog testa ispod granice od 7 µM malondialdehida (MA)/g uzorka što ukazuje da tijekom termičkog tretiranja u vakuumu lipidna oksidacija nije izražena.

(33 stranice, 23 slike, 2 tablice, 25 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Ključne riječi: pasterizacija, *sous vide*, dagnja, *Bacillus spp.*, tiobarbiturni test

Mentor: Prof. dr. sc. Vida Šimat

Ocjenjivači: 1. Prof. dr. sc. Svjetlana Krstulović Šifner
2. Prof. dr. sc. Vida Šimat
3. Doc. dr. sc. Marin Ordulj

University of Split
Department of Marine Studies
Graduate study Marine Fishery

MSc Thesis

**INFLUENCE OF TEMPERATURE AND PASTEURIZATION TIME ON QUALITY
PARAMETERS OF MUSSELS (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*)**

Patricia Zalović

Abstract

The modern lifestyle and increasing customer demand for fresh shellfish, both in the coastal and continental parts of the country, prompted the idea to design a new packaging method that would preserve their freshness and quality and extend the shelf life. This thesis studied the effect of pasteurization temperature and time on the quality parameters of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) packed in vacuum during storage at 4 °C. After preliminary testing, whole mussels were pasteurized using *sous vide* method for 5 minutes at 80 °C and at 90 °C. Pasteurization had bactericidal effect on enterobacteria and *Pseudomonas*, however, the growth of *Bacillus* spp. was recorded in the samples indicating them as specific spoilage microbials of the samples. Nutritional analysis and pH value gave satisfactory results, while the results of the thiobarbiturate test were below the limit of 7 µM malondialdehyde (MA)/g sample, which indicates that during thermal treatment in a vacuum, lipid oxidation was not recorded.

(33 pages, 23 figures, 2 tables, 25 references, original language: Croatian)

Key words: pasteurization, *sous vide*, mussel, *Bacillus* spp., thiobarbiturate test

Supervisor: Vida Šimat, PhD, Full Professor

Reviewers:

1. Svjetlana Krstulović Šifner, PhD / Full Professor
2. Vida Šimat, PhD / Full Professor
3. Marin Ordulj, PhD / Assistant Professor

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
1.1. Općenito o dagnji	1
1.2. Pasterizacija.....	2
1.3. Dosadašnja istraživanja	4
1.4. Svrha i ciljevi rada.....	5
2. MATERIJALI I METODE.....	7
2.1. Određivanje parametara pasterizacije	7
2.2. Određivanje parametara kakvoće dagnje	9
2.2.1. Određivanje ukupnih mezofilnih i psihofilnih bakterija, enterobakterija i bakterija roda <i>Pseudomonas</i>	9
2.2.2. Tiobarbiturni test.....	13
2.2.3. Određivanje pH vrijednosti.....	16
2.2.4. Analiza prehrambene vrijednosti	16
3. REZULTATI	18
3.1. Utjecaj temperature i vremena pasterizacije na mikrobiološku ispravnost dagnji.....	18
3.2. Utjecaj temperature i vremena pasterizacije na biokemijsku ispravnost i nutritivni profil dagnji	22
4. RASPRAVA.....	26
5. ZAKLJUČCI	30
6. LITERATURA	31

1. UVOD

Uzimajući u obzir geografski položaj Republike Hrvatske, kulinarsku tradiciju Hrvata te blizinu Jadranskog mora nije iznenađujuće da gastronomska ponuda obuhvaća različite vrste školjkaša. Školjkaši su beskralježnjaci iz razreda mekušaca, čije se tijelo nalazi između dviju vapnenastih ljuštura (školjki). Njihovo meso je izrazito bogato nutrijentima i mineralima, međutim njihov rok trajanja, ako nisu propisno tretirani (održavanje hladnog lanca pri transportu i za vrijeme skladištenja), relativno je kratak (Bongiorno, 2018). S obzirom da potražnja kupaca za svježim školjkašima iz dana u dan sve više raste javlja se potreba za osmišljanjem novog načina konzerviranja i pakiranja kojim bi se očuvala njihova svježina i kvaliteta te produžila dostupnost na tržištu.

1.1. Općenito o dagnji

Meditranska dagnja (*Mytilus galloprovincialis*) (Slika 1) vrsta je školjkaša koja pripada porodici Mytilidae. Rasprostranjena je duž atlantske obale Francuske, Portugala i Britanskog otočja te u Mediteranu i Crnom moru. Obitava na svim obalama s tvrdim supstratima, od mediolitorala do dubine od 40 m, a za rast joj najviše odgovaraju područja boćatih voda sa stalnim blagim strujanjem. Unutrašnji dio ljušture joj je sedefast dok je vanjski dio tamno plave do crne boje te vrlo često prekriven obraštajem. Uobičajena veličina dagnje je od 5 do 8 cm, no može narasti i do 15 cm (Krstulović Šifner, 2020). Prema Naredbi o zaštiti riba i drugih morskih organizama, dagnje koje su manje od 5 cm ne smiju se loviti, sakupljati niti stavljati u promet (NN 63/10). Rastu u grozdovima, a osim što mogu biti samonikle, mogu se i uzgajati. Sam proces uzgoja započinje prihvaćanjem mlađi na kolektore gdje rastu i razvijaju se sljedećih šest mjeseci. Nakon toga dolazi do njihovog presađivanja na pergolare, plastične mrežaste cijevi, gdje ostaju dok ne dosegnu konzumnu veličinu (Anonimus, 2010). Mriješte se dva puta godišnje, u ožujku i u listopadu, a svaka dagnja tijekom mriješta ispusti od 5 do 25 milijuna jajašaca (Mašić, 2004). Najveća uzgajališta dagnji u Hrvatskoj nalaze se u Novigradskom moru, Malostonskom, Šibenskom i Pulskom zaljevu, a ima ih i u okolici Zadra, Splita te u Lirskom zaljevu (Zelić, 2015).



Slika 1. Mediteranska dagnja (*Mytilus galloprovincialis*) (izvor: https://fish-commercial-names.ec.europa.eu/fish-names/species_hr?sn=23930).

1.2. Pasterizacija

Pasterizacija je proces konzerviranja hrane upotrebom temperatura do 100 °C, kojima se u središtu proizvoda postižu temperature od 60 do 80 °C. Koristi se za konzerviranje kiselih proizvoda (pH < 4,5) čije kvarenje izazivaju kvasci, plijesni i nesporogene bakterije te kojima je dovoljno termičko tretiranje nižim temperaturama (do 100 °C). Procesom pasterizacije uništavaju se vegetativni oblici mikroorganizama i povećava se biološka stabilnost proizvoda ne mijenjajući pritom njegov kemijski sastav i senzorska svojstva. Koristi se u kombinaciji s hlađenjem (šokiranjem) te pakiranjem u hermetičku ambalažu (Lovrić, 2003). Pasterizacija *sous vide* metodom (Slika 2) je oblik pasterizacije kojim se proizvod, koji je zatvoren u vakuum vrećici, kuha na kontroliranoj temperaturi određeno vrijeme (Schellekens i Martens, 1992). Takav način obrade omogućuje očuvanje izvornih okusa, nutritivnih vrijednosti i teksture proizvoda, a osim toga sprječava njegovu kontaminaciju za vrijeme i nakon tretiranja (Ghazala i sur., 1995). Međutim, zbog niske temperature tretiranja, prije plasmana proizvoda na tržište, treba provoditi kontrolu mikroorganizama koji su preživjeli pasterizaciju (NACMCF, 1990). Kontrola se vrši standardnim mikrobiološkim metodama gdje se pripremljeni uzorci nasađuju na unaprijed pripremljene mikrobiološke podloge u triplikatima nakon čega se inkubiraju na određenoj

temperaturi. Nakon inkubacije broji se ukupan broj poraslih kolonija. Osim mikrobiološke kontrole vrši se i kontrola stupnja oksidacije proizvoda upotrebom tiobarbiturnog testa. Tiobarbiturni test temelji se na određivanju sekundarnih produkata lipidne oksidacije, odnosno služi kako bi se odredio stupanj užeglosti proizvoda. Najčešći sekundarni produkt lipidne oksidacije nezasićenih masnih kiselina je malondialdehid (MDA) koji je ujedno i pokazatelj stupnja peroksidacije. Kod tiobarbiturnog testa, u uvjetima niskog pH i visoke temperature, MDA reagira s 2-tiobarbiturnom kiselinom te nastaje ružičasto obojeni kompleks TBK-MDA čija se koncentracija određuje spektrofotometrom. Fluorescentno obojenje ima apsorpcijski maksimum kod 532 – 535 nm, a sama koncentracija MDA (intenzitet boje) proporcionalna je stupnju užeglosti uzorka. Kako bi se za vrijeme homogenizacije i filtracije uzoraka spriječila reakcija TBK s drugim spojevima, potrebno je dodati antioksidans, odnosno inhibitor oksidacije. Najčešće korišteni antioksidansi su butil hidroksianizol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), propil-gelat (PG) i etilendiamintetraoctena kiselina (EDTA) (Šimat i sur., 2009).



Slika 2. Aparatura za *sous vide* pasterizaciju (izvor: vlastita fotografija).

1.3. Dosadašnja istraživanja

Većina dosadašnjih istraživanja *sous vide* metode provedena su na kuhanim uzorcima riba te su tim uzorcima praćena kemijska i fizikalna svojstva (Croptova i sur., 2016; Oz i Seyar, 2016) ili je istraživana utjecaj tehnike na mikrobiološku ispravnost proizvoda (Bem Embarek i Huss, 1993; Berglisen, 1996). Znatno manji broj istraživanja *sous vide* metode proveden je na kuhanim uzorcima školjkaša te se njihovi rezultati međusobno značajno razlikuju. Skipnes i sur. (2002) proveli su istraživanje na plavoj dagnji (*Mytilus edulis*) tretirajući ju *sous vide* metodom na 100 °C tijekom 17, 25, 30 i 35 minuta. Tako tretirani uzorci skladišteni su na 5,5 °C tijekom 4 tjedna. Najboljom metodom očuvanja kvalitete proizvoda, pokazala se pasterizacija na 100 °C tijekom više od 25 minuta. Teoretski, takav način tretiranja daje siguran i stabilan proizvod, međutim, njihovo istraživanje pokazalo je kako uzorci, iako su tretirani relativno visokim temperaturama, nakon 21 dan skladištenja imaju izrazito visok broj aerobnih bakterija te kako takav proizvod nije prikladan za ljudsku konzumaciju. Međutim, Bongiorno i sur. (2018) u svome su istraživanju na dagnji proveli četiri eksperimentalna tretmana. Prva metoda je *sous vide* metoda (SVCC) gdje su uzorci pasterizirani na 85 °C tijekom 10 minuta i odmah potom šokirani na temperaturi od 3 °C, druga je *sous vide* metoda s dodatkom slane otopine (BSVCC) (3 % NaCl otopina) u omjeru 1:2 s obzirom na ukupnu masu dagnji te nakon toga šokiranje na 3 °C. Treća metoda je metoda kuhanja i šokiranja, ali bez pakiranja u vakuumu (CC), a četvrta je metoda tradicionalnog kuhanja i hlađenja (CMC) gdje su dagnje kuhane u posudi na 90 °C tijekom 10 minuta nakon čega su stavljene u vakuum vrećice te šokirane. Kontrolni uzorak u ovom istraživanju su sirove jedinke koje su kao i tretirani uzorci čuvane na 3 °C. Analiza je provođena 1., 7., 14., 21., 30. i 50. dan skladištenja. U istraživanju je praćen rast mezofilnih bakterija, bakterija mliječne kiseline, enterobakterija, *Clostridia* i *Pseudomonas*. Ukupan broj mezofila u kontrolnim (sirovim) uzorcima iznosio je $2,2 \pm 0,33$ log CFU/g. Eksperimentalni tretmani nisu znatno utjecali na rast mezofila sve do 21 dana skladištenja ($p > 0,05$) i njihova srednja vrijednost ostala je ispod brojive razine tijekom prvih 7 dana. Prihvatljiva razina mezofila za ljudsku upotrebu je 5 log CFU/g (Huss, 1995). SVCC i BSVCC tretirani uzorci cijeli eksperiment su zadovoljavali taj kriterij, dok su se CMC i CC za 50 dana skladištenja jako približili toj brojci (4,2 log i 4,5 log CFU/g). Ukupan broj bakterija mliječne kiseline u kontrolnim uzorcima iznosio je $2,00 \pm 0,09$ log CFU/g. Što se tiče tretiranih uzoraka kod svih uzoraka tijekom cijelog eksperimenta njihov ukupni broj je ispod razine

brojivosti osim kod CMC uzoraka gdje se nakon 21 dan povećava njihov broj ($2,4 \pm 0,00$ log CFU/g). Navedeni rezultati ukazuju kako je kuhanje pri temperaturi $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ reduciralo ovu grupu bakterija. Bakterija roda *Pseudomonas* u kontrolnim uzorcima bilo je $5,32 \pm 0,21$ log CFU/g, no nakon tretmana uvijek ih je bilo ispod razine brojivosti. Pojavljuju se samo kod CMC nakon 30 dana ($4,36 \pm 0,1$ log CFU/g). Što se tiče enterobakterija i *Clostridia*, njihova prisutnost zabilježena je u kontrolnim uzorcima ($2,00 \pm 0,23$ log CFU/g i $2,00 \pm 0,17$ log CFU/g), no nakon tretmana u svim uzorcima njihov ukupan broj je ispod razine brojivosti. Ovo istraživanje pokazalo je da je *sous vide* metoda uspjela očuvati kvalitetu proizvoda te mu produljiti rok trajanja na 21 dan. Tosun i sur. (2018) su u svome istraživanju meso dagnje vakuumirano sa sokom limuna, jabučnim octom, fino sjeckanim lukom i crnim paprom pasterizirali na $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom 8 minuta. Tako tretirane uzorke skladištili su na $4 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Eksperiment je trajao 21 dan, a analize su provedene 0., 6., 9., 12., 15., 18. i 21. dan. Tijekom istraživanja praćen je rast mezofilnih i psihofilnih bakterija, ukupnih koliformnih bakterija te bakterije *Escherichia coli*. Ukupan broj mezofila u kontrolnim uzorcima iznosio je $5,59 \pm 0,02$ log CFU/g, a nakon pasterizacije taj broj se smanjio na $3,15 \pm 0,10$ log CFU/g. Svoj maksimum mezofili su postigli 9 dan skladištenja kada je njihov ukupan broj iznosio $3,66 \pm 0,05$ log CFU/g. Ukupan broj psihofilnih bakterija u kontrolnim uzorcima iznosio je $6,18 \pm 0,11$ log CFU/g. On se također nakon pasterizacije smanjio i to na $4,11 \pm 0,01$ log CFU/g. Što se tiče ukupnih koliformnih bakterija i *E. coli* njihova razina kod kontrolnih uzoraka iznosila je $5,28 \pm 0,07$ log i $2,23 \pm 0,33$ log CFU/g. Pasterizacijom su one eliminirane te tijekom cijelog eksperimenta njihov ukupan broj je bio ispod razine brojivosti. S obzirom na dobivene rezultate, Tosun i sur. (2018) smatraju kako pasterizirane dagnje čuvane na rashladnoj temperaturi od $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ mogu trajati samo 9 dana, nakon čega nastupa proces kvarenja.

Nakon pregleda literature ostaje nejasno je li ova metoda prikladna za pasterizaciju dagnji te koliki je stvarni rok trajanja školjkaša pasteriziranih *sous vide* metodom.

1.4. Svrha i ciljevi rada

Kako bi se pristupačnost školjkaša omogućila široj populaciji diljem Republike Hrvatske i unutar kontinenta, a ne samo obalnim i priobalnim područjima potrebno je istražiti nove metode konzerviranja koje daju siguran proizvod, ali u isto vrijeme čuvaju prehrambenu vrijednost istog.

Svrha ovog diplomskog rada bila je istražiti utjecaj temperature i vremena pasterizacije na parametre kakvoće cijelih dagnji pakiranih u vakuumu tijekom pohrane na 4 °C.

Ciljevi rada bili su utvrditi mikrobiološku ispravnost proizvoda, prehrambenu vrijednost, oksidacijsku stabilnost i pH vrijednost nakon pasterizacije proizvoda i tijekom pohrane na temperaturu od 4 °C. S obzirom da dosadašnja istraživanja nisu dala konkretan odgovor može li se *sous vide* metodom produljiti rok trajanja školjkaša, cilj ovog rada bio je dati odgovor na to pitanje.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Određivanje parametara pasterizacije

Svježe dagnje, nakon što su prikupljene na uzgajalištu, očišćene su od vanjskog obraštaja, oprane i dobro posušene. Žive dagnje očišćene od obraštaja raspoređene su u vakuum vrećice. Svaka vrećica predstavlja jedan uzorak, a u svakom uzorku nalazilo se šest dagnji. Pasterizacija dagnji provedena je *sous vide* metodom u kojoj se proizvod zatvoren u vakuum vrećici, kuha u *sous vide* uređaju pri kontroliranoj temperaturi i vremenu (Schellekens i Martens, 1992). Pokus je odrađen u dva ponavljanja. U prvom pokusu preliminarno su testirane različite temperature i vrijeme pasterizacije:

1. Svježe cijele dagnje u vakuum pakiranju (kontrolni uzorak bez termičke obrade),
2. Cijela dagnja pasterizirana *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 15 minuta,
3. Cijela dagnja pasterizirana *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 10 minuta,
4. Cijela dagnja pasterizirana *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 10 minuta,
5. Cijela dagnja pasterizirana *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta.

Uzorcima su preliminarno određeni parametri kakvoće te su za drugo ponavljanje eksperimenta odabrani uvjeti pasterizacije kako slijedi:

1. Svježe cijele dagnje u vakuum pakiranju (kontrolni uzorak bez termičke obrade),
2. Cijela dagnja pasterizirana *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta,
3. Cijela dagnja pasterizirana *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta (Slika 3).



Slika 3. Pasterizacija *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta (izvor: vlastita fotografija).

Nakon pasterizacije, uzorci su šokirani u hladnoj kupelji (Slika 4) te su skladišteni na temperaturi od 4 °C, zajedno s kontrolnim uzorkom.



Slika 4. Šokiranje pasteriziranih uzoraka u hladnoj kupelji (izvor: vlastita fotografija).

2.2. Određivanje parametara kakvoće dagnje

Nultog dana i u određenim vremenskim intervalima tijekom pohrane, proizvodima su određeni broj mezofilnih i psihofilnih bakterija, broj enterobakterija i bakterija roda *Pseudomonas*, tiobarbiturni test, pH vrijednost te prehrambena vrijednost.

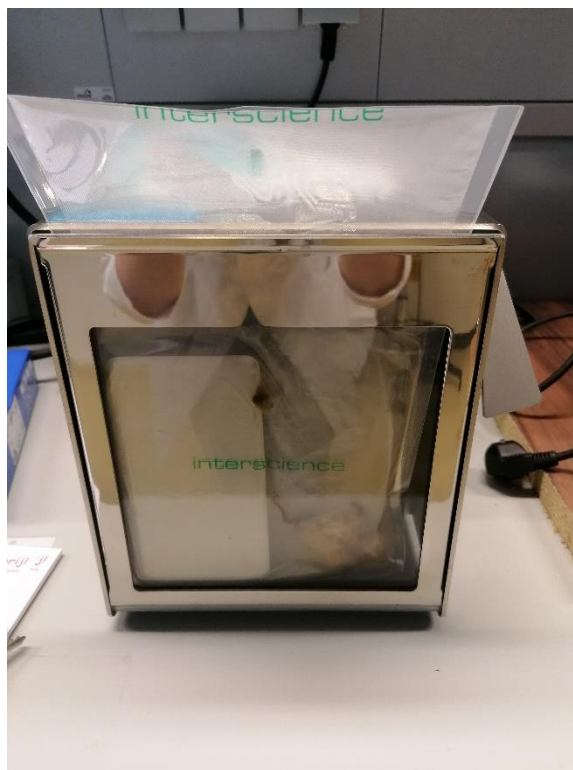
2.2.1. Određivanje ukupnih mezofilnih i psihofilnih bakterija, enterobakterija i bakterija roda *Pseudomonas*

Broj ukupnih mezofilnih i psihofilnih bakterija, enterobakterija i bakterija roda *Pseudomonas* se određivao standardnim mikrobiološkim metodama. Za pripremu decimalnih razrjeđenja uzoraka u sterilnim uvjetima je odvagano 9 grama mesa dagnji u vrećicu za

homogenizaciju (Slike 5 i 6). Uzorku je dodano 90 mL sterilnog peptona i svaki uzorak je homogeniziran pomoću uređaja za homogenizaciju tijekom 60 sekundi.

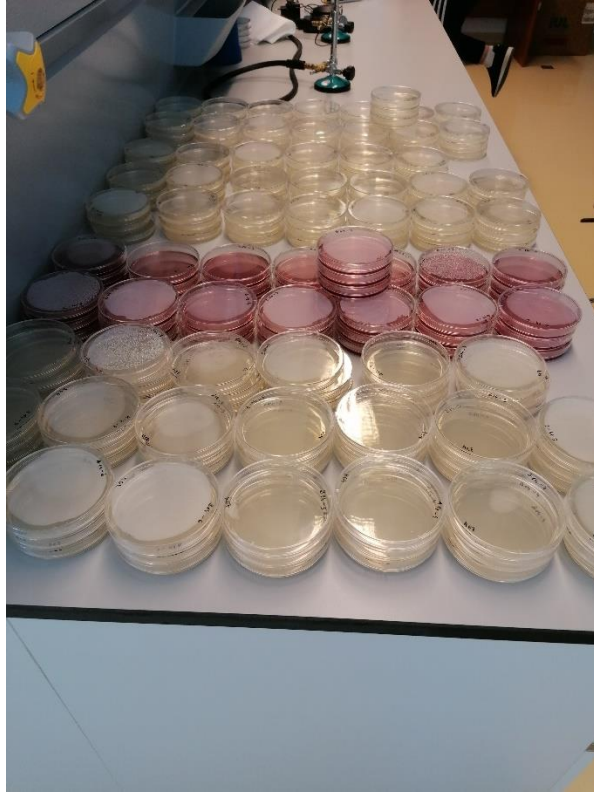


Slika 5. Vaganje uzoraka (izvor: vlastita fotografija).



Slika 6. Homogenizacija uzorka u homogenizatoru (izvor: vlastita fotografija).

Prikupljen je filtrat iz vrećice za homogenizaciju. Pripremljena su decimalna razrjeđenja homogeniziranog uzorka te se 100 μ L uzorka nasađivalo na unaprijed pripremljene mikrobiološke podloge u triplicatima (Slika 7). Za nasađivanje mezofilnih i psihofilnih bakterija koristila se hranjiva podloga PCA (engl. *plate count agar*), enterobakterija VRBG (engl. *violet red bile glucose agar*), a bakterija roda *Pseudomonas* PAB (engl. *pseudomonas agar base*) hranjiva podloga. Nakon nasađivanja podloge su inkubirane kako slijedi: 3 dana na 30 °C za mezofilne bakterije, 2 dana na 30 °C za enterobakterije, 2 dana na 25 °C za bakterije roda *Pseudomonas* i 7 dana na 7 °C za psihofilne bakterije. Sve porasle ljubičasto do crvene i ružičaste kolonije na VRBG agru definiraju se kao enterobakterije, dok se sve porasle žuto zelene (fluorescentne) kolonije na PAB agru definiraju kao bakterije roda *Pseudomonas*. Broj poraslih kolonija je određen brojačem za kolonije (Slika 8). Rezultati su izraženi kao log CFU (engl. *colony forming unit*)/g uzorka. Nativni preparat s pokrovnicom je pripremljen kako bi se ispitala morfologija stanica poraslih sumnjivih kolonija optičkim mikroskopom Olympus BX50 pri x1000 povećanju.



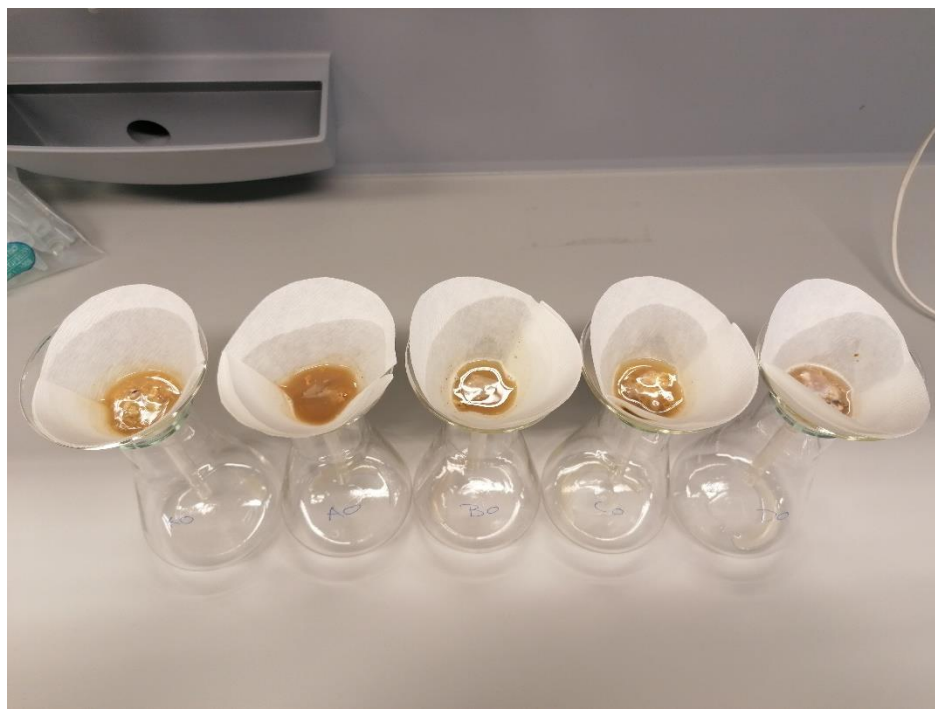
Slika 7. Mikrobiološke podloge u triplikatima (izvor: vlastita fotografija).



Slika 8. Uređaj za brojanje kolonija (izvor: vlastita fotografija).

2.2.2. Tiobarbiturni test

Tiobarbiturni test, odnosno test reaktivne tvari tiobarbiturne kiseline, koristi se za mjerenje sekundarnih produkata u ekstraktima stanica i tkiva te biološkim tekućinama. Njime se određuje stupanj oksidacije masti određenog proizvoda te se koristi kao pokazatelj kvalitete u ribljnoj industriji (Novina, 2017). Tiobarbiturni test se provodio tako što se od svakog uzorka odvagalo deset grama mesa dagnji koje se zatim, zajedno s 20 mL 7,5% otopine trikloroctene kiseline (TCA) homogeniziralo i ostavilo da odstoji 30 minuta. Dobro homogeniziran uzorak filtriran je pomoću Whatman No. 1 filter papira (Slika 9).



Slika 9. Filtriranje homogeniziranih uzoraka za tiobarbiturni test (izvor: vlastita fotografija).

Filtrati su dodatno centrifugirani kako bi se uklonile suspendirane čestice (Slika 10). U epruvete je pipetirano 5 mL svakog uzorka te je dodano 5 mL 0,02 M otopine tiobarbiturne kiseline. Uz uzorke napravljeni su i standardi (različite koncentracije otopine 1,1,3,3-tetratoksipropana (TEP)) te slijepa proba. Sve pripremljene epruvete kuhale su se u vodenoj kupelji 40 minuta na 100 °C (Slika 11.). Nakon kuhanja, epruvete su se ohladile u hladnoj vodi (Slika 12)

te se absorbanca uzoraka mjerila u triplikatu pomoću spektrofotometra na valnoj duljini od 538 nm (Slika 13).



Slika 10. Centrifugiranje uzoraka (izvor: vlastita fotografija).



Slika 11. Kuhanje uzoraka (izvor: vlastita fotografija).



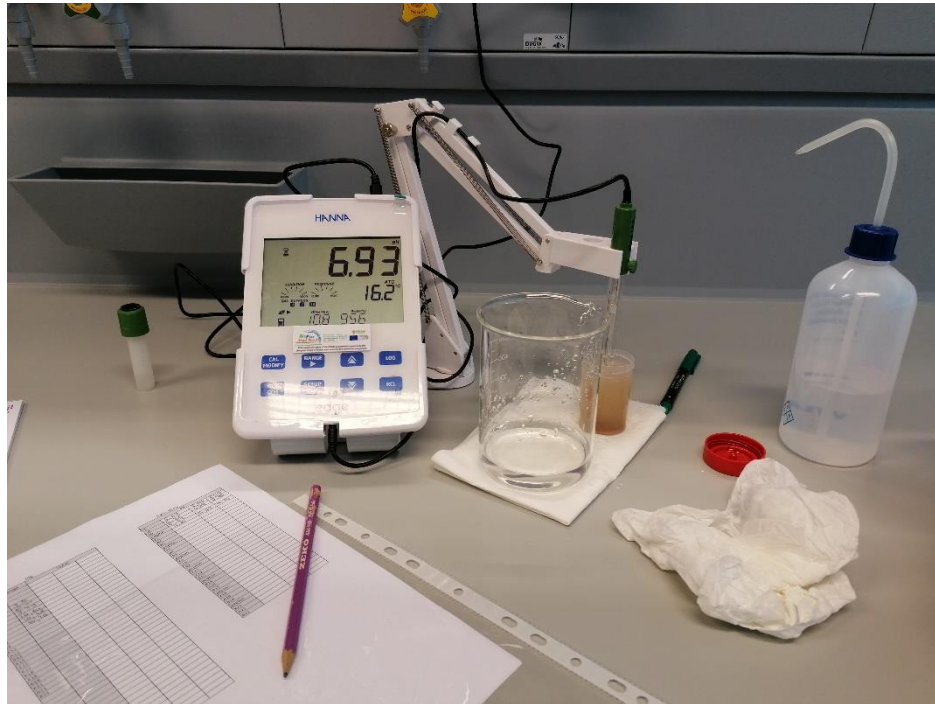
Slika 12. Hladenje uzoraka (izvor: vlastita fotografija).



Slika 13. Spektrofotometar (izvor: vlastita fotografija).

2.2.3. Određivanje pH vrijednosti

pH vrijednost se određivala digitalnim pH metrom (Slika 14). Za njeno određivanje odvagano je 10 g mesa dagnji i homogenizirano sa 100 mL destilirane vode. Svako mjerenje ponovljeno je tri puta.



Slika 14. Mjerenje pH vrijednosti (izvor: vlastita fotografija).

2.2.4. Analiza prehrambene vrijednosti

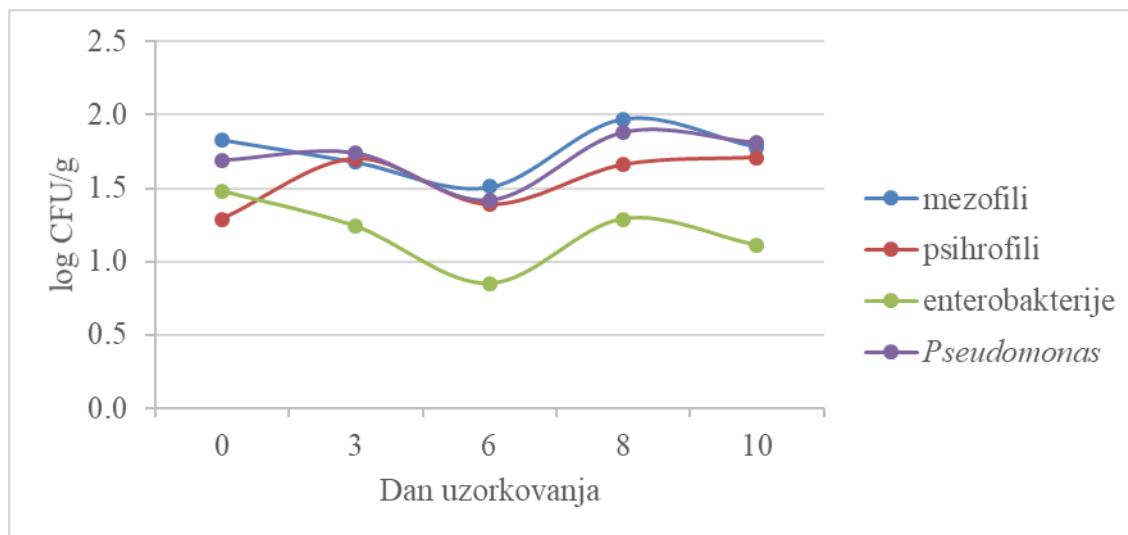
Analiza prehrambene vrijednosti uzoraka odrađena je prema standardnim AOAC metodama (AOAC, 2000) u Laboratoriju za analitičku kemiju i rezidue, Veterinarskog zavoda Split, Hrvatskog veterinarskog instituta, a provodila se nultog i desetog dana pokusa. Uzorcima su određeni udio vlage, bjelančevina, pepela, soli te masti. Meso dagnji se očistilo, opralo od svih nečistoća, dobro posušilo te homogeniziralo. Određivanje udjela soli, odnosno natrijevog klorida (NaCl) u uzorcima odrađeno je volumetrijskom metodom (AOAC, *Official Method* 937.09), udio

masti je određen AOAC 938.09 metodom, udio vode AOAC 984.25 metodom, udio pepela AOAC 945.46, a udio bjelančevina metodom AOAC 920.152.

3. REZULTATI

3.1. Utjecaj temperature i vremena pasterizacije na mikrobiološku ispravnost dagnji

U kontrolnom uzorku (nepasterizirane vakuumirane dagnje) tijekom skladištenja zabilježen je rast mezofila, psihrofila, enterobakterija te bakterija kvarenja (bakterije roda *Pseudomonas*). Na slici 15. prikazan je rast ukupnog broja svih testiranih skupina bakterija u kontrolnom uzorku. Ukupan broj mezofilnih bakterija u početku je opadao, dok je u razdoblju od šestog do osmog dana skladištenja počeo rasti. Ponovni blagi pad zabilježen je između osmog i desetog dana. Slični rezultati zabilježeni su i za rast enterobakterija. U razdoblju od nultog do šestog dana ukupan broj enterobakterija opada, ali osmi dan skladištenja zabilježen je njihov rast. Nakon toga ponovno je zabilježen blagi pad. Za razliku od ukupnih mezofilnih bakterija i enterobakterija, ukupan broj psihrofilnih bakterija u početku bilježi ubrzan rast, dok je šesti dan zabilježen pad broja bakterija. Ponovni rast zabilježen je nakon šestog dana i nastavlja se sve do kraja testnog razdoblja. Ukupan broj bakterija roda *Pseudomonas* konstantno je oscilirao. U početku je lagano rastao, u razdoblju od trećeg do šestog dana zabilježen je blagi pad, osmi dan ponovno se bilježi rast nakon kojega dolazi do novog pada deseti dan.



Slika 15. Grafički prikaz rasta ukupnog broja mezofilnih i psihrofilnih bakterija, enterobakterija te bakterija roda *Pseudomonas* u kontrolnom uzorku.

S druge strane, pasterizacija je djelovala baktericidno na enterobakterije i bakterije roda *Pseudomonas* te tijekom cijelog eksperimentalnog razdoblja nije zabilježen rast ovih bakterija u kuhanim uzorcima. Tablica 1 prikazuje ukupan broj bakterija u uzorcima koji su pasterizirani *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta, dok Tablica 2 prikazuje ukupan broj bakterija u uzorcima pasteriziranim *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta. Oznaka nb označava uzorke koji nisu bili brojivi.

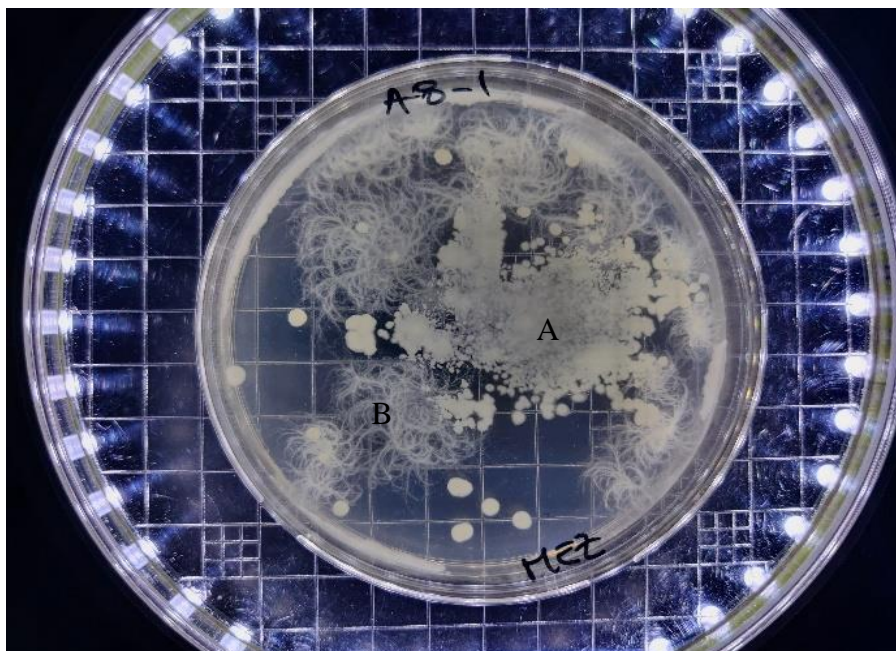
Tablica 1. Ukupan broj mezofilnih i psihrofilnih bakterija, enterobakterija i bakterija roda *Pseudomonas* u uzorcima pasteriziranim *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta (nb – nije brojivo).

	Dan skladištenja na 4 °C				
	0	3	6	8	10
Mezofili	0	0	nb	nb	2,25
Psihrofilni	0	0	0	nb	2,15
Enterobakterije	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i>	0	0	0	0	0

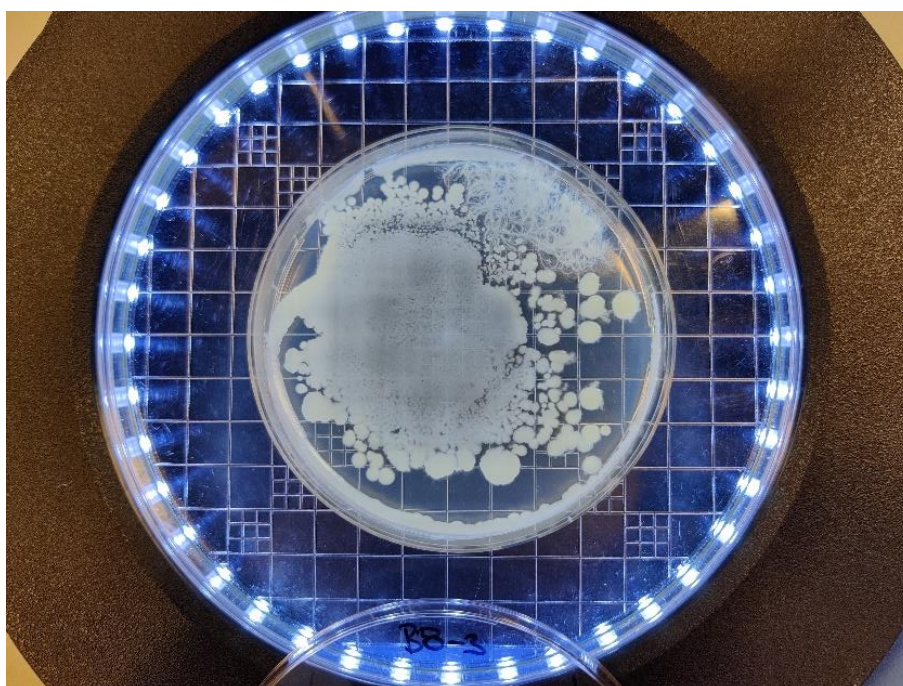
Tablica 2. Ukupan broj mezofilnih i psihrofilnih bakterija, enterobakterija i bakterija roda *Pseudomonas* u uzorcima pasteriziranim *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta (nb – nije brojivo).

	Dan skladištenja na 4 °C				
	0	3	6	8	10
Mezofili	0	nb	nb	nb	3,88
Psihrofilni	0	0	0	nb	3,55
Enterobakterije	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i>	0	0	0	0	0

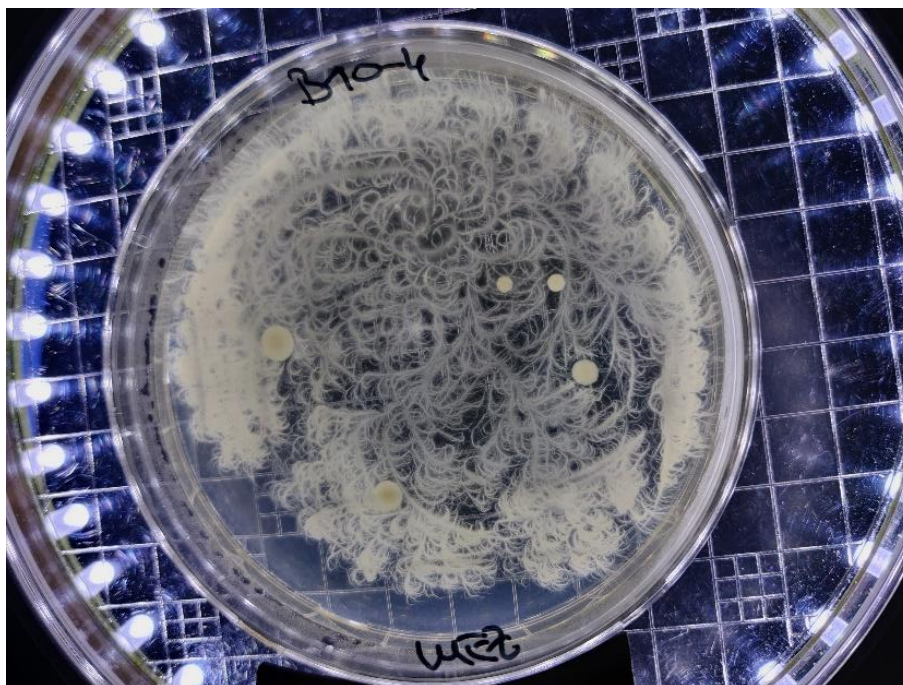
Međutim, osim bakterija roda *Pseudomonas* nakon šestog dana zabilježen je rast kolonija nalik bakterijama roda *Bacillus* koje su tipične bakterije kvarenja dagnji.



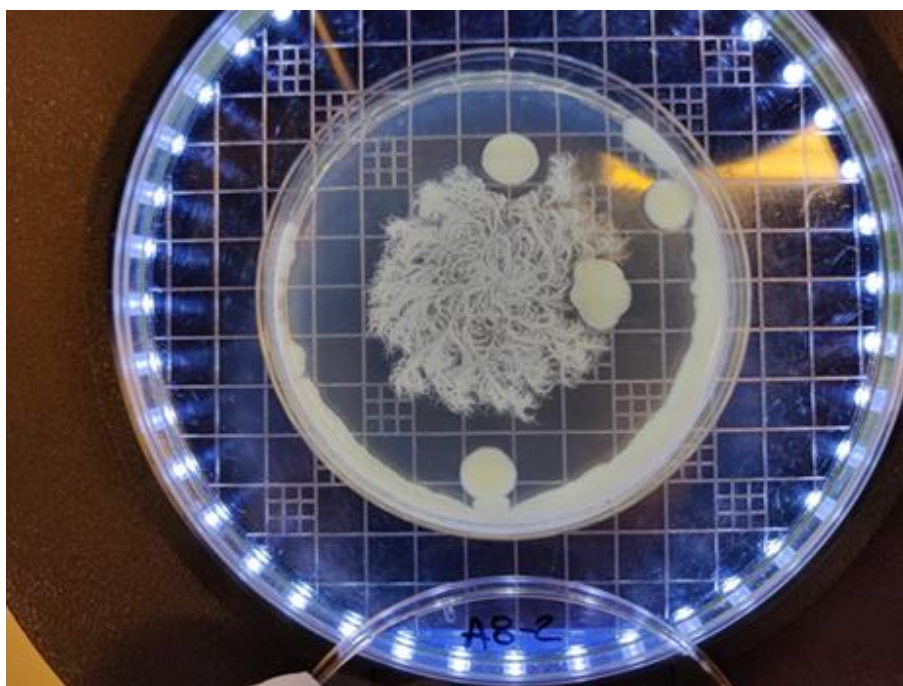
Slika 16. Vjerojatna kolonija bakterije roda *Bacillus* (A i B) u uzorku osmog dana pasteriziranom *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta (izvor: vlastita fotografija).



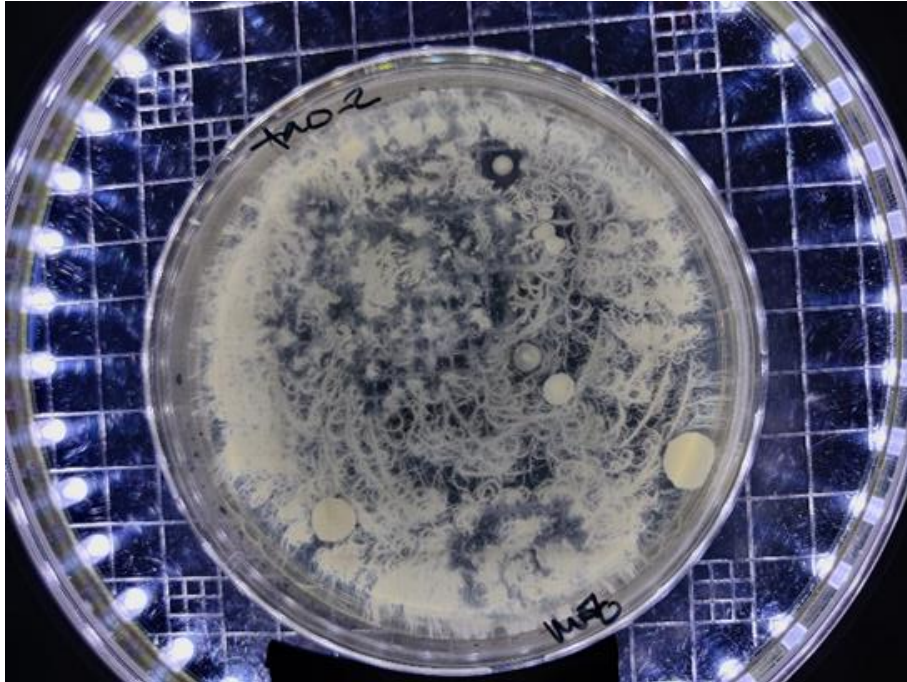
Slika 17. Vjerojatna kolonija bakterije roda *Bacillus* u uzorku osmog dana pasteriziranom *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta (izvor: vlastita fotografija).



Slika 18. Vjerojatna kolonija bakterije roda *Bacillus* u uzorku desetog dana pasteriziranom *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta (izvor: vlastita fotografija).



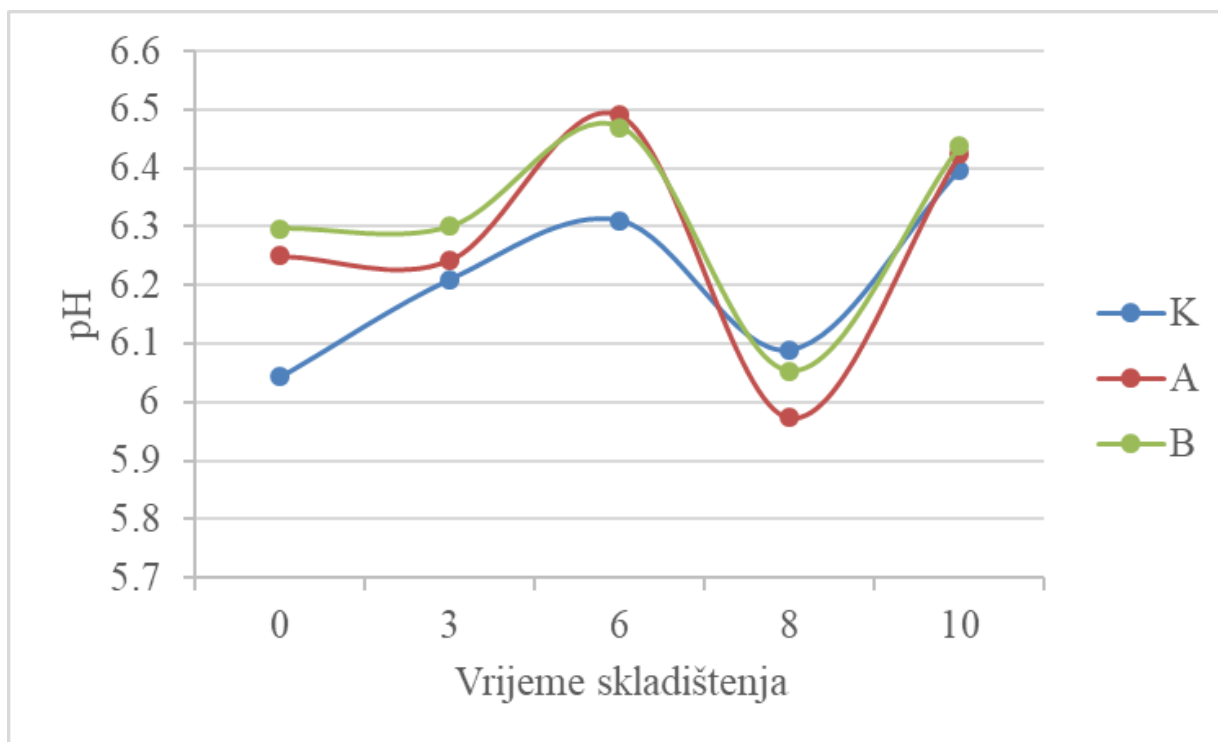
Slika 19. Vjerojatna kolonija bakterije roda *Bacillus* u uzorku osmog dana pasteriziranom *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta (izvor: vlastita fotografija).



Slika 20. Vjerojatna kolonija bakterije roda *Bacillu*. u uzorku desetog dana pasteriziranom *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta (izvor: vlastita fotografija).

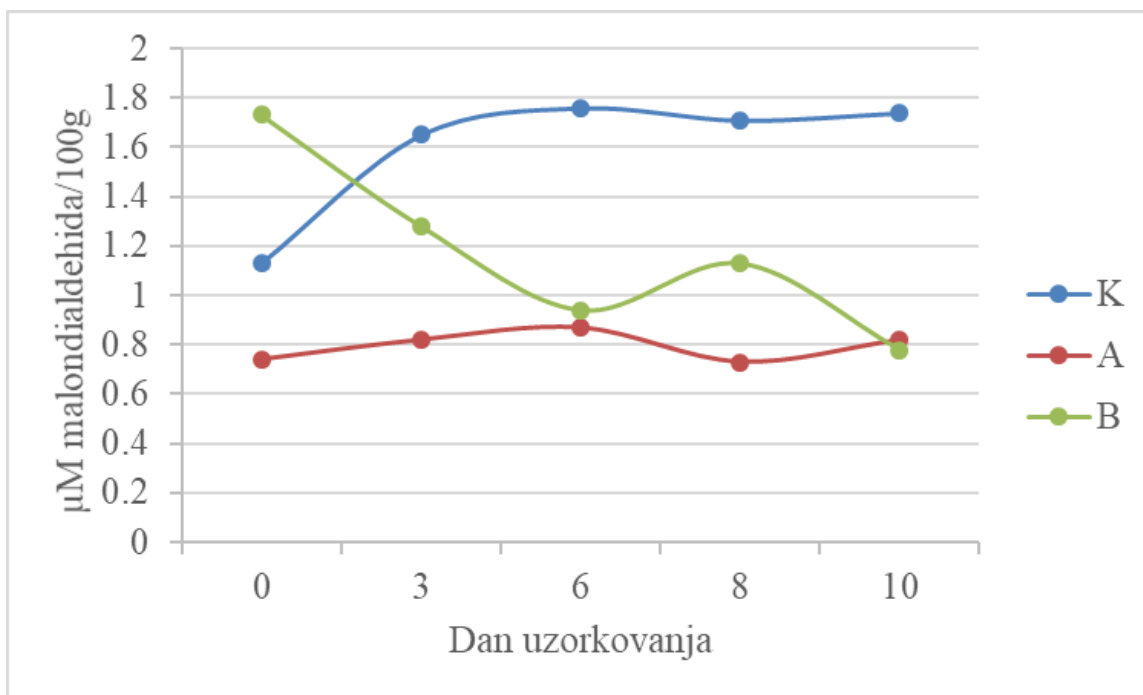
3.2. Utjecaj temperature i vremena pasterizacije na biokemijsku ispravnost i nutritivni profil dagnji

Biokemijska ispravnost uzoraka kontrolirana je prateći vrijednosti pH. Na slici 21 prikazani su rezultati pH vrijednosti uzoraka tijekom vremena skladištenja. Uzorci pasterizirani na 80 °C tijekom 5 minuta označeni su oznakom A, uzorci pasterizirani na 90 °C tijekom 5 minuta oznakom B, dok su kontrolni uzorci označeni oznakom K. Kod svih analiziranih uzoraka pH vrijednost u početku postupno raste sve do osmog dana kada dolazi do naglog pada vrijednosti. Nakon pada, pH vrijednosti svih uzoraka ponovno nastavljaju uzlazno rasti. Svi uzorci pokazuju blagu kiselost koja varira između 6 i 6,5. Jedino veće i značajnije odstupanje zabilježeno je osmi dan kod uzoraka pasteriziranih *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta, kada pH vrijednost pada malo ispod 6.



Slika 21. Grafički prikaz pH vrijednosti uzoraka tijekom vremena skladištenja (kontrolni uzorak - K, uzorak pasteriziran *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta - A, uzorak pasteriziran *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta - B).

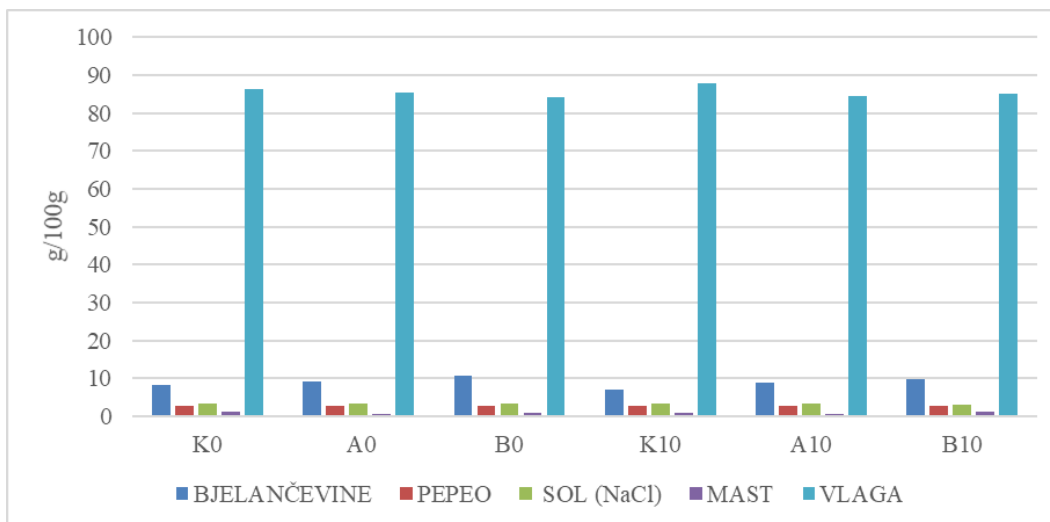
Tiobarbiturnim testom određeni su sekundarni produkti oksidacije masti u mesu dagnji. Slika 22 prikazuje dobivene rezultate koji su izraženi u μM malondialdehida (MA)/100 g uzorka. Rezultati se jako razlikuju između kontrolnih i pasteriziranih uzoraka. Vrijednosti kontrolnih uzoraka (na slici označeno kao K) su više i rastu tijekom pohrane. Vrijednosti uzoraka pasteriziranih *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta (na slici označeno oznakom A) konstantno osciliraju. U početku vrijednost blago raste, da bi u razdoblju od šestog do osmog dana blago pala, a zatim ponovno narasla. S druge strane, vrijednosti uzoraka pasteriziranih *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta (na slici označeno oznakom B) pokazuju upravo suprotno. Vrijednosti prvo opadaju, zatim između šestog i osmog dana blago rastu, a zatim opet padaju. Sve vrijednosti su niske u pogledu ispravnosti proizvoda te ispod granice od 7 μM malondialdehida (MA)/g uzorka što ukazuje da tijekom termičkog tretiranja u vakuumu lipidna oksidacija nije izražena.



Slika 22. Grafički prikaz rezultata tiobarbiturnog testa za uzorke dagnji (kontrolni uzorak - K, uzorak pasteriziran *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta - A, uzorak pasteriziran *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta - B).

Analiza prehrambene vrijednosti dagnji provedena je na uzorcima nultog i posljednjeg dana skladištenja. Parametri koji su praćeni su udio vlage, bjelančevina, pepela, soli (NaCl) te masti. Na slici 23 prikazani su udjeli analiziranih parametara te usporedba nultog (oznaka 0) i posljednjeg dana (oznaka 10) pohrane. Uzorci pasterizirani *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta označeni su oznakom A, uzorci pasterizirani *sous vide* metodom na 90 °C oznakom B, dok su kontrolni uzorci označeni oznakom K. Udio vlage u svim uzorcima bio je viši od 84 %, no definitivno najveći udio utvrđen je u kontrolnom uzorku desetog dana (87,78 %). Udio bjelančevina varirao je od 7 do 11 %, a najveći je u uzorku nultog dana pasteriziranom *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta, gdje iznosi 10,82 %. Udio pepela sličan je za sve uzorke i njihova međusobna razlika je neznatna, no najveći udio zabilježen je u uzorku desetog dana pasteriziranom *sous vide* metodom na 80°C tijekom 5 minuta i iznosi 2,83%. Udio soli je također sličan za sve uzorke, a najveći je kod uzorka nultog dana pasteriziranog *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta gdje iznosi 3,37% što je samo 0,01% više od oba kontrolna uzorka te uzorka desetog dana pasteriziranog *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta. Posljednji parametar koji je

analiziran je udio masti u uzorcima. Njihov udio je definitivno najneznatniji, a maksimalna vrijednost im iznosi svega 1,1% i to u kontrolnom uzorku nultog dana. Sve ostale vrijednosti su niže.



Slika 23. Grafički prikaz udjela vlage, proteina, pepela, soli (NaCl) i masti u uzorcima nultog i posljednjeg dana skladištenja (kontrolni uzorak - K, uzorak pasteriziran *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta - A, uzorak pasteriziran *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta - B).

4. RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je odrediti najučinkovitiju temperaturu i vrijeme pasterizacije koji će produžiti rok trajanja svježe dagnje i sačuvati nutritivnu vrijednost proizvoda. Pri tome je najbitnije bilo eliminirati prisustvo bakterija kvarenja i svih onih bakterija štetnih za ljudsko zdravlje. Točnije, ovaj rad se fokusirao na inaktivaciju mezofilni i psihrofilnih bakterija, enterobakterija i bakterija roda *Pseudomonas*, odnosno bakterija kvarenja.

Rezultati dobiveni za kontrolne uzorke pokazuju pozitivan rast mezofilnih i psihrofilnih bakterija, enterobakterija te bakterija kvarenja (bakterije roda *Pseudomonas*). Za sve četiri promatrane skupine bakterija je tijekom vremena skladištenja zabilježen sličan rast njihovog ukupnog broja te je za sve zabilježen blagi pad ukupnog broja šestog dana promatranja. Rezultati kontrolnog uzorka su očekivani obzirom da se radi o uzorcima koji nisu pasterizirani, već su svježe vakumirani. S druge strane, rezultati uzoraka pasteriziranih *sous vide* metodom na 80 °C tijekom 5 minuta i onih pasteriziranih *sous vide* metodom na 90 °C tijekom 5 minuta pokazuju kako je pasterizacija djelovala baktericidno na enterobakterije i *Pseudomonas* te tijekom cijelog vremena skladištenja nije zabilježen njihov rast u pasteriziranim uzorcima. Što se tiče mezofilnih i psihrofilnih bakterija, procesom pasterizacije njihov ukupan broj se smanjio, no nisu u potpunosti eliminirane. Dobiveni rezultati su u skladu s istraživanjima drugih autora te potvrđuju činjenicu da se pasterizacijom smanjuje ukupan broj bakterija te da ona djeluje baktericidno na određene vrste bakterija (Tosun, 2018; Skipnes i sur., 2002; Bongiorno, 2018.; Gonzales-Fandos i sur., 2004; Mol i sur., 2012). Međutim, šesti dan skladištenja zabilježen je rast kolonija nalik na tipične kolonije koje stvaraju bakterije roda *Bacillus* spp. Pregledom nativnog preparata potvrđen je oblik bakterija nalik vrstama roda *Bacillus*. Inače su određene bakterije roda *Bacillus* poznate kao tipičnih sporogene bakterije koje sudjeluju u kvarenju hrane (Lorenzo i sur., 2018). Zahvaljujući svojim sporama one uspješno preživljavaju pasterizaciju, a s obzirom da im nije bilo drugih kompetitora (enterobakterije i *Pseudomonas*) imale su veći prostor za rast zbog čega je mikrobiološko kvarenje kuhanih dagnji nastupilo ranije u odnosu na svježe. No kako bi se to sa sigurnošću moglo potvrditi potrebno je bakteriju dodatno odrediti adekvatnim genetskim ili biokemijskim metodama (Goodwin i sur., 1994). Zbog prisutnosti ovih bakterije, mikrobiološki proces kvarenja pasteriziranih dagnji započeo je ranije nego kod svježeg kontrolnog uzorka. Prema dobivenim rezultatima, pretpostavlja se kako je pasterizacijom rok trajanja svježih dagnji produžen

na maksimalno 9 do 10 dana. Dobiveni rezultati podudaraju se s većinom prethodno provedenih istraživanja, no ima i onih koji tvrde drugačije. Prema istraživanju Bongiorno i sur. (2018), pasterizacija dagnji *sous vide* metodom na 85 °C tijekom 10 minuta može očuvati kvalitetu proizvoda i produljiti rok trajanja i do 21 dan. Ukupan broj mezofila u kontrolnim (sirovim) uzorcima u njihovom istraživanju iznosio je $2,2 \pm 0,33$ log CFU/g. Eksperimentalni tretmani nisu znatno utjecali na rast mezofila sve do 21 dana skladištenja ($p > 0,05$) i njihova srednja vrijednost ostala je ispod brojive razine tijekom prvih 7 dana. SVCC i BSVCC tretirani uzorci cijeli eksperiment su bili ispod 5 log CFU/g, dok su se CMC i CC za 50 dana skladištenja jako približili toj brojci (4,2 log i 4,5 log CFU/g). Ukupan broj bakterija mliječne kiseline u kontrolnim uzorcima iznosio je $2,00 \pm 0,09$ log CFU/g dok je kod tretiranih uzoraka tijekom cijelog eksperimenta njihov ukupni broj ispod razine brojivosti osim kod CMC uzoraka gdje se nakon 21 dan povećava njihov broj ($2,4 \pm 0,00$ log CFU/g). *Pseudomonas* u kontrolnim uzorcima imao je koncentraciju $5,32 \pm 0,21$ log CFU/g, no nakon tretmana uvijek je ispod razine brojivosti. Pojavljuje se samo kod CMC nakon 30 dana ($4,36 \pm 0,1$ log CFU/g). Što se tiče enterobakterija i *Clostridia*, njihova prisutnost zabilježena je u kontrolnim uzorcima ($2,00 \pm 0,23$ log CFU/g i $2,00 \pm 0,17$ log CFU/g), no nakon tretmana u svim uzorcima njihov ukupan broj je ispod razine brojivosti. U ovom istraživanju nisu dobiveni slični rezultati s obzirom da pasterizacijom nije spriječen rast svih bakterija već su se sporogene bakterije nakon određenog perioda počele umnažati. U istraživanju koje su proveli Skipnes i sur. (2002), dagnje su podvrgnute relativno visokim temperaturama tijekom pasterizacije s ciljem produljenja roka trajanja. Dagnju su pasterizirali *sous vide* metodom na 100 °C tijekom 25 minuta te tako tretirane uzorke skladištili na 5,5 °C. Zaključili su kako duže vrijeme pasterizacije smanjuje rast bakterija s vremenom skladištenja. Međutim, unatoč visokim temperaturama, zabilježili su kako je razina ukupnog broja bakterija 21. dan jako visoka te kako takav proizvod nije siguran za ljudsku konzumaciju. Tosun i sur. (2018) su u istraživanju promatrali promjene u kvaliteti pasteriziranih dagnji čuvanih na 4 °C. Autori su meso dagnje vakuumirano sa sokom limuna, jabučnim octom, fino sjeckanim lukom i crnim paprom pasterizirali na 70 °C tijekom 8 minuta. Tako tretirane uzorke skladištili su na 4 ± 1 °C. Ukupan broj mezofila u kontrolnim uzorcima iznosio je $5,59 \pm 0,02$ log CFU/g, a nakon pasterizacije taj broj se smanjio na $3,15 \pm 0,10$ log CFU/g. Svoj maksimum mezofili su postigli 9. dan skladištenja kada je njihov ukupan broj iznosio $3,66 \pm 0,05$ log CFU/g. Ukupan broj psihrofilnih bakterija u kontrolnim uzorcima iznosio je $6,18 \pm 0,11$ log CFU/g. On se također nakon pasterizacije smanjio

i to na $4,11 \pm 0,01$ log CFU/g. Što se tiče broja ukupnih koliformnih bakterija i *E. coli* njihova razina kod kontrolnih uzoraka iznosila je $5,28 \pm 0,07$ log i $2,23 \pm 0,33$ log CFU/g. Pasterizacijom su one eliminirane te tijekom cijelog eksperimenta njihov ukupan broj je bio ispod razine brojivosti. Ovim istraživanjem utvrdili su kako dagnje pasterizirane na $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ mogu trajati maksimalno do 9 dana, što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom radu.

Rezultati pH vrijednosti pokazuju kako su svi testirani uzorci blago kiseli te pH vrijednost pasteriziranih uzoraka nije različita od pH vrijednosti svježih dagnji. Jedino veće odstupanje zabilježeno je osmi dan kod uzoraka pasteriziranih *sous vide* metodom na $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom 5 minuta, kada pH vrijednost pada blago ispod 6. Unatoč tome, prema dobivenim pH vrijednostima uzorci su sigurni za konzumaciju. Dobiveni rezultati slažu se i s rezultatima drugih istraživanja. U istraživanju Bongiorno i sur. (2018) pH kontrolnih uzoraka iznosio je $6,2 \pm 0,04$ te se nakon tretiranja nije znatno promijenio. Do povećanja pH dolazi 7 dan ($7,05 \pm 0,16$) i takav ostaje do kraja istraživanja. Najvjerojatniji uzrok tome je nastanak amonijaka i trimetilamina uzrokovan bakterijama kvarenja. U istraživanju Tosun i sur. (2018), razina pH vrijednosti kontrolnih uzoraka iznosila je $6,20 \pm 0,00$, no nakon tretiranja limunom i octom njena razina opada. Tiobarbiturnim testom utvrđeno je kako su vrijednosti kontrolnih uzoraka vrlo visoke te su u stalnom porastu dok kod pasteriziranih uzoraka to nije bio slučaj. Za pasterizirane uzorke je zabilježeno međusobno suprotno ponašanje. Naime, vrijednosti uzoraka pasteriziranih *sous vide* metodom na $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ prvo rastu, da bi između šestog i osmog dana počele padati, a kasnije ponovno narasle. Kod uzoraka pasteriziranih *sous vide* metodom na $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ zabilježeno je kako njihove vrijednosti prvo padaju, zatim između šestog i osmog dana blagu rastu, a zatim opet padaju. S obzirom na dobivene rezultate, zaključuje se kako tretiranje uzoraka visokim temperaturama i pod vakuumom nije izazvalo oksidaciju.

Rezultati dobiveni za analizu prehrambene vrijednosti pokazuju usporednu sliku nultog i desetog dana istraživanja. Razlika u rezultatima između ta dva dana nije značajna. Pri završetku skladištenja nikakva značajna promjena nije zabilježena za nutritivne vrijednosti. Prema dobivenim rezultatima može se reći kako pasterizacija ne utječe negativno na nutritivni sastav dagnji. Što se tiče drugih istraživanja rezultati su relativno slični. Tosun i sur. (2018) pratili su udjele vlage, bjelančevina, masti i pepela te su njihove vrijednosti nešto veće kod pasteriziranih uzoraka (73,46, 20,00, 3,82 i 2,18 %) od onih u kontrolnim uzorcima ($p < 0,05$). U istraživanju

Ulusoy i Ozden (2011) udio bjelančevina, masti i pepela dagnji također se povećao nakon pasterizacije, no udio vlage se smanjio ($p < 0,05$).

5. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Pasterizacija djeluje baktericidno na mezofilne i psihrofilne bakterije, enterobakterije i bakterije roda *Pseudomonas* te u kombinaciji s hlađenjem smanjuje njihov rast u tretiranim uzorcima.
- Tiobarbiturni test ukazuje da lipidna oksidacija dagnji nije izražena tijekom pasterizacije *sous vide* metodom unatoč upotrebi visokih temperatura.
- Pasterizacija *sous vide* metodom uspješno čuva prehrambenu vrijednost proizvoda.
- Pasterizacija dagnji *sous vide* metodom nije primjerena za očuvanje mikrobiološke kvalitete dagnji zbog preživljavanja sporogenih bakterija koje su specifični mikroorganizmi kvarenja ovog proizvoda.
- Pasterizacija *sous vide* metodom može biti uspješna za konzerviranje ukoliko se kombinira s drugim metodama poput smrzavanja.

6. LITERATURA

- Anonimus 2010. Dagnje. Dostupno sa: <http://www.rak-marikultura.hr/dagnje.html>, pristupljeno: srpanj 2023.
- AOAC 2000. Official Methods of Analysis. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. Dostupno sa: <http://files.foodmate.com/search.php?kw=AOAC+Methods>, pristupljeno: kolovoz 2023.
- Bem Embarek PK, Huss HH. 1993. Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged pasteurized fish fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 20 (2): 85–95.
- Bergslien H. 1996. *Sous vide* treatment of salmon (*Salmon salar*). U: Proceedings of the Second European Symposium on sous vide. Leuven, Belgium, 281-292.
- Bongiorno T, Tulli F, Comi G, Sensidoni A, Andyanto D, Iacumin L. 2018. *Sous vide* cook-chill mussel (*Mytilus galloprovincialis*): Evaluation of chemical, microbiological and sensory quality during chilled storage (3 °C). *LWT - Food Science and Technology*, 91: 117-124.
- Cropotova J, Tylewicz U, Cocci E, Romani S, Dalla Rosa M. 2016. A novel fluorescence microscopy approach to estimate quality loss of stored fruit fillings as a result of browning. *Food Chemistry*, 194: 175-183.
- Ghazala S, Ramaswamy HS, Smith JP, Simpson MV. 1995. Thermal process simulations for sous-vide processing of fish and meat foods. *Foods Research International*, 28(2): 117-122.
- Gonzales-Fandos E, Villarino-Rodriguez A, Garcia-Linares MC, Garcia-Arias MT, Garcia-Fernandez MC. 2004. Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method. *Food Microbiology*, 21(2): 193-201.
- Goodwin AE, Roy JS, Grizzle JM, Goldsby MT. 1994. *Bacillus mycoides*: a bacterial pathogen of channel catfish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 18: 173-179.
- Huss HH. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. *FAO Fisheries Technical Paper*, 348: 195 str.
- Krstulović Šifner S. 2020. Interna skripta iz predmeta Živa bogatstva mora, Sveučilište u Splitu.
- Lovrić T. 2003. *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*. Hinus, Zagreb, 318 str.

- Lorenzo JM, Muneakata PE, Dominguez R, Pateiro M, Saraiva JA, Franco D. 2018. Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: General aspects and overall description. In Innovative technologies for food preservation 2018 pp. 53-107). Academic Press.
- Mašić M. 2004. Higijena i tehnologija prerade školjaka, Stručni rad, MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, 4(4): 40-45.
- Mol S, Ozturan S, Cosansu S. 2012. Determination of the quality and shelf life of sous vide packed Bonito (*Sarda sarda*, Bloch, 1793) stored at 4°C and 12°C. Journal of Food Quality, 35: 137-143.
- NACMCF 1990. Recommendations for refrigerated foods containing cooked, uncured meat or poultry products that are packed for extended, refrigerated shelf-life and that are ready to eat or prepared with little or no additional heat treatment. NACMCF – National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods.
- NN 63/10. Naredba o zaštiti riba i drugih morskih organizama od 24.5.2010. Narodne novine, Zagreb. Dostupno sa: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_05_63_2007.html, pristupljeno: srpanj 2023.
- Novina K. 2017. Oksidacija masti u mesu i mesnim proizvodima. Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
- Oz F, Seyar E. 2016. Formation of heterocyclic aromatic amines and migration level of bisphenol-A in sous-vide-cooked trout fillets at different cooking temperatures and cooking levels. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64: 3070-3082.
- Schellekens W, Martens T. 1992. *Sous Vide*: State of the Art, EUR 15018 EN, ALMA, Leuven, Belgium.
- Skipnes D, Øines S, Rosnes J T, Skåra T. 2002. Heat transfer in vacuum packed mussels (*Mytilus edulis*) during thermal processing. Journal of Aquatic Food Product Technology, 11(3/4): 5-19.
- Šimat V, Maršić-Lučić J, Bogdanović T, Dokoza M. 2009. Oksidacija masti u ribi i ribljim proizvodima, Stručni rad, MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, 11(6): 344-351.
- Tosun Ş Y, Üçok Alakavuk D, Ulusoy Ş. 2018. Quality Changes of Thermal Pasteurized Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) During Refrigerated Storage at 4±1°C. Aquatic Sciences and Engineering, 33(4): 117-123.

Ulusoy Ş, Özden Ö. 2011. Preservation of stuffed mussels at 4°C in modified atmosphere packaging. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20: 319-330.

Zelić I. 2015. Uzgoj školjkaša. Završni rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Splitu.