

Hakklihatoodete riknemise pidurdamine taimsete tootmisjääkidega

Tõnu Püssa^{1*}, Dea Anton¹, Linda Rusalepp¹, Kadrin Meremäe¹, Mati Roasto¹, Hedi Kaldmäe², Uko Bleive², Reelika Rätsep^{2,3}

¹EMÜ VLI, veterinaarse biomeditsiini ja toiduhügieeni õppetool

²EMÜ PKI, aianduse õppetool, Polli aiandusuuringute keskus

³EMÜ VLI, ERA õppetool VALORTECH

*tonu.pyssa@emu.ee



Ettekandes käsitleme

käimasoleva ResTA 14 projekti TAIMLOOMTOIT ühte suuremat katset.

- Projekti TAIMLOOMTOIT eesmärgiks on teaduslikult põhjendatud suurima liha ja kala keemilise ja bakterioloogilise riknemise põhiprotsesside pidurdamise võimega bioaktiivsete lisandite väljaselgitamine taimse tootmise jääkides, nende jääkide võimalikult täielikuks ning eesmärgipäraseks kasutamiseks (Rätsep jt, 2021).
- **NB!** Paljudel juhtudel on taimse tootmise jäägid hoopis rikkamad bioaktiivsete ainete poolest kui põhitooted, näiteks mahlad.
- **Kokku tehti projekti raames 2021. aasta jooksul neli erineva suurusega katset,** milleks valiti välja sea hakkliha ja taimsete materjalide segud, mis meie varasemate katsete tulemuste põhjal võisid anda parimaid tulemusi, arvestades erinevaid toime mehhanisme.

Rätsep, R., Roasto, M., Püssa, T. 2021. Ülevaade projektist ResTA14 TAIMLOOMTOIT – Taimsete tootmisjääkide kasutamine liha- ja kalatoodete väärindamiseks ning nende säilivuse ja tervislikkuse parendamiseks, Konverentsi „Terve loom ja tervislik toit 2021“ artiklite kogumik, Tartu, (toim. M. Kass), 3.-4. märts 2021. Tartu, Eesti Maaülikool, lk 62–66.
https://terveloomjatervisliktoit.ee/userfiles/tltt/tltt2021/Kogumik_TLTT2021.pdf



Materjalid

Liha. Katsematerjaliks oli sea kaelakarbonaadist laboris valmistatud hakkliha, mille Veterinaar- ja toidulaboratooriumis määratud rasvasisaldus oli 13,5%, polüküllastamata rasvhapete sisaldus 2,5% ja linoolhappe sisaldus 2,0%.

- Liha peenestati hakklihamasinaga ning segati põhjalikult käsitsi vastavate pulbritega.
- Saadud segud seisis ööpäeva külmkapis.
- Seejärel jagati segud analüüsipäevade ning uuritavate näitajate järgi kaanega silindrilistesse plastiktopsidesse ja säilitati temperatuuril $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ analüüsipäevani. Igast segust valmistati kaks paralleelproovi.
- Katse kestis kas 14 (toored) või 28 (esimesel päeval küpsetatud segud) päeva.
- Toored segud analüüsiti 1., 4., 6., 8., 11. ja 14. päeval, küpsetatud segud 1., 14. ja 28. päeval keemiliste näitajate määramiseks.
- Mikrobioloogiliselt uuriti segusid samadel päevadel, välja arvatud 14. päev toorete segude korral.



Taimsed lisanditeks

olid üldjuhul pulbrilisele kujule viidud külmu- või kondensatsioonkuivatatud tootmisjääd.

- **Kõigis segudes oli üheks komponendiks õunapulber** kui levinuim taimse toorme töötlemise jääkmaterjal Eestis.
 - Mahlatootmise pressjäakidest olid pärit ka mustsõstra, pihlaka, aroonia, tomati ja rabarberi pulbrid (Rätsep jt, 2022, selle konverentsi kogumik).
 - Sibula ja küüslaugu korral kasutati (liit)sibula külmu kuivatatud pulbrit.
- Eelkatsetega oli kindlaks tehtud sensoorselt sobiv õunapulbri sisaldus hakklihas, kuni 5% w/w.

Segu koostis	Segu tähis joonistel
Hakkliha	liha
Hakkliha + 3% õunapulbrit	õun
Hakkliha + 3% õunapulbrit + 2% mustsõstra marjapulbrit	MS
Hakkliha + 3% õunapulbrit + 2% pihlakamarjapulbrit	pihl
Hakkliha + 3% õunapulbrit + 2% tomatipulbrit	tom
Hakkliha + 3% õunapulbrit + 2% mustsõstrapulbrit + 1% sibulapulbrit	MS+sib
Hakkliha + 3% õunapulbrit + 2% tomatipulbrit + 1% küüslaugupulbrit	tom+küüs
Hakkliha + 3% õunapulbrit + 2% arooniapulbrit	aro
Hakkliha + 3% õunapulbrit + 2% aroonia ja 2% pihlaka pulbrit	aro+pihl
Hakkliha + 3% õunapulbrit + 2% tomati ja 1% rabarberi varre pulbrit	tom+rab



Pildid töö objektist ja tegijaist



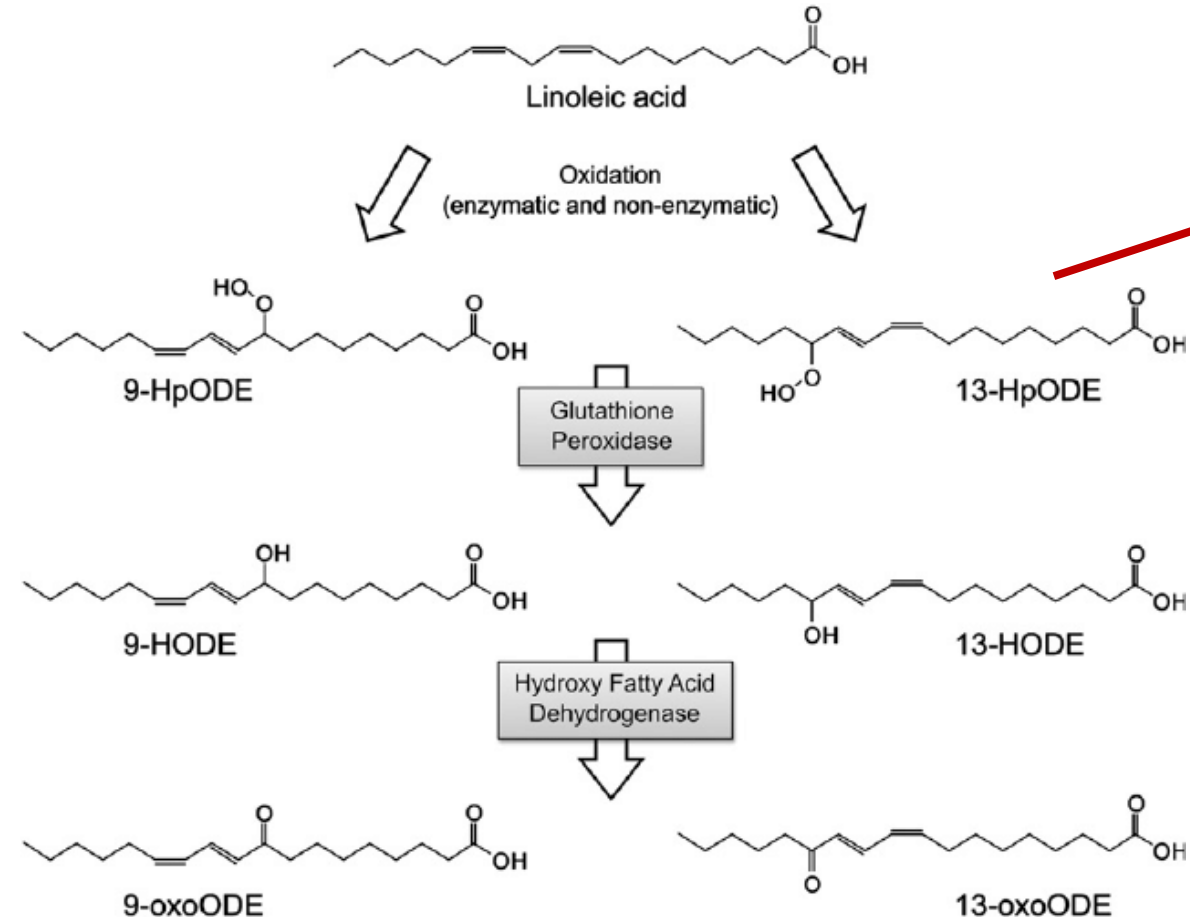
Keemilised analüüsid

- Linoolhappe oksüdatsiooni vaheproduktide oksülipiinide sisaldus segudes (OLS) määrati **vedelikkromatograaf-massspektromeetriga** 6540UHD Accurate Mass Q-ToF LC/MS (Agilent Technologies).
- Polüküllastamata rasvhapete (PUFA) oksüdatsiooni ühe olulisema lõppprodukti maloondialdehüüdi (MDA) kontsentratsioon segudes määrati nii kromatograafilise TBARS meetodiga firma Agilent Technologies 1100 Series **vedelikkromatograafil kui ka spektrofotomeetriliselt**.
- Lenduvate rasvhapete kui PUFA-de redutseerumise produktide (*volatile fatty acids – VFA*) väärtused määrati Veterinaar-ja toidulaboratooriumi Tartu osakonnas **veeaurdestillatsiooni ja tiitrimeetria kombineeritud meetodiga** (GOST 23392-78-2/1980).



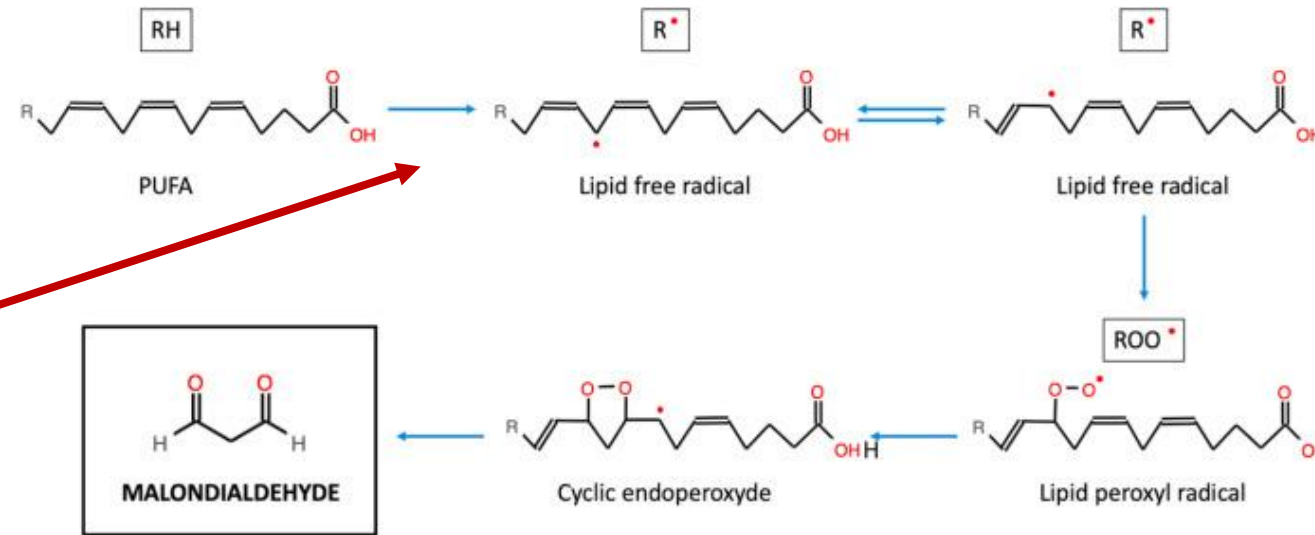
Linoolhappe jt PUFA-de oksüdatsiooni skeem ja analüüsid

Linoolhappe

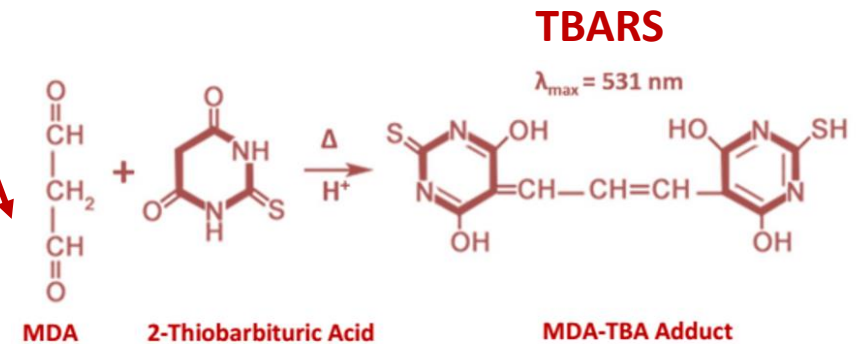


Oksüliipiinide teke linoolhappest

Q-ToF LC/MS



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986121001909>

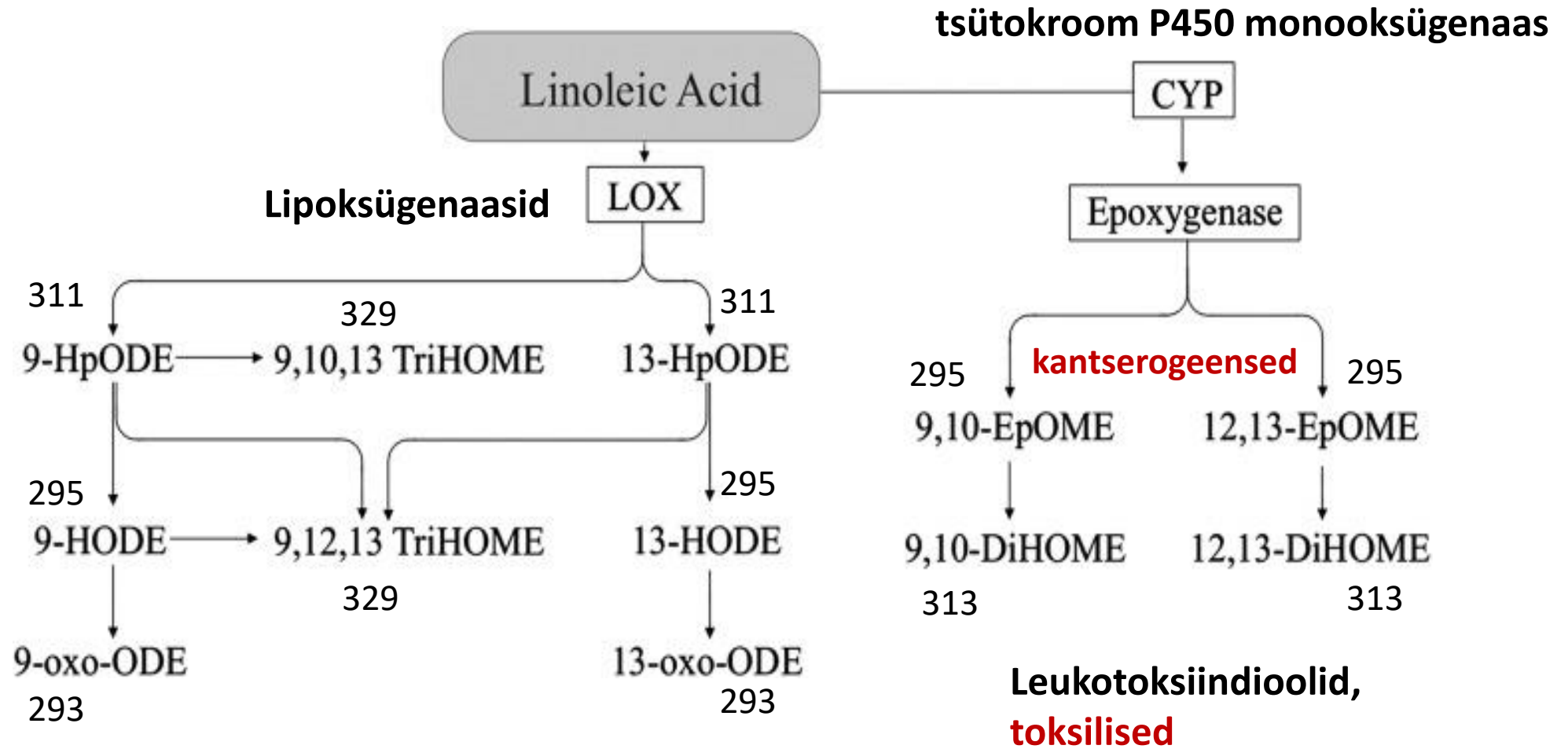


<https://lifescience.canvaxbiotech.com/product/tbars-assay-kit/>

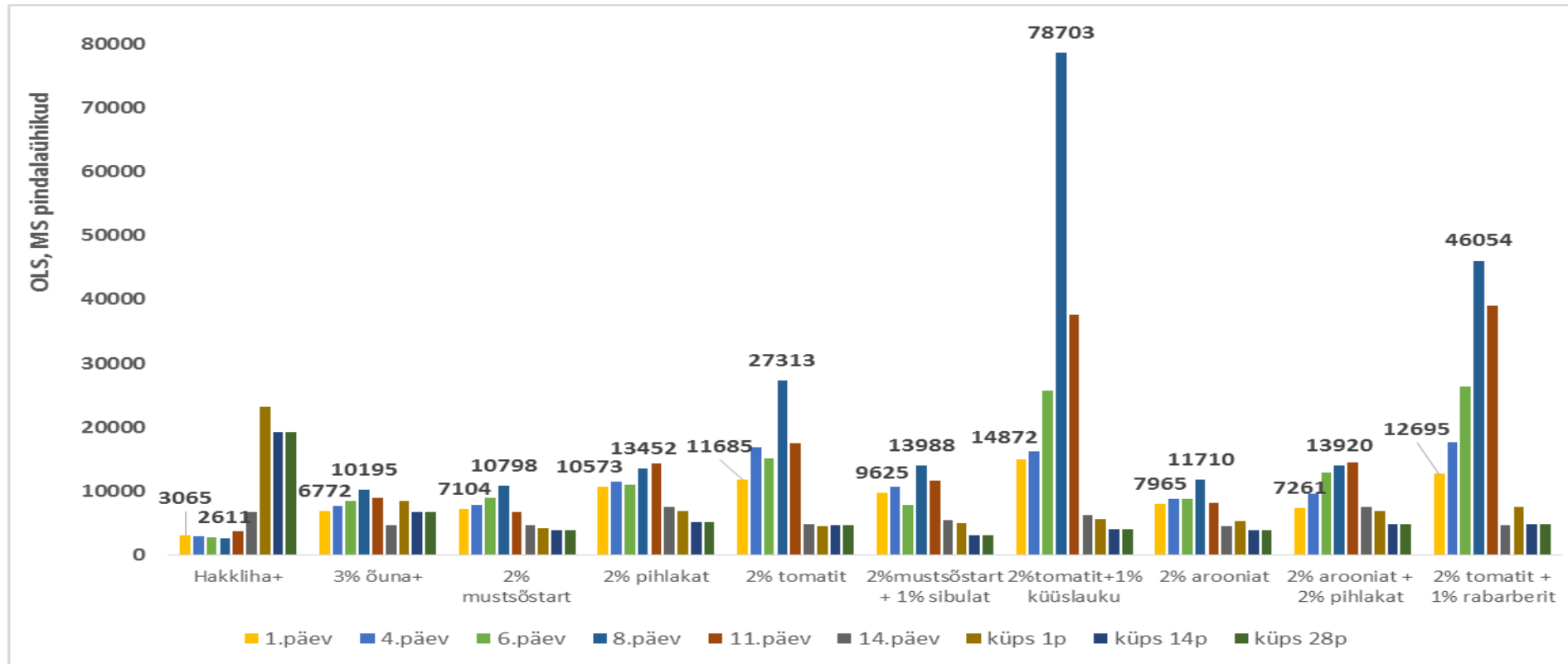
LC-DAD



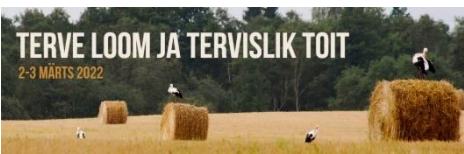
Oksüliipiinide teke linoolhapest



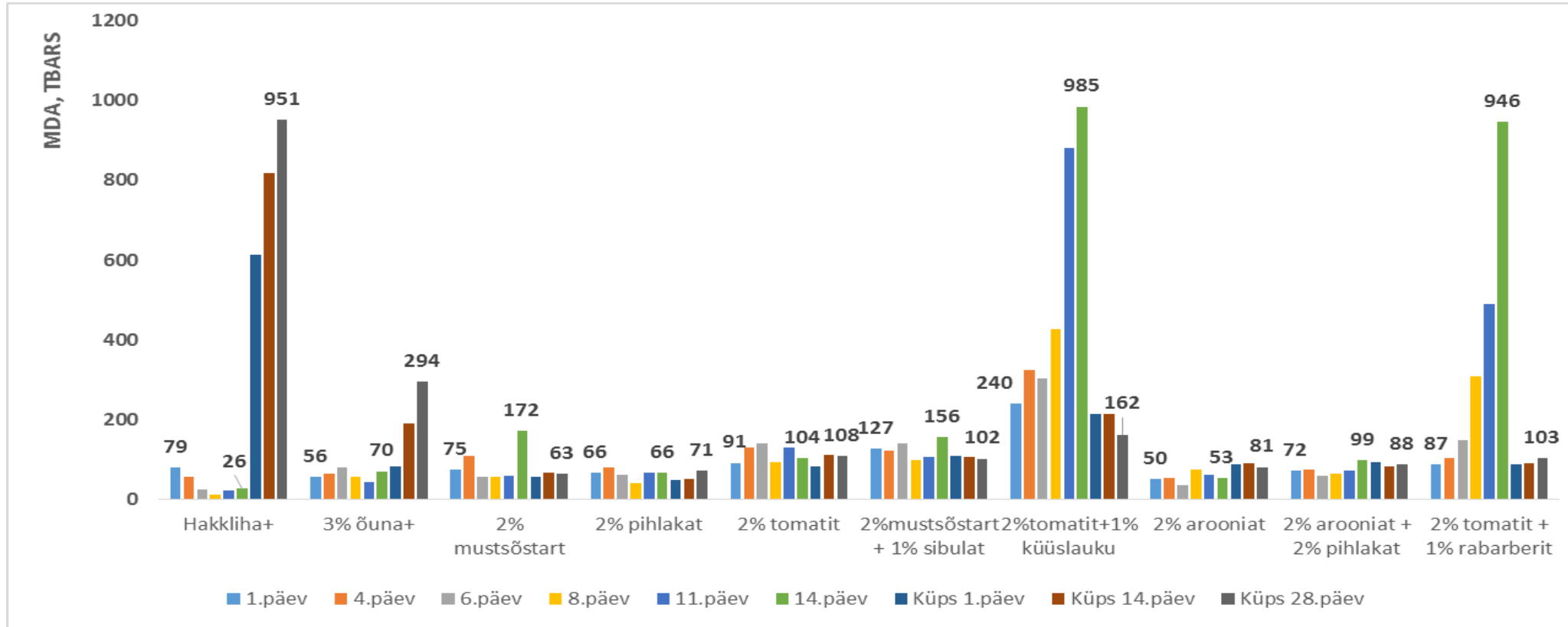
Linoolhappe viie põhilise oksülipiini summa (OLS) dünaamika tooretas ja küpsetatud (kolm viimast tulpa iga segu korral) segudes



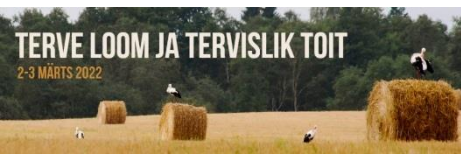
Toored segud üle maksimumi, kõik lisandid pidurdavad oksülipiinide teket küpsetatud segude säilitamisel võrreldes lihaga



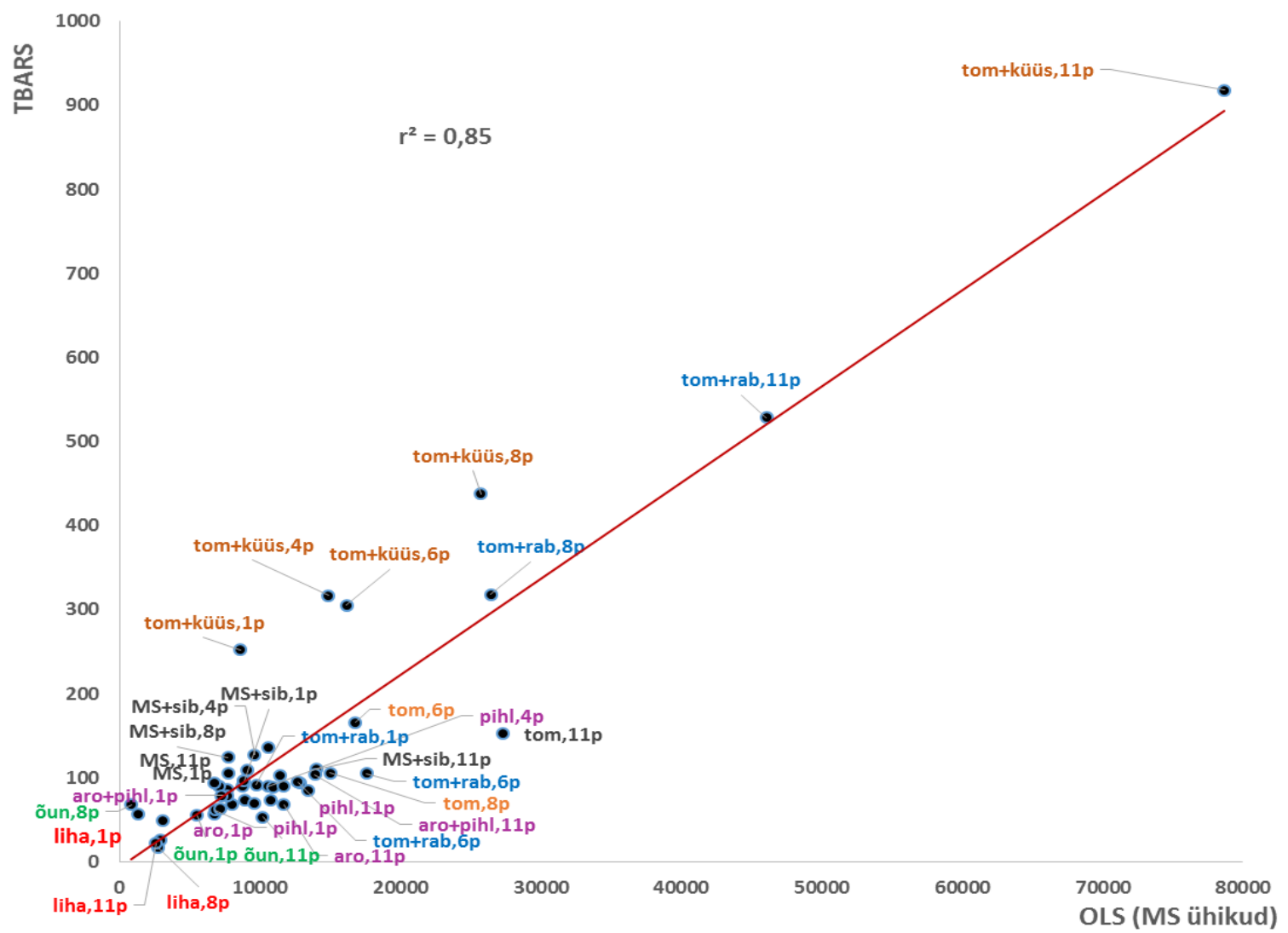
Maloondialdehüüdi (MDA) sisalduse dünaamika tooretas ja küpsetatud (kolm viimast tulpa iga segu korral) segudes



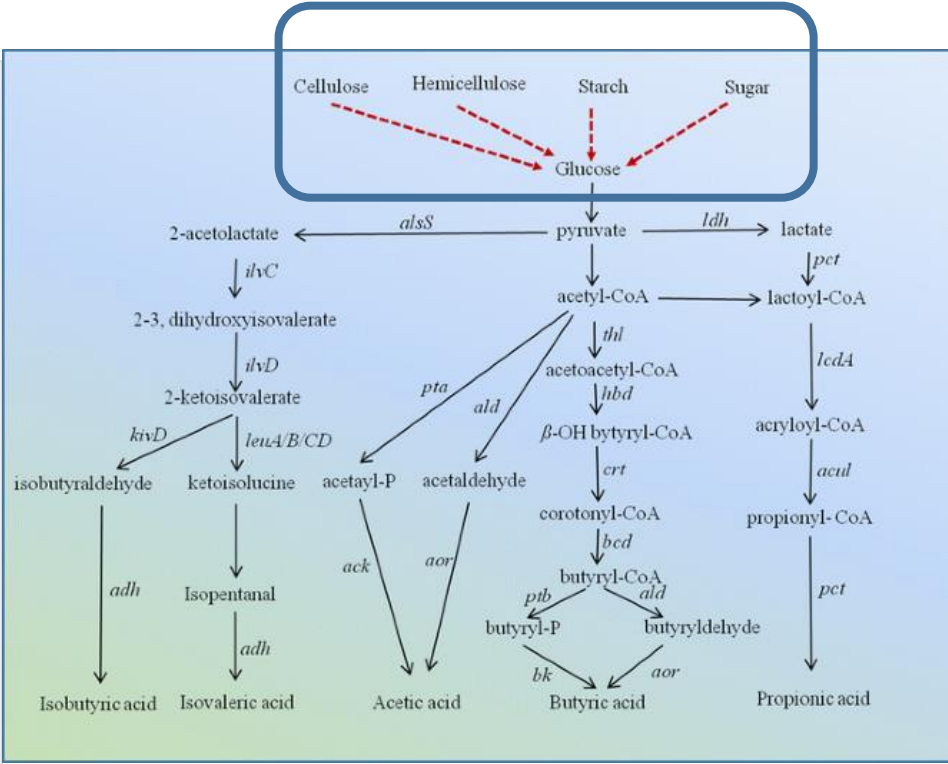
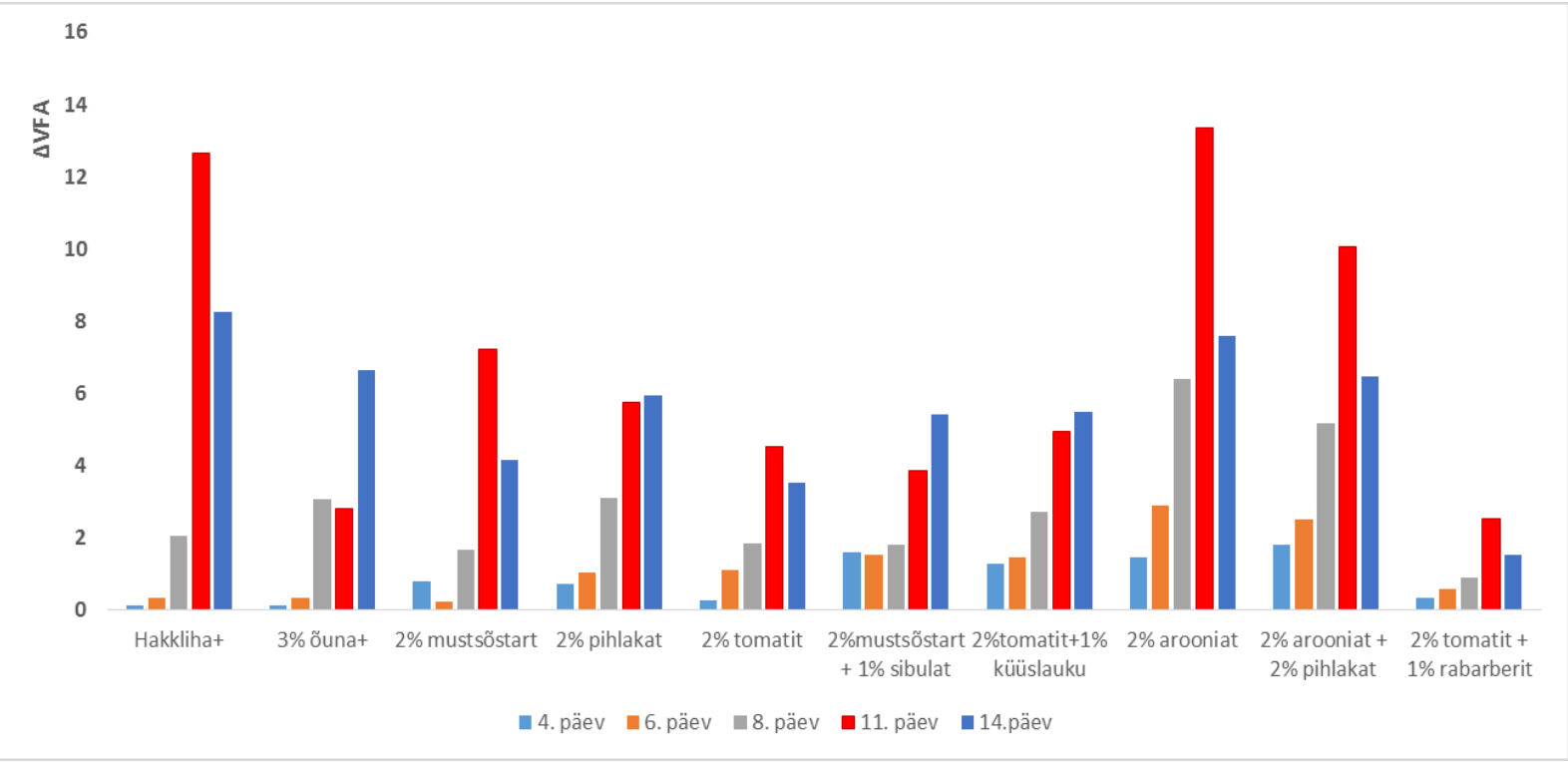
Kõik lisandid pidurdavad mutageense MDA teket **küpsetatud segudes** võrreldes lihaga



Tugev positiivne lineaarne sõltuvus TBARS-i ja OLS vahel



Lenduvate rasvhapete summa dünaamika tooretis segudes



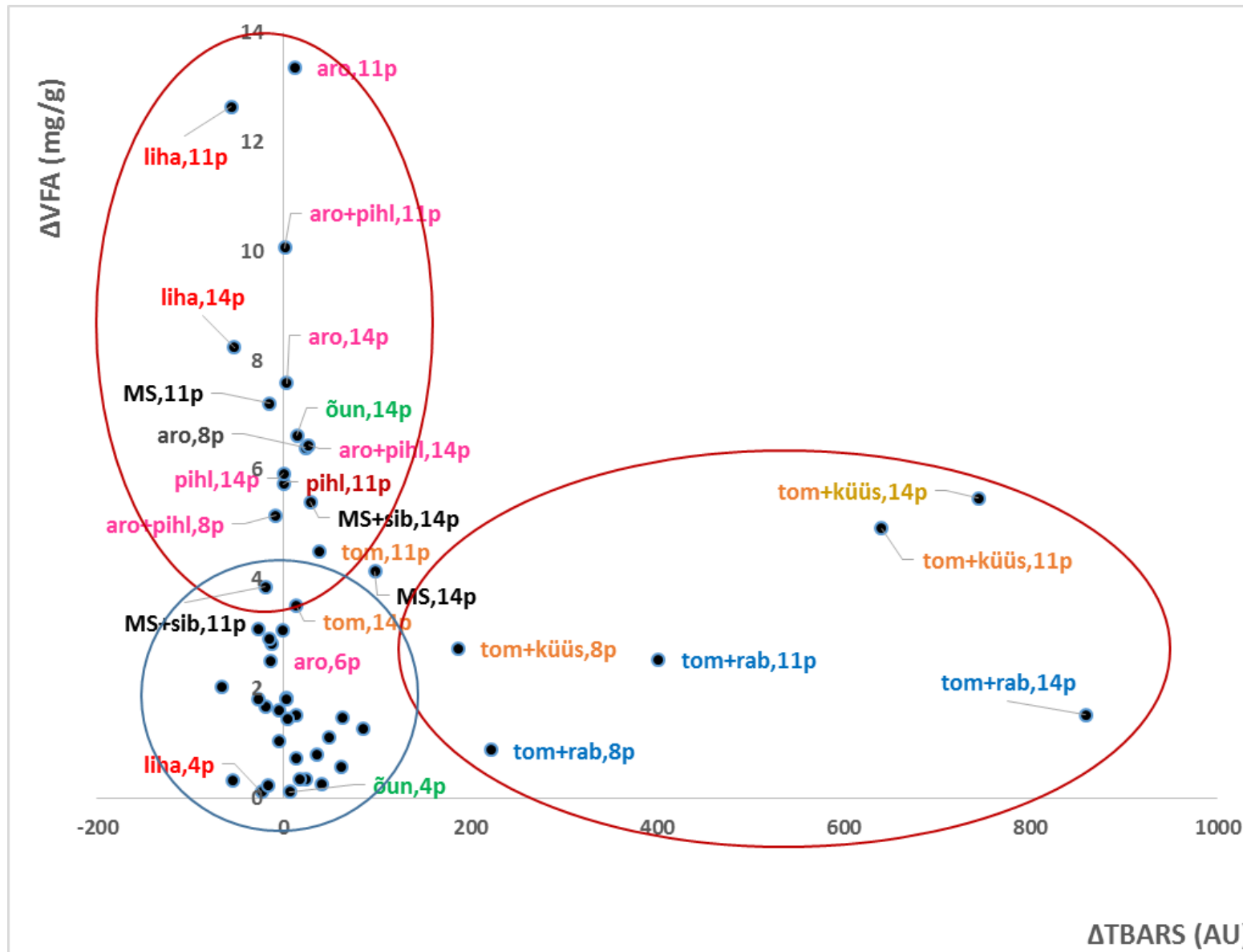
Diagrammil on näidatud VFA muutus konkreetseks analüüsipäevaks ΔVFA võrreldes 1. päevaga segude säilitamisel 14 päeva jooksul (mg KOH/100 g).

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11157-017-9431-4>

Lenduvate rasvhapete (VFA) C2-C6 teke (äädikhape, propioonhape, võihape, piimhape, palderjanhape)



Sõltuvus anaeroobsete protsesside indikaatori VFA (Δ VFA) ja aeroobsete protsesside indikaatori TBARS (Δ TBARS) vahel liha-taim segude säilitamisel.

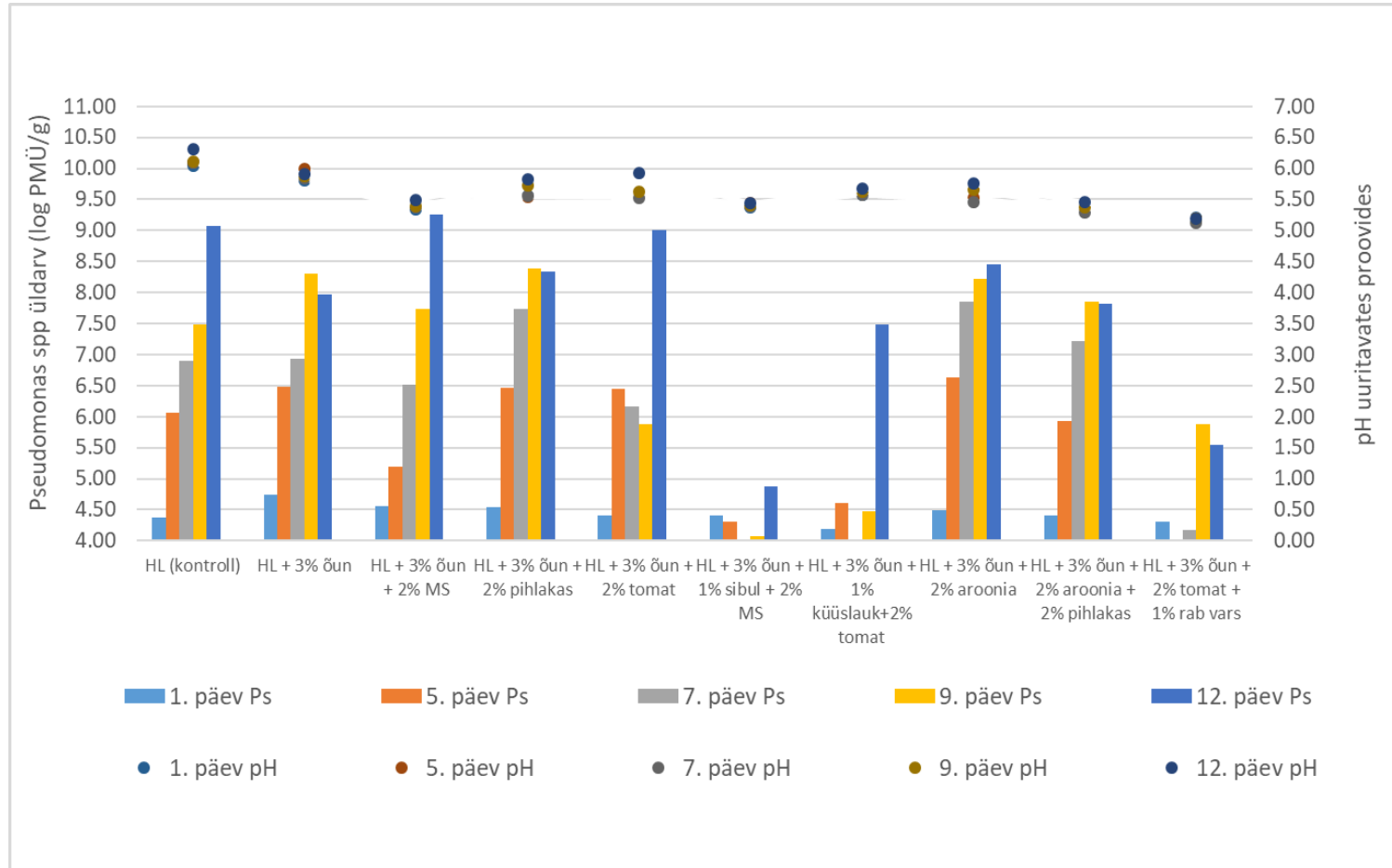


Mikrobioloogilised analüüsid

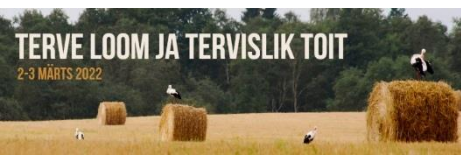
- Aeroobsete mesofiilsete bakterite üldarv määrati standardmeetodiga EVS-EN ISO 4833-2:2013 “Mikroorganismide loendamine temperatuuril 30 °C aeroobsetes tingimustes”
- Toidu riknemisbakterite *Pseudomonas* spp üldarv määrati standardmeetodiga EVS-EN ISO 13720:2010 (25 ± 1 °C juures, aeroobne keskkond).
- Katseproovide, algsuspensiooni ja kümnendlahjenduste ettevalmistamisel mikrobioloogilisteks uuringuteks lähtuti standardist EVS-EN ISO 6887-1:2017.
- Pärast inkubeerimist mikroorganismide kolooniad loendati ja tulemused väljendati log pmü ühikutes grammi liha kohta (log PMÜ/g).

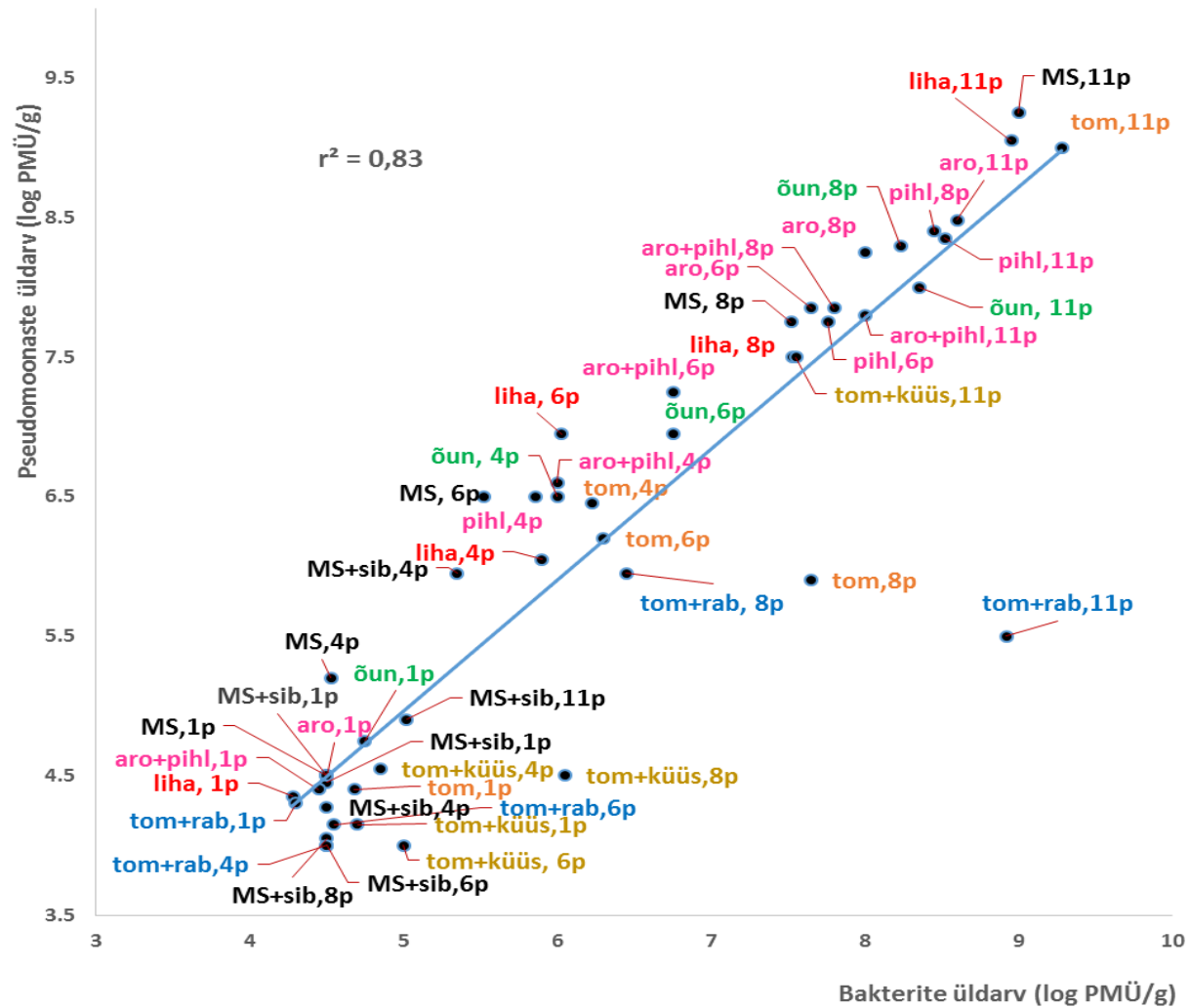


Pseudomonas spp üldarvu dünaamika

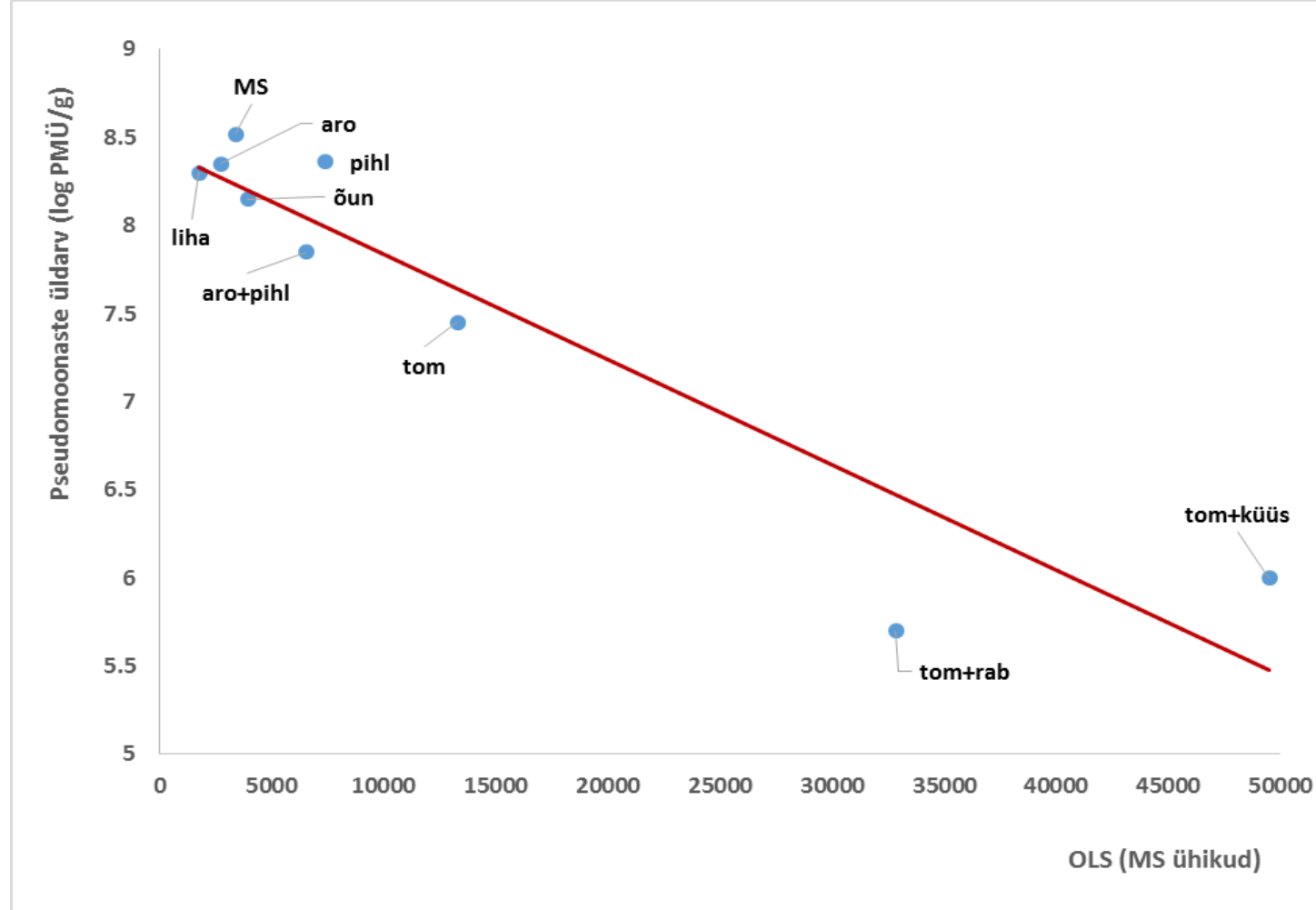


Parimad riknemisbakteri kasvu pidurdajad on mustsõstar +sibul, tomat+rabarber ja 8-nda päevani tomat+küüslauk

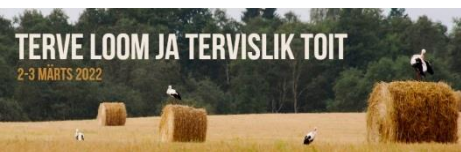




Tugev lineaarne korrelatsioon pseudomonaste ja aeroobsete mesofiilsete bakterite üldarvude vahel tooretel segudes 11-päevase säilitusaja jooksul, **tom+rab ja tom+küüs** pidurdavad valikuliselt pseudomonaseid, **mustsõstar +sibul** kõiki baktereid



Pseudomonaadide üldarvu (8. ja 11. päeva keskmise) tugev negatiivne lineaarne korrelatsioon ($r^2 = 0,87$) oksüliipiinide summaga OLS (11. ja 14. päeva keskmise) segudes.



Kokkuvõte

- **Katsetatud lisanditest olid parimad** hakkliha riknemise pidurdajad **tomat+rabarber ja mustsõstar+sibul**, kuni kaheksanda päevani ka **tomat+küüslauk**, kõik koos õunaga.
- **Lihatoodete ohutuse hindamisel tuleks arvestada nii mikrobioloogilisi kui ka biokeemilisi näitajaid**, viimaste hulgas peaks tähelepanu pöörama nii oksüdatsiooni kui ka senisest rohkem reduktsiooni produktidele anaeroobses keskkonnas säilitamisel.
- **Keeruline on leida taimset materjali**, mis pidurdaks tugevasti nii oksüdatsiooni kui ka reduktsiooni ja oleks ühtlasi mõjus bakterite kasvu pidurdaja.
- **NB!** Kuna mitmed rasvhapete oksüdatsiooni produktid on antibakteriaalse toimega, siis võibolla tuleks tähelepanu pöörata lisandite otsimisele, mis, **olles väga tugeva antibakteriaalse toimega, ei olekski liiga võimekad antioksidandid.**
- **Samas ei tohi unustada**, et nii oksülipiinide kui ka aldehüüdide hulgas on nõrgalt toksilisi aineid.

Teadustöö taimsete tootmisjääkide lihatoodete riknemist pidurdavate omaduste uurimisel jätkub nii projekti RESTA14 kui ka ETAGi värske rühmagranti raames.

Tänuavaldused

- Projekti TAIMLOOMTOIT (F200143PKPA) elluviimist toetavad Euroopa Regionaalarengu Fond ja Eesti Teadusagentuur läbi „Ressursside väärimise alase TA-tegevuse toetamise” programmi ResTA14.
- Loomse toidutoorme riknemise pidurdamise alast uurimistööd toiduhügieeni õppetoolis on toetanud ka Eesti Maaülikool baasfinantseeritava projektiga P180279VLTR "Looduslike bioaktiivsete ainete toime ning seonduvate mehhanismide uurimine toidumaatriksites“,
- ning nüüd toetab lähedast alusuuringut ka Eesti Teadusagentuur projektiga PRG1441.



Meie täname tähelepanu eest!

