

Promjene u osnovnom nutritivnom i masno-kiselinskom sastavu tijekom proizvodnje Slavenskog kulena

Pleadin¹, J., G. Krešić², T. Barbir¹, M. Petrović³, I. Milinović¹, D. Kovačević⁴

Znanstveni rad

Sažetak

Cilj istraživanja bio je ispitati promjene u osnovnom kemijskom sastavu i sastavu masnih kiselina Slavenskog kulena tijekom proizvodnog procesa. Tijekom proizvodnje uzimani su uzorci kulena ($n=30$) 1. dan (sirovi kulen/nadjev) i tijekom procesa zrenja (30., 60., 90. i 120. dan) te su provedene kemijske analize osnovnog nutritivnog sastava i sastava masnih kiselina. Promjene osnovnog kemijskog sastava Slavenskog kulena po fazama proizvodnog procesa bile su u skladu s literaturnim podacima. U gotovim proizvodima utvrđen je omjer n-6/n-3 masnih kiselina od $7,61 \pm 0,62$, MUFA/SFA od $1,04 \pm 0,08$ te PUFA/SFA od $0,20 \pm 0,02$, što su omjeri masnih kiselina karakteristični za proizvode od svinjskog mesa. Istraživanjem je utvrđeno da proces fermentacije te tromjesečnog zrenja Slavenskog kulena nema značajniji utjecaj ($P > 0,05$) na omjer n-6/n-3 masnih kiselina, dok su za ostale skupine masnih kiselina odnosno njihove omjere, u pojedine dane tijekom proizvodnog procesa, određene statistički značajne razlike ($P < 0,05$).

Ključne riječi: nutritivni sastav, sastav masnih kiselina, proizvodnja, Slavenski kulen

Uvod

Jedna od evolucijskih značajki suvremene prehrane je prekomjeran unos masti, posebice zasićenih masnih kiselina, uz istovremeno poremećenu ravnotežu unosa višestruko nezasićenih masnih kiselina odnosno povećani unos n-6 u odnosu na n-3 masne kiseline. Ovako promijenjeni omjer n-6/n-3 masnih kiselina povezuje se s poremećajima brojnih fizioloških procesa koji povećavaju učestalost pojave tzv. kroničnih bolesti povezanih s prehranom, prvenstveno bolesti srca i krvožilnog sustava (Cordain i sur., 2005). Budući da su meso i mesne prerađevine bogati mastima, posebno zasićenim masnim kiselinama, danas se potrošačima savjetuje manja konzumacija upravo ove vrste hrane (Valsta i sur., 2005; Fernandez i sur., 2007), dok proizvođači nastoje modificirati proizvode kako bi ih što više približili nutritivno prihvatljivim vrijednostima (Muguerza i sur., 2004; Pelsler i sur., 2007; Valencia i sur., 2006).

Istovremeno, u europskim zemljama trend je potražnje tradicionalnih prehrambenih proizvoda, uključujući i mesne proizvode proizvedene u seoskim domaćinstvima (Talon i sur., 2007), zbog čega su intenzivirana istraživanja njihove prehrambene odnosno nutritivne vrijednosti. Rezultati istraživanja pokazuju da na nutritivni sastav mesnih proizvoda, po pitanju masenog udjela masti i sastava masnih kiselina utječu brojni čimbenici, od odabira pasmina, ishrane i načina uzgoja farmskih životinja, do tehnoloških procesa i parametara primijenjenih tijekom proizvodnje (Jiménez-Colmenero i sur., 2001; Siciliano i sur., 2013; Barbir i sur., 2014a). Pritom proizvodi od svinjskog mesa općenito sadrže visoki udjel zasićenih masnih kiselina (SFA), zbog čega se promjenama u ishrani nastoji

u svinjskom mesu, odnosno u proizvodima od svinjskog mesa, povećati udio jednostruko nezasićenih (MUFA) ili višestruko nezasićenih (PUFA) masnih kiselina (Wood i sur., 2004; Wood i sur., 2008; Woods i Fearon, 2009).

Slavenski kulen je u Hrvatskoj najreprezentativnija tradicionalna fermentirana kobasica od svinjskog mesa, a proizvodi se u seoskim domaćinstvima tradicionalnom tehnologijom te u industriji korištenjem modificirane recepture (dodatak komercijalnih bakterijskih starter kultura, nitratnih i nitritnih soli te izoaskorbata). U tradicionalnoj tehnologiji proizvodnje kulena se priprema od svinjskog mesa prve i druge kategorije, prethodno očišćenog od vezivnog tkiva, oštećenih dijelova i krvnih žila te svinjske tvrde leđne slanine, uz dodatak kuhinjske soli, slatke i ljute začinske mljevene paprike i češnjaka te se nadijeva u svinjsko slijepo crijevo (lat. *intestinum caecum*). Nakon izjednačavanja temperature nadjeva (kondicioniranja), kulen se dimi, fermentira, suši te podvrgava procesu višestruko nezasićenog zrenja. Najveći utjecaj na senzorska svojstva mirisa i okusa zrelog kulena imaju operacija dimljenja i dodatak češnjaka, a tek nakon toga spojevi koji su posljedica zrenja mesa u nadjevu, odnosno oksidacije lipida i razgradnje aminokiselina (Kovačević, 2001; Kovačević i sur., 2010; Kovačević, 2014; Jerković i sur., 2010).

Na kakvoću Slavenskog kulena utječu različiti čimbenici, od odabira sirovina i recepture nadjeva, do tehnologije proizvodnje, odnosno tehnoloških procesa (kondicioniranja, fermentacije, sušenja, dimljenja i zrenja) i primijenjenih tehnoloških parametara (temperature, relativne vlažnosti i brzine strujanja zraka/dima) (Kovačević, 2014). Tijekom proizvodnje kulena, zbog primjene više različitih tehnoloških procesa, uključujući i „konzerviranje prepre-

¹ doc. dr. sc. Jelka Pleadin, znanstveni savjetnik, Tina Barbir, mag. ing. biotehnologije, Ines Milinović, mag. ing. biotehnologije, Laboratorij za analitičku kemiju, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10000 Zagreb;

² prof. dr. sc. Greta Krešić, izvanredna profesorica, Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu Opatija, Sveučilište u Rijeci, Primorska 42, 51410 Opatija;

³ dr. sc. Marinko Petrović, znanstveni suradnik, Centar za kontrolu namirnica, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb;

⁴ prof. dr. sc. Dragan Kovačević, redoviti profesor, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Kuhačeva 20, 31000 Osijek

* autor za korespondenciju: pleadin@veinst.hr

kama", te zbog aktivnosti tehnološke mikroflora (posebice tijekom procesa fermentacije) i dugotrajnog zrenja u nadjevu kulena, događaju se kompleksne mikrobiloške, fizikalno-kemijske i biokemijske promjene osnovnih gradivnih tvari (masti, proteina i ugljikohidrata), pri čemu je cijeli proces praćen gubitkom vode i porastom masenog udjela suhe tvari. Posebno je značajan proces lipolize masti, nastanak slobodnih masnih kiselina te razgradnja na kratkolančane masne kiseline i njihova oksidacija, jer predstavljaju ključne reakcije koje tijekom procesa zrenja utječu na formiranje specifičnog mirisa i okusa finalnog proizvoda.

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati promjene u nutritivnim svojstvima Slavenskog kulena tijekom četvero-mjesečnog proizvodnog procesa, analizom osnovnog kemijskog sastava te sastava masnih kiselina.

Materijali i metode Proizvodnja i priprema uzoraka

Slavenski kulen (n=30) proizveden je u kontroliranim uvjetima laboratorijskog pilot-postrojenja, primjenom komore za zrenje, s mogućnošću programiranja procesa i automatiziranom regulacijom tehnoloških parametara (Kovačević, 2014). Nadjev kulena pripremljen je prema tradicionalnoj recepturi i sadržavao je svinjsko meso prve i druge kategorije (91,8%), svinjsku leđnu slaninu (5%), češnjak (0,2%), prah crvene ljute paprike (0,4%), prah crvene slatke paprike (0,6%) i sol (2%). Sirovi nadjev punjen je u svinjska slijepa crijeva te su uzorci podvrgnuti tradicionalnom tehnološkom procesu proizvodnje Slavenskog kulena, ranije opisanom u literaturi (Kovačević i sur., 2010, Babić i sur., 2011).

Tijekom proizvodnog procesa uzimani su uzorci kule- na (n=6) na početku procesa proizvodnje (1. dan) te tijekom procesa zrenja (30., 60., 90., 120. dan). Nakon uzorkovanja po skupinama, provedene su osnovne kemijske analize i analize sastava masnih kiselina u svakom pojedinom uzorku.

Priprema uzoraka za analizu

Reprezentativni uzorci za analizu pripremljeni su u skladu sa normom ISO 3100-1:1991. Homogenizirani su 15 sekundi pri 6000 rpm homogenizatorom Grindomix GM 200 (Retch, Njemačka) te pohranjeni u plastične posudice napunjene do vrha, kako bi se zbog manjeg kontakta sa zrakom usporili procesi kvarenja. Nakon određivanja udjela vode, isti su pohranjeni na +4 °C do određivanja ostalih kemijskih svojstava i sastava masnih kiselina.

Standardi i reagensi

Standardna otopina metilnih estera masnih kiselina (ukupno 37 masnih kiselina) koncentracije 10 mg/mL pripremljena je otapanjem standarda Supelco™ 37 Component FAME Mix (Bellefonte, Pennsylvania, SAD) u heksanu. Tako pripravljena otopina čuvana je u ledenici na -20 °C i korištena je za identifikaciju metilnih estera masnih kiselina prilikom svake analize.

Heksan i metanol korišteni u analizama sastava masnih kiselina bili su HPLC čistoće (J.T. Baker Derventer,

Nizozemska). Sve ostale kemikalije korištene u analizama bile su analitičke čistoće (Kemika, Zagreb, Hrvatska). Ultra čista voda elektrolitičke provodljivosti $\leq 0,05 \mu\text{S}/\text{cm}$ dobivena je uređajem Direct-Q 3 UV (Merck, Darmstadt, Njemačka).

Verifikacija metoda

Za verifikaciju analitičkih metoda, pri određivanju parametra istinitosti, korišten je certificirani referentni materijal (CRM) s označenim vrijednostima udjela vode, ukupnih bjelančevina i masti T0149 (FAPAS, Engleska) te za određivanje sastava masnih kiselina CRM s označenim udjelima sedam pojedinačnih masnih kiselina BCR-163 (Institute for Reference Materials and Measurements, Belgija). CRM su analizirani kroz šest analiza svakog pojedinih ispitnog parametra te su određene srednje vrijednosti uspoređivane sa certificiranim vrijednostima od strane proizvođača.

Osnovne kemijske analize

Udjel vode određivan je gravimetrijski (ISO 1442:1997) pomoću termostata Epsa 2000 (Ba-Ri, Hrvatska) pri 103 °C, a pepeo prema ISO 936:1998 spaljivanjem uzoraka pri 550 °C u mufolnoj peći LV9/11/P320 (Nobertherm, Njemačka). Udjel ukupnih bjelančevina određivan je metodom po Kjeldahl-u (HRN ISO 937:1999) uz uporabu bloka za razaranje Unit 8 Basic (Foss, Švedska) i automatiziranog uređaja za destilaciju i titraciju Kjeltec 8400 (Foss, Švedska). Ukupne masti određene su metodom po Soxhlet-u (HRN ISO 1443:1999), razlaganjem uzorka kiselinskom hidrolizom te ekstrakcijom masti petroleterom pomoću uređaja za ekstrakciju Soxtherm 2000 Automatic (Gerhardt, Njemačka) i sušenje u sušioniku Epsa 2000 (Ba-Ri, Hrvatska). Udjel ugljikohidrata određen je računskim putem, temeljem utvrđenog udjela vode, pepela, ukupnih bjelančevina i masti.

Rezultati analiza izraženi su kao srednja vrijednost dvaju paralelnih određivanja, u postotku (%) mase, sa preciznošću od 0,01%.

Priprava metilnih estera masnih kiselina

Metilni esteri masnih kiselina pripremljeni su iz ekstrahirane masti prema normi HRN EN ISO 5509:2000. Odvrgano je 100 mg ekstrahiranog uzorka masti, dodano 10 mL heksana i mućkano na HS260 control (IKA, Njemačka) do potpunog otapanja masti. Nakon toga dodano je 200 μL 2N metanolne otopine kalij hidroksida i uzorci su mućkani 30 sekundi. Uzorci su zatim centrifugirani na centrifugi 320AR (Hettich, Njemačka) 15 min na 3000 rpm i temperaturi od 15 °C, a 200 μL uzorka je filtrirano kroz PTFE filter u posudice za injektiranje.

Analiza metilnih estera masnih kiselina GC-FID metodom

Pripravljene metilni esteri masnih kiselina analizirani su plinskom kromatografijom prema normi HRN EN ISO 5508:1995 na plinskom kromatografu 7890B (Agilent Technologies, SAD) s kapilarnom kolonom HP88 dužine 100 m, promjera 0,25 mm te debljine sloja nepokretne faze 0,20 μm (Agilent Technologies, SAD), a temperaturni

program kolone je bio: početna temperatura kolone 120 °C, nakon 1 minute programirano je povećavana brzinom od 10 °C/min do 175 °C/min, uz zadržavanje 10 minuta, zatim je brzinom od 5 °C/min grijana do 210 °C, uz zadržavanje od 5 minuta, nakon toga se ponovno brzinom od 5 °C/min zagrijavala do 230 °C uz zadržavanje od 5 minuta. Uzorak (1 µL) je injektiran u *split-splitless* injektor temperature 250 °C uz omjer razdjeljenja 1:50. Plin nosioc bio je helij (99,9999%) uz konstantni protok od 2 mL/min, a komponente su detektirane plameno-ionizacijskim detektorom temperature 280 °C, uz protok vodika 40 mL/min, zraka 450 mL/min i dušika 30 mL/min.

Metilni esteri masnih kiselina identificirani su usporedbom s vremenima zadržavanja 37 metilnih estera masnih kiselina standardne smjese analizirane pri istim uvjetima. Uz uzorke i standard, pri svakoj analizi korišten je i CRM, pripremljen i analiziran na isti način kao i uzorci. Rezultat je izražen kao postotak (%) pojedine masne kiseline u odnosu na ukupno određene masne kiseline.

($p > 0,05$). S obzirom na to, za utvrđivanje razlika među skupinama u udjelu masti i masnih kiselina korišteni su One way ANOVA te Kruskal Wallis test, pri čemu su statistički značajne razlike izražene na razini vjerojatnosti od 95% ($p < 0,05$).

Rezultati i diskusija

Za potrebe ovog istraživanja korištene su ranije validirane analitičke metode. Vrijednosti utvrđene pri verifikaciji metoda kroz određivanje parametra istinitosti uspoređivane su sa kriterijima definiranim Pravilnikom o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (N.N. 2/2005) te sa kriterijima ponovljivosti definiranim u korištenim ISO normama. Rezultati određivanja parametra istinitosti prikazani su u tablici 1.

Usporedbom dobivenih rezultata sa označenim vrijednostima CRM te zadanim kriterijima iz Pravilnika (N.N. 2/2005) i kriterijima o ponovljivosti rezultata analiza definiranim normama, primijenjene metode mogu se

Tablica 1. Rezultati određivanja istinitosti analitičkih metoda

Parametar ^a	Označena vrijednost ^b (%)	Dobivena vrijednost ^c (%)
Voda	68,52–70,47	69,00±0,06
Ukupne bjelančevine	17,56–18,88	18,42±0,05
Ukupna mast	2,12–2,87	2,52±0,01
C14:0	2,29±0,04	2,38±0,03
C16:0	25,96±0,30	27,79±0,21
C16:1	2,58±0,16	2,18±0,02
C18:0	18,29±0,17	20,17±0,31
C18:1n-9c	38,30±0,40	36,54±0,31
C18:2n-6c	7,05±0,17	7,16±0,07
C18:3n-3	0,86±0,14	0,52±0,06

^a parametri osnovnog kemijskog sastava i masnih kiselina (sedam) sa označenim vrijednostima CRM;

^b označene vrijednosti dane su za CRM kao raspon (voda, bjelančevine, mast) ili kao srednja vrijednost ± mjerna nesigurnost;

^c dobivene vrijednosti izražene su kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

Statistička obrada podataka

Statistička obrada provedena je primjenom računalnog programa SPSS 20.0 (SPSS Inc., USA). Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. ShapiroWilks test proveden je da bi se utvrdilo da li rezultati analiziranih parametara imaju normalnu distribuciju

smatrati prihvatljivim za određivanje osnovnih kemijskih parametara i sastava masnih kiselina u mesnim proizvodima.

Rezultati analiza osnovnog kemijskog sastava Slavenskog kulena po danima tijekom proizvodnje odnosno zrenja prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Osnovni kemijski sastav tijekom zrenja Slavenskog kulena

Parametar	Srednja vrijednost ± SD (%)				
	1. dan	30. dan	60. dan	90. dan	120. dan
Voda	50,13±2,77 b,c,d,e	40,83±2,41 a,e	40,37±0,72 a,e	36,17±1,59 a,e	29,88±2,51 a,b,c,d
Ukupna mast	16,13±1,76 b,c,d,e	20,00±0,36 a,e	19,77±0,74 a,e	20,60±0,44 a,e	23,04±1,09 b,c,d,e
Ukupne bjelančevine	28,88±0,92 b,c,d,e	34,49±2,30 a,e	34,92±0,46 a,e	37,29±1,23 a,e	40,99±1,33 a,b,c,d
Pepeo	4,29±0,06 d,e	4,67±0,20 d,e	4,33±0,82	5,39±0,12 a,b	5,65±0,20 a,b
Ugljikohidrati	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

statistički značajne razlike ($p < 0,05$) od: ^a 1. dan, ^b 30. dan, ^c 60. dan, ^d 90. dan, ^e 120. dan;

Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) za udjel vode, ukupnih bjelančevina i masti te pepela određene su među pojedinim skupinama (1.-120. dan) tijekom procesa proizvodnje kulena. Uobičajeno, udjel vode smanjivao se tijekom procesa zrenja, a već 90. dan određene su vrijednosti udjela vode karakteristične za ovu vrstu proizvoda (<40%) odnosno općenito za proizvode iz skupine trajnih kobasica (N.N. 131/2012). Daljnjim zrenjem dolazi do dodatnog smanjenja udjela vode te je najmanji udjel vode od $29,88 \pm 2,51\%$ određen 120. dan zrenja, kada je određena i najveća količina bjelančevina ($40,99 \pm 1,33\%$). Dobiveni rezultati u skladu su sa objavljenim literaturnim podacima, koji pokazuju da se uslijed duljeg sušenja odnosno zrenja (gubitak težine do 50%) i visokog udjela krkog mesa koje se koristi u pripremi nadjeva, sadržaj vode i bjelančevina u zrelom Slavenskom kulenu na podjednakoj razini (30-40%), ukazujući na visoku hranjivu vrijednost gotovog proizvoda (Karolyi, 2011).

Također, kontinuirani porast u udjelu ukupnih masti do najvećih $23,04 \pm 1,09\%$, može se uočiti od početnog (1. dan) do 120. dana, proporcionalno sa trajanjem procesa zrenja kulena i dehidracije, odnosno kontinuiranog smanjenja udjela vode u proizvodu. Masti kao značajna komponenta u fermentiranim kobasicama imaju više funkcija, predstavljajući koncentrirani izvor energije (9 kcal/g) te izvor esencijalnih masnih kiselina i vitamina topljivih u mastima (Mela, 1990). Nadalje, doprinose punoći okusa, teksturi i mekoći, što su sve svojstva važna za kvalitetu

i prihvatljivost proizvoda (Olivares i sur., 2010). Okusu fermentiranih kobasica u velikoj mjeri doprinose upravo hidroliza i oksidacija masnih kiselina koje se događaju tijekom procesa sazrijevanja (Ordóñez i sur., 1999).

Srodne vrijednosti osnovnog sastava određene su u ranijim istraživanjima Slavenskog kulena (Kovačević i sur., 2010; Karolyi, 2011; Senčić i sur., 2013). U istraživanju Kovačević i sur. (2010), provedenom na kulenima proizvedenim od različitih proizvođača, određen je udjel masti od 15,10% do 28,84% te ukupnih bjelančevina od 26,21% do 53,03%. Pri tom su utvrđene značajne razlike u nutritivnom sastavu ovog proizvoda, odnosno neujednačenost u njegovoj kakvoći po proizvodnim domaćinstvima. Takvo variranje može se pripisati razlikama u količini dodatne leđne slanine i izboru više ili manje masnog mesa od strane pojedinih proizvođača.

Istraživanja pokazuju da sastav masnih kiselina mesa predstavlja prosječno oko 40% zasićenih (SFA), 40% jednostruko nezasićenih (MUFA) i oko 2-25% višestruko nezasićenih (PUFA) masnih kiselina, pri čemu je oleinska kiselina (C18:1) najzastupljenija jednostruko nezasićena masna kiselina svih vrsta mesa i mesnih proizvoda (Barbir i sur., 2014a; Barbir i sur., 2014b). Prosječan sastav masnih kiselina određen tijekom procesa proizvodnje Slavenskog kulena prikazan je u tablici 3. Na slici 1. prikazani su udjeli SFA, MUFA i PUFA po skupinama masnih kiselina i danima tijekom proizvodnje.

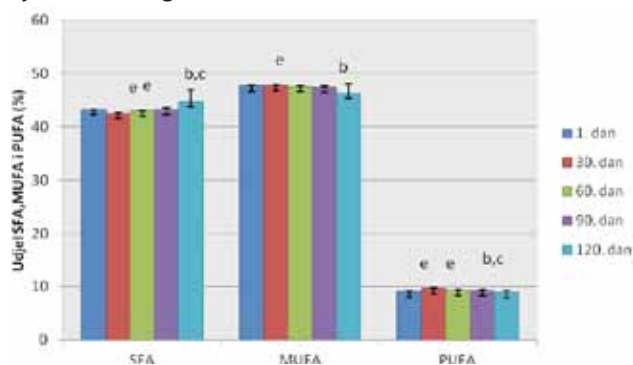
Tablica 3. Sastav masnih kiselina tijekom proizvodnje Slavenskog kulena

Masne kiseline	Udjel masnih kiselina*/Srednja vrijednost +/- SD				
	1. dan	30. dan	60. dan	90. dan	120. dan
C10:0	0,10±0,00	0,10±0,00	0,10±0,00	0,10±0,00	0,10±0,01
C12:0	0,10±0,00	0,10±0,00	0,10±0,00	0,10±0,00	0,10±0,01
C14:0	1,42±0,00	1,41±0,01	1,41±0,01	1,40±0,01	1,40±0,02
C16:0	26,53±0,02	26,09±0,10 ^e	26,35±0,07 ^e	26,45±0,17	27,22±1,03 ^{b,c}
C17:0	0,28±0,00	0,27±0,00	0,28±0,00	0,28±0,00	0,29±0,01
C18:0	14,10±0,01 ^e	13,78±0,09 ^e	14,04±0,09 ^e	14,22±0,23	14,99±1,25 ^{b,a,c}
C20:0	0,37±0,01 ^b	0,43±0,00 ^{a,c,d,e}	0,39±0,01 ^{b,e}	0,37±0,02 ^b	0,36±0,02 ^{b,c}
C16:1	2,49±0,01 ^e	2,51±0,01 ^e	2,50±0,01 ^e	2,46±0,00 ^e	2,10±0,70 ^{a,b,c,d}
C18:1n-9t	0,10±0,00 ^{d,e}	0,10±0,00 ^{d,e}	0,10±0,00 ^{d,e}	0,17±0,01 ^{a,b,c}	0,18±0,03 ^{a,b,c}
C18:1n-9c	45,19±0,11	45,16±0,03	45,14±0,00	44,70±0,20	43,92±1,74
C20:1	0,41±0,00	0,43±0,00 ^e	0,41±0,01	0,41±0,01	0,39±0,02 ^b
C22:1n-9	0,10±0,00	0,16±0,05	0,10±0,00	0,12±0,05	0,15±0,02
C18:2n-6	8,00±0,11 ^e	8,28±0,10 ^e	7,97±0,09 ^e	7,91±0,26	7,61±0,39 ^{a,b,c}
C18:3n-6	0,10±0,00 ^{b,c,d,e}	0,26±0,00 ^a	0,27±0,00 ^a	0,27±0,00 ^a	0,26±0,01 ^a
Σ n-6	8,10±0,11	8,54±0,10 ^e	8,24±0,09 ^e	8,18±0,09	7,87±0,38 ^{b,c}
C18:3n-3	1,07±0,03	1,09±0,00 ^e	1,08±0,01	1,08±0,01	1,04±0,06 ^b
Σ n-3	1,07±0,03	1,09±0,00 ^e	1,08±0,01	1,08±0,01	1,04±0,06 ^b
n-6 /n-3	7,55±0,31	7,80±0,09	7,63±0,11	7,60±0,11	7,61±0,62
PUFA/SFA	0,21±0,00 ^b	0,23±0,00 ^{a,e}	0,22±0,00 ^e	0,21±0,00	0,20±0,02 ^{b,c}
MUFA/SFA	1,10±0,00	1,12±0,01 ^e	1,11±0,00	1,10±0,00	1,04±0,08 ^b

*maseni udjel masne kiseline izražen je na ukupni udjel masnih kiselina; statistički značajne razlike ($p < 0,05$) od: ^a 1. dan, ^b 30. dan, ^c 60. dan, ^d 90. dan, ^e 120. dan
SFA=zasićene masne kiseline, MUFA=jednostruko nezasićene masne kiseline, PUFA=višestruko nezasićene masne kiseline; SFA=saturated fatty acids, MUFA=monounsaturated fatty acids, PUFA=polyunsaturated fatty acids

Iz rezultata analize sastava masnih kiselina u uzorcima kulena vidljivo je da je u najvećem udjelu prisutna oleinska kiselina (C18:1n-9c), a slijede palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0) i linolna (C18:2n-6) kiselina. Oleinska masna kiselina je općenito dominantna masna kiselina u tradicionalnim fermentiranim kobasicama od svinjskog mesa iz drugih zemalja (Casaburi i sur., 2007; Visessanguan i sur., 2006).

Slika 1. Udjel SFA, MUFA i PUFA po danima proizvodnje Slavenskog kulena



statistički značajne razlike ($p < 0,05$) od: ^a 1. dan, ^b 30. dan, ^c 60. dan, ^d 90. dan, ^e 120. dan;

SFA=zasićene masne kiseline, MUFA=jednostruko nezasićene masne kiseline, PUFA=višestruko nezasićene masne kiseline;

U ovom istraživanju utvrđena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u udjelima pojedinih masnih kiselina, kao i skupina SFA, PUFA i MUFA, po danima proizvodnje kulena. Udjel SFA blago se povećao, dok se udjel PUFA smanjio, što je u konačnici rezultiralo i najnižim PUFA/SFA omjerom 120. dana procesa proizvodnje. Po pitanju n-6 (C18:2n-6 linolna, C18:3n-6, C20:2n-6 i C20:4n-6, arahidonska) i jedine određene n-3 masne kiseline (C18:3n-3 α -linolenska) utvrđeno je neznatno smanjenje udjela.

Na kraju procesa proizvodnje Slavenskog kulena u trajanju od 120 dana, od ukupno identificiranih estera masnih kiselina na SFA otpadalo je $44,75 \pm 2,18\%$, na MUFA $46,34 \pm 1,76\%$, a na PUFA $8,9 \pm 0,43\%$. Masne kiseline iz skupine n-6 imale su udjel od $7,87 \pm 0,38\%$, a n-3 $1,04 \pm 0,06\%$ od ukupnih PUFA, uz omjer n-6/n-3 od $7,61 \pm 0,62\%$. Ujedno, određen je omjer PUFA/SFA od 0,20 i MUFA/SFA od 1,04.

Nešto veće vrijednosti omjera PUFA/SFA i MUFA/SFA određene su u uzorcima tradicionalno (0,41 i 1,27) i industrijski (0,38 i 1,25) proizvedenog Baranjskog kulena (Marušić Radović i sur., 2014). Karolyi i Čurić (2012) odredili su za Slavenski kulen srodne vrijednosti omjera skupina masnih kiselina te utvrdili da nema značajnih promjena u njihovom sastavu tijekom postupka proizvodnje, uz iznimku C22:5n-3, čiji se udio tijekom zrenja smanjio. Istraživanja promjene sastava masnih kiselina tijekom zrenja autohtonih fermentiranih kobasica od svinjskog mesa iz Italije (Moreti i sur., 2004) i Španjolske (Franco i sur., 2002) nisu pokazala statistički značajne promjene u sastavu masnih kiselina tijekom zrenja, dok je u pojedinim istraživanjima određeno smanjenje udjela PUFA i objašnjeno oksidacijom lipida (Gandemer, 2002).

Zaključak

Promjene osnovnog kemijskog sastava Slavenskog kulena tijekom pojedinih faza proizvodnog procesa (1., 30., 60., 90. i 120. dan) u skladu su s literaturnim podacima. Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u udjelima pojedinih masnih kiselina, odnosno skupinama n-6, n-3 te SFA, MUFA i PUFA, određene su u pojedinim fazama proizvodnog procesa, dok se omjer n-6/n-3 u svim fazama proizvodnje nije značajno razlikovao ($p > 0,05$). Utvrđeni omjeri masnih kiselina po skupinama općenito su karakteristični za proizvode od svinjskog mesa.

Literatura

- Babić, I., K. Markov, D. Kovačević, A. Trontel, A. Slavica, J. Đugum, D. Čvek, I. K. Svetec, S. Posavec, J. Frece (2011): Identification and characterization of potential autochthonous starter cultures from Croatian "brand" product "Slavonski kulen". *Meat Sci.* 88, 517-524.
- Barbir, T., A. Vulić, J. Pleadin (2014a): Masti i masne kiseline u hrani životinjskog podrijetla. *Vet. stanica* 2, 97-110.
- Barbir, T., J. Pleadin, S. Zrnčić, D. Oraić, A. Vulić, I. Milinović, M. Petrović (2014b): Udjel masti i sastav masnih kiselina tržišnog lubina (*Dicentrarchus labrax*) uzgojenog na području Jadrana. *Meso* 16(4), 304-310.
- Casaburi, A., M. C. Aristoy, S. Cavella, R. Di Monaco, D. Ercolini, F. Toldra, F. Villani (2007): Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallodi Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter culture. *Meat Sci.* 76, 295-307.
- Cordain, L., B. S. Eaton, A. Sebastian, N. Mannin, S. Lindeberg, B. A. Watkins, J. H. O'Keefe, J. Brand-Miller (2005): Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 81, 341-354.
- Fernandez M., H. A. Ordonez, I. Cambero, C. Santos, C. Pin, L. De la Hoz (2007): Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chem.* 101, 107-112.
- Franco I., A. Martínez, B. Prieto, J. Carballo (2002): Total and free fatty acids content during the ripening of artisan and industrially manufactured "Chorizo de cebolla". *Grasas y Aceites*, 53, 403-413
- Gandemer, G. (2002): Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Sci.* 62, 309-321.
- HRN EN ISO 5508:1995 standard. Životinjske i biljne masti i ulja - Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom.
- HRN EN ISO 5509:2000 standard. Životinjske i biljne masti i ulja - Priprava metilnih estera masnih kiselina.
- HRN ISO 937:1999 standard. Meso i mesni proizvodi - Određivanje količine dušika.
- ISO 3100-1:1991 standard. Meat and meat products - Sampling and preparation of test samples.
- ISO 1442:1997 standard. Meat and meat products - Determination of moisture content.
- ISO 1443:1999 standard. Meso i mesni proizvodi - Određivanje ukupne količine masti.
- ISO 936:1998 standard. Meat and meat products - Determination of total ash.
- Jerković, I., D. Kovačević, D. Šubarić, Z. Marijanović, K. Mastanjević, K. Suman (2010): Authentication study of volatile flavour compounds composition in Slavonian traditional dry fermented salami "kulen". *Food Chem.* 119, 813-822.
- Jiménez-Colmenero, F., J. Carballo, S. Cofrades (2001): Healthier meat and meat products: their role as functional food. *Meat Sci.* 59, 5-13.
- Karolyi, D. (2011): Fizikalno-kemijska, higijenska i organoleptička karakterizacija slavenskog kulena. *Meso* 13, 423-429.
- Karolyi, D., T. Čurić (2012): Total fatty acids composition of raw and ripe Slavonian kulen in relation to raw material used. *Acta Agri Slovenica*, Suppl 3, 231-234.
- Kovačević, D. (2001): Kemija i tehnologija mesa i ribe, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek.
- Kovačević, D. (2014): Tehnologija kulena i drugih fermentiranih kobasica. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek.
- Kovačević, D., K. Mastanjević, D. Šubarić, I. Jerković, Z. Marijanović (2010): Physico-chemical, colour and textural properties of Croatian traditional dry sausage (Slavonian Kulen). *Meso* 12, 270-275.
- Marušić Radović, N., S. Heleš, S. Vidaček, T. Jančić, T. Petrak, H. Medić (2014): Udio i stupanj oksidacije masti i sastav masnih kiselina industrijskog i tradicionalnog Baranjskog kulena. *Meso* 16, 238-243.
- Mela, D. J. (1990): The basis of dietary preference. *Trends Food Sci. Tech.* 1, 55-78.
- Moretti, V. M., G. Madonia, C. Diaferia, T. Mentasti, M. A. Paleari, S. Panseri, G. Pirone, G. Gandini (2004): Chemical and microbiological parameters and sensory attributes of a typical Sicilian salami ripened in different conditions. *Meat Sci.* 66, 845-854.

Muguerza, E., D. Ansorena, I. Astiasaran (2004): Functional dry fermented sausages manufactured with high levels of n-3 fatty acids: nutritional benefits and evaluation of oxidation. *J. Sci. Food Agric.* 84, 1061-1068.

Olivares, A., J. L. Navarro, A. Salvador, M. Flores (2010): Sensory acceptability of slow fermented sausages based on fat content and ripening time. *Meat Sci.* 86, 251-257.

Ordóñez, J. A., E. M. Hierro, J. Bruna, L. Hoz (1999): Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Crit. Rev. Food Sci.* 39, 329-367.

Pelzer, W. M., J. P. H. Linssen, A. Legger, J. H. Houben (2007): Lipid oxidation in n-3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Sci.* 75, 1-11.

Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva (NN 2/2005).

Pravilnik o mesnim proizvodima. Ministarstvo poljoprivrede (NN 131/2012)

Senčić, Đ., D. Samac, M. Škrivanko (2013): Utjecaj sustava držanja svinja na kakvoću slavenskog kulena. *Meso* 15, 448-451.

Siciliano, C., E. Belsito, R. De Marco, M. L. DiGioia, A. Leggio, A. Liguori (2013): Quantitative determination of fatty acid chain composition in pork meat products by high resolution 1H NMR spectroscopy. *Food Chem.* 136, 546-554.

Talon, R., I. Lebert, A. Lebert, S. Leroy, M. Garriga, T. Aymerich, E. H. Drosinos, E. Zanardi, A. Ianieri, M. J. Fraqueza, I. Patarata, A. Lauková (2007): Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1. Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Sci.* 77, 570-579.

Valencia, I., D. Ansorena, I. Astiasaran (2006): Nutritional and sensory properties of dry fermented sausages enriched with n-3 PUFAs. *Meat Sci.* 72, 727-733.

Valsta, L.M., H. Tapanainen, S. Mannisto (2005): Meat fats in nutrition. *Meat Sci.* 70, 525-530.

Visessanguan, W., S. Benjakul, S. Riebroy, M. Yarchai, W. Tapingkai (2006): Changes in the lipid composition and fatty acid profile of Nham, a Thai fermented pork sausage, during fermentation. *Food Chem.* 94, 580-588.

Wood, J. D., M. Enser, A. V. Fisher, G. R. Nute, P. R. Sheard, R. I. Richardson, S. I. Hughes, F. M. Whittington (2008): Fat deposition, fatty acids composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 78, 343-358.

Wood, J. D., R. I. Richardson, G. R. Nute, A. V. Fisher, M. M. Campo, E. Kasapidou, P. R. Sheard, M. Enser (2004): Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66, 21-32.

Woods, V. B., A. M. Fearon (2009): Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livestock Sci.* 126, 1-20.

Dostavljeno: 2.10.2014. Prihvaćeno: 18.11.2014.

Änderungen in der nutritiven und fett-säuerlichen Grundzusammensetzung während der Herstellung von Slavonski Kulen

Zusammenfassung

Das Ziel der Untersuchung war die Änderungen in der chemischen Grundzusammensetzung und Zusammensetzung der Fettsäuren von Slavonski Kulen während des Herstellungsprozesses zu prüfen. Während der Herstellung wurden die Kulenmuster entnommen (n=30), am 1. Tag (Rohkullen/Füllung) und während des Reifeprozesses (am 30., 60., 90. und 120. Tag). Es wurden chemische Analysen der nutritiven Grundzusammensetzung und Zusammensetzung der Fettsäuren durchgeführt. Die Änderungen der chemischen Grundzusammensetzung von Slavonski Kulen nach Phasen des Herstellungsprozesses waren im Einklang mit den Angaben aus der Literatur. In den Fertigprodukten wurde das Verhältnis n-6/n-3 der Fettsäuren von $7,61 \pm 0,62$, MUFA/SFA von $1,04 \pm 0,08$ und PUFA/SFA von $0,20 \pm 0,02$ festgestellt, welche Verhältnisse für Erzeugnisse aus Schweinefleisch charakteristisch sind. Durch die Untersuchung wurde festgestellt, dass der Fermentationsprozess und das dreimonatige Reifen von Slavonski Kulen keinen bedeutenden Einfluss ($P > 0,05$) auf das Verhältnis n-6/n-3 der Fettsäuren hat, während für andere Gruppen der Fettsäuren bzw. deren Verhältnisse in manchen Tagen während des Herstellungsprozesses statistisch bedeutende Unterschiede ($P < 0,05$) festgestellt worden sind.

Schlüsselwörter: nutritive Zusammensetzung, Zusammensetzung der Fettsäuren, Herstellung, Slavonski Kulen

Cambios en la composición básica nutritiva y la composición de ácidos grasos la producción del kulen de Eslovenia

Resumen

El objetivo de la investigación fue examinar los cambios en la básica composición química y en la composición de los ácidos grasos del kulen de Eslovenia durante el proceso de la producción. Fueron tomadas las muestras del kulen (n=30) durante la producción: 1er día (kulen crudo/relleno) y durante la maduración (los días 30, 60, 90 y 120). Fueron hechos los análisis químicos de la básica composición nutritiva y de la composición de los ácidos grasos. Los cambios de la básica composición química del kulen de Eslovenia en todas las fases de la producción eran de acuerdo con los datos en la literatura. La proporción de los ácidos grasos n-6/n-3 en los productos finales de $7,61 \pm 0,62$, MUFA/SFA de $1,04 \pm 0,08$ y PUFA/SFA de $0,20 \pm 0,02$, lo que son las proporciones de los ácidos grasos típicas para los productos de la carne de cerdo. La investigación determinó que el proceso de fermentación y la maduración de tres meses del kulen de Eslovenia no tiene un efecto significativo ($P > 0,05$) sobre la proporción n-6/n-3 de ácidos grasos, mientras para el resto de los ácidos grasos y sus proporciones fueron determinadas las diferencias estadísticamente significantes ($P < 0,05$) durante algunos días del proceso de la producción.

Palabras claves: composición nutritiva, composición de ácidos grasos, producción, kulen de Eslovenia

Modificazioni nella composizione nutrizionale essenziale e nella composizione degli acidi grassi nella produzione del kulen della Slavonia

Sunto

Questa ricerca aveva lo scopo di esaminare le modificazioni nella composizione chimica essenziale e nella composizione degli acidi grassi del kulen della Slavonia durante il suo processo di produzione. Nel corso della produzione sono stati prelevati campioni di kulen (n=30) il 1° giorno (kulen crudo/impasto) e durante il processo di stagionatura (il 30°, il 60°, il 90° ed il 120° giorno) al fine di analizzare la composizione nutrizionale essenziale e la composizione degli acidi grassi. Per quanto riguarda la composizione chimica essenziale del kulen della Slavonia per ciascuna fase del processo produttivo, sono state accertate modificazioni in sintonia con i dati disponibili in letteratura. Nei prodotti finiti è stato accertato un rapporto di acidi grassi n-6/n-3 di $7,61 \pm 0,62$, MUFA/SFA di $1,04 \pm 0,08$ e PUFA/SFA di $0,20 \pm 0,02$, valori caratteristici per i prodotti a base di carne suina. La ricerca ha evidenziato anche il fatto che il processo di fermentazione e la stagionatura di tre mesi del kulen della Slavonia non hanno incidono significativamente ($P > 0,05$) sul rapporto degli acidi grassi n-6/n-3, mentre, per quanto riguarda gli altri gruppi di acidi grassi, o meglio i loro rapporti, in singoli giorni del processo produttivo sono state registrate differenze statisticamente rilevanti ($P < 0,05$).

Parole chiave: composizione nutrizionale, composizione degli acidi grassi, produzione, kulen della Slavonia