

DOI: 10.7251/VETJ1701105S

UDK: 664.037.1/.5.037:637.5`62

Danica Savanović<sup>1</sup>, Radoslav Grujić<sup>2</sup>*Pregledni rad*

## PROMJENE PROTEINA U TOKU SMRZAVANJA I SKLADIŠTENJA MESA I PROIZVODA OD MESA

### Sažetak

Smrzavanje je jedan od najstarijih i najčešće korištenih postupaka konzervisanja mesa. Pored brojnih prednosti korištenja ovog načina konzervisanja, postupci smrzavanja mogu negativno uticati na formiranje određenih svojstava smrznutog mesa i proizvoda od mesa. Treba naglasiti da su negativni uticaji tokom smrzavanja i skladištenja mesa skoro zanemarivi u poređenju sa pozitivnim učincima.

U toku smrzavanja i skladištenja proizvoda u smrznutom stanju, u proizvodu se odvijaju različite hemijske promjene sastojaka, koje dovode do destabilizacije proteinskih gelova i emulzija i povećanog otpuštanja vode iz proizvoda tokom odmrzavanja.

Najznačajnije promjene proteina u toku smrzavanja i skladištenja smrznutih proizvoda su denaturacija, oksidacija, kao i modifikacija aminokiselinskog lanca, formiranje proteinskih polimera, smanjenje rastvorljivosti proteina, povećanje proteolitičke aktivnosti, agregacija ili fragmentacija proteina, povećanje koncentracije karbonila. Navedene promjene povezane su sa smanjenjem funkcionalnih svojstava proteina i smanjenjem kvaliteta mesa i proizvoda od mesa nakon odmrzavanja.

U ovom radu je analizirana literatura sa ciljem da se sistematizuje znanje o promjenama proteina koje se dešavaju tokom smrzavanja i skladištenja mesa i proizvoda od mesa u smrznutom stanju i da se najnovije informacije iz ove oblasti prikažu stručnjacima u naučnim institucijama i praksi.

**Ključne riječi:** *proteini, prehrambeni proizvodi, smrzavanje, skladištenje*

<sup>1</sup> Univerzitet u Banjoj Luci, Tehnološki fakultet Banja Luka

<sup>2</sup> Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Tehnološki fakultet Zvornik

DOI: 10.7251/VETJ1701105S

UDK: 664.037.1/.5.037:637.5`62

Danica Savanovic<sup>1</sup>, Radoslav Grujic<sup>2</sup>*Review paper*

## PROTEIN CHANGES DURING THE FREEZING AND STORAGE OF MEAT AND MEAT PRODUCTS

### Abstract

Freezing is one of the oldest and most widely used meat preservation methods. Beside to the many advantages of using this preservation method, freezing processes can negatively affect the formation of certain properties of frozen meat and meat products. It should be emphasized that negative impacts during freezing and storing meat are almost negligible compared to positive effects.

During freezing and storage of frozen product, different chemical changes are carried out in the product, which results in destabilization of protein gels and emulsions and increased release of water from the product during thawing.

The most significant changes in protein during freezing and storage of frozen products are denaturation, oxidation, as well as amino acid modification, protein polymers formation, protein solubilization, increased proteolytic activity, aggregation or protein fragmentation, increased carbonyl concentration. These changes are associated with reduced functional protein properties and reduced product quality after thawing.

This paper analyzes available literature to systematize knowledge about protein changes occurring during freezing and storage of frozen meat and meat products and to present the latest information from this area to experts in scientific institutions and practices.

**Key words:** *proteins, food products, freezing, storage*

### UVOD

Proteini predstavljaju osnovne sastojke u strukturi ćelija i tkiva biljnih i životinjskih organizama. Oni učestvuju u

mnogim za život važnim procesima. Imaju strukturnu, katalitičku, zaštitnu, transportnu, energetska i nasljednu funkciju (Pribiš, 1999), te praktično učestvuju u svim biohemijskim procesima koji

<sup>1</sup> University of Banja Luka, Faculty of Technology Banja Luka

<sup>2</sup> University of East Sarajevo, Faculty of Technology Zvornik

se odvijaju u ćelijama i tkivima (Štajner i Kevrešan, 2014). U svakoj ćeliji se nalazi više hiljada različitih proteina. U prehrambenim proizvodima proteini imaju značajna funkcionalna svojstva, kao što su emulgovanje, želiranje, ugušćivanje, pjenjenje, sposobnost vezanja vode i dr. Proučavanjem promjena koje se dešavaju u prehrambenim proizvodima tokom obrade sirovina na sniženim temperaturama, uočeno je da kvalitet i fizičko-hemijske osobine prehrambenih proizvoda značajno zavise od promjena koje se dešavaju na proteinima (Šamšalović, 1994).

U toku smrzavanja prehrambenih proizvoda i njihovog skladištenja u smrznutom stanju, u proizvodima se odvijaju različite hemijske reakcije, koje uzrokuju promjene sastojaka hrane. Smanjenje količine vode u tečnom stanju i povećanje koncentracije elektrolita tokom smrzavanja može dovesti do promjene strukture proteina. Poznato je da sposobnost biljnih i životinjskih tkiva da vežu vodu kao i sposobnost resorpcije vode tokom odmrzavanja zavisi od stanja proteina (Chan i sar., 2011; Wang i sar., 2013). Ako u toku smrzavanja i skladištenja proizvoda u smrznutom stanju dođe do promjene stanja proteina, tokom odmrzavanja tkivo nema sposobnost da apsorbuje svu količinu vode koja nastaje prilikom odmrzavanja kristala leda, što dovodi do neželjenog oslobađanja određene količine vode iz proizvoda i promjene izgleda i teksture proizvoda (Nesvadba, 2008).

U smrznutim proizvodima interakcije između proteina i vode se smanjuju, a intenziviraju se međusobne interakcije između proteina što dovodi do promje-

ne stanja proteina u prehrambenim proizvodima (Blond i Le Meste, 2004). Faktori koji utiču na promjenu mesa i proizvoda od mesa u toku skladištenja smrzavanjem su: brzina formiranja leda i rekristalizacija, dehidratacija, koncentracija soli, jonska sila, procesi oksidacije, promjene lipida i oslobađanje određenih ćelijskih metabolita (Zaritzky, 2008). Coggins i Chamul (2004) navode da su najznačajnije fizičko-hemijske promjene koje se javljaju tokom skladištenja smrznute hrane: oksidacija lipida, denaturacija proteina, diskoloracija proizvoda, sublimacija leda i rekristalizacija kristala leda.

## DENATURACIJA PROTEINA

Nativna konformacija proteina predstavlja ravnotežu između interakcija koje se dešavaju u unutrašnjosti molekule proteina i interakcija proteina sa okolnom sredinom. Pod uticajem različitih fizičko-hemijskih agenasa može doći do narušavanja trodimenzionalne strukture i odmotavanja lanca proteina. Ova pojava je poznata kao denaturacija proteina. Ona može biti izazvana djelovanjem visokih ili niskih temperatura, zračenja, mehaničkih faktora ili djelovanjem soli teških metala, jakih kiselina i baza (Štajner i Kevrešan, 2014). Blond i Le Meste (2004) i Štajner i Kevrešan (2014) smatraju da promjene koje se dešavaju tokom smrzavanja prehrambenih proizvoda, kao što su povećanje koncentracije rastvorenih supstanci, uključujući soli i organske molekule, kao i promjene jonske sile i pH vrijednosti u preostaloj nesmrznutoj vodenoj fazi, dovode do denaturacije i drugih promjena proteina (agregacija i precipitacija).

Zaritzky (2000) denaturaciju proteina tokom smrzavanja povezuje sa formiranjem kristala leda, dehidracijom proizvoda i povećanjem koncentracije rastvorenih supstanci. On smatra da je dehidracija tkiva, uzrokovana formiranjem leda, važan faktor koji tokom smrzavanja vodi ka denaturaciji proteina. Na površini nativnih molekula proteina, koji su rastvoreni u vodenom mediju bioloških tkiva, nalaze se polarne grupe, dok su u unutrašnjosti proteina gusto raspoređene hidrofobne grupe. Oni ne stvaraju veze sa vodom i utiču na stabilnost molekule proteina u vodenim rastvorima. Tokom ekstracelularnog smrzavanja mesa dolazi do migracije molekula vode iz unutrašnjosti tkiva u međucelijske prostore, što dovodi do dehidracije i remećenja ranije uspostavljenog odnosa između proteina i vode iz rastvora. Tom prilikom dolazi do narušavanja konformacije na površini molekula proteina. U cilju održanja minimalne slobodne energije, uspostavljaju se određene interakcije između molekula proteina (protein–protein interakcije). One uglavnom imaju hidrofobni i jonski karakter. Interakcije ove vrste dovode do denaturacije proteina i formiranja proteinskih agregata (Zaritzky, 2000; Piedmonte i sar., 2007; Sun-Waterhouse i sar., 2014). Osim toga, tokom smrzavanja na proteine djeluju visoke koncentracije soli koje su zaostale u nesmrzutoj fazi. Visoka jonska sila može nadvladati postojeće elektrostatičke veze, što utiče na promjenu nativne strukture proteina (Zaritzky, 2000).

Na promjenu fizičkih i hemijskih svojstava mesa i promjenu stanja proteina to-

kom smrzavanja mogu uticati interakcije proteina sa drugim sastojcima mesa. Značajan uticaj ima djelovanje određenih enzima (Lim i sar., 2004). Oksidativni procesi tokom skladištenja smrznutih proizvoda, takođe, mogu doprinijeti denaturaciji proteina (Zaritzky, 2000). Oksidacija lipida tokom smrzavanja ima visoku korelaciju sa denaturacijom proteina. Sarma i sar. (2000) navode da su procesi oksidacije i hidrolize lipida tokom 12 sedmica skladištenja mesa sardine na -20 °C bili povezani sa smanjenjem rastvorljivosti i sposobnosti emulgovanja proteina, relativne viskoznosti rastvorljivih proteinskih ekstrakata i sposobnosti vezivanja vode, te povećanjem kala toplotne obrade.

Mnogi enzimi su aktivni i na niskim temperaturama koje se koriste za skladištenje mesa u smrznutom stanju. Oni mogu uticati na smanjenje kvaliteta smrznutih proizvoda. Visoke koncentracije sastojaka u nesmrzutoj fazi olakšavaju kontakt između enzima i substrata. Osim toga, moguće je da tokom smrzavanja/odmrzavanja dođe do ubrzanja enzimskih reakcija zbog oštećenja ćelijskih membrana (Blond i Le Meste, 2004). Enzimski procesi koji utiču na promjenu strukture molekula proteina odvijaju se brže kod sporih postupaka smrzavanja. Do maksimalnog denaturisanja proteina dolazi tokom smrzavanja mesa na temperaturama između -2 °C i -3 °C, što je posljedica kombinovanog djelovanja uslova sredine i povećanja koncentracije supstanci, do čega dolazi zbog prelaska tečne vode u led. Nesvadba (2008) je utvrdio da smanjenje količine vode u tečnom stanju

i povećanje koncentracije elektrolita tokom smrzavanja ribe i mesa vodi ka agregaciji i denaturaciji aktomiozina.

Lim i sar. (2004) navode da na denaturaciju proteina tokom smrzavanja i skladištenja mesa mogu uticati i drugi faktori (način rukovanja i obrade prije smrzavanja, temperatura skladištenja i brzina smrzavanja). Kinetika denaturacije proteina zavisi od faktora vezanih za temperature smrzavanja. Na temperaturama blizu tačke smrzavanja, denaturacija se odvija vrlo brzo. Magnussen i sar. (2008) navode da je za mnoge proteine kritična temperatura denaturacije između  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  i  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Kod nižih temperatura smrzavanja i skladištenja stepen denaturacije proteina je niži nego kod mesa koje se skladišti na temperaturama blizu tačke smrzavanja. Na stabilnost proteina utiče brzina smrzavanja. U principu, brže smrzavanje uzrokuje manja oštećenja tkiva, jer se formiraju mali kristali leda. Fluktuirajuće temperature tokom skladištenja proizvoda u smrznutom stanju mogu dovesti do rasta kristala leda a neki autori smatraju (Lim i sar., 2004) da temperatura skladištenja ima veći uticaj na denaturaciju proteina od brzine smrzavanja.

Stepen denaturacije i inaktivacije enzima mogu biti pokazatelji denaturacije proteina u prehrambenim proizvodima (Blond i Le Meste, 2004). Svako narušavanje primarne, sekundarne, tercijarne ili kvaterne strukture enzima predstavlja denaturaciju istog i gubitak dijela ili cjelokupne katalitičke sposobnosti enzima.

Denaturacija utiče na promjenu funkcionalnih osobina proteina (smanjenje

rastvorljivosti, promjena sposobnosti vezivanja vode, gubitak biološke i enzimske aktivnosti i dr). Gubitak funkcionalnih svojstava proteina u nauci o mesu i u praksi se najčešće analizira poređenjem sposobnosti vezivanja vode (SVV), sposobnosti želiranja i emulgovanja i mogućnosti stvaranja pjene. Denaturacija i gubitak funkcionalnih svojstava proteina koji nastaju tokom smrzavanja mesa utiču na povećanje kalam smrzavanja. Osim toga, denaturisani proteini se lakše hidrolizuju, jer je usljed promjene konformacije polipeptidnih lanaca omogućen nesmetan pristup enzimima (Blond i Le Meste, 2004).

Denaturacija proteina tokom smrzavanja i skladištenja mesa u smrznutom stanju može se pratiti mjerenjem promjene hidrofobnosti na površini proteina, sastava aminokiselina, konformacijske stabilnosti, rastvorljivosti, agregacije i aktivnosti enzima (Totosaus, 2004).

## OKSIDACIJA PROTEINA

Reakcija oksidacije proteina je definirana kao modifikacija kovalentnih veza u molekulama, koja je izazvana reakcijom proteina sa reaktivnim jedinjenjima kiseonika ili azota, te reakcijom proteina sa sekundarnim proizvodima oksidacije (Vossen i sar., 2015). Oštećenja proteina izazvana oksidacijom pod uticajem slobodnih radikala, obuhvataju seriju različitih promjena na molekulima proteina (Lund i sar., 2011). Procesi oksidacije u toku smrzavanja i skladištenja mesa u smrznutom stanju, takođe, mogu doprinijeti denaturaciji proteina. Naime, oksidansi mogu reagovati sa proteinima, pri

čemu dolazi do promjene hemijskog stanja proteina. Soyer i sar. (2010) i Wang i sar. (2013) su naveli niz promjena na molekulima proteina koje su izazvane oksidacijom: modifikacija aminokiselinskog lanca, formiranje proteinskih polimera, smanjenje rastvorljivosti proteina, povećanje proteolitičke aktivnosti, agregacija ili fragmentacija proteina, povećanje koncentracije karbonila i sl. Navedeni procesi su obično povezani sa smanjenjem funkcionalnih svojstava proteina, što dovodi do destabilizacije gelova i emulzija i povećanog otpuštanja vode iz proizvoda tokom odmrzavanja (Soyer i sar., 2010). Oksidacija proteina se objašnjava mehanizmom lančanih reakcija u kojima učestvuju slobodni radikali. Slobodni radikali oksiduju proteine ili pojedine aminokiseline. Soyer i sar. (2010) navode da se tokom skladištenja smrznutog pilećeg mesa procesi oksidacije lipida i proteina odvijaju istovremeno.

Oksidacijom proteina mogu nastati različite supstance. Koji proizvod oksidacije će nastati zavisi od vrste aminokiselina koje su uključene u proces oksidacije, kao i od načina iniciranja procesa (Lund i sar., 2011). Oksidativnim razlaganjem proteina obrazuju se peptidi čije su N-terminalne aminokiseline blokirane  $\alpha$ -ketoacilnim proizvodima. Oksidacijom lizina, arginina, prolina i treonina mogu nastati karbonilni derivati. Reakcijom karbonilne grupe iz aminokiselina mogu nastati aldehidi (malondialdehid) i ketoni (ketoamini i ketoaldehidi). Nastali proizvodi su štetni jer mogu promijeniti konformaciju proteina, što se odražava na njihova funkcionalna svojstva (Stevanović i sar., 2012; Dalle-Donne i sar., 2003).

Oksidacija proteina može se povezati sa bilo kojim prooksidativnim faktorom (na primjer, proizvodi oksidacije lipida, slobodni radikali, hem pigmenti i oksidativni enzimi). Reakcijom između proizvoda oksidacije lipida (malonaldehida) i proteina nastaju karbonili (aldehidi i ketoni), što ukazuje na povezanost procesa oksidacije lipida i oksidacije proteina (Akhtar i sar., 2013). Procesi oksidacije proteina u mesu mogu dovesti do smanjenja kvaliteta mesa. Najuočljivije promjene se odnose na senzorna svojstva (tekstura, ukus, miris i boja proizvoda). Navedene promjene nastaju pod uticajem jakih oksidacionih sredstava. Tokom procesa oksidacije nastaju kovalentne i nekovalentne veze i formiraju se proteinski agregati. Ostale promjene na proteinima, koje su uzrokovane oksidacijom, obuhvataju: destrukciju aminokiselina, odvijanje proteinskog lanca, povećanje površinske hidrofobnosti, fragmentaciju i unakrsno povezivanje proteina. Krajnji proizvodi navedenih reakcija su različiti aldehidi i ketoni (Estévez, 2011; Leygonie i sar., 2012; Falowo i sar., 2014).

Usljed oksidacije aminokiselina koje sadrže sumpor (metionin i cistein), dolazi do umrežavanja polipeptidnih lanaca disulfidnim mostovima ili nastanka drugih sumpornih jedinjenja. Oksidacija tiolne grupe uzrokuje niz složenih reakcija koje rezultiraju formiranjem različitih proizvoda oksidacije i stvaranjem disulfidnih veza (Lund i sar., 2011).

Xia i sar. (2012) naglašavaju uticaj više ciklusa smrzavanja–odmrzavanja na oksidaciju proteina i na gubitke tokom odmrzavanja i kuvanja kao rezultat smanje-

nja SVV svinjskog mesa. Osim toga, oksidativne promjene proteina mogu dovesti do gubitka esencijalnih aminokiselina i smanjenja probavljivosti što utiče na nutritivni kvalitet mesa (Lund i sar., 2011).

Soyer i sar. (2010) su ispitali uticaj temperature smrzavanja i trajanja smrznutog skladištenja na oksidaciju lipida i proteina u pilećem batak i pilećim grudima. Meso je smrznuto na tri različite temperature (-7 °C, -12 °C i -18 °C), a zatim skladišteno na temperaturi od -18 °C do 6 mjeseci. Dobijeni rezultati jasno pokazuju da dužina trajanja skladištenja smrznutog pilećeg mesa (batak i grudi) ima značajan uticaj na oksidaciju proteina u pilećem mesu.

### **UTICAJ SMRZAVANJA NA MIOFIBRILARNE PROTEINE MESA**

Miozin i aktin, kao glavni kontraktivni proteini u mesu, značajni su za formiranje funkcionalnih svojstava mesa. Tokom smrzavanja nastaju agregacijske reakcije miozina, a posljedica toga jeste povećanje tvrdoće mesa i gubitak sposobnosti vezanja vode. Stabilnost i održivost mesa različitih životinjskih vrsta tokom skladištenja u smrznutom stanju, mogu se pripisati svojstvima miofibrilarnih vlakana.

Obim promjena u ultrastrukтури proteina mesa zavisi od načina smrzavanja. Sporo smrzavanje uzrokuje veći gubitak vode pri odmrzavanju i izraženije smanjenje sposobnosti vezanja vode nego brzo smrzavanje. Osim toga, pri sporom smrzavanju dolazi do intenzivnijih proteolitičkih promjena i povećanja aktivnosti adenozin-trifosfataze miofibrilarnih

proteina (Jagica i sar., 2007). Smrzavanje mesa dovodi do malih, ali vidljivih promjena senzornih svojstava mesa.

Denaturacija proteina može biti posljedica procesa formiranja kristala leda i porasta koncentracije soli u mesu (Leygonie i sar., 2012). Tokom denaturacije proteina u mesu, dolazi do smanjenja količine rastvorljivih proteina i slobodnih SH-grupa u mesu (Chan i sar., 2011, Wu i sar., 2014). Denaturacija proteina se uglavnom odnosi na miozin i aktin kao glavne miofibrilarne proteine. Zbog denaturacije, posebno tokom sporih postupaka smrzavanja, dolazi do cijepanja aktinskih i miozinskih veza. Osim toga, tokom smrzavanja mesa dolazi do promjene sarkoplazmatskih proteina, albumina i globulina, kada oni postaju nerastvorljivi. Ovakva promjena je ireverzibilna, čak i kada se meso odmrzne (Sučić i sur., 2010).

Smrzavanje i odmrzavanje uzrokuju oštećenja ultrastrukture mesa, pri čemu se iz mitohondrija i lizozoma oslobađaju različiti enzimi, željezo iz hema i druge supstance, koje mogu djelovati prooksidativno i čije prisustvo može uticati na povećanje stepena oksidacije proteina. Lizin, treonin i arginin su aminokiseline koje su najčešće uključene u ove reakcije. Procesi oksidacije navedenih aminokiselina mogu uzrokovati polimerizaciju proteina ili kidanje proteinskih lanaca (Leygonie i sar., 2012). Ove aminokiseline se uglavnom nalaze u miofibrilarnim proteinima, koji čine 55–65% od ukupne količine proteina mišića i odgovorni su za većinu fizičko-hemijskih svojstva mesa.

Procesi oksidacije proteina destabilizuju proteine mesa i dovode do smanjenja sposobnosti vezivanja vode, smanjenja rastvorljivosti proteina u vodi usljed čega meso postaje žilavo (Akhtar i sar., 2013). Oksidacija miofibrilarnih proteina dovodi do agregacije i koagulacije miozina i aktina, i smanjenja međucelijskih prostora, zbog čega je sposobnost vezivanja vode smanjena. Smanjenje međucelijskih prostora uzrokuje povećanje ekstracelularnog prostora, čime se smanjuje intenzitet kapilarnih sila koje djeluju u pravcu zadržavanja vode u međucelijskim prostorima. I druge oksidativne promjene proteina utiču na smanjenje sposobnosti vezivanja vode i dovode do povećanja količine otpuštene vode (kala) (Leygonie i sar., 2012).

Tokom skladištenja mesa i proizvoda od mesa u smrznutom stanju dolazi do agregacije miofibrilarnih proteina koji se najvjerojatnije povezuju sekundarnim interakcijama i disulfidnim vezama. Usljed tendencije povećanja veličine i broja ovih agregata, proteini manje ili više gube sposobnost vezivanja vode (Blond i Le Meste, 2004). Ovo smanjenje se javlja tokom smrzavanja, jer su grupe voda-proteini zamijenjene protein-protein grupama ili drugim vezama (Zaritzky, 2000). Smatra se da su miofibrilarni proteini (uglavnom miozin i aktomiozin) najviše podložni denaturaciji, dok su sarkoplazmatični proteini nešto stabilniji (Lim i sar., 2004).

Glava molekule miozina (HMM-S1; Heavy meromyosin) je segment miozina koji je najosjetljiviji na denaturaciju to-

kom smrzavanja i skladištenja. Ostali dijelovi molekule miozina, i proteini tankih filamenata (prije svega, aktin), takodje su podložni reakciji denaturacije. Denaturacija miofibrilarnih proteina tokom smrzavanja, prije svega se može pripisati procesima odvijanja molekule miozina i okretanje hidrofobnih grupa ka površini molekule. To izaziva agregaciju proteina tokom skladištenja. Tokom smrzavanja (posebno pri sporom smrzavanju) pored denaturacije glave miozina, dolazi do smanjenja međusobnog afiniteta miozina i aktina. Denaturacija glave miozina postepeno se nastavlja i tokom skladištenja. Tokom skladištenja dolazi do denaturacije repa miozina, dok proteini tankih miofilamenata ostaju nepromijenjeni (Zaritzky, 2000).

Rosmini i sar. (2004) navode da sporo smrzavanje ima veći denaturišući uticaj na miofibrilarne proteine, jer duže izlaganje nepovoljnim pH vrijednostima i visokoj koncentraciji soli uzrokuje veću denaturaciju proteina, smanjenje sposobnosti vezivanja vode, kao i veliku količinu otpuštene tečnosti. Mehanička oštećenja mišićnih vlakana uzrokovana nastankom velikih kristala leda tokom sporog smrzavanja, doprinose navedenim promjenama.

Smatra se da tokom procesa smrzavanja najveći uticaj na denaturaciju miofibrilarnih proteina imaju sporo smrzavanje i dugotrajno skladištenja na višim temperaturama (Perez-Chabela i Mateo – Oyague, 2004), međutim, mehanizmi denaturacije proteina i druge promjene u smrznutom mesu, kao i njihov stvarni uticaj na kvalitet mesa još uvijek nisu u



potpunosti razjašnjeni. U literaturi se navodi da su sarkoplazmatski proteini (uključujući i mioglobin) podložniji denaturaciji na niskim temperaturama smrzavanja i skladištenja nego miofibrilarni proteini (Perez-Alvarez i sar., 2004).

## **PROMJENE SENZORNIH OSOBINA SMRZNUTOG MESA I PROIZVODA OD MESA POVEZANE SA PROTEINIMA**

Aromatske materije u mesu i proizvodu od mesa nastaju sinergističkim djelovanjem komponenti nosioca mirisa i ukusa. Miris i ukus proizvoda određuju hemijski spojevi različite strukture, kao što su ugljeni hidrati, aminokiseline, proteini, lipidi, kiseline, soli i drugi spojevi prisutni u hrani (Ponce-Alquicira, 2004).

Kako navodi Ponce-Alquicira (2004) promjene ukusa mesa i proizvoda od mesa mogu biti izazvane različitim reakcijama proteina i aromatskih jedinjenja (*van der Valsove* interakcije, kovalentne ili elektrostatičke veze proteina sa solima, amidima, estrima i reakcije kondenzacije aldehida sa  $\text{NH}_2$ - i SH- grupama proteina). Specifična distribucija i položaj hidrofilnih i hidrofobnih grupa u molekuli proteinima određuju oblik i funkcionalnost proteina i način vezivanja isparljivih aromatskih spojeva. Ove promjene na proteinima mogu biti uzrok promjene senzornih svojstava proizvoda, a prije svega ukusa, mirisa i arome (Ponce-Alquicira, 2004).

U formiranju ukusa i arome termički obrađenih proizvoda od mesa značajnu ulogu imaju sumporna jedinjenja (Yu

i sar., 2012; Jayasena i sar., 2013). Ireverzibilno vezivanje ovih spojeva u proizvodima dovodi do smanjenja njihove koncentracije, što se manifestuje promjenom percepcije ukusa hrane. Adams i sar. (2001) navode da denaturisani proteini ireverzibilno vežu aromatična sumporna jedinjenja interakcijama sulfhidrilnih grupa proteina i disulfida, pri čemu su disulfidi, koji sadrže alil ili furfuralne grupe, mnogo reaktivniji nego zasićeni alkil disulfidi. Isti autori navode da reakcije između disulfida aromatskih jedinjenja i proteina albumina rezultiraju gubitkom disulfida i formiranjem slobodnih tiola.

Slobodne masne kiseline, nastale hidrolizom masti, mogu reagovati sa proteinima, što dovodi do smanjenja rastvorljivosti proteina (Ponce-Alquicira, 2004). Osim toga, slobodni radikali nastali oksidacijom masti, mogu privući vodonik iz sulfhidrilne (SH-) grupe formirajući protein-slobodne radikale, koji u interakciji s drugim proteinima ili lipidima formiraju protein-protein ili protein-lipid agregate (Ponce-Alquicira, 2004). Pored toga, produkti sekundarne oksidacije lipida kao što su malonaldehid, propanal i hexanal mogu formirati kovalentne veze sa bočnim lancima aminokiselina histidina, metionina, cisteina i lizina. Ove interakcije povećavaju hidrofobnost proteina i mogu smanjiti sposobnost proteina da vežu aromatične supstance (Ponce-Alquicira, 2004).

Međutim, bez obzira na mnoge prednosti, smrzavanje može uticati na razvoj određenih nepovoljnih promjena u kvalitetu proizvoda. Pretvaranje velike količi-

ne vode u led, uz istovremeni porast koncentracije rastvorenih supstanci i povećanje jonske sile u nesmrzutoj fazi, uzrokuje promjenu strukture tkiva, djelimičnu denaturaciju proteina, smanjenje njihove rastvorljivosti i smanjenje sposobnosti želiranja (Coggins i Chamul, 2004). Denaturisani proteini gube sposobnost vezivanja vode što tokom odmrzavanja proizvoda dovodi do otpuštanja velike količine tečnosti. Pored velikih ekonomskih gubitaka, to uzrokuje formiranje nepoželjnih senzornih karakteristika proizvoda. Ove promjene se prije svega odnose na izgled proizvoda (Coggins i Chamul, 2004). Procesi oksidacije tokom skladištenja mesa su povezani sa promjenom boje mesa (Blond i Le Meste, 2004).

Senzorna svojstva, a naročito tekstura mesa, nakon odmrzavanja zavise prvenstveno od promjene miofibrilarnih proteina i proteina vezivnog tkiva (denaturacija, umrežavanje, povezivanje proteina sa slobodnim masnim kiselinama ili produktima autooksidacije lipida i sl.). Te promjene utiču na funkcionalna svojstva proteina (SVV, viskoznost, želiranje, emulgovanje, pjenjenje i mućenje) tokom procesa smrzavanja i odmrzavanja (Perez-Chabela i Mateo-Oyague, 2004). Tokom smrzavanja proteini mesa su podložni denaturaciji i gube svoja funkcionalna svojstva (Gonzalez-Mendez i sar., 2004). Rowe i sar. (2004) navode da usljed oksidacije sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina 24 h *post mortem* dolazi do smanjenja nježnosti govedeg mesa.

Huff-Lonergan i Lonergan (2005) navode da smanjena proteolitička aktiv-

nost enzima i umrežavanje proteina mesa mogu negativno uticati na sposobnost vezivanja vode i sočnost mesa. Rekristalizacija leda tokom skladištenja proizvoda u smrznutom stanju, faktor je koji dodatno podstiče denaturaciju proteina, promjenu teksture i smanjenje SVV mesa. Više temperature, a posebno fluktuacija temperature, utiču negativno na promjenu teksture. Način odmrzavanja takođe može uticati na teksturu proizvoda nakon odmrzavanja (Kerr, 2004).

Posljedice oksidacije proteina mesa se povezuju sa promjenama rastvorljivosti i funkcionalnosti proteina kao što su svojstva želiranja, emulgovanja i sposobnosti vezivanja vode (Lund i sar., 2011). Smanjenje SVV mesa usljed oksidacije proteina mesa uzrokuje gubitak mase tokom termičke obrade, što može dovesti do smanjenja sočnosti mesa.

## ZAKLJUČAK

Smrzavanje mesa, kao metoda konzerviranja, ima brojne prednosti u očuvanju svojstava mesa. Poređenjem sa ostalim postupcima konzerviranja, smrzavanje omogućava da se najbolje očuvaju nutritivno vrijedni sastojci mesa. Međutim, istraživanja posljednjih decenija su pokazala da se ipak u toku smrzavanja dešavaju određene promjene u strukturi mesa i, kao posljedica toga, dolazi do promjene svojstava smrznutog mesa i proizvoda od mesa.

Najznačajnije promjene proteina u toku smrzavanja i skladištenja smrznutog mesa su denaturacija, oksidacija, modifikacija aminokiselinskog lanca, formiranje

proteinskih polimera, smanjenje rastvorljivosti proteina, povećanje proteolitičke aktivnosti, agregacija ili fragmentacija proteina kao i povećanje koncentracije karbonila. Navedene promjene uzrokuju smanjenje funkcionalnih svojstava proteina i utiču na smanjenje kvaliteta mesa nakon odmrzavanja.

## LITERATURA

- Adams R. L., Mottram D. S., Parker J. K., Brown H. M. (2001): Flavor-protein binding: disulfide interchange reactions between ovalbumin and volatile disulfides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4333–4336.
- Akhtar S., Khan M. I., Faiz F. (2013): Effect of Thawing on Frozen Meat Quality: A comprehensive Review. *Pakistan Journal of Food Sciences* 23: 198–211.
- Blond G., Le Meste M. (2004): Principles of Frozen Storage. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*: 25–53.
- Chan J. T.Y., Omana D. A., Betti M. (2011): Effect of ultimate pH and freezing on the biochemical properties of proteins in turkey breast meat. *Food Chemistry* 127: 109–117.
- Coggins P.C., Chamul R. S. (2004): Food Sensory Attributes. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R. (2003): Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta* 329: 23–38.
- Devappa R. K., Makkar H. P. S., Becker K. (2010): Nutritional, Biochemical, and Pharmaceutical Potential of Proteins and Peptides from *Jatropha*: Review. *J. Agric. Food Chemistry* 58: 6543–6555.
- Estévez M. (2011): Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science* 89: 259–279.
- Falowo A.B., Fayemi P.O., Muchenje V. (2014): Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International* 64:171–181.
- Gonzalez-Mendez N. F., Aleman-Escobedo J. F., Zamorano-Garcia L., Camou-Arriola J. P. (2004): Frozen Muscle Foods: Principles, Quality, and Shelf Life. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
- Huff-Lonergan E., Lonergan S. M. (2005): Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science* 71: 194–204.
- Jagica M., Zdolec N., Cvrtila Ž., Filipović I., Hadžiosmanović M., Kozačinski L. (2007): Kakvoća smrznutog mesa peradi. *Meso, Vol. IX, br. 5*
- Jašić M. (2007): Tehnologija voća i povrća, Tehnološki fakultet Tuzla.
- Jayasena D. D., Ahn D. U., Nam K. C., Jo C. (2013): Flavour Chemistry of Chicken Meat: A Review. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 26:732–742.
- Kerr W. L. (2004): Texture in Frozen Foods. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.

16. Leygonie C., Britz T.J., Hoffman L.C. (2012): Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science* 91: 93–98.
17. Lim M. H., McFetridge J. E., Liesebach J. (2004): Frozen Food Components and Chemical Reactions. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
18. Lund M. N., Heinonen M., Baron C. P., Estevez M. (2011): Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition & Food Research* 55: 83–95.
19. Magnussen O. M., Hemmingsen A. K.T., Hardarsson V., Nordtvedt T. S., Eikevik T. M. (2008): Freezing of Fish. In: Evans J. (ed). *Frozen Food Science and Technology*.
20. Mezziani S., Jasniewski J., Ribotta P., Arab-Tehrany E., Muller J.-M., Ghoul M., Desobry S. (2012a): Influence of yeast and frozen storage on rheological, structural and microbial quality of frozen sweet dough. *Journal of Food Engineering* 109: 538–544.
21. Mezziani S., Kaci M., Jacquot M., Jasniewski J., Ribotta P., Muller J.-M., Ghoul M., Desobry S. (2012b): Effect of freezing treatments and yeast amount on sensory and physical properties of sweet bakery products. *Journal of Food Engineering* 111: 336–342.
22. Nesvadba P. (2008): Thermal Properties and Ice Crystal Development in Frozen Foods. In: Evans J. (ed). *Frozen Food Science and Technology*: 1–25.
23. Piedmonte D.M., Summers C., McAuley A., Karamujic L., Ratnaswam G. (2007): Sorbitol Crystallization Can Lead to Protein Aggregation in Frozen Protein Formulations. *Pharmaceutical Research*, 24(1).
24. Perez-Alvarez J.A., Fernandez-Lopez J., Rosmini M.R. (2004): Chemical and Physical Aspects of Color in Frozen Muscle-Based Foods, In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
25. Perez-Chabela M.L., Mateo – Oyague J. (2004): Frozen Meat: Quality and Shelf Life. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
26. Ponce-Alquicira E. (2004): Flavor of Frozen Foods. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
27. Pribiš V. (1999): *Nutritivne osobine hrane*, Novi Sad, Tehnološki fakultet, Univerzitetski udžbenik.
28. Rosmini M.R., Perez-Alvarez J.A., Fernandez-Lopez J. (2004): Operational Processes for Frozen Red Meat. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
29. Rowe L.J., Maddock K.R., Lonergan S.M., Huff-Lonergan E. (2004): Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of milli-calpain. *Journal of Animal Science* 82: 3254–3266.
30. Sarma J., Reddy G.V.S., Srikar L.N. (2000): Effect of frozen storage on lipids and functional properties of proteins of dressed Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*). *Food Research*

- International 33: 815–820.
31. Soyer A., Ozalp B., Dalmis U., Bilgin V. (2010): Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry* 120: 1025–1030.
  32. Stevanović J., Borozan S., Božić T., Jović S., Đekić T., Dimitrijević B. (2012): Oksidativni stres. *Vet. glasnik* 66 : 273–283.
  33. Sučić R., Cvrtila Ž., Njari B., Kozačinski L. (2010). Senzorne, kemijske i mikrobiološke promjene u smrznutom mesu peradi. *Meso*, Vol. XII, broj 6.
  34. Sun-Waterhouse D., Zhao M., Waterhouse G. I. N. (2014): Protein modification during ingredient preparation and food processing: approaches to improve food processability and nutrition. *Food Bioprocess Technology* 7: 1853–1893.
  35. Šamšalović S. (1994): Tehnologija hlađenja i smrzavanja hrane, Savez mašinskih i elektrotehničkih inženjera i tehničara Srbije, Beograd.
  36. Šimurina O., Filipčev, B. (2012): Zamrzavanje u pekarskoj industriji, Univerzitet u Novom Sadu, Naučni institut za prehrambene tehnologije Novi Sad.
  37. Štajner, D., Kevrešan S. (2014): Hemijska, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni Fakultet.
  38. Totosaus A. (2004): Frozen Meat: Packaging and Quality Control. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
  39. Vereš M. (2004): Principi konzervisanja namirnica, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
  40. Vossen E., De Smet S. (2015): Protein Oxidation and Protein Nitration Influenced by Sodium Nitrite in Two Different Meat Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 2550–2556.
  41. Vračar Lj. (2012): Tehnologija zamrzavanja voća, Tehnološki fakultet Novi Sad.
  42. Wadhawe A.A., Jadhav A.I., Arsul V.A. (2014): Plant Proteins Applications: A Review, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 3, Issue 3.
  43. Wang H., Wu J., Betti M. (2013): Chemical, rheological and surface morphologic characterisation of spenthen proteins extracted by pH-shift processing with or without the presence of cryoprotectants. *Food Chemistry* 139: 710–719.
  44. Wu S., Pan S., Wang H. (2014): Effect of trehalose on Lateolabrax japonicus myofibrillar protein during frozen storage. *Food Chemistry* 160: 281–285.
  45. Xia X., Kong B., Liu J., Diao X., Liu Q. (2012): Influence of different thawing methods on physicochemical changes and protein oxidation of porcine longissimus muscle. *LWT-Food Science and Technology* 46: 280–286.
  46. Yu A.-N. Tan Z.-W., Wang F.-S. (2012): Mechanism of formation of sulphur aroma compounds from L-ascorbic acid and L-cysteine during the Maillard reaction. *Food Chemistry* 132: 1316–1323.

47. Zaritzky N. E. (2000): Factors affecting the stability of frozen foods. In: C.J. Kennedy, ed. *Managing Frozen Foods*. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited: 111–135.
48. Zaritzky N. E. (2008): Frozen Storage. In: J. Evans, ed. *Frozen Food Science and Technology*. Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, 224–247: 224–247.
49. Zhao, L., Li, L., Liu, G., Chen, L., Liu, X., Zhu, J., Li, B. (2013): Effect of freeze-thaw cycles on the molecular weight and size distribution of gluten. *Food Research International* 53: 409–416.

Rad primljen: 18.08.2017.

Rad одобрен: 21.09.2017.

