

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Miha CRNČIČ

**UGOTAVLJANJE POTVORB SVEŽEGA MESA Z DODAJANJEM  
VODE IN ADITIVOV ZA VEZAVO VODE**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**IDENTIFICATION OF FRESH MEAT ADULTERATION BY  
ADDING WATER AND WATER-BINDING SUBSTANCES**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Tehnološki del in fizikalno-kemijske analize so bili opravljeni na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana prof. dr. Lea Demšar, za somentorja dr. Tomaž Polak in za recenzentko doc. dr. Nataša Šegatin.

Mentorica: prof. dr. Lea Demšar

Somentor: dr. Tomaž Polak

Recenzentka: doc. dr. Nataša Šegatin

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Diplomsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Miha CRNČIČ

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 637.51:641.1:543.6(043)=163.6
- KG meso / sveže meso / potvorbe mesa / kakovost mesa / določanje potvorb / voda / beljakovine / aditivi
- AV CRNČIČ, Miha
- SA DEMŠAR, Lea (mentorica) / POLAK, Tomaž (somentor)/ ŠEGATIN, Nataša (recenzentka)
- KZ SI – Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2013
- IN UGOTAVLJANJE POTVORB SVEŽEGA MESA Z DODAJANJEM VODE IN ADITIVOV ZA VEZAVO VODE
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XII, 53 str., 17 pregl., 21 sl., 2 pril., 73 vir.
- IJ SI
- JI sl/en
- AI Namen raziskave je bil poiskati ustrezne metode za določanje potvorb svežega mesa z dodano vodo in aditivi za vezanje vode. Z razmerjem voda/beljakovine in metodama za merjenje  $\text{Na}^+$ , ion selektivno elektrodo (ISE) in atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo (AAS), smo dokazali in ovrednotili količino dodane vode v govejem, prašičjem in piščančjem mesu ter naključno odvzetih vzorcih mesa iz trgovin. Na podlagi razmerja voda/beljakovine v govejem mesu lahko dokažemo več kot 4 %, v prašičjem pa 7 % dodatek vode. Razmerje NPN/beljakovine ni primerno za ugotavljanje količine dodane vode. Potvorbo svežega mesa z več kot 31 % dodane vode lahko dokažemo z merjenjem  $\text{Na}^+$  z metodama ISE in AAS. Dodatek  $\text{Na}^+$  v sveže meso lahko dokažemo v primeru odstopanj od normalnih vrednosti, ki so za ISE nad 400 ppm oz. za AAS nad 780 ppm. Dodatek vode v meso je učinkovitejši ob dodatku aditivov za vezavo vode. Dokazali smo tudi, da je dodana voda oziroma sredstvo za vezanje vode naslednjim vzorcem iz trgovin: puranjim prsim (na podlagi razmerja voda/beljakovine in vsebnosti soli), govejim zrezkom (vsebnost soli), govejim golaž kockam (razmerje voda/beljakovine) ter mletemu mešanemu mesu (vsebnost soli).

## KEY WORD DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 637.51:641.1:543.6(043)=163.6
- DX meat / fresh meat / adulteration of meat / quality of meat / detection of adulteration / water / proteins / additives
- AU CRNČIČ, Miha
- AA DEMŠAR, Lea (supervisor)/ POLAK, Tomaž (co-advisor)/ ŠEGATIN, Nataša (reviewer)
- PP SI – Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2013
- TI IDENTIFICATION OF FRESH MEAT ADULTERATION BY ADDING WATER AND WATER-BINDING SUBSTANCES
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO XII, 53 p., 17 tab., 21 fig., 2 ann., 73 ref.
- LA SI
- AL sl/en
- AB The purpose of this research was to find appropriate methods to identify adulteration of fresh meat by adding water and water-binding substances. With water/proteins ratio and two methods for measurement of  $\text{Na}^+$  – ion selective electrode (ISE) and *atomic absorption spectrophotometry* (AAS) – we proved and assessed the amount of added water in beef, pork and chicken and random samples of meat taken from shops. Based on water/protein ratio, we can prove a more than 4 % addition of water in beef and a more than 7 % addition in pork. NPN/protein ratio is not suitable for identifying the amount of added water. Adulteration of fresh meat with more than 31 % of added water can be proved by measurement of  $\text{Na}^+$  with ISE and AAS methods. The addition of  $\text{Na}^+$  in fresh meat can be demonstrated in case of deviation from normal values which amount to 400 ppm for ISE and 780 ppm for AAS. Addition of water to meat is more efficient when water-binding substances are added. We also proved that water or water-binding substances were added to the following samples taken from shops: turkey breasts (on water/protein ratio and salt content), beef steaks (salt content), beef meat cubes (water/protein ratio) and ground mixed meat (salt content).

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORD DOCUMENTATION.....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VI</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>IX</b>
<b>KAZALO PRILOG .....</b>	<b>XI</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>XII</b>
<b>1 UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1 NAMEN DELA .....	2
1.2 HIPOTEZE .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>3</b>
2.1 MESO .....	3
<b>2.1.1 Sestava mišice.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.2 Iz mišice v meso - pomen za vodo.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.3 Kemijska sestava mesa.....</b>	<b>7</b>
2.1.3.1 Voda.....	7
2.1.3.2 Beljakovine .....	7
2.1.3.3 Maščobe .....	7
<b>2.1.4 Sveže meso .....</b>	<b>8</b>
2.1.4.1 Načini trženja svežega mesa .....	8
2.1.4.2 Označevanje svežega mesa.....	9
2.2 VODA V MESU .....	10
<b>2.2.1 Mesta nahajanja vode v mišičnini .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.2 Vrste vode .....</b>	<b>11</b>
2.2.2.1 Čvrsto vezana voda.....	11
2.2.2.2 Imobilna voda .....	11
2.2.2.3 Prosta voda.....	12
<b>2.2.3 Dejavniki, ki vplivajo na lastnosti vode v mesu in njeno izločanje .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.4 SVV .....</b>	<b>13</b>
2.3 POTVORBE MESA .....	14
<b>2.3.1 Pregled nekaterih potvorb mesa.....</b>	<b>16</b>
2.3.1.1 Zamenjava živalskih vrst .....	16
2.3.1.2 Mehansko izkoščičeno meso .....	17
2.3.1.3 Dodajanje fosfatov v meso .....	17
2.3.1.4 Odtajano meso .....	18
2.3.1.5 Voda.....	19
<b>2.3.2 Metode za določanje najpogostejših potvorb .....</b>	<b>20</b>
<b>3 MATERIALI IN METODE DELA .....</b>	<b>22</b>
3.1 MATERIALI .....	22
<b>3.1.1 Načrt poskusa.....</b>	<b>22</b>

3.2	METODE DELA .....	23
3.2.1	<b>Fizikalno-kemijske analize.....</b>	<b>23</b>
3.2.1.1	Določanje vsebnosti vode s sušenjem.....	23
3.2.1.2	Določanje vsebnosti beljakovin.....	23
3.2.1.3	Določanje vsebnosti neproteinskega dušika .....	23
3.2.1.4	Določanje vsebnosti Cl <sup>-</sup> po Volhardu .....	24
3.2.1.5	Določanje vsebnosti Na <sup>+</sup> .....	24
3.2.1.6	Dodajanje različne količine vode v homogenizirano goveje in prašičje meso .....	27
3.2.1.7	Dodajanje različnih aditivov v obliki 0,5 % vodnih raztopin v zrezke govejega, prašičjega in piščančjega mesa.....	27
4	<b>REZULTATI.....</b>	<b>28</b>
4.1	GOVEJE, PRAŠIČJE IN PERUTNINSKO MESO, VZORČENO V TRGOVINAH.....	28
4.2	HOMOGENIZIRANO GOVEJE IN PRAŠIČJE MESO Z RAZLIČNO KOLIČINO DODANE VODE .....	29
4.2.1	<b>Beljakovine, vode, NPN ter razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine .....</b>	<b>29</b>
4.2.2	<b>Vsebnost Na<sup>+</sup>, določena z ion selektivno elektrodo in AAS .....</b>	<b>30</b>
4.3	HOMOGENIZIRANO GOVEJE, PRAŠIČJE IN PIŠČANČJE MESO Z RAZLIČNO KOLIČINO 10 % RAZTOPINE NaCl.....	32
4.4	ZREZKI GOVEJEGA, PRAŠIČJEGA IN PIŠČANČJEGA MESA Z DODANIMI RAZLIČNIMI ADITIVI V OBLIKI 0,5 % RAZTOPIN.....	37
4.4.1	<b>Beljakovine, vode, NPN in razmerji voda/beljakovine ter NPN/beljakovine .....</b>	<b>37</b>
4.4.2	<b>Na<sup>+</sup>, določeni z ion selektivno elektrodo in AAS.....</b>	<b>39</b>
5	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI.....</b>	<b>41</b>
5.1	RAZPRAVA.....	41
5.1.1	<b>Homogenizirano goveje in prašičje meso z različno količino dodane vode .....</b>	<b>41</b>
5.1.2	<b>Homogenizirano goveje, prašičje in piščančje meso z različno količino standardnega dodatka NaCl.....</b>	<b>43</b>
5.1.3	<b>Zrezki govejega, prašičjega in piščančjega mesa z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopin.....</b>	<b>43</b>
5.1.3.1	Beljakovine, vode, NPN in razmerji voda/beljakovine ter NPN/beljakovine.....	43
5.1.3.2	Na <sup>+</sup> , določeni z ion selektivno elektrodo in AAS.....	44
5.2	SKLEPI.....	45
6	<b>POVZETEK .....</b>	<b>46</b>
7	<b>VIRI .....</b>	<b>48</b>
	<b>ZAHVALA</b>	
	<b>PRILOGE</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Kemijska sestava prašičjega mesa (Golob in sod., 2006).....	8
Preglednica 2: Kemijska sestava govejega mesa (Golob in sod., 2006). ....	8
Preglednica 3: Kemijska sestava perutninskega mesa; prsa brez kosti in kože (Golob in sod., 2006). ....	8
Preglednica 4: Primeri analitičnih tehnik, uporabljenih za ugotavljanje potvorb mesa in mesnih izdelkov (Hargin, 1996; Aristoy in Toldra, 2004; Ballin in Lametsch, 2007; Chou in sod., 2007; Heaton in sod., 2008; Ballin, 2010; Surowiec in sod., 2010; Soares in sod., 2010).....	20
Preglednica 5: Umeritvena krivulja za določanje $\text{Na}^+$ z ion selektivno elektrodo. ....	24
Preglednica 6: Točke umeritvene krivulje določanje vsebnosti $\text{Na}^+$ <sub>elekt</sub> in $\text{Na}^+$ <sub>AAS</sub> v govejem mesu. ....	26
Preglednica 7: Točke umeritvene krivulje določanje vsebnosti $\text{Na}^+$ <sub>elekt</sub> in $\text{Na}^+$ <sub>AAS</sub> v prašičjem mesu. ....	26
Preglednica 8: Točke umeritvene krivulje določanje vsebnosti $\text{Na}^+$ <sub>elekt</sub> in $\text{Na}^+$ <sub>AAS</sub> v piščančjem mesu. ....	26
Preglednica 9: Vsebnost beljakovin, vode, NaCl in $\text{Na}^+$ v mesu, vzorčenem v trgovinah. ....	28
Preglednica 10: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem govejem mesu z različno količino dodane vode. ....	29
Preglednica 11: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem prašičjem mesu z različno količino dodane vode. ....	29
Preglednica 12: Rezultati analize vsebnosti $\text{Na}^+$ [ppm] z ion selektivno elektrodo in AAS v raztopini (R = 20) homogeniziranega govejega mesa z različno količino dodane vode [%]. ....	30
Preglednica 13: Rezultati analize vsebnosti $\text{Na}^+$ [ppm] z ion selektivno elektrodo in AAS v raztopini (R = 20) homogeniziranega govejega mesa z različno količino standardnega dodatka NaCl (10 % raztopina, SD). ....	32
Preglednica 14: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem govejem mesu z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine. ....	37
Preglednica 15: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem prašičjem mesu z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine. ....	38
Preglednica 16: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem piščančjem mesu z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine. ....	38

Preglednica 17: Rezultati analize vsebnosti  $\text{Na}^+$  [ppm] z ion selektivno elektrodo in AAS v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega, prašičjega in piščančjega mesa z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine. .... 39



## KAZALO SLIK

Slika 1: Struktura mišičnega vlakna (Saladin, 2002). .....	3
Slika 2: Fibrilarna struktura kontrakcijskih elementov v mišici: (A) elektronski mikroskop; (B) elektronski mikroskop (Pearce in sod., 2011). .....	4
Slika 3: Shematičen prikaz zgodnjih sprememb v mišici <i>post mortem</i> in njihov vpliv na sposobnost vezanja vode (Toldrá, 2003). .....	5
Slika 4: Shema mehanizma nastanka vodnih kanalčkov (Bertram in Anderson, 2004). .....	6
Slika 5: Mesta nahajanja vode v mišici (Baechle in Earlie, 2008). .....	11
Slika 6: Potencialni načini in vrste potvorb v mesu in mesnih izdelkih (Ballin, 2010). .....	16
Slika 7: Umeritvena krivulja za določanje $\text{Na}^+$ z ion selektivno elektrodo; točke za kalibracijo elektrode, podane po navodilih proizvajalca. ....	25
Slika 8: Spreminjanje razmerja voda/beljakovine z dodatkom vode v homogeniziranem govejem in prašičjem mesu. ....	30
Slika 9: Odvisnost med vsebnostjo $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$ in $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$ v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega mesa z različno količino dodane vode. ....	31
Slika 10: Odvisnost med vsebnostjo $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$ in $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$ v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega prašičjega mesa z različno količino dodane vode. ....	31
Slika 11: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti $\text{Na}^+$ [ppm] v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek $\text{Na}^+$ ), merjenih z ion selektivno elektrodo. ....	32
Slika 12: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti $\text{Na}^+$ v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek $\text{Na}^+$ ), merjenih z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo. ....	33
Slika 13: Odvisnost med vsebnostjo $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$ in $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$ v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl. ....	33
Slika 14: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti $\text{Na}^+$ [ppm] v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega prašičjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek $\text{Na}^+$ ), merjenih z ion selektivno elektrodo. ....	34
Slika 15: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti $\text{Na}^+$ v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega prašičjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek $\text{Na}^+$ ), merjenih z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo. ....	34
Slika 16: Odvisnost med vsebnostjo $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$ in $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$ v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega prašičjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl. ....	35
Slika 17: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti $\text{Na}^+$ [ppm] v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega piščančjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek $\text{Na}^+$ ), merjenih z ion selektivno elektrodo. ....	35

- Slika 18: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti  $\text{Na}^+$  v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega piščančjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek  $\text{Na}^+$ ), merjenih z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo. .... 36
- Slika 19: Odvisnost med vsebnostjo  $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$  in  $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$  v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega piščančjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl..... 36
- Slika 20: Vpliv 0,5 % raztopine različnih aditivov na povečanje količine vode v posamezni vrsti mesa glede na kontrolni vzorec (dodana samo voda)..... 39
- Slika 21: Odvisnost med vsebnostjo  $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$  in  $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$  v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega, prašičjega in piščančjega mesa z dodanimi (10% glede na maso mesa) različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine. .... 40

## KAZALO PRILOG

Priloga A: Spremljanje vsebnosti  $\text{Na}^+$ , merjenih z AAS in ISE, v govejem mesu glede na količino dodane vode.

Priloga B: Spremljanje vsebnosti  $\text{Na}^+$ , merjenih z AAS in ISE, v prašičjem mesu glede na količino dodane vode.

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AAS	Atomski absorpcijski spektrofotometer
AK	aminokislina
ATP	Adenozin-tri-fosfat
BMV	Bledo mehko vodeno meso
FAO	Food and Agriculture Organization
FSA	Food Safety Agency
ISE	Ion selektivna elektroda
L/P	Laktat/fosfat
MAP	Pakirano v modificirani atmosferi
MIM	Mehansko izkoščičeno meso
NPN	Neproteinski dušik
NPN/B	Razmerje neproteinski dušik/beljakovine
QUID	Quantitative Labelling Directive
SD	Standardni dodatek
SOP	Standardni operativni postopek
SVV	Sposobnost mesa za vezavo vode
TČS	Trdo čvrsto suho meso
VHT	Visok hidrostatski tlak
WHO	World Health Organization

## 1 UVOD

Tako trgovci kot predelovalci mesa in potrošniki se v zadnjem času vedno pogosteje srečujejo s problemom potvorb svežega mesa. Pod pojmom potvorba mesa razumemo v prvi vrsti dodatek vode na/v meso v količini nad 5 %. Po pravilniku o splošnem označevanju predpakiranih živil (2004) se mora namreč dodana voda navesti glede na maso v končnem živilu. Te količine ni treba navesti, če po masi ne presega 5 % končnega živila.

Iz preteklosti je znano, da so v nekaterih evropskih državah v sveže eviscerirano perutninsko meso proizvajalci vbrizgali raztopino polifosfatov ali NaCl. Trdili so, da to poveča sočnost. Razlog pa je bil predvsem ekonomski, saj se je zaradi vpijanja vode povečala masa. Razne organizacije potrošnikov se s tem ne strinjajo in apelirajo na inšpekcije, naj take 'potvorbe' odkrijejo in preprečijo.

Poleg dodatka vode na/v meso je prisotnih še veliko drugih potvorb, ki imajo cilj povečati zaslužek proizvajalcev in/ali trgovcev. Tako lahko v različnih raziskavah zasledimo mnogo ugotovljenih poizkusov zlorabe naziva »sveže meso«. Omeniti velja potvorbe oziroma goljufije z zamrznjenim mesom ter mesom, katerega struktura je tako spremenjena, da se ne da sklepati, kateri živalski vrsti pripada.

V nalogi je nekaj teh primerov potvorb oziroma goljufij prikazanih in opisanih, vendar bi na tem mestu poudarili, da večina tovrstnih odkritih potvorb sega leta oziroma desetletja nazaj, ko še niso imeli izpopolnjenih analitskih metod in optimalne opreme za tovrstno delo.

V zadnjem obdobju so potrošniki vse glasnejši in poskušajo uveljavljati svoje pravice po poznavanju izdelkov. To je tudi eden od razlogov, da je danes vse več izdelkov, na katerih je primerno in podrobno označena sestava živila.

## 1.1 NAMEN DELA

Namen diplomske naloge je bil poiskati ustrezne metode za določanje potvorb svežega mesa z dodano vodo in aditivi za vezanje vode. Z izbranimi metodami smo želeli dokazati in ovrednotiti količino dodane vode v vzorcih mesa, ki smo jim dodali določene deleže vode ob dodatku različnih pomagal za vezanje vode (citratov, acetatov, askorbatov, NaCl in KCl), kot tudi v naključno odvzetih vzorcih mesa iz trgovin. Za dokazovanje potvorb mesa z dodano vodo smo želeli preveriti predvsem primernost razmerja voda/beljakovine in dveh metod za merjenje vsebnosti  $\text{Na}^+$ , ion selektivno elektrodo in atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.

## 1.2 HIPOTEZE

Predvidevamo, da bomo:

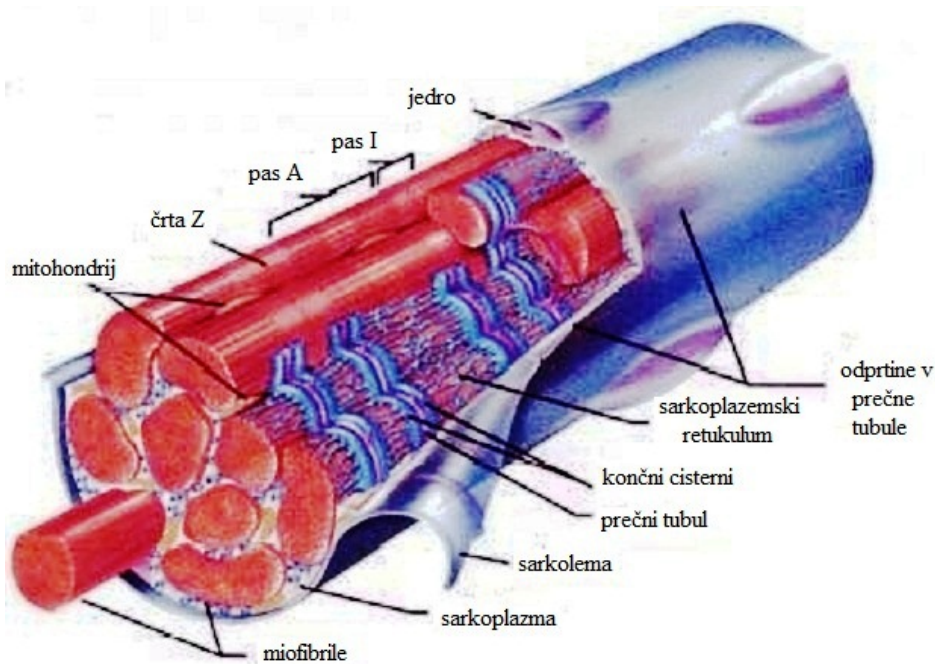
- dokazali že najmanj 5 % dodatek vode v meso,
- v vzorcih z dodano vodo dokazali povečano vsebnost vode in zmanjšano vsebnost beljakovin in  $\text{Na}^+$ ,
- dokazali, da je najenostavnejši indeks za dokazovanje potvorb mesa z dodano vodo razmerje voda/beljakovine.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 MESO

#### 2.1.1 Sestava mišice

Mišica je visoko organizirano tkivo iz individualnih celic, ki jih sestavljajo povezovalna tkiva, kot je opisano v nadaljevanju. Struktura je prikazana na spodnji sliki (Pearce in sod., 2011).



Slika 1: Struktura mišičnega vlakna (Saladin, 2002).

Glavna funkcionalna sestavina mišic, ki jim daje sposobnost krčenja, je prečnoprogasto skeletno mišično tkivo.

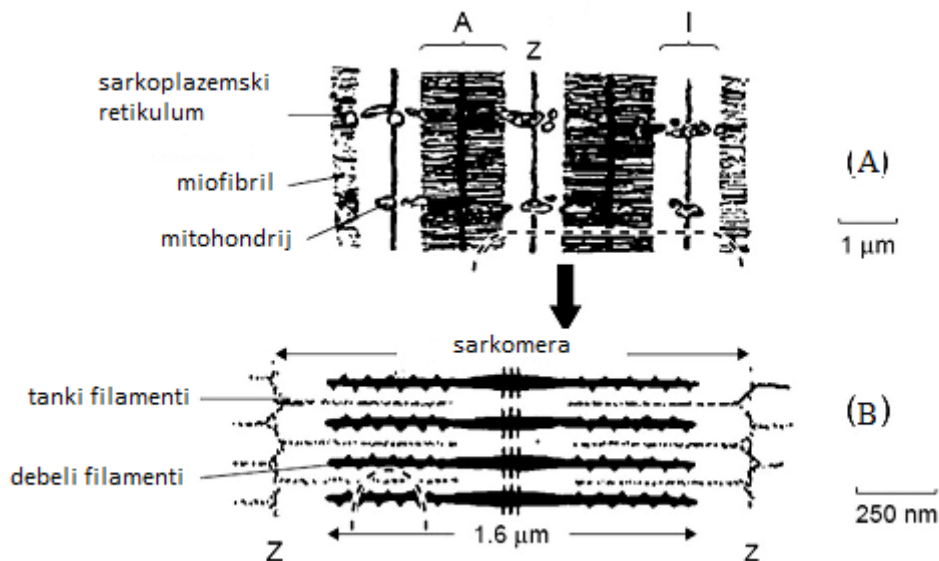
Prečno progasto mišično tkivo je sestavljeno iz številnih skeletnih mišičnih celic – vlaken, ki so med seboj povezane z vezivom. Skeletno mišično vlakno je dolga valjasta večjedrna celica. V dolžino meri 5-10 cm, v širino pa 10-100  $\mu\text{m}$ . Citoplazmo (sarkoplazmo) zapolnjujejo miofibrile. To so celični organeli, ki dajejo sposobnost kontrakcije ter videz prečne progavosti. Miofibrile potekajo vzporedno z vzdolžno osjo vlakna. Prečna progavost, vidna pod mikroskopom, je posledica zaporedja pasov kontraktilnih nitk: tanjših aktinskih in debelejših miozinskih (Bučar in sod., 1989; Karolyi, 2004; Fazarinc in sod., 2007; Pearce in sod., 2011).

Vsaka miofibrila je razdeljena na prečne odseke, ki različno lomijo polarizirano svetlobo. Širši in temnejši je anizotropni odsek A, ožji in svetlejši pa označuje odsek I. Odsek I razpolavlja zelo ozek in temnejši odsek. Odseki A in I miofibril ležijo eden poleg drugega.

Zaradi tega pod mikroskopom opazimo prej omenjeno prečno progavost. Polje med dvema odsekoma Z je strukturalna in funkcionalna enota miofibrile in jo imenujemo sarkomera. Dolžina sarkomera je različna v različnih mišicah (Bučar in sod., 1989; Karolyi, 2004; Fazarinc in sod., 2007; Pearce in sod., 2011).

Struktura miofibril oziroma sarkomera in osnova za model drsečih filamentov sta prikazani na sliki 2. Kemijsko odsek Z sestavljata beljakovini tropomiozin in  $\alpha$ -aktinin. Tanki filament I odseka pa so sestavljeni iz aktina (F- in G- aktin). Debeli filament, ki tvorijo A odsek, so iz beljakovine miozina. Filament ima rep, v katerem je pretežno lahki meromiozin, in glavo, kjer je težki meromiozin. Glave kažejo ATP-azno aktivnost in aktivnost povezovanja z aktinom. Glava miozina med kontrakcijo tvori prečne vezi (mostičke) z aktinom (Bučar in sod., 1989; Karolyi, 2004).

Posamezna mišična vlakna se povezujejo v snopiče, ti pa v mišico. Pri povezovanju imajo pomembno nalogo vezivni deli mišic. Mišica je ovita v ovojnico iz togega fibrilarnega veziva in se imenuje epimizij ter daje mišici lesk. Mišični snopiči so oviti v bolj rahlo vezivo, imenovano perimizij, vsako vlakno posebej pa ovija tanka plast fibrilarnega veziva, imenovanega endomizij. Vezivne komponente omogočajo prehod žil in živcev do posameznega mišičnega vlakna ter združujejo njihovo delovanje, omogočajo pa tudi neodvisnost kontrakcije posameznih mišičnih vlaken. Več mišic ali določeno skupino mišic pokriva še posebna vezivna ovojnica, imenovana fascija (Bučar in sod., 1989; Karolyi, 2004; Fazarinc in sod., 2007; Pearce in sod., 2011).



Slika 2: Fibrilarna struktura kontrakcijskih elementov v mišici: (A) elektronski mikroskop; (B) elektronski mikroskop (Pearce in sod., 2011).

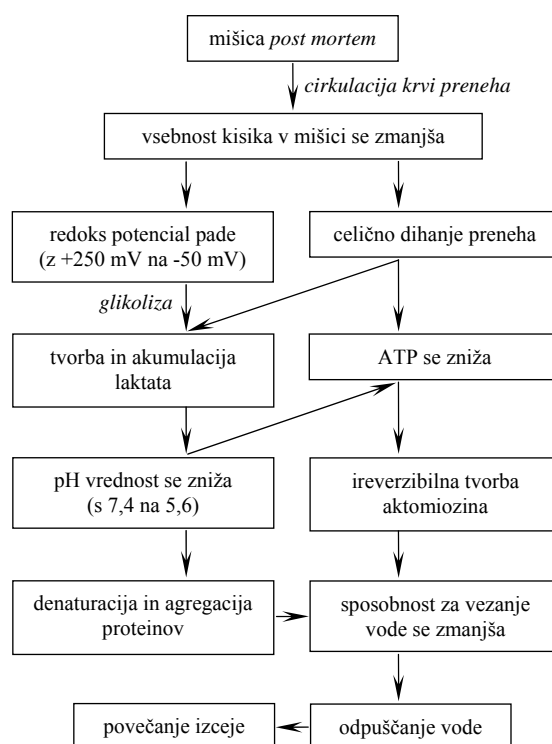
### 2.1.2 Iz mišice v meso - pomen za vodo

Meso ima po klanju skoraj vse lastnosti žive snovi. Biokemični procesi, ki so se odvijali v mišicah žive živali, se nadaljujejo tudi v mesu po zakolu živali, seveda z zmanjšano



intenzivnostjo. Meso je takoj po zakolu temnordeče barve, lesketajoče se na prerezu, gumijasto in trdo, netipičnega vonja ter suho. Po določenem času po zakolu pa postane mehko, nežno in ima prijeten, specifičen vonj in svetlordečo barvo. Do te spremembe pride zaradi zapletenih biokemičnih procesov, ki se odvijajo v mesu po zakolu (Vombergar in Arzenšek Pintar, 2008).

Kot navaja Došler (2007) po različnih avtorjih, je pretvorba skeletne mišice v meso kompleksen proces, v katerem so vsi odgovorni mehanizmi za oblikovanje kakovosti mesa zelo verjetno medsebojno odvisni. Po izkrvavitvi nastane v mišici neobičajno stanje brez kisika in dotoka hranil. Takšno stanje povzroči programirano celično smrt, tj. apoptozo, ki je vodena preko centralnega živčnega sistema ali preko celice same. V celičnih mitohondrijih se tvorijo kisikovi radikali, ki začnejo avtokatalitični proces. Apoptoza se začne neposredno po izkrvavitvi in se nadaljuje tako dolgo, dokler so za apoptozo odgovorni encimi aktivni. Apoptoza v umirajoči celici inducira številne biokemijske in strukturne spremembe, ki se kažejo v mišici *post mortem*.



**Slika 3: Shematičen prikaz zgodnjih sprememb v mišici *post mortem* in njihov vpliv na sposobnost vezanja vode (Toldrá, 2003).**

Med procesi spremembe mišičnine v meso so ključni biokemijski procesi usmerjeni v *rigor mortis*. Ključen proces je hidroliza ATP v mišični celici. ATP je potreben, da se sarkomera ne skrči in ostane sproščena. S posmrtnim procesom glikolize se nivo glikogena zmanjša in količina ATP se zniža na kritično koncentracijo. Ko je razgrajen ves ATP, se mišica skrči. Miozinske glave se trajno vežejo na aktinske filamente, posledica tega pa je nastanek

aktomiozinskega kompleksa. Ta proces vodi v zmanjšanje prostora, ki ga ima voda na voljo (Pearce in sod., 2011).

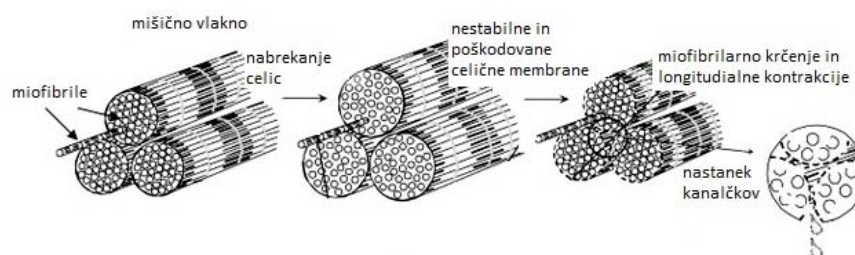
Po zakolu se sarkomera skrajša, hkrati pa se poveča miofibrilarni prostor v njej. Dogajanje je posledica longitudinalnega krčenja sarkomer med rigorjem, le-te pa izločanja kalcijevih ionov iz sarkoplazemskega retikuluma (Pearce in sod., 2011).

Longitudinalno krčenje močno vpliva na mobilnost vode v mesu. Med skrčenjem sarkomere se povečajo lateralni prostori med debelimi in tankimi filamenti, to pa vpliva na počasi in hitro sproščajočo vodo (Pearce in sod., 2011).

Med spreminjanjem mišičnine v meso se sarkomera krči longitudinalno in lateralno. V miofibrilarnem sistemu potekata sočasno dva procesa (Honikel in sod., 1986):

- *rigor mortis*: ireverzibilna vezava debelih in tankih filamentov in po odsotnosti ATP tvorba aktomiozinskega kompleksa;
- zmanjšanje vrednosti pH, ki vodi v spremembe strukture miofibrilarnih proteinov.

Krčenje miofibril pomembno vpliva na gibanje vode tako, da zmanjša prostor, ki je na voljo mišični vodi. Premik vode iz intra-miofibrilarnega prostora v ekstra-miofibrilarni prostor sovpada s povečanjem volumna ekstra-miofibrilarne vode. Rezultat je nastanek majhnih razpok med mišičnimi vlakni. Vlakna se med seboj povežejo v nekakšno mrežo. Nastanejo vodni kanalčki velikosti od 20 do 50  $\mu\text{m}$ , ki so blizu vezivnega tkiva (Bertram in Andersen, 2004; Poulanne in Halonen, 2010).



**Slika 4: Shema mehanizma nastanka vodnih kanalčkov (Bertram in Anderson, 2004).**

Pearce in sod. (2011) navajajo, da je nastanek teh kanalov glavni krivec za pojav izceje mesnih sokov in vode. Kanali so vidni s svetlobnim mikroskopom 2 do 4 ure *post mortem*. Razpoke med mišičnimi vlakni se rahlo zmanjšajo 9 do 24 ur *post mortem*, najverjetneje zaradi odtekanja tekočine skozi kanale.

Študije so pokazale, da gibanja proste vode na površje mesa ne opazimo takoj po zakolu, temveč nekoliko kasneje, kar potrjuje hipotezo, da je nastanek kanalov vir izceje, ki jo Karolyi (2004) opisuje kot mesni sok.

Mesni sok je vodna raztopina, ki izteče iz mesa v procesih *post mortem*. Vsebuje veliko količino beljakovin, v povprečju okrog 112 mg/ml. V mesnem soku večino beljakovin

predstavljajo vodotopni sarkoplazemski proteini. Barva tekočine je svetlordeča zaradi mioglobina, ki pride v mesni sok iz sarkoplazme. Vsebnost krvnega barvila hemoglobina je majhna. Poleg mioglobina se v izceji nahajajo še glikolitični encimi, sarkoplazemski proteini, aminokisliline in v vodi topni proteini (Karolyi, 2004).

### 2.1.3 Kemijska sestava mesa

Meso opredeljujemo predvsem kot beljakovinsko živilo, čeprav je po svoji sestavi tudi pomemben vir drugih hranilnih sestavin, predvsem maščob, ter nehranilnih, toda biološko visokovrednih sestavin, kot so minerali in vitamini (Žlender, 1997).

Pusto presno mišično tkivo (mišičnina) brez vidne maščobe, ne glede na živalsko vrsto, vsebuje okrog 75 % vode, 18-22 % beljakovin, 1-5 % maščob, 1 % mineralnih snovi in do 1 % ogljikovih hidratov. Ta razmerja sestavin se lahko nekoliko spremenijo pri bolj zamaščnem mesu predvsem zaradi zmanjšanja deleža vode, medtem ko se delež ostalih sestavin malo spreminja (Sadar, 2006).

#### 2.1.3.1 Voda

Voda je po količini prevladujoča sestavina mesa, v kateri so raztopljene mnoge pomembne sestavine s prehranskega in fiziološkega vidika. Sama voda nima nobene hranilne vrednosti, vendar pomembno vpliva na senzorično in tehnološko kakovost mesa (Bučar, 1997).

#### 2.1.3.2 Beljakovine

Beljakovine mišičnine sestavlja 20 aminokislin, 9 esencialnih za odrasle oziroma 11 za otroke. Med beljakovinami mišičnega in veznega tkiva so precejšnje razlike. Vezivno tkivo je mnogo siromašneje z esencialnimi AK, tako da imajo koža, kite in kosi mesa z veliko vrhnjega in notranjega veziva nižjo biološko vrednost (Žlender, 1997).

Beljakovine so najpomembnejša sestavina mesa in so v notranjosti celic nosilci celične strukture in s tem vseh lastnosti, ki so odvisne od te strukture. Kot beljakovine v mesu smatramo miofibrilarne beljakovine (miozin in aktin), beljakovine vezivnega tkiva in organelov (endomizij, perimizij, epimizij ter kolagenska, elastinska in retikulinska vlakna) ter beljakovine sarkoplazme (mioglobin, hemoglobin in miogen) (Sadar, 2006).

#### 2.1.3.3 Maščobe

Maščobe v mesu so lahko podkožne, medmišične in mišične. So najbolj variabilna sestavina mesa, na katero vplivajo številni dejavniki: vrsta živali in pasma, vrsta kosa ali anatomsko lokacija, spol, starost, način vzreje in stopnja prehranjenosti ter način obdelave in predelave mesa (Sadar, 2006).

V nadaljevanju so preglednice 1, 2 in 3, ki prikazujejo osnovne parametre v različnih mišicah govejega, prašičjega in perutninskega mesa.

**Preglednica 1: Kemijska sestava prašičjega mesa (Golob in sod., 2006).**

Lokacija	Parameter [%]					
	voda	beljakovine	skupni dušik	maščobe	skupne mineralne snovi	Na <sup>+</sup> [ppm]
ledja	74,2 (72,0-75,7)	21,2 (19,2-22,2)	3,4	3,5	1,06	610 (580-730)
stegno	74,2 (72,4-75,2)	20,7 (18,8-22,9)	3,3	3,7	1,06	650 (570-710)

**Preglednica 2: Kemijska sestava govejega mesa (Golob in sod., 2006).**

Lokacija	Parameter [%]					
	voda	beljakovine	skupni dušik	maščobe	skupne mineralne snovi	Na <sup>+</sup> [ppm]
ledja	73,6 (73,0-74,0)	22,4 (22,1-22,9)	3,6	2,8	1,22	588 (540-660)
pleče	74,4 (73,4-76,3)	22,2 (22,0-22,5)	3,6	3,3	1,19	675 (580-800)
stegno	75,0 (73,0-75,4)	22,0 (21,3-23,7)	3,5	3,2	1,22	662 (610-730)

**Preglednica 3: Kemijska sestava perutninskega mesa; prsa brez kosti in kože (Golob in sod., 2006).**

Meso	Parameter [%]					
	voda	beljakovine	skupni dušik	maščobe	skupne mineralne snovi	Na <sup>+</sup> [mg/100 g]
piščanec	74,8 (73,7-75,9)	22,8 (21,8-24,2)	3,7	1,5	1,19	33,8 (30,0-38,2)
puran	74,0 (73,4-74,9)	24,0 (23,3-24,5)	3,8	1,5	1,14	46,4 (36,4-52,4)

#### 2.1.4 Sveže meso

Meso je definirano kot meso živali, ki je uporabno za hrano. Termin sveže meso pomeni meso živali, ki so bile pred kratkim zaklane, in je sveže postrežno ali pakirano v vakuumu ali v kontrolirano atmosfero, ter ni bilo izpostavljeno toplotni obdelavi (segrevanje in zmrzovanje) za zagotavljanje obstojnosti. Ohranitev obstojnosti je pomembna tako z mikrobiološkega vidika kot tudi z vidika ohranjanja barve in zaviranja oksidacijskih sprememb (Zhou in sod., 2010).

##### 2.1.4.1 Načini trženja svežega mesa

Sveže meso se trži na debelo (v obliki celih trupov, polovic, četrti, porabniških kosov in mesa za predelavo) in na drobno (kot celi trupi malih živali, porabniški kosi in sekljanine) (Demšar, 2007).

Sveže meso se na svetovnem trgu pojavlja kot ohlajeno, obsevano, kemijsko obdelano, obdelano z visokim hidrostatičnim tlakom in pakirano.

#### Ohlajeno meso

Hlajenje kot metodo za shranjevanje mesa so uporabljale že zgodnje civilizacije. Uporabljali so votline ali led in sneg (Lawrie in Ledward, 2006). Hlajenje je ključno za higieno mesa, varnost, obstojnost, videz in senzorično kakovost. Zračno hlajenje zmanjša

temperaturo trupov in pospeši njihovo sušenje. Povečanje hitrosti zraka in/ali zmanjšanje temperature (kontrolirano) skrajšata čas hlajenja. Načini hlajenja so: zračno hlajenje (šobe vpihujejo hladen zrak, ki potuje po prostoru), hitro hlajenje (manjša evaporacija, hitrejša sušenje) in hlajenje z razprševanjem (spremembe mioglobina, preprečevanje izgube mase) (Zhou in sod., 2010).

### **Kemijsko obdelano meso**

Ogljikov dioksid in ozon se uporabljata za povečanje mikrobiološke stabilnosti. Kljub temu da ne puščata toksičnih reziduidov v hrani, je njuna uporaba omejena zaradi vpliva na okolje (Lawrie in Ledward, 2006). Uporabljajo se še mlečna kislina in soli, kot so natrijev laktat, fosforjev sorbat, natrijev acetat, natrijev citrat (vsi v obliki 2,5 % raztopine) in natrijev klorid (5 % raztopina) (Zhou in sod., 2010). Sem sodijo še biozaviralci in naravni bakteriocini, kot so esencialna olja, citosan, nizin in lizozim (Zhou in sod., 2010).

### **Ionizirano meso**

Ionizirano sevanje je metoda za direktno inhibicijo mikroorganizmov v mesu, poznana že od leta 1940 (Lawrie in Ledward, 2006). Leta 1980 sta FAO in WHO predlagala, da obsevanje z dozo manjšo od 10 kGy sprejmejo kot tehniko za podaljšanje obstojnosti v vseh večjih kategorijah živil. V Veliki Britaniji so leta 1990 sprejeli zakonodajo, ki dovoljuje določenim razredom živil obsevanje z maksimalno dozo (do 7 kGy za perutnino), vendar pa mora biti vsa obsevana hrana primerno označena. Obsevanje je bilo leta 2003 dovoljeno za živila v petdesetih državah, med katerimi so tudi ZDA, Egipt, Kitajska in države Latinske Amerike. Prav tako je predpisano, kateri elementi se lahko uporabljajo ( $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ) (Zhou in sod., 2010). Metoda obsevanja je učinkovit način zagotavljanja obstojnosti mesa, vendar povzroča spremembe v kakovosti mesa, predvsem v barvi in oksidativni stabilnosti (Zhou in sod., 2010).

### **Meso obdelano z visokim hidrostatičnim tlakom (VHT)**

Kot blaga netermična metoda lahko VHT skupaj z nizkimi temperaturami zavira aktivnost nekaterih kvarljivcev in encimov, ne da bi pomembneje vplivala na senzorično in hranilno vrednost mesa. Kljub temu, da ima metoda veliko prednosti, ima tudi nekaj slabosti. Najopaznejša je pojav diskoloracij zaradi denaturacije proteinov. Slabost je tudi šaržnost procesov, kar pomeni, da metoda ni praktična v mesni industriji (Zhou in sod., 2010).

### **Pakirano meso**

Pakiranje varuje izdelke pred zunanjimi vplivi, ki lahko povzročijo diskoloracije, priokuse, izgubo hranil, spremembo teksture in mikrobiološko nestabilnost. Dejavniki, ki vplivajo na obstojnost pakiranega svežega mesa, so: tip izdelka, mešanica plinov, embalaža, pakirna oprema, aditivi in temperatura skladiščenja. Pakirano sveže meso je minimalno izpostavljeno vlagi. Možnosti za pakiranje svežega mesa so: zračno prepustno pakiranje, vakuumsko pakiranje, pakiranje v modificirano atmosfero (MAP) z majhno koncentracijo kisika in MAP z veliko koncentracijo kisika (Zhou in sod., 2010).

#### **2.1.4.2 Označevanje svežega mesa**

Označevanje mesa v prometu oziroma v prodaji je pomembno za informiranje kupca. Naša zakonodaja predpisuje označevanje domačega in uvoženega mesa, tako da ju lahko zlahka ločimo in pridobimo vse informacije o mesu. Pravilnik loči označevanje klavnih trupov,

označevanje mesa v prometu (pakirano in predpakirano) ter mesa na prodajnem mestu. Pravilniki, ki določajo označevanje in kakovost mesa so:

- Pravilnik o kakovosti mesa klavne živine in divjadi (1996, spremembe: Ur. list RS, št. 53/96; št. 52/98; št. 85/98; št. 30/99; št. 71/00; št. 28/01; št. 31/04; št. 10/05; št. 120/07),
- Pravilnik o aditivih za živila (2004, spremembe: Ur. list RS, št. 8/05; št. 17/06; št. 16/08; št. 45/08; št. 100/10),
- Pravilnik o označevanju in kategorizaciji svinjskega mesa (2004, spremembe: Ur. list RS, št. 10/05; št. 45/08),
- Pravilnik o splošnem označevanju predpakiranih živil (2004, spremembe: Ur. list RS, št. 58/04; št. 43/05; št. 64/05; št. 83/05; št. 115/05; št. 118/07; št. 45/09),
- Pravilnik o splošnem označevanju živil, ki niso predpakirana (2004, spremembe: Ur. list RS, št. 10/05; št. 57/05; št. 115/06; št. 45/08),
- Pravilnik o označevanju hranilne vrednosti živil (2002, spremembe: Ur. list RS, št. 117/02; št. 121/04; št. 81/07; št. 87/09),
- Pravilnik o označevanju govejega mesa (2001, spremembe: Ur. list RS, št. 73/03; št. 57/05).

## 2.2 VODA V MESU

Voda je dipolarna molekula, vezana na nabite molekule, kot so proteini. Proteinsko vezana voda ima močno zmanjšano mobilnost, zato ostaja trdno vezana tudi med delovanjem mehanskih sil, kot npr. med zmrzovanjem in segrevanjem.

Distribucija in mobilnost vode v mišičnini in mesu pomembno vplivata na kazalce kakovosti, kot so sposobnost mesa za vezavo vode (SVV), sočnost, čvrstost, mehkoba in videz (Trout, 1988; Pearce in sod., 2011).

Med procesi preoblikovanja mišičnine v meso in zorenjem mesa se količina, lokacija in mobilnost vode spreminjajo. To je posledica več sočasnih procesov, ki potekajo pred (pasma, vrsta mišice) in po zakolu (način zakola, hlajenje, temperatura in čas zorenja) (Karolyi, 2004; Huff-Lonergan in Lonergan, 2005; Poulanne in Halonen, 2010; Pearce in sod., 2011).

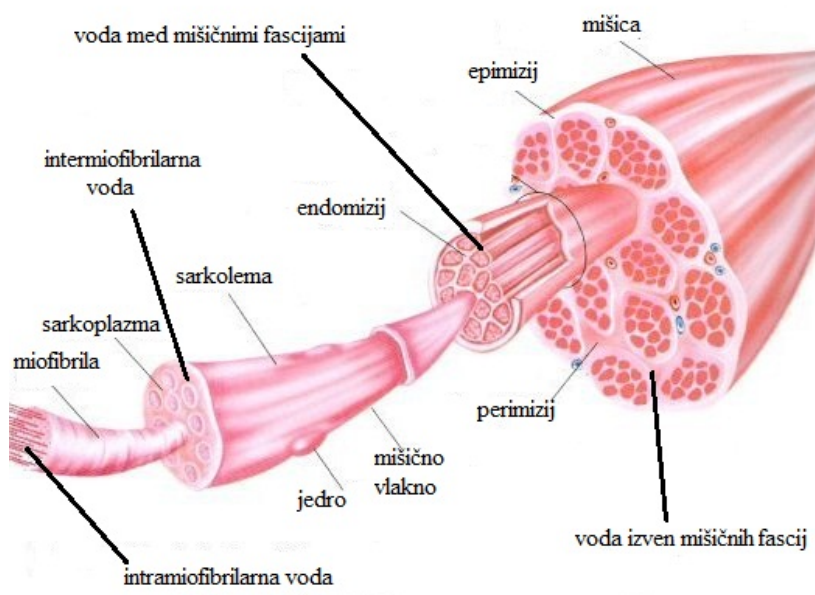
Mišičnina vsebuje okrog 75 % vode. Ostale pomembne komponente, ki vplivajo na vsebnost vode v pustem mesu, so beljakovine (okoli 20 %), maščobe (do 5 %) in ogljikovi hidrati (do 1 %). Vitamini in minerali (okoli 1 %) ne vplivajo neposredno na vsebnost vode, vendar pa pomembno vplivajo na mobilnost vode v biokemijskih procesih po zakolu (Poulanne in Halonen, 2010).

### 2.2.1 Mesta nahajanja vode v mišičnini

Večina vode, okrog 85 %, se nahaja v proteinski miofibrilarni mreži, 15 % pa zunaj nje. Voda v miofibrilarni mreži se nahaja v miofibrilah, v prostorih med aktinom in miozinom (Huff-Lonergan in Lonergan, 2005; Pearce in sod., 2011). Voda izven miofibrilarne mreže se nahaja v sarkoplazmi oz. v prostoru med miofibrilami (intermiofibrilarna voda), med

mišičnimi vlakni in v prostorih med ovojnici mišičnih vlaken ter med mišičnimi snopiči (Poulanne in Halonen, 2010; Pearce in sod., 2011).

Renou in sod. (2003) v raziskavi o interakcijah vode v mesu ugotavljajo, da je mogoče vodo v mesu razdeliti na ekstracelularno vodo, vodo v miofibrilah in sarkoplazemskem retikulumu ter vodo v interakcijah z makro molekulami.



Slika 5: Mesta nahajanja vode v mišici (Baechle in Earlie, 2008).

## 2.2.2 Vrste vode

Voda je v mesu prisotna v več oblikah. Način vezave vode in njena lokacija v mišičnini vplivata na lastnosti, kot so mobilnost, prehajanje, sodelovanje v kemijskih reakcijah in izguba mase (Karolyi, 2004; Poulanne in Halonen, 2010). Tako poznamo čvrsto vezano vodo, imobilno in prosto vodo (Karolyi, 2004; Pearce in sod., 2011).

### 2.2.2.1 Čvrsto vezana voda

Čvrsto vezana (hidrationska) voda je vezana na nabite molekule, kot so mišične beljakovine. Mobilnost tako vezane vode je močno zmanjšana. Vezana voda zelo težko prehaja v ostale dele mišice. Odporna je na zmrzovanje in običajne postopke toplotne obdelave. Količina vezane vode je majhna in se po končanem rigorju ne spreminja. Vezana voda se neprestano izmenjuje z vodo, ki obdaja molekule, in imobilno vodo (Karolyi, 2004; Pearce in sod., 2011).

### 2.2.2.2 Imobilna voda

Druga oblika vode, ki se nahaja znotraj debelih ter med tankimi in debelimi filamenti (do 85 % mišične vode), je t. i. imobilna ali vezana voda (Karolyi, 2004; Pearce in sod., 2011). Na beljakovine ali druge makromolekule je vezana z vodikovimi vezmi. Med konverzijo mišice v meso in tudi med zorenjem mesa lahko del vezane vode preide v mobilno

predvsem zaradi sprememb v celični strukturi in vrednosti pH (Poulanne in Halonen, 2010; Pearce in sod., 2011). Takrat tudi del imobilizirane vode lahko izteče iz mesa kot izceja ali mesni sok (Karolyi, 2004; Pearce in sod., 2011). Dejavnika, ki vplivata na zadrževanje imobilizirane vode v mesu, sta količina in sestava miofibrilarnih beljakovin ter velikost ekstramiofibrilarnega prostora v mišici (Pearce in sod., 2011).

### 2.2.2.3 Prosta voda

Prosta voda je tisti del vode, ki neovirano prehaja iz tkiva. V mesu je običajno vezana zgolj s šibkimi površinskimi silami (Karolyi, 2004). V mišičnih vlaknih se nahaja v sarkoplazmi, točneje v dolgih in ozkih prehodih, imenovanih kapilare. Prosta voda postane mobilna že zaradi najmanjših sil, ki nastanejo npr. zaradi krčenja miofibril v procesu *rigor mortis* (Poulanne in Halonen, 2010; Pearce in sod., 2011).

Voda ne odteče takoj, ko se začne proces *rigor mortis*, ampak šele potem, ko potečejo določene spremembe v mikrostrukturi mišičnine. Odtekanje proste vode se začne, ko so spremembe tako velike, da zmanjka prostora imobilni vodi. Ta zato zasede mesto proste vode, kar povzroči iztekanje le te. V mišici se nahaja več prostorov, iz katerih lahko izteka mesni sok – to so lahko prostori znotraj miofibril, intracelularni prostor izven miofibril ter ekstracelularni prostor (prostor med mišičnimi snopi). Izguba tekočine iz vsakega od teh prostorov lahko vključuje različne mehanizme. Izguba vode se lahko zgodi kadarkoli med hranjenjem (Karolyi, 2004; Huff-Lonergan in Lonergan, 2005; Poulanne in Halonen, 2010).

Voda, ki se nahaja v ekstracelularnem prostoru, se lažje izloča iz mesa kot voda iz globljih slojev, ki potrebuje več časa ali močnejšo silo za izločanje. Ugotoviti, kako *post mortem* procesi vplivajo na izločanje vode, kako zmanjšati njihov vpliv in zadržati vodo v mesu, je cilj večine predelovalcev mesa (Karolyi, 2004).

### 2.2.3 Dejavniki, ki vplivajo na lastnosti vode v mesu in njeno izločanje

Na vso vodo v mesu, ne glede na njeno obliko ali kraj nahajanja, delujejo notranji in zunanji dejavniki. Nekateri so že podrobneje raziskani, vendar pa večina teh dejavnikov ni raziskanih oziroma raziskave še potekajo ali pa ni znan mehanizem vpliva na lastnosti vode (Huff-Lonergan in Lonergan, 2005; Poulanne in Halonen, 2010; Pearce in sod., 2011).

Nekaj že raziskanih dejavnikov je zbral in opisal Pearce s sodelavci (2011):

- Mobilnost vode v različnih mišicah

Počasi krčljive rdeče mišice (poznane tudi kot oksidativne ali tip 1 mišice) imajo manjšo mobilnost vode v primerjavi s hitro krčljivimi belimi mišicami (tip 2 mišice). Razlike so v razmerju med intra- in ekstramiofibrilarno vodo, maščobni sestavi, koncentraciji mioglobina in hidrofobičnosti miozina v izo-obliki.

- Hitrost rasti živali

Longitudinalna in radialna mišična rast vplivata na strukturo mišičnine. Z rastjo se povečujeta koncentraciji miofibrilarnih beljakovin in ionov, posledično pa se spreminja tudi razmerje med intra- in intermiofibrilarno vodo.

- Starost živali ob zakolu



Meso mlajših živali ima šibkeje vezano vodo kot meso starejših živali. Starost živali ob zakolu vpliva tudi na senzorično zaznavo mesa – med žvečenjem se sprosti večje količina vode, kar daje mesu boljšo sočnost. Senzorične lastnosti so boljše pri mesu mladih prašičev (90 dni) kot pri mesu starejših prašičev (140-180 dni).

– Predklavni stres

Mešanje živali med seboj, natovarjanje in transport ter slabo ravnanje z živalmi pred zakolom lahko povzročijo fizični in psihični stres, kar močno poslabša kakovost mesa. Stresni pogoji se lahko odražajo v slabši SVV, manjši vrednosti pH in višji temperaturi mesa.

– Hlajenje

Tudi temperatura hlajenja vpliva na mobilnost in dinamiko vode. Hitrejše kot je hlajenje, boljša je SVV mesa, saj se zmanjšajo kanali, ki nastanejo v mišici med krčenjem.

#### 2.2.4 SVV

SVV je sposobnost mesa, da zadrži lastno ali dodano vodo, ko ga izpostavimo mehanskim silam (Karolyi, 2004). V mišici večino vode (okrog 95 %) predstavlja prosta voda. Le ta se zadržuje s šibkimi silami, kapilarnostjo, med celicami in med miofibrilami ter elektrostatično v miofibrilah med tankimi in debelimi filamenti (Honikel 2004; Huff-Lonergan in Lonergan, 2005; Pearce in sod., 2011). Gibanje proste vode je zaradi različnih sil bolj ali manj omejeno. Velikost prostora med filamenti se spreminja, saj je odvisna od tipa vlaken, dolžine sarkomere, stanja kontrakcije, vrednosti pH, ionske moči, osmotskega tlaka, prisotnosti dvovalentnih kationov in drugih dejavnikov (Xiong, 2004; Došler, 2007). Šibko bazičen pH (7,2-7,4) ustvari v živi mišici prevladujoč negativen površinski naboj mišičnih beljakovin, kar omogoča večjo sposobnost vezanja vode. Sposobnost beljakovin za vezanje vode se *post mortem* zmanjša, kadar se vrednost pH zmanjša in približa izoelektrični točki mišičnih beljakovin (pH  $\approx$  5). Površinski naboj beljakovin postane nevtralen (Huff-Lonergan in Lonergan, 2005). Sproščanje  $\text{Ca}^{2+}$  in  $\text{Mg}^{2+}$  ionov v sarkoplazmo zmanjša elektrostatičen odboj med filamenti, kar povzroči spremembe strukture in iztiskanje vode (Honikel, 2004; Huff-Lonergan in Lonergan, 2005; Pearce in sod., 2011). Denaturacija proteinov se pojavi kot rezultat zmanjšane topnosti proteinov, ko se vrednost pH zniža s 6,0 na 5,6. Denaturacija miozina povzroči krčenje miofibril, kar pa vpliva na izcejo (Karolyi, 2004; Huff-Lonergan in Lonergan, 2005).

V živi mišici (pH  $\approx$  7) miofilamenti zavzemajo večji del intracelularnega prostora, kar pomeni, da je okrog 95 % vode znotraj celice. Nekaj dni *post mortem* pa je zunaj celice že 15 % vode (Huff-Lonergan in Lonergan, 2005).

Karolyi (2004) je v svoji raziskavi ugotovil, da na sposobnost vezave vode v mesu vplivajo naslednji dejavniki:

- električni naboj mišice (pojav mlečne kisline, izoelektrična točka beljakovin);
- prostor, ki je na voljo vodi (v rigorju pride do strukturnih sprememb in zmanjšanja prostora);
- genetski dejavniki in procesi takoj po zakolu (mutacije, stres ter tehnološki procesi hlajenja in skladiščenja);

- hitrost zmanjšanja vrednosti pH (hitro zmanjšanje vrednosti pH ob visoki temperaturi povzroča denaturacijo funkcionalnih beljakovin in pojav bledega, mehkega in vodnega (BMV) mesa);
- temperaturni režim (hitro znižanje temperature pomaga preprečiti BMV);
- končna vrednost pH (visok končni pH je vzrok za pojav temnega, čvrstega in suhega (TČS) mesa, nizek končni pH pa za pojav BMV mesa);
- čas od zakola do obdelave (daljši čas pomeni večjo izgubo vode);
- razsek in velikost kosov mesa (manjši kot je kos mesa, večja bo izceja);
- hranjenje mesa (SVV je boljše pri 0-1°C, poslabša se že pri temperaturi 4 °C).

S poznavanjem strukture in sestave mesa ter poznavanjem interakcij voda – meso je možnosti potvorb lažje razumeti in tudi določiti.

### 2.3 POTVORBE MESA

Potrošniki si danes želijo in zahtevajo točne in zanesljive informacije o hrani, ki jo zaužijejo (Ballin, 2010). Ta izbira hrane je odvisna od načina življenja, ekonomskih in zdravstvenih razlogov, verskih prepričanj in čedalje bolj mešanega socialnega okolja (Primorose in sod., 2010). Zato se je pojavila potreba po poznavanju sestave živila in vsebnosti posameznih komponent v njem (Sentandreu in Sentandreu, 2011), še posebej tam, kjer je surovina obdelana tako, da ni moč razlikovati med komponentami (Primorose in sod., 2010). V primeru mesa to pomeni ovrednotenje vsake vrste mesa v izdelku. Pristojni organi morajo zaščititi potrošnike pred zavajajočim označevanjem, ki se ga poslužujejo podjetja z namenom povečanja dobička (Sentandreu in Sentandreu, 2011). V EU je navajanje informacij o živilu zahtevano z zakonom, zato morajo proizvajalci biti natančni in pravilno označevati izdelke (Primorose in sod., 2010).

Različne raziskave so pokazale, da napačno označevanje, kjer je zmrznjeno meso označeno kot sveže meso, predstavlja 8-15 % vseh analiziranih vzorcev. Meso je tarča ponarejanja na mnogo načinov in le eden od njih je nelegalna prodaja odtajanega mesa, ki se prodaja kot sveže meso. Namen tega je očiten, saj ima sveže meso višjo ceno kot zmrznjeno meso (Ballin in Lametsch, 2007).

Oddelek za raziskave verodostojnosti izdelkov (UK FSA authenticity programme), ustanovljen s strani FSA, je pristojen za potrjevanje skladnosti med označeno in dejansko sestavo živila in za ugotavljanje goljufij in ponaredb živil. Z metodami, ki so jih razvili, ugotavljajo skladnost deklaracije z izdelkom, način proizvodnje in geografsko poreklo (Primorose in sod., 2010).

Poleg navedenih razlogov za tovrstno kontrolo pa Ballin in sod. (2009) dodajajo še nekaj razlogov, zakaj je pomembno odkrivanje potvorb mesnih izdelkov:

- alergije in določene komponente, ki niso deklarirane,
- religijska prepričanja o prepovedi uživanja določenih vrst,
- pošteno trgovanje (zavajanje glede vrste mesa in ustrezne cene).

Že pred Ballinom in sod. (2009) so te razloge navedli Toorop in sod. (1997), ki navajajo, da se kontrola kakovosti v mesni industriji običajno izvaja z namenom, da se prepreči

kontaminacija z antibiotiki, kemikalijami ali plesnimi in mikroorganizmi. Poudarili so pomembnost odkrivanja zamenjav mesa višje kakovosti z mesom nižje kakovosti ali notranjimi organi.

Metode za ugotavljanje pristnosti so lahko razvrščene v kategorije, kjer je možnost prevare največja: izvor mesa, zamenjava mesa, obdelava mesa in ne-mesni dodatki. Vsaka od teh kategorij je razvrščena v podkategorije (Ballin, 2010):

- ugotavljanje izvora mesa: spol, kosi mesa, pasma, prehrana, starost ob zakolu, meso divjih živali ali meso udomačenih živali, organsko/ekološko ali konvencionalno prirejeno meso ter geografsko poreklo;
- prepoznavanje zamenjave mesa: vrsta mesa, tkiva, maščobe in beljakovine;
- prepoznavanje načina obdelave mesa: sevanje, sveže ali odtajano meso in toplotna obdelava mesa;
- določanje ne-mesnih sestavin: aditivi in dodana voda.

Za zagotavljanje kakovosti in ugotavljanje prisotnih goljufij so potrebne učinkovite analitične metode. Nekaj objavljenih raziskav je pokazalo potvorbo svežega mesa s prodajo odtajane. Ballin in Lametsch (2007) sta v svoji raziskavi ugotovila, da je 15 % izmed 43 vzorcev svežega mesa napačno označenih. Nekatere internetne raziskave kažejo tudi na pogosto prodajo zmrznjenega mesa, ki se je prodajalo po pretečenem roku trajanja.

Metode za odkrivanje ponarejanja hrane temeljijo na fizikalnih, kemijskih, bioloških in ostalih tehnikah. Vse te metode, ki so nadomestile zgodnje senzorične in empirične teste, se neprestano posodablajo, saj je potvorba hrane nepredvidljiva in vseskozi nastajajo novi problemi. Večina analitičnih postopkov je primerna za več primerov, kar da analitiku možnost izbire najprimernejše (količina vzorcev, zahteve, občutljivost ...). Večina analiz temelji na določanju osnovne sestave živila: vode, maščobe, beljakovin, ogljikovih hidratov, vlaknin in pepela. Vendar pa ti testi pogosto ne dajo nedvoumnih odgovorov o možnosti potvorbe. V veliko primerih lahko potvorbo odkrijemo z analizo vsebnosti določenih manjših komponent, ki se nahajajo v živilu zaradi potvorbe in niso naravno prisotne v analiziranem živilu (Tsimidou in Boskou, 2003).

Potreba po analitskih metodah, specifičnih za določeno vrsto, ponazarjajo naslednji primeri. Hsieh in sod. (1995) so z imunološkimi testi ugotovili, da je od 902 vzorcev 15,9 % surovih in 22,9 % kuhanih mesnih izdelkov imelo nedeklariran izvor mesa. Ayaz in sod. (2006) so v raziskavi na 100 vzorcih pokazali, da v 22,0 % ni pravilno oziroma sploh ni deklariran izvor mesa. V večini primerov je šlo za zamenjavo govedine s perutnino.

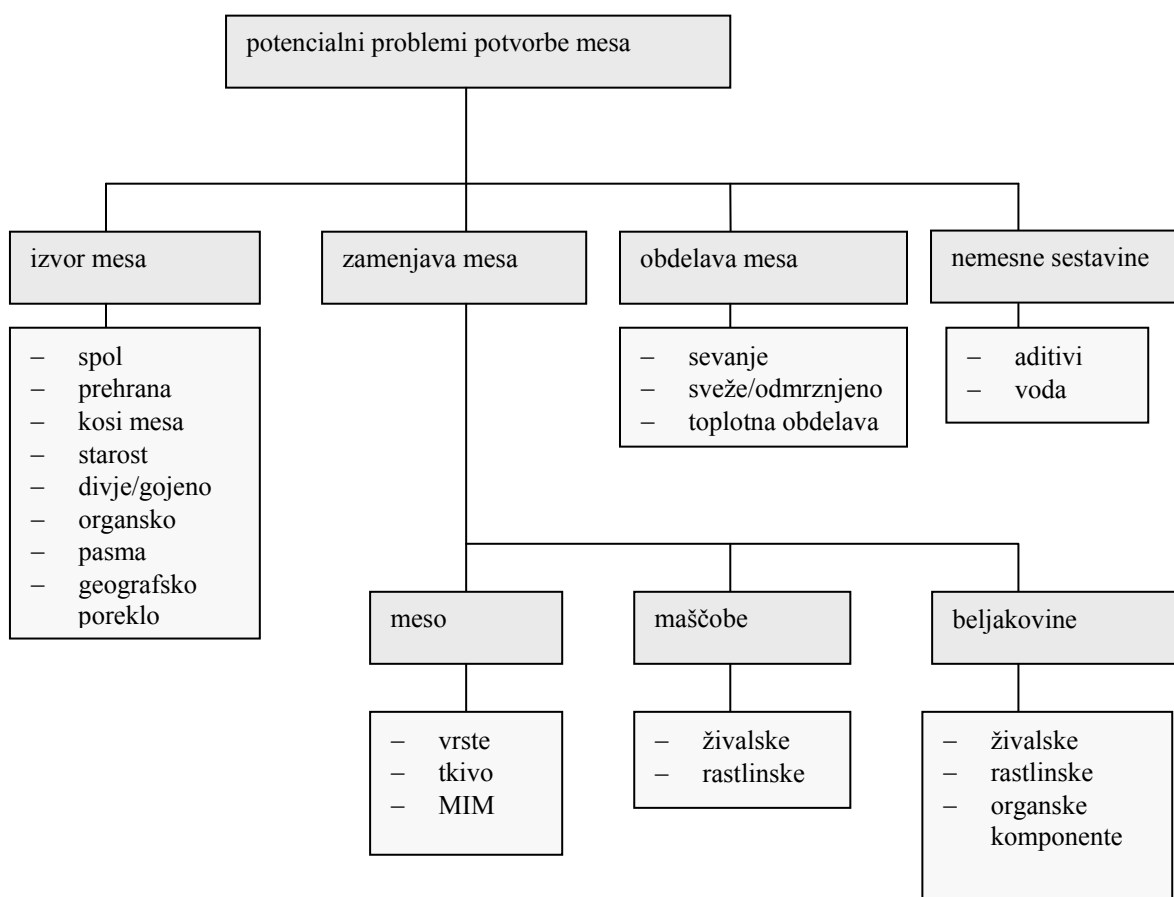
Pri ugotavljanju in določanju potvorb in goljufij se raziskovalci pogosto soočajo tudi s težavami povezanimi z (Primorose in sod., 2010):

- zakonodajo, standardi in priporočili: interpretacija rezultatov mora biti opravljena brez dvoma v analitsko metodo, upoštevati mora naravno variabilnost rezultatov in dovoljeno toleranco, končna odločitev mora zavreči vsakršen dvom;
- ustreznimi markerji, tipičnimi samo za preiskovano živilo oz. z določitvijo ene od sestavin, ki je tesno povezana s potvorbami, predelavo ali geografskim poreklom: marker mora biti specifičen, naravna variabilnost izbranega markerja v vzorcih mora biti omejena in točno definirana;

- izbiro reprezentativnega vzorca za postavitev in validacijo metode: to je manjši problem, kadar gre za nacionalne raziskave, problem je aktualnejši, kadar je potrebno pridobiti reprezentativne vzorce iz tujine.

Kljub vsem tem tehničnim oviram je bil narejen velik napredek na več področjih postavljanja metod. Vodilna na tem področju je UKFSA, posebno na področju razvijanja metod za dokazovanje avtentičnosti izdelkov. V večini primerov razvite metode postanejo ali pa spremenijo SOP (standardni operativni postopki) (Primorose in sod., 2010; Ballin in sod., 2009). Analitične metode so različne, kot so različni primeri potvorb, zato analitiki uporabljajo vrsto različnih tehnik in opreme (Ballin, 2010).

### 2.3.1 Pregled nekaterih potvorb mesa



Slika 6: Potencialni načini in vrste potvorb v mesu in mesnih izdelkih (Ballin, 2010).

V nadaljevanju so navedeni in opisani znani primeri goljufij z uporabo naziva »sveže meso«.

#### 2.3.1.1 Zamenjava živalskih vrst

Zamenjava dragega mesa s cenejšim je problem, ki nas spremlja že dolgo časa. Cenejše meso se obravnava kot meso nižje kakovosti ali celo meso prepovedanih živali. Nekaj

takih primerov je v svoji raziskavi zbral Toorop s sodelavci (1997), ki navaja primere zamenjave konjskega ali kengurujevega mesa z govedino (Cooper, 1985) ter svinjskega mesa s perutninskim (Swatland, 1985). V divjačinskem mesu pa je bilo najdeno neoznačeno meso avstralskih kengurjev in afriških antilop (Doberstein in Greuel, 1985).

Zaradi podobnosti v barvi in teksturi je svinjina potencialen vir ponarejanja govedine in jagnjetine (Wissiack in sod., 2003).

#### 2.3.1.2 Mehansko izkoščičeno meso

Mehansko izkoščičeno meso (MIM) je definirano kot ostanek materiala ob kosti, pridobljenega z mehanskimi postopki ali napravami, ki delujejo na principu pritiska s tako silo, da je struktura materiala razbita do te mere, da se kot pasta odcepi od kosti. Definicijo je sprejela British Meat Manufacturers Association leta 1991. Tak material predstavlja industriji priložnost za zmanjšanje stroškov na račun cenejših surovin za nekatere izdelke, kot so mesne pite, klobase in podobni izdelki. Najpogosteje uporabljeni material za MIM so piščančji in prašičji trupi. Za pridobivanje MIM se uporabljajo vretenca, rebra, pleče in medenica (Surowiec in sod., 2010).

#### 2.3.1.3 Dodajanje fosfatov v meso

Najpogosteje uporabljeni fosfati v mesni industriji so poli- in piro-fosfati. Med različnimi oblikami teh fosfatov so v mesni industriji najpogosteje uporabljeni natrijevi tri-poli-fosfati. Unal je s sodelavci (2004) zbral nekaj študij o vplivu fosfatov na povečanje SVV mesa, kar se odraža v kontroliranju izceje mišičnih sokov, možnosti preprečevanja zamrzovalnega ožiga in izgubi med toplotno obdelavo. Hrana, bogata s proteini, kot je meso, vsebuje fosfor v obliki nukleotidov, fosfolipidov, naravno prisotnih ortofosfatov in drugih. To predstavlja oviro pri določanju fosforja v vzorcih mesa, saj je količina naravno prisotnega fosforja med 0,11 in 4,8 % ali med 0,026 in 1,1 % (Unal in sod., 2004). Raziskave so pokazale, da je najprimernejša metoda za določanje fosfatov v vzorcu mesa AOAC 973.55-56 (1990) (Unal in sod., 2004).

V nadaljevanju navajam še nekaj funkcij dodanih fosfatov v mesu in mesnih izdelkih, ki bi jih lahko uporabili za potvorbe mesa. Tako meso bi lahko prodajali kot sveže, ki pa to ni.

Ke in sod. (2009) ugotavljajo, da zakisanje mesa sicer lahko izboljša teksturo mesa, vendar pa poveča oksidacijo lipidov v mesu. SVV in mehkoča goveje mišice *semitendinosus* sta se po dodatku citronske kisline (pH 3,52) močno izboljšala ter se povrnila v normalno stanje, ko se je pH vrednost z dodatkom natrijevega tri polifosfata povečala na 5,26. Mikrostruktura mesa je bila po zakisanju porušena, vendar se je po dodatku polifosfatov reformirala. Tudi oksidacija lipidov v govejih kockah je bila zavrta po dodatku natrijevega tri polifosfata ali natrijevega karbonata in izenačenju vrednosti pH z začetno vrednostjo presnega mesa.

Fosfati lahko tudi izboljšajo kakovost mesa, vendar je vprašanje, ali se tako meso lahko še prodaja kot sveže meso.

Pusto prašičje meso vsebuje malo medmišične maščobe, kar lahko vpliva na jedilno kakovost, posebno na sočnost in mehko. Zgodnje raziskave v 1960-ih in 1970-ih letih so ugotovljale izboljšanje sočnosti in mehko piščančjega mesa z injiciranjem vode in polifosfatov v majhnih količinah (Ke in sod., 2009).

Sheard in sod. (1999) so v raziskavi opazovali dve različni vrsti injekcij vodnih raztopin (5 in 10 g vode/100 g mesa) ter tri različne koncentracije polifosfatov (0 %, 0,3 % in 5 %), uporabljenih v svinjskih ledjih. Ugotavljali so vpliv polifosfatov na jedilno kakovost svinjskih zrezkov. Dokazali so izboljšano SVV, sočnost in mehko v primerjavi s kontrolnimi zrezki, vendar se je poslabšala aroma prašičjega mesa, saj se je pojavil priokus.

Za izboljšanje stabilnosti barve mesa, zmanjšanje oksidacije lipidov, izboljšanje mehko in zmanjšanje razgradnje beljakovin v govejem mesu, pakiranem v MAP (80 % O<sub>2</sub> in 20 % CO<sub>2</sub>), je primeren dodatek laktata in fosfata (L/P). Raziskovalci so 24 ur *post mortem* v mišičnino vbrizgali 10 % raztopino laktat/fosfat (2,5 %/0,3 %) ali vodo, vzorce zapakirali v MAP (80 % O<sub>2</sub> in 20 % CO<sub>2</sub>) in jih devet dni hranili pri temperaturi 1°C. Dodatek L/P je močno izboljšal barvo mesa (višja a\* vrednost) in mehko ter zmanjšal obseg oksidacije lipidov v primerjavi z dodatkom čiste vode (Kim in sod., 2010). Dodatek raztopine L/P v meso sprva poudari temno barvo površine mesa, vendar se stabilnost barve izboljša med skladiščenjem, zmanjšata se tudi oksidacija mioglobina in lipidov. Poleg tega pa tak način ravnanja z mesom ne vpliva na posmrtno razgradnjo beljakovin in podaljša obstojnost izdelka.

#### 2.3.1.4 Odtajano meso

Zmrzovanje je pomembna in razširjena metoda konzerviranja mesa in mesnih izdelkov, vendar močno vpliva na kakovost mesa, saj zmanjša mehko in SVV mesa, poveča se oksidacija lipidov, pride pa tudi do poslabšanja funkcionalnih lastnosti (Liu in sod., 2011). Med zmrzovanjem in tajanjem potekajo v mesu številne strukturne in molekularne spremembe. Najpogosteje pride do oblikovanja kristalov ledu, posledica tega pa je povečana koncentracija soli v okolici kristala. Ti kristali posledično poškodujejo mikrostrukturo, kar se neprestano dogaja med zmrzovanja kot tudi v procesu rekristalizacije med tajanjem. Od 8 do 10 % vode je nedostopne za tvorjenje kristalov. Ta voda sodeluje v kemijskih reakcijah in fizičnih premikih, kar vodi v povečanje koncentracije soli in posledično do denaturacije beljakovin. Posledica poškodbe celičnih organel sta izceja in izguba liposomov, ki vsebujejo encime (lipaze, karbohidraze, nukleaze in fosfataze) (Ballin in Lametsch, 2007).

Sledita dva primera, kjer so zamrznjeno meso odtajali, kemijsko obdelali in dobili lastnosti svežega mesa. Če se tako meso na trgu prodaja kot sveže meso, govorimo o potvorbi mesa.

Xia in sod. (2009) so raziskovali povezavo med odtajanim in neodtajanim (svežim) prašičjim mesom. Ugotovili so več primerov zamenjav svežega mesa z odtajanim, ko so ponarejevalci dodali tudi kalcijev klorid, ki je izboljšal mehko in zmanjšal izcejo. Vendar pa so opazili tudi stranske učinke, kot so izguba barve mesa ter grenek in kovinski priokus.

V raziskavi, ki so jo opravili Liu in sod. (2011), so v odtajano prašičje meso vbrizgali sok kivija z namenom izboljšati mehkobo mesa. Ledja so petkrat zmrznili in odtajali (-29 °C/ 4 °C). Za kontrolo so uporabili sveža, nezmrznjena ledja. V ledja so vbrizgali ali vodo ali raztopino kivijevega soka (10 % glede na maso mesa). Dodatek kivijevega soka je povzročil zmanjšanje strižne sile, torej izboljšanje mehkobe mesa, in močnejšo razgradnjo miozina.

### 2.3.1.5 Voda

Običajna prevara je povečanje vsebnosti vode v mesu z namenom povečanja volumna in mase mesa. Tovrstne prevare ne povzročajo zdravstvenih zapletov pri potrošnikih, vendar pa negativno vplivajo na okus mesa. Potrošniki so prevarani, saj za ceno mesa kupijo vodo (Sentandreu in Sentandreu, 2011; Elliot, 2007; Ballin, 2010).

Razlikovati med naravno prisotno in dodano vodo je problem. Če določimo vsebnost vode v živilu in iz tega skušamo določiti količino dodane vode, moramo poznati točno vsebnost naravno prisotne vode v tem živilu. Študije so pokazale sezonsko variacijo vsebnosti vode v rakah v območju 78-82 %. Tudi če se doda ali izgubi do 20 %, je ta količina vode še vedno v normalnem območju (Kent in sod., 2001).

Kent in sod. (2001) opozarjajo na zakonodajo, ki omejuje dodajanje vode in ostalih aditivov, in zahteve, da se na izdelkih označi sestava izdelka in dodani aditivi. Za to so odgovorni nacionalni pravilniki in direktive Evropske skupnosti. QUID (Quantitative Labelling Directive) je leta 2000 izdal aneks k direktivi o označevanju, v katerem je določeno, da se osnovne komponente živila navedejo v količinah. Med nje spada tudi dodana voda. Vendar pa je določanje dodane vode težko merljivo v živilih, ki vsebujejo veliko količino naravno prisotne vode (70, 80 ali več odstotkov), med katere sodi tudi meso.

Elliot (2007) navaja, da je perutninsko meso, namenjeno prehrani v restavracijah, šolah in bolnišnicah, pogosto potvorjeno z dodatkom vode, da se povečata volumen in masa. Kot navaja v članku, naj bi bilo to meso proizvedeno na Nizozemskem, kjer FSA in tržna inšpekcija preiskujeta 63000 ton perutninskega mesa, ki naj bi mu bila dodana voda.

Kent in sod. (2001) po različnih avtorjih navajajo, da je voda živilu med procesom dodana nenamerno (pranje surovine) ali namerno (dodajanje polifosfatov iz različnih vzrokov). Namerno dodajanje vode s polifosfati (natrijev tetrapolifosfat, E450) je lahko tehnološko opravičljivo, saj lahko pripomore k manjši izceji, povrnitvi hranil in antioksidativni sposobnosti mesa. Raziskovalci navajajo primer potapljanja rib v razsol (raztopina natrijevega klorida), ko se z difuzijo v ribjem mesu poveča količina vode ter s tem spremeni aroma in obstojnost. V raziskavi, ki so jo opravili Kent in sod. (2001), je bila vsebnost dodane vode v sveži in neobdelani svinjini, perutnini, ribah in rakah regulirana, ali s potapljanjem ali vbrizganjem v raztopine polifosfatov in soli, katerih koncentracije so bile znane.

V naslednjem odstavku so predstavljene metode, s katerimi določamo vodo v mesu. Nekatere so relativno nove in so še v fazi raziskav, saj se pojavlja trend enostavne, hitre in zanesljive analize.

Standardna metoda za odkrivanje dodane vode v mesu je razmerje voda/beljakovine (Prayson in sod., 2008). Iz razmerja voda/beljakovine se lahko določi dodana voda v izkoščičena piščančja prsa brez kože (Commission Recommendation (EC), 2005). Vsebnost vode se določa po metodi ISO 1442, ki določa tehtanje vzorcev pred in po sušenju do konstantne mase. Vsebnost beljakovin pa se določa po metodi ISO 937 (Kjeldahl). Če je razmerje voda/beljakovine visoko, je to pokazatelj dodajanja vode. Vendar pa so v meso lahko dodani proteini in fosfati za povečanje vezanja vode, kar ne spremeni razmerja voda/beljakovine. V tem primeru je primerna analiza dokazovanja nemernih proteinov ali fosfatov v mesu (Ballin, 2010). Skupina raziskovalcev pa v svojih člankih navaja alternativne metode, kot sta nuklearna magnetna resonanca ali magnetno resonančno slikanje, ki so se izkazale za učinkovite tudi pri preučevanju gibanja vode v mesu (Sentandreu in Sentandreu, 2011; Hansen in sod., 2008; Bertram in Anderson, 2007).

### 2.3.2 Metode za določanje najpogostejših potvorb

Za določanje potvorb se v zadnjem času omenja in preizkuša veliko različnih metod. V nadaljevanju so v preglednici 4 zbrani problemi, ki kažejo na potvorbe mesa in metode, s katerimi se določa potencialen vir potvorbe.

**Preglednica 4: Primeri analitičnih tehnik, uporabljenih za ugotavljanje potvorb mesa in mesnih izdelkov (Hargin, 1996; Aristoy in Toldra, 2004; Ballin in Lametsch, 2007; Chou in sod., 2007; Heaton in sod., 2008; Ballin, 2010; Surowiec in sod., 2010; Soares in sod., 2010).**

Problem	analitična tehnika
izvor mesa	
spol	plinska kromatografija s tandemsko masno spektrometrijo (gas chromatography–mass spectrometry ali GC-MS), tekočinska kromatografija, sklopljena s tandemsko masno spektrometrijo (high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry ali LC-MS/MS), test ELISA (enzymelinked immuno sorbent assays ali ELISA), verižna reakcija s polimerazo (traditional polymerase chain reaction ali PCR), PCR v realnem času (real time PCR)
kos mesa	vizualno
pasma	določanje enojnih nukleotidnih polimorfizmov (single nucleotide polymorphism ali SNP), določanje polimorfizma dolžin pomnoženih fragmentov (amplified fragment length polymorphism ali AFLP), genotipizacija (genotyping), naključno pomnožena polimorfna DNA (random amplified polymorphic DNA ali RAPD), bližnja infrardeča spektroskopija (near infrared reflectance spectroscopy ali NIRS)
način prehranjevanja	HPLC-UV (ultraviolet detector), plinska kromatografija s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID), plinska kromatografija z masno spektrometrijo, ki zajema vzorce s <i>head space</i> tehniko (head space GC-MS), spektroskopija

**Se nadaljuje.**



**Nadaljevanje preglednice 4: Primeri analitičnih tehnik, uporabljenih za ugotavljanje potvorb mesa in mesnih izdelkov (Hargin, 1996; Aristoy in Toldra, 2004; Ballin in Lametsch, 2007; Chou in sod., 2007; Heaton in sod., 2008; Ballin, 2010; Surowiec in sod., 2010; Soares in sod., 2010).**

<b>Problem</b>	<b>analitična tehnika</b>
<b>izvor mesa</b>	
starost ob zakolu	enako kot način prehranjevanja
meso prostoživečih vs. gojenih živali	GC, analiza izotopov (multi element isotopic analysis)
organsko vs. konvencionalno meso	fluorescenčna mikroskopija (fluorescence microscopy), GC, masna spektrometrija za določanje izotopskega razmerja lahkih elementov (isotope ratio mass spectrometry ali IRMS)
geografski izvor	MS, SNP
<b>zamenjava mesa</b>	
meso (vrste)	ELISA, LC, izoelektrično fokusiranje (isoelectric focusing), kapilarna gelska elektroforeza (Capillary gel electrophoresis), tradicionalen PCR, PCR v realnem času, RFLP, RAPD, sekvencioniranje (sequencing), analiza konformacij enoverižnih DNK (single-strand conformational analysis ali SSCA), kometni test ali elektroforeza posameznih celic (conformation sensitive gel electrophoresis ali CSGE)
meso (tkiva)	infrardeča spektroskopija (mid-infrared spectroscopy), ELISA, LC-MS/MS
dodatek mehansko odkoščenega mesa	histološki testi, analiza osnovne sestave in določenih sestavin, značilnih za mehansko odkoščeno meso (kolagen, kalcij, železo, vsebnost purina), merjenje izločene tekočine, elektroforeza
maščobe (rastlinskega izvora)	HPLC, GC-MS, APPI LC-MS/MS (pretok z APPI ionskim izvorom), GC-FID
maščoba (živalskega izvora)	GC
beljakovine (rastlinskega izvora)	HPLC, ELISA
beljakovine (živalskega izvora)	imunološke metode (Microsphere-based flow cytometric immunoassay), LC, ELISA
beljakovine (melamin in urea)	head space GC-MS, LC-MS/MS
<b>tehnološka obdelava</b>	
sevanje	spektroskopija z elektronsko spinsko resonanco (electron spin resonance spectroscopy ali ESR), GC, kometni test
sveže/odmrznjeno meso	encimske metode, kometni test, infrardeča spektroskopija (infrared spectroscopy), nuklearna magnetna resonanca (nuclear magnetic resonance ali NMR), elektronska mikroskopija (electron microscopy), senzorično
toplotna obdelava mesa	HPLC, LC-MS/MS

### 3 MATERIALI IN METODE DELA

#### 3.1 MATERIALI

V poskus je bilo vključeno sveže meso, ki smo ga naključno izbrali pri različnih trgovcih in privatnih ponudnikih. Vključili smo goveje, prašičje in perutninsko meso.

Vzorci govejega mesa so bili: sveže mlado stegno (Mesarija Arvaj), v modificirano atmosfero pakirano sveže goveje meso za golaž in sveže narezani goveji zrezki (Lidl).

Vzorci prašičjega mesa so bili: svinjsko stegno (Mesarija Arvaj), v modificirano atmosfero pakirano sveže svinjsko mleto meso (Hofer), mešano mleto meso svinjina-govedina (Lidl) in svinski zrezek, hrbet (Lidl).

Vzorci perutnine so bili: začinjena piščančja prsa (Pivka) in puranja prsa (Lidl).

##### 3.1.1 Načrt poskusa

Delo smo razdelili na štiri ločene dele, ki so bili med seboj vsebinsko povezani.

##### **Analiza različnih vrst mesa, vzorčenega v trgovinah**

Na vseh vzorcih presnega mesa različnih vrst smo opravili analize, kot so vsebnost vode, beljakovin,  $\text{Cl}^-$  (Volhard) in  $\text{Na}^+$  z dvema metodama, z ion selektivno elektrodo ( $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$ ) in atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo ( $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$ ).

##### **Analiza homogeniziranega govejega in prašičjega mesa z različno količino dodane vode**

V ta del poskusa smo vključili samo vzorce govejega in prašičjega mesa proizvajalca Mesarija Arvaj, katerih analize osnovnih kemijskih parametrov, določenih v prvem delu poskusa, so bili v pričakovanih okvirih. Tem vzorcem smo po postopku, opisanem v poglavju 3.2.1.6, dodali različne količine vode in v njih določili vsebnost vode, beljakovin, neproteinskega dušika (NPN) in  $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$  ter  $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$ . Perutninskega mesa nismo vključili, ker je bil en vzorec začinjeno meso, druga dva pa sta pri določanju vsebnosti  $\text{Cl}^-$  po Volhardu kazala nenavadne barvne reakcije, značilne za to analizo, in vsebnosti NaCl nismo mogli iz vrednotiti. Ravno zaradi teh barvnih reakcij, ki so onemogočala določitev NaCl v vzorcih, smo poskusili določiti  $\text{Na}^+$  z ion selektivno elektrodo (ISE) in atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo (AAS).

##### **Analiza homogeniziranega govejega, prašičjega in piščančjega mesa z različno količino standardnega dodatka NaCl (10 % raztopina)**

Namen tega dela poskusa je bil določiti količino  $\text{Na}^+$  v vzorcih homogeniziranega govejega, prašičjega in piščančjega mesa in glede na rezultate sklepati, **ali je bil mesu dodan  $\text{Na}^+$  oziroma aditiv, ki se uporablja za vezavo vode in vsebuje  $\text{Na}^+$ .**

Izdelali smo umeritvene krivulje s standardnim dodatkom 10 % raztopine NaCl z namenom, da potrdimo točnost merjenja vsebnosti  $\text{Na}^+$  po obeh metodah. Govejemu

prašičjemu stegnu (Mesarija Arvaj) in začinjenim piščančjim prsim (Pivka) smo dodali znane količine 10 % raztopine NaCl, ki so eksponentno naraščale do te mere, da smo pokrili območje, v katerem smo pričakovali vrednosti vzorcev mesa. Drugi cilj tega dela poskusa je bil tudi najti enotno pripravo vzorca za obe metodi merjenja Na<sup>+</sup>. Priprava vzorca je natančneje opisana v poglavju 3.2.1.5.

### **Analiza zrezkov govejega, prašičjega in piščančjega mesa z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopin**

Za vsako vrsto mesa smo pripravili 0,5 % raztopine različnih aditivov za vezavo vode (natrijev askorbat (Fluka, 2051261), natrijev klorid (Merck, 1.06404.1000), trinatrijev citrat (industrijska začimba, E331), natrijev acetat (Merck, 1.066404) in kalijev klorid (Kemika, 1120907)) in jih vbrizgali v kose mesa (10 % na maso mesa). Te smo zapakirali v nepropustne vrečke in zmrznili pri temperaturi -18 °C. Čez 72 ur smo jih 4 ure tajali na sobni temperaturi (20 °C), stehali, homogenizirali in določili vsebnost vode, beljakovin, neproteinskega dušika, Cl<sup>-</sup> po Volhardu, Na<sup>+</sup><sub>elekt</sub> in Na<sup>+</sup><sub>AAS</sub>, ter izračunali različna razmerja med analiziranimi parametri. Namen dodatkov je bil ugotoviti vpliv le-teh na analizne metode, tj. motenje analize.

## **3.2 METODE DELA**

### **3.2.1 Fizikalno-kemijske analize**

#### **3.2.1.1 Določanje vsebnosti vode s sušenjem**

Po uradnem postopku opisanem v AOAC Official Method 950.46 Moisture in meat (AOAC, 950.46, 1997) in v ISO Standards 67.120.10: Meat and meat products (ISO 1442, 1997; Determination of moisture content).

#### **3.2.1.2 Določanje vsebnosti beljakovin**

Po uradnem postopku, opisanem v AOAC Official Method 928.08 Nitrogen in meat Kjeldahl method (AOAC, 928.08, 1997) in v ISO Standards 67.120.10: Meat and meat products (ISO 937, 1978; Determination of nitrogen content).

#### **3.2.1.3 Določanje vsebnosti neproteinskega dušika**

Vsebnost NPN v mesu določamo po modificirani metodi, ki jo opisujejo Paulsen in sod. (2006) in Soriano in sod. (2006). Zatehemo 2,0 g homogeniziranega vzorca, dodamo 40 ml ohlajene 3 % trikloroacetne kisline (Merck, 1.00807) in 90 sekund homogeniziramo s homogenizatorjem (Ultraturrax T25, nastavek S25N-18G; IKA, Nemčija) pri 20000 obr/min. Suspenzijo filtriramo skozi filter papir (Sartorius 388, FT-3-101-150) direktno v Büchi razklopne kivete. Vsebnost NPN določamo v skupnem bistrem filtratu z Büchi Kjeldahl linijo (Büchi Kjeldahl Line: K-242, B-324, B-414) za določanje dušika po uradni Kjeldahl metodi (AOAC 928.08, 1997).

#### 3.2.1.4 Določanje vsebnosti $\text{Cl}^-$ po Volhardu

Vsebnost  $\text{NaCl}$  smo določali po Volhardu (Demšar in Polak, 2010), ki smo jo nekoliko modificirali, in sicer smo namesto 20,0 ml 0,1M srebrovega nitrata dodali samo 10,0 ml omenjenega reagenta.

#### 3.2.1.5 Določanje vsebnosti $\text{Na}^+$

##### 3.2.1.5.1 Priprava vzorca

Meso homogeniziramo, zmrzujemo in zmrznjenega še enkrat homogeniziramo. V čaše zatehtamo 5,0 g mesa, dodamo 5,0 g destilirane vode ter raztopino za zagotavljanje ionske moči (ISA) do 100,0 g (raztopina homogeniziranega mesa,  $R = 20$ ). ISA raztopino pripravljamo po potrebi, saj je nestabilna in starost raztopine vpliva na meritev. Raztopino ISA pripravimo iz magnezijevega sulfata (Merck, 1.05886), TRIS-a (Riedel-de Haen, 33742) in bidestilirane vode. Za 1 L ISA raztopine potrebujemo 11,34 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  in 7,99 g TRIS-a.

V čašo damo magnetno mešalo in mešamo na mešalu (hitrost mešanja: 8) 20 do 30 min brez segrevanja (perutnino 20 min, za goveje in prašičje meso 30 min). Mešamo toliko časa, dokler posameznih koščkov mesa ni več videti. Vse vezivo in maščobno tkivo se navije okoli mešala ali po stenah čaše. Po končanem mešanju ves vzorec filtriramo skozi naguban filter papir v čašo. Nato del filtrata še enkrat filtriramo z injekcijo v epice za analizo na AAS, preostanek filtrata pa uporabimo za merjenje z elektrodo.

$R=20$  predstavlja stopnjo razredčitve vzorca pri pripravi analizne raztopine (100,0 g), kar pomeni, da so rezultati, kjer je uporabljen  $R=20$ , podani glede na analizno raztopino (100,0 g). Za primerjavo z rezultati vzorcev mesa (preglednica 4) je potrebno rezultat pomnožiti s faktorjem  $R$ .

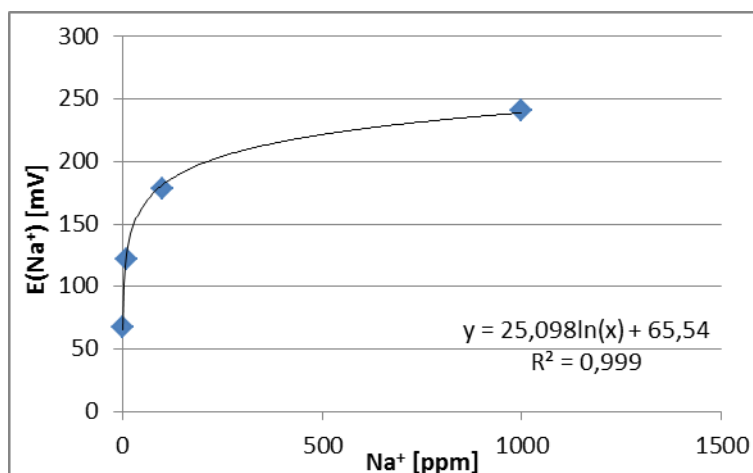
##### 3.2.1.5.2 Umeritvena krivulja za elektrodo

Pripravimo osnovno standardno raztopino ( $\text{NaCl} + \text{ISA}$ ), ki vsebuje 1000 ppm  $\text{Na}^+$  (0,04337 mol/L). Pripravimo jo tako, da zatehtamo 0,2535 g suhega  $\text{NaCl}$  in dodamo ISA do 100,0000 g raztopine. Pripravimo tudi shranjevalno raztopino za shranjevanje ion selektivne elektrode. Shranjevalno raztopino pripravimo iz 0,0300 g  $\text{NaCl}$  in z ISA dopolnimo do 1000,00 g.

Za umeritveno krivuljo smo določili štiri točke iz standardne raztopine, in sicer 1000, 100, 10 in 1 ppm  $\text{Na}^+$ . Raztopine smo pripravili v čaše in dodali magnetno mešalo in med mešanjem po petih minutah odčitavali potencial v 30-sekundnih intervalih. Med meritvami spiramo elektrodo z raztopino za spiranje elektrode (ISA). Pri tem pazimo, da raztopine za spiranje ne natočimo skozi odprtino za dodajanje referenčne raztopine.

**Preglednica 5: Umeritvena krivulja za določanje  $\text{Na}^+$  z ion selektivno elektrodo.**

$\text{Na}^+$ [ppm]	1000,0	100,0	10,0	1,0
$E(\text{Na}^+)$ [mV]	241,1	178,4	122,2	67,2



**Slika 7: Umeritvena krivulja za določanje Na<sup>+</sup> z ion selektivno elektrodo; točke za kalibracijo elektrode, podane po navodilih proizvajalca.**

Za izračun vsebnosti Na<sup>+</sup> uporabimo formulo  $x = e^{\frac{b-y}{a}}$ , kjer je:

x = Na<sup>+</sup> (ppm) (vsebnost Na<sup>+</sup> v analizirani raztopini);

y = E(Na<sup>+</sup>) (mV);

a in b pa točki umeritvene krivulje za elektrodo (a = 25,098 in b = 65,54).

Za določanje koncentracije Na<sup>+</sup> pri kalibraciji elektrode ne delamo v paralelkah. Pri določanju umeritvene krivulje delamo z 2 paralelkama, 1 za merjenje z ISE in 1 za merjenje z AAS.

Umeritvena krivulja s standardnim dodatkom

Vzorcu mesa dodajamo različne količine standardnega dodatka (SD), ki je 10 % raztopina NaCl. Določimo 7 točk za umeritveno krivuljo, in sicer glede na količino SD. Podatki o standardnem dodatku so podani v Preglednicah 6-8. Posamezna točka je sestavljena iz dveh podatkov: v gramih je izražena masa 10 % SD, v enotah ppm pa teoretičen doprinos Na<sup>+</sup> v masi SD. Te točke so navedene v preglednicah 6, 7 in 8 za posamezno vrsto mesa.

V čašo zatehtamo 5,0 g homogeniziranega mesa, dodamo SD, z destilirano vodo dopolnimo do 10,0 g in dodamo ISA do 100,0 g. Nato dodamo magnetno mešalo in nadaljujemo, kot je opisano pri pripravi vzorca (glej poglavje 3.2.1.5.1).

Za primerjavo z metodo AAS dobljene vrednosti preračunamo v enoto ppm Na<sup>+</sup>.

**Preglednica 6: Točke umeritvene krivulje določanje vsebnosti  $\text{Na}^+$  elekt in  $\text{Na}^+$  AAS v govejem mesu.**

masa mesa [g]	masa SD [g]	$\text{Na}^+$ [ppm]/ $\text{Na}^+$ [mV]	masa dodane vode [g]	masa ISA [g]
5,008	0,060	27 / 158,4	4,941	89,997
5,011	0,143	51 / 171,6	4,883	89,990
5,014	0,216	78 / 178,4	4,796	90,010
5,011	0,463	177 / 194,5	4,550	90,002
4,993	0,693	275 / 204,0	4,315	90,001
4,997	0,954	373 / 212,0	4,075	90,013
5,013	1,209	470 / 217,5	3,805	90,015

-:  $\text{Na}^+$  [ppm] predstavlja teoretični prispevek  $\text{Na}^+$  v standardnem dodatku k končni raztopini.

**Preglednica 7: Točke umeritvene krivulje določanje vsebnosti  $\text{Na}^+$  elekt in  $\text{Na}^+$  AAS v prašičjem mesu.**

masa mesa [g]	masa SD [g]	$\text{Na}^+$ [ppm]/ $\text{Na}^+$ [mV]	masa vode [g]	masa ISA [g]
5,015	0,068	30 / 161,3	4,942	90,035
4,995	0,150	53 / 173,1	4,876	90,007
5,012	0,215	78 / 179,6	4,808	90,018
4,998	0,475	182 / 195,1	4,554	90,004
4,993	0,713	282 / 204,8	4,306	90,000
4,994	0,950	371 / 211,9	4,056	90,031
5,021	1,214	472 / 217,9	3,801	90,030

-:  $\text{Na}^+$  [ppm] predstavlja teoretični prispevek  $\text{Na}^+$  v standardnem dodatku k končni raztopini.

**Preglednica 8: Točke umeritvene krivulje določanje vsebnosti  $\text{Na}^+$  elekt in  $\text{Na}^+$  AAS v piščancjem mesu.**

masa mesa [g]	masa SD [g]	$\text{Na}^+$ [ppm]/ $\text{Na}^+$ [mV]	masa vode [g]	masa ISA [g]
5,025	0,068	30 / 159,9	4,943	89,992
5,001	0,147	52 / 172,1	4,885	90,013
5,005	0,206	75 / 178,4	4,808	90,008
4,994	0,460	176 / 196,0	4,539	90,006
4,999	0,711	281 / 206,2	4,305	89,998
4,998	0,959	375 / 213,5	4,050	90,036
5,012	1,200	466 / 219,3	3,796	90,020

-:  $\text{Na}^+$  [ppm] predstavlja teoretični prispevek  $\text{Na}^+$  v standardnem dodatku k končni raztopini.

### 3.2.1.5.3 Določanje $\text{Na}^+$ z ion selektivno elektrodo

Elektroda je pomočena v shranjevalno raztopino. Pred prvo meritvijo vzorca izmerimo vrednost  $\text{Na}^+$  v shranjevalni raztopini. Izmerjena vrednost je med 192,0 in 194,0 mV, kar pomeni, da lahko začnemo z analizo vzorcev.

V čašo, kjer je vzorec (način priprave je opisan v poglavju 3.2.1.5.1), dodamo magnetno mešalo in med mešanjem 4x odčitamo rezultat po petih minutah v 30-sekundnih intervalih. Po merjenju vsakega vzorca elektrodo spiramo z raztopino za spiranje. Meritev opravimo brez paralelke.

Delo poteka z instrumentom Ion Analyser PHM250, ion selektivno elektrodo ISE21Na, elektroda z referenčno elektrodo REF 251 (Radiometer, Coenhagen).

#### 3.2.1.5.4 Določanje $\text{Na}^+$ z atomskim absorpcijskim spektrofotometrom (AAS)

Vzorec razredčimo z destilirano vodo, in sicer glede na pričakovano vrednost  $\text{Na}^+$ . Kakšne so pričakovane vrednosti  $\text{Na}^+$ , sklepamo iz rezultatov, dobljenih pri merjenju z elektrodo.

Pred merjenjem vzorcev aparat umerimo s standardnimi raztopinami  $\text{Na}^+$ . Imamo tri standarde, in sicer 0,5 ppm  $\text{Na}^+$ , 1,0 ppm  $\text{Na}^+$  in 2,0 ppm  $\text{Na}^+$ . Z izmerjenimi standardi aparat izriše umeritveno krivuljo in začnemo z merjenjem vzorcev. Aparat avtomatsko poda rezultat kot koncentracija  $\text{Na}^+$  v ppm. Rezultat pomnožimo z razredčitvijo, ki je določena za vsak vzorec posebej. Meritev vzorca opravimo enkrat, brez paralelke.

Delo poteka z PERKIN-ELMER 1100B Atomic Absorbtion Spectrophotometer.

#### 3.2.1.6 Dodajanje različne količine vode v homogenizirano goveje in prašičje meso

Vodo dodajamo v prašičje in goveje homogenizirano meso (stegno). Homogeniziran vzorec mesa razdelimo na 5 delov, enemu delu ne dodamo vode, ostalim delom pa 10 %, 25 %, 40 % in 65 % vode in homogeniziramo. Sledijo analize vsebnosti vode, beljakovin, NPN,  $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$  in  $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$ . Delo poteka v dveh paralelkah.

#### 3.2.1.7 Dodajanje različnih aditivov v obliki 0,5 % vodnih raztopin v zrezke govejega, prašičjega in piščančjega mesa

Uporabimo sveže narezane zrezke govejega in prašičjega stegna ter piščančjih prsi. Pripravimo 0,5 % vodne raztopine natrijevega askorbata (Fluka, 2051261), natrijevega klorida (Merck, 1.06404.1000), trinatrijevega citrata (industrijska začimba, E331), natrijevega acetata (Merck, 1.066404) in kalijevega klorida (Kemika, 1120907). V vsako vrsto mesa z injekcijo vbrizgamo 5 raztopin aditivov, tako da dobimo 5 zrezkov vsake vrste mesa. Pripravimo tudi kontrolni zrezek, v katerega vbrizgamo samo vodo. Pred vbrizganjem zrezke stehamo. Po vbrizgavanju raztopine aditiva zrezke zmrzujemo za 72 ur in jih nato odtajane stehamo (4 ure pri 20 °C), homogeniziramo in opravimo analize vsebnosti vode, beljakovin, NPN,  $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$  in  $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$ . Analize opravimo v dveh paralelkah, ki jih pripravimo iz homogeniziranega zrezka.

## 4 REZULTATI

### 4.1 GOVEJE, PRAŠIČJE IN PERUTNINSKO MESO, VZORČENO V TRGOVINAH

Rezultati fizikalno-kemijske analize presnega mesa različnih vrst, ki je vsebovala določanje vsebnosti vode, beljakovin, NaCl in Na<sup>+</sup> z dvema metodama, z ion selektivno elektrodo (Na<sup>+</sup><sub>elekt</sub>) in atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo (Na<sup>+</sup><sub>AAS</sub>), so predstavljeni v preglednici 9. Iz preglednice je razvidno, da vsebnosti posameznih parametrov močno variirajo. Vsebnost beljakovin je v mejah med 17,76 % in 25,12 %, vode med 63,34 % in 76,33 %, NaCl 50 in 140 ppm, Na<sup>+</sup><sub>elekt</sub> med 58 ppm in 72 ppm, Na<sup>+</sup><sub>AAS</sub> med 57 ppm in 68 ppm. Trije izdelki iz trgovine Lidl so se pri določanju vsebnosti soli po Volhardu nenavadno obarvali ali pa so se pojavili kosmiči, kar je onemogočilo pravilno določitev vsebnosti soli. Na večini vzorcev je delo potekalo v dveh paralelkah. Kjer so rezultati pokazali odstopanja oziroma nenavadne vrednosti, smo analizo opravili ponovno z dvema paralelkama. Rezultati so prikazani z upoštevanjo napako meritve in so prikazani tako, da je razlika še opazna.

**Preglednica 9: Vsebnost beljakovin, vode, NaCl in Na<sup>+</sup> v mesu, vzorčenem v trgovinah.**

Vzorec/parameter	beljakovine [%]	voda [%]	Razmerje voda/beljakovine	NaCl (Volhard) [ppm]	Na <sup>+</sup> <sub>elekt</sub> [ppm]	Na <sup>+</sup> <sub>AAS</sub> [ppm]
goveje stegno (Mesarija Arvaj)	23,18	73,86	3,2	500	720	680
goveje meso za golaž (Lidl, nedeklariran kos mesa)	21,37	76,33	3,6	370	610	-
narezani goveji zrezki (Lidl, nedeklariran kos mesa)	23,80	74,15	3,1	a	600	-
svinsko stegno (Mesarija Arvaj)	21,04	75,57	3,6	200	600	580
svinjsko mleto meso (Hofer)	19,56	67,75	3,5	900	-	-
svinski zrezek, hrbet (Lidl)	24,60	71,24	3,0	1400	590	-
mešano mleto meso svinjina-govedina (Lidl)	17,76	63,34	3,6	b	610	-
začinjena piščančja prsa (Pivka)	23,18	74,79	3,2	1400	610	570
puranja prsa (Lidl)	25,12	73,34	2,9	c	580	-

-: analiza ni bila izvedena; a: temno rjavo obarvana tekočina z modrimi kosmiči različnih velikosti; b: rjavo obarvana tekočina z modrimi kosmiči; c: ustrezna barva tekočine, vendar pojav velikih modrih kosmičev

Iz preglednice 9 je razvidno, da je dodana voda oziroma sredstvo za vezanje vode dodano puranjim prsim (Lidl, razmerje voda/beljakovine in soli), narezanim govejim zrezkom (Lidl, soli), govejim golaž kockam (Lidl, razmerje voda/beljakovine) ter mletemu mešanemu mesu (Lidl, soli).



Napaka določanja beljakovin je manjša kot 2,44 %, napaka določanja vode je manjša kot 0,44 %, napake ostalih meritev pa so ocenjene na manj kot 5 %.

#### 4.2 HOMOGENIZIRANO GOVEJE IN PRAŠIČJE MESO Z RAZLIČNO KOLIČINO DODANE VODE

V vzorce homogeniziranega govejega in prašičjega mesa (izbranega na podlagi preglednice 9) smo dodajali znano količino vode. Spremljali smo vpliv dodane vode na vsebnost beljakovin, NPN,  $\text{Na}^+_{\text{elekt}}$  in  $\text{Na}^+_{\text{AAS}}$  ter izračunali razmerji voda/beljakovine ter NPN/beljakovine.

##### 4.2.1 Beljakovine, vode, NPN ter razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine

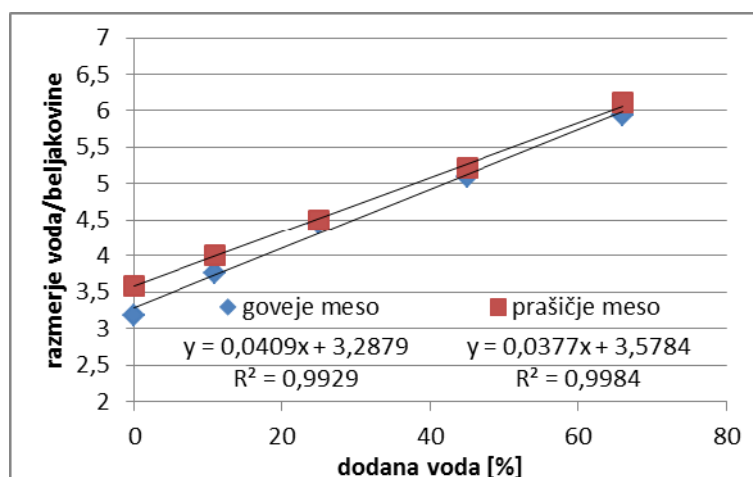
V nadaljevanju so grafično in v preglednicah predstavljeni rezultati določanja beljakovin, NPN ter razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine. Napaka določanja beljakovin je manjša kot 1 %. V primeru dodajanja vode pa napaka zaradi nehomogenosti naraste na 4 %. Napaka določanja vode je manjša od 0,03 %. V primeru dodajanja vode pa zaradi nehomogenosti napaka naraste na 0,3 %

**Preglednica 10: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem govejem mesu z različno količino dodane vode.**

delež dodane vode [%]	beljakovine [%]	voda [%]	voda/beljakovine	NPN/beljakovine
0	23,18	73,86	3,2	0,090
11	19,96	75,10	3,8	0,094
25	17,51	77,96	4,5	0,099
45	15,49	78,98	5,1	0,097
66	13,99	83,18	6,0	0,097

**Preglednica 11: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem prašičjem mesu z različno količino dodane vode.**

delež dodane vode [%]	beljakovine [%]	voda [%]	voda/beljakovine	NPN/beljakovine
0	21,04	75,57	3,6	0,090
11	19,31	77,54	4,0	0,093
25	17,60	79,17	4,5	0,092
45	15,77	82,30	5,2	0,091
66	13,91	85,00	6,1	0,097



Slika 8: Spreminjanje razmerja voda/beljakovine z dodatkom vode v homogeniziranem govejem in prašičjem mesu.

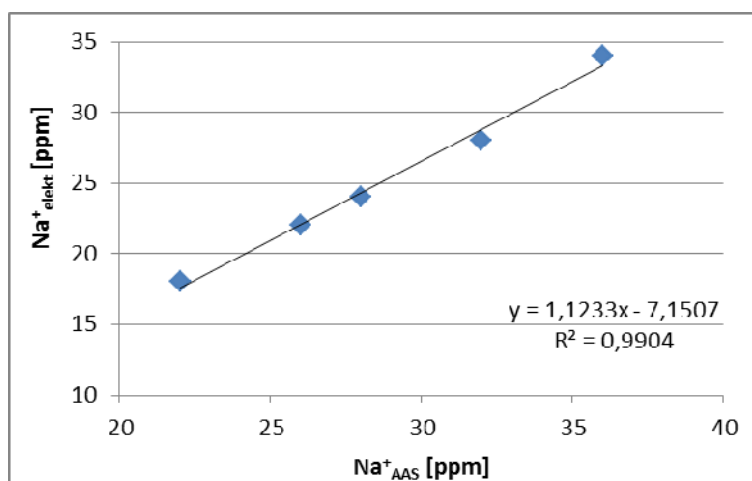
Iz preglednic 10 in 11 ter slike 8 je razvidno sorazmerno spreminjanje vsebnosti beljakovin v homogeniziranem govejem in prašičjem mesu glede na količino skupne vode v mesu. Prav tako kot pri govejem mesu tudi pri prašičjem ugotavljamo, da se z večanjem vsebnosti vode linearno zmanjšuje količina beljakovin. V kolikor v homogenizirano goveje meso dodamo 66 % vode, se razmerje voda/beljakovine poveča iz 3,2 na 6,0, pri prašičjem mesu pa iz 3,6 na 6,1.

#### 4.2.2 Vsebnost Na<sup>+</sup>, določena z ion selektivno elektrodo in AAS

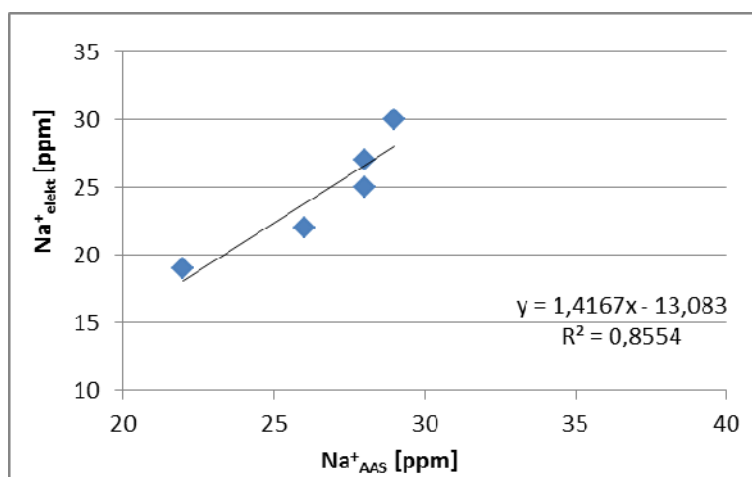
V nadaljevanju so v preglednici 12 in grafično prikazani rezultati določanja Na<sup>+</sup> v mesu, ki mi je bila dodana voda. Rezultati so podani za analizno raztopino (100 g). Za primerjavo rezultatov z osnovnimi vzorci (preglednica 9) je potrebno upoštevati faktor R (R=20). Napaka meritve je ocenjena kot manjša od 5 % od meritve, kar je v predstavitvi rezultatov upoštevano. Točno napako meritve za merjenje z AAS ne moremo podati, saj je delo potekalo brez paralelke, medtem ko je napaka pri merjenju z ISE zanemarljiva.

Preglednica 12: Rezultati analize vsebnosti Na<sup>+</sup> [ppm] z ion selektivno elektrodo in AAS v raztopini (R = 20) homogeniziranega govejega mesa z različno količino dodane vode [%].

Dodana voda	Goveje meso		Prašičje meso	
	Na <sup>+</sup> <sub>AAS</sub>	Na <sup>+</sup> <sub>elekt</sub>	Na <sup>+</sup> <sub>AAS</sub>	Na <sup>+</sup> <sub>elekt</sub>
0	36	34	29	30
11	32	28	28	27
25	28	24	28	25
45	26	22	26	22
66	22	18	22	19



Slika 9: Odvisnost med vsebnostjo Na<sup>+</sup><sub>elekt</sub> in Na<sup>+</sup><sub>AAS</sub> v raztopini (R = 20) homogeniziranega govejega mesa z različno količino dodane vode.



Slika 10: Odvisnost med vsebnostjo Na<sup>+</sup><sub>elekt</sub> in Na<sup>+</sup><sub>AAS</sub> v raztopini (R = 20) homogeniziranega prašičjega mesa z različno količino dodane vode.

Sliki 9 in 10 kažeta primerljivost merjenja Na<sup>+</sup> v homogeniziranem govejem in prašičjem mesu z različno količino dodane vode po dveh metodah, in sicer z ISE in AAS. Pri obeh vrstah mesa smo ugotovili linearno povezavo med metodama, tesnejša je pri govejem kot pri prašičjem mesu ( $R^2 = 0,99$  oz.  $R^2 = 0,86$ ).

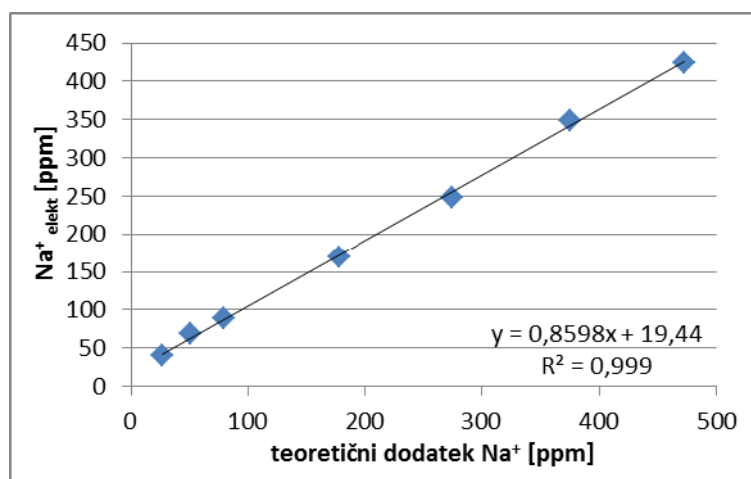
#### 4.3 HOMOGENIZIRANO GOVEJE, PRAŠIČJE IN PIŠČANČJE MESO Z RAZLIČNO KOLIČINO 10 % RAZTOPINE NaCl

Govejemu, prašičjemu in perutninskemu mesu smo dodajali 10 % raztopino NaCl (standardni dodatek). Količino standardnega dodatka smo povečevali do območja, v katerem smo pričakovali rezultate vzorcev svežega mesa. Rezultati so prikazani v preglednici 13. Napaka meritve je manjša od 5 % od meritve, kar je upoštevano v prikazanih rezultatih. Napaka meritve je ocenjena, saj natančne napake zaradi same zasnovne dela na moremo podati.

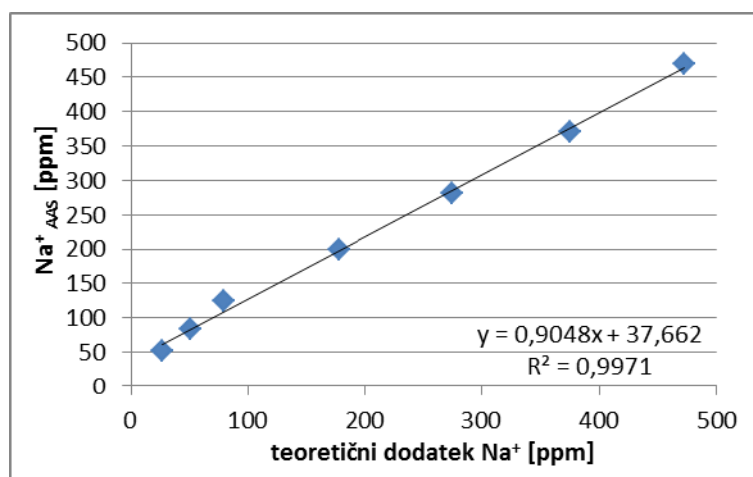
**Preglednica 13: Rezultati analize vsebnosti Na<sup>+</sup> [ppm] z ion selektivno elektrodo in AAS v raztopini (R = 20) homogeniziranega govejega mesa z različno količino standardnega dodatka NaCl (10 % raztopina, SD).**

Goveje meso			Prašičje meso			Piščančje meso		
*Na <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup> <sub>AAS</sub>	Na <sup>+</sup> <sub>elekt</sub>	*Na <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup> <sub>AAS</sub>	Na <sup>+</sup> <sub>elekt</sub>	*Na <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup> <sub>AAS</sub>	Na <sup>+</sup> <sub>elekt</sub>
27	52	40	30	60	45	30	52	43
51	83	68	53	88	72	52	82	70
78	124	89	78	127	94	75	116	89
177	200	170	182	209	174	176	207	180
275	281	248	282	292	256	281	293	271
373	371	348	371	369	340	375	362	362
470	470	425	472	490	432	466	466	457

-: Na<sup>+</sup> [ppm] predstavlja teoretični prispevek Na<sup>+</sup> v standardnem dodatku k končni raztopini.

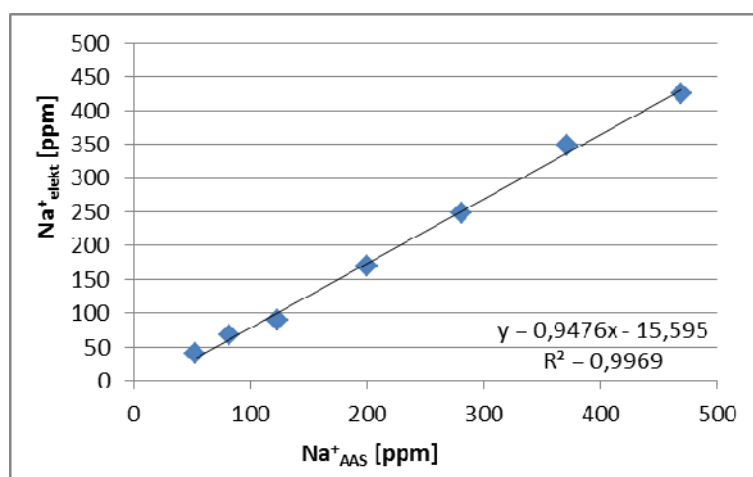


**Slika 11: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti Na<sup>+</sup> [ppm] v raztopini (R = 20) homogeniziranega govejega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek Na<sup>+</sup>), merjenih z ion selektivno elektrodo.**



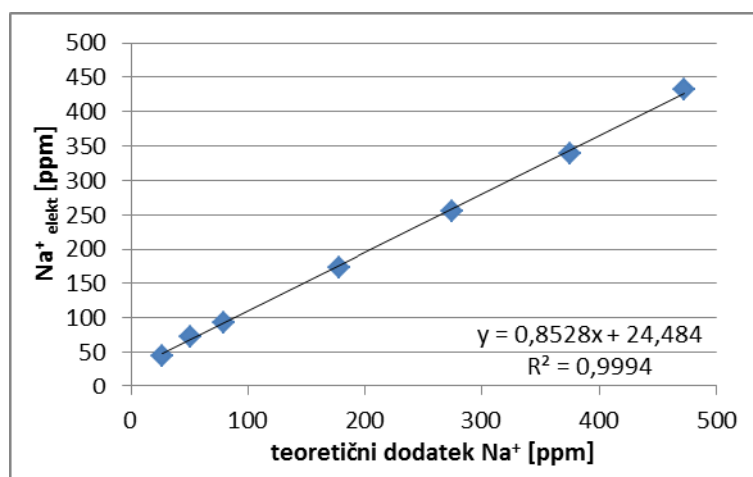
**Slika 12: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti  $\text{Na}^+$  v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek  $\text{Na}^+$ ), merjenih z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.**

Na slikah 11 in 12 je razvidno linearno povečanje količine izmerjenih  $\text{Na}^+$  glede na količino dodane 10 % raztopine NaCl v homogenizirano goveje meso, merjenih z ion selektivno elektrodo in atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.

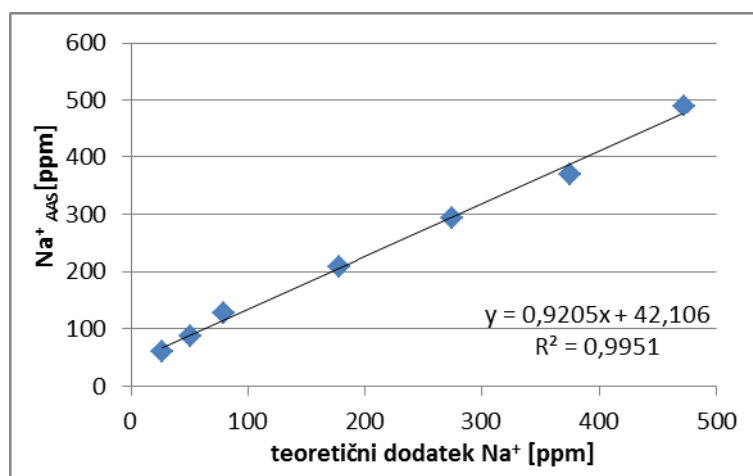


**Slika 13: Odvisnost med vsebnostjo  $\text{Na}^+$  elekt in  $\text{Na}^+$  AAS v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl.**

Slika 13 kaže primerljivost merjenja  $\text{Na}^+$  v homogeniziranem govejem mesu z različno količino 10 % raztopine NaCl po dveh metodah, in sicer z ISE in AAS. Ugotovili smo linearno povezavo med metodama ( $R^2 = 0,997$ ). Tudi naklon premice kaže na dobro ujemanje rezultatov, pridobljenih po obeh metodah ( $k = 0,95$ ).

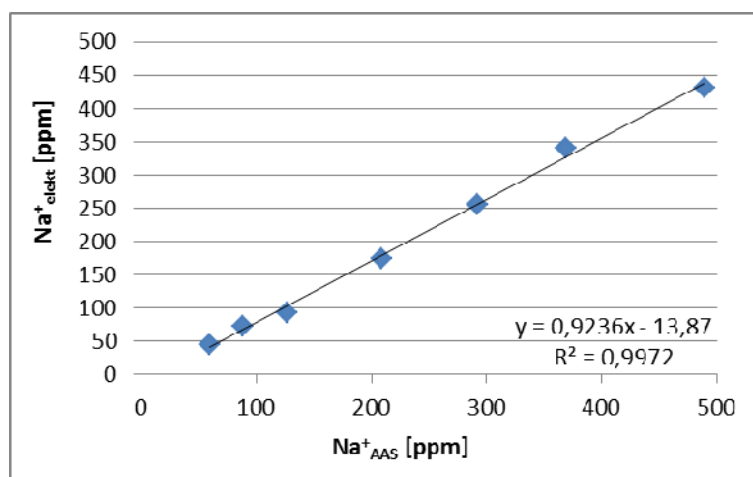


**Slika 14: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti  $\text{Na}^+$  [ppm] v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega prašičjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek  $\text{Na}^+$ ), merjenih z ion selektivno elektrodo.**



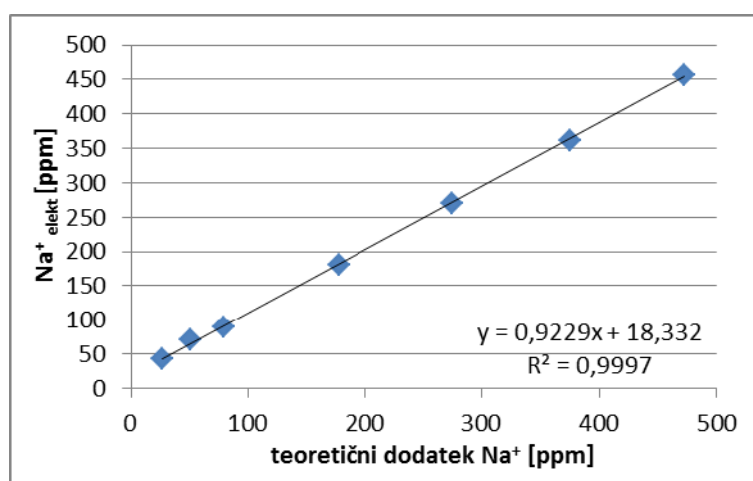
**Slika 15: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti  $\text{Na}^+$  v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega prašičjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek  $\text{Na}^+$ ), merjenih z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.**

Na slikah 14 in 15 je razvidno linearno povečanje količine izmerjenih  $\text{Na}^+$  glede na količino dodane 10 % raztopine NaCl v homogenizirano prašičje meso, merjenih z ion selektivno elektrodo in atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.

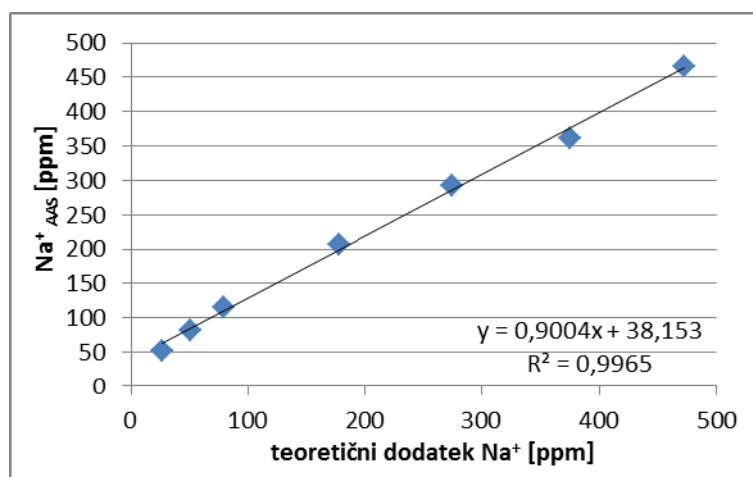


**Slika 16: Odvisnost med vsebnostjo Na<sup>+</sup><sub>elekt</sub> in Na<sup>+</sup><sub>AAS</sub> v raztopini (R = 20) homogeniziranega prašičjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl.**

Slika 16 kaže primerljivost merjenja Na<sup>+</sup> v homogeniziranem prašičjem mesu z različno količino 10 % raztopine NaCl po dveh metodah, in sicer z ISE in AAS. Ugotovili smo linearno povezavo med metodama ( $R^2 = 0,997$ ). Tudi naklon premice kaže na dobro ujemanje rezultatov, pridobljenih po obeh metodah ( $k = 0,92$ ).

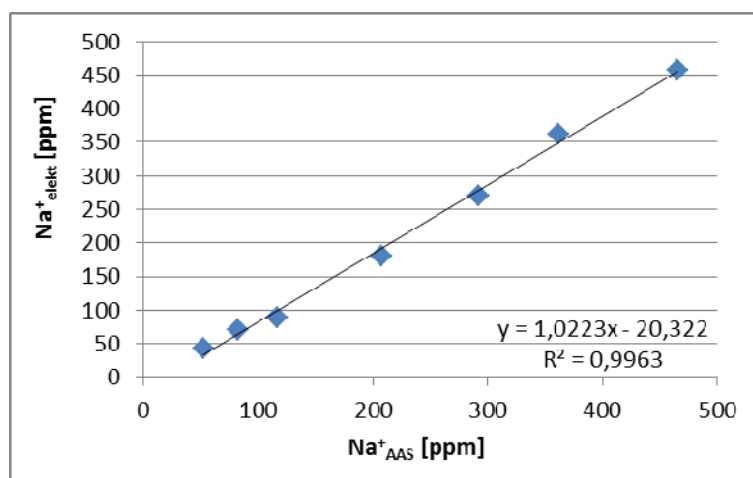


**Slika 17: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti Na<sup>+</sup> [ppm] v raztopini (R = 20) homogeniziranega piščančjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek Na<sup>+</sup>), merjenih z ion selektivno elektrodo.**



**Slika 18: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti Na<sup>+</sup> v raztopini (R = 20) homogeniziranega piščančjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl (teoretični dodatek Na<sup>+</sup>), merjenih z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.**

Na slikah 17 in 18 je razvidno linearno povečanje količine izmerjenih Na<sup>+</sup> glede na količino dodane 10 % raztopine NaCl v homogenizirano piščančje meso, merjenih z ion selektivno elektrodo in atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo.



**Slika 19: Odvisnost med vsebnostjo Na<sup>+</sup><sub>elekt</sub> in Na<sup>+</sup><sub>AAS</sub> v raztopini (R = 20) homogeniziranega piščančjega mesa z različno količino 10 % raztopine NaCl.**

Slika 19 kaže primerljivost merjenja Na<sup>+</sup> v homogeniziranem prašičjem mesu z različno količino 10 % raztopine NaCl po dveh metodah, in sicer z ISE in AAS. Ugotovili smo linearno povezavo med metodama ( $R^2 = 0,996$ ). Tudi naklon premice kaže na dobro ujemanje rezultatov, pridobljenih po obeh metodah ( $k = 1,02$ ).

Iz slik 13, 16 in 19 je razvidno, da so povezave med metodama za določanje Na<sup>+</sup> pri vseh vrstah mesa (govejem, prašičjem in piščančjem) zelo tesne ( $R^2$ ) – vrsta mesa ne vpliva na točnost metod.



#### 4.4 ZREZKI GOVEJEGA, PRAŠIČJEGA IN PIŠČANČJEGA MESA Z DODANIMI RAZLIČNIMI ADITIVI V OBLIKI 0,5 % RAZTOPIN

Kot je že bilo omenjeno v poglavju 3.1.1, smo za vsako vrsto mesa pripravili 0,5 % raztopine različnih aditivov za vezavo vode (natrijev askorbat, natrijev klorid, trinatrijev citrat, natrijev acetat in kalijev klorid) in jih vbrizgali v kose mesa (10 % glede na maso mesa). Te smo zapakirali v nepropustne vrečke in zmrznili pri temperaturi -18 °C, čez 72 ur 4 ure tajali na sobni temperaturi (20 °C), stehali, homogenizirali in opravili vrsto analiz, s katerimi smo določili vsebnost vode, beljakovin, neproteinskega dušika, Cl<sup>-</sup> po Volhardu, Na<sup>+</sup><sub>elekt</sub>, Na<sup>+</sup><sub>AAS</sub> in izračunali različna razmerja med analiziranimi parametri. Rezultati so prikazani v naslednjih preglednicah in slikah, in sicer ločeno za vsebnost beljakovin, vode in izračunani razmerji ter za vsebnost Na<sup>+</sup>.

##### 4.4.1 Beljakovine, vode, NPN in razmerji voda/beljakovine ter NPN/beljakovine

V nadaljevanju so v preglednicah in grafično prikazani rezultati merjenja vode, beljakovin, NPN in razmerij voda/beljakovine ter NPN/beljakovine. Vsem vzorcem, ki so bili zajeti v analizo, smo dodali vodo, oziroma vodo s sredstvom za vezavo vode. Namen poskusa je bil določiti oziroma ugotoviti, kako določen aditiv vpliva na obstojnost dodane vode v mesu. Rezultati kontrolnega vzorca, ki mu je bila dodana samo voda, niso primerljivi z rezultati vzorcev mesa, ki so zbrani v preglednici 9.

Delo je potekalo brez paralelke, zato smo zanemarili napako meritve, ki pa ni večja kot 5 % od meritve. Rezultati so temu primerno prikazani tako, da je še vidna razlika o učinku aditivov na zadrževanje vode v posamezni vrsti mesa. Namen poizkusa je bil zgolj predstaviti vpliv aditivov, zato se dejanske vrednosti oziroma delovaje aditivov lahko razlikujejo od teoretičnih pričakovanj.

**Preglednica 14: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem govejem mesu z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine.**

Aditiv (0,5 % razt.)	voda [%]	beljakovine [%]	NPN	voda/beljakovine	NPN/beljakovine
natrijev askorbat	76,18	22,45	2,13	3,4	0,095
natrijev klorid	76,93	21,50	2,06	3,6	0,096
trinatrijev citrat	75,78	21,69	2,22	3,5	0,102
natrijev acetat	78,14	22,61	2,18	3,5	0,096
kalijev klorid	75,22	23,23	2,13	3,2	0,091
kontrola (voda)	74,11	23,43	1,96	3,2	0,084

**Preglednica 15: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem prašičjem mesu z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine.**

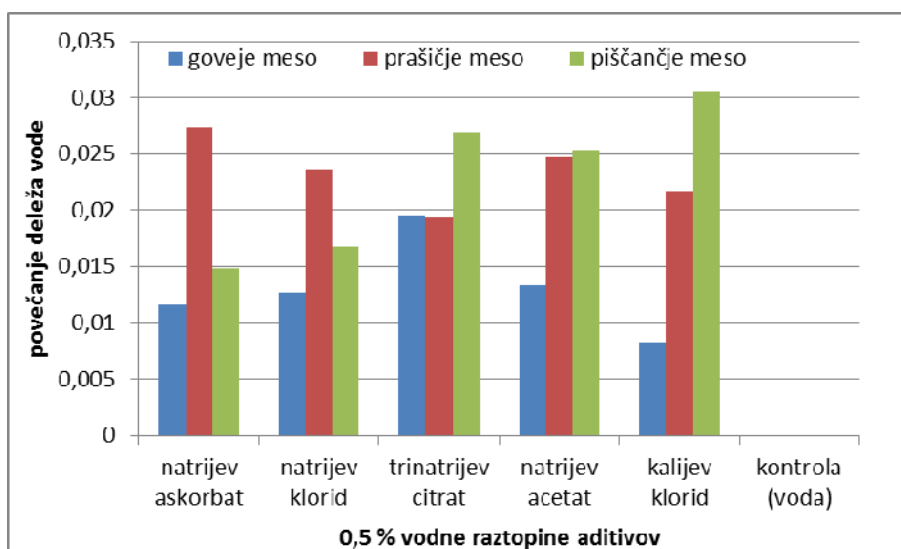
Aditiv (0,5 % razt.)	voda [%]	beljakovine [%]	NPN	voda/beljakovine	NPN/beljakovine
natrijev askorbat	75,30	21,28	2,06	3,5	0,097
natrijev klorid	74,92	22,04	2,07	3,4	0,094
trinatrijev citrat	76,92	20,93	1,90	3,7	0,091
natrijev acetat	74,25	20,28	1,92	3,7	0,095
kalijev klorid	79,93	20,29	1,88	3,9	0,092
kontrola (voda)	73,45	22,70	1,73	3,2	0,076

**Preglednica 16: Rezultati analize vsebnosti beljakovin, vode in NPN ter izračunani razmerji voda/beljakovine in NPN/beljakovine v homogeniziranem piščančjem mesu z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine.**

Aditiv (0,5 % razt.)	voda [%]	beljakovine [%]	NPN	voda/beljakovine	NPN/beljakovine
natrijev askorbat	74,31	22,70	2,88	3,3	0,127
natrijev klorid	76,26	23,09	2,96	3,3	0,128
trinatrijev citrat	77,70	21,70	2,97	3,6	0,137
natrijev acetat	75,39	22,50	3,05	3,4	0,136
kalijev klorid	74,49	22,51	3,15	3,3	0,140
kontrola (voda)	74,79	23,18	2,64	3,2	0,114

V preglednicah 14, 15 in 16 so zbrani rezultati osnovnih fizikalno-kemijskih analiz in razmerij voda/beljakovine ter NPN/beljakovine. Ker smo dodali vsem zrezkom (vzorcem) enako količino (10 % na maso) raztopine aditivov ali vode, smo pričakovali dokaj podobno razmerje voda/beljakovine pri vseh aditivih. Iz vsebnosti vode v vzorcih (preglednica 14) lahko trdimo, da ima največjo sposobnost za vezanje vode goveje meso, v katerega smo dodali natrijev acetat, pri prašičjem mesu (preglednica 15) je to kalijev klorid, pri piščančjem mesu (preglednica 16) pa trinatrijev citrat. Iz preglednic je tudi razvidno, da vsebnost dušika v govejem mesu najbolj poveča dodatek 5 % raztopine trinatrijevega citrata, pri prašičjem mesu natrijev askorbat, pri piščančjem mesu pa kalijev klorid, trinatrijev citrat in natrijev acetat.

Sledi še grafični prikaz delovanja aditivov glede na vrsto mesa in kontrolni vzorec, ki predstavlja osnovo in izhodišče za primerjavo delovanja aditivov (določena vrednost 0).



**Slika 20: Vpliv 0,5 % raztopine različnih aditivov na povečanje količine vode v posamezni vrsti mesa glede na kontrolni vzorec (dodana samo voda).**

Slika 20 prikazuje dejanski doprinos vode v posamezni vrsti mesa glede na vbrizgano raztopino. Iz slike je lepo razvidno, na katero vrsto mesa ima določena raztopina najboljši učinek oziroma katera raztopina za koliko poveča delež vode v govejem, svinjskem in perutninskem mesu.

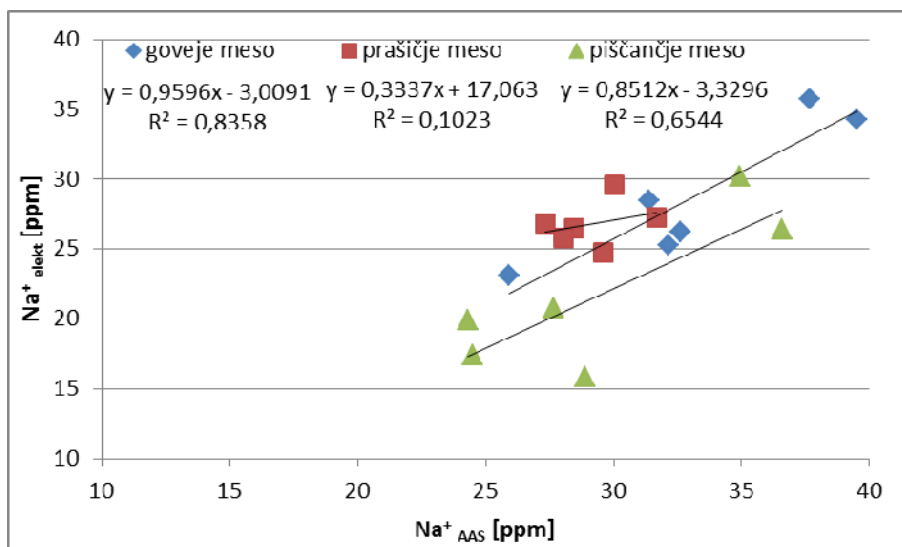
Pri vsebnosti  $\text{Cl}^-$  po Volhardu v vzorcih ni bilo možno določiti zaradi motečih barvnih reakcij.

#### 4.4.2 $\text{Na}^+$ , določeni z ion selektivno elektrodo in AAS

V preglednici 17 so zbrani rezultati merjenja  $\text{Na}^+$  v vzorcih mesa, ki so jim bili dodani aditivi v obliki 0,5 % vodnih raztopin. Rezultati so podani za analizo raztopino (100 g). Delo je potekalo brez paralelke. Napaka meritve je manjša od 5 % od same meritve. Rezultati niso primerljivi s tistimi, zbranimi v preglednici 9.

**Preglednica 17: Rezultati analize vsebnosti  $\text{Na}^+$  [ppm] z ion selektivno elektrodo in AAS v raztopini ( $R = 20$ ) homogeniziranega govejega, prašičjega in piščančjega mesa z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine.**

Aditiv (0,5 % razt.)	Goveje meso		Prašičje meso		Piščančje meso	
	$\text{Na}^+$ <sub>elekt</sub>	$\text{Na}^+$ <sub>AAS</sub>	$\text{Na}^+$ <sub>elekt</sub>	$\text{Na}^+$ <sub>AAS</sub>	$\text{Na}^+$ <sub>elekt</sub>	$\text{Na}^+$ <sub>AAS</sub>
natrijev askorbat	36	38	27	32	20	24
natrijev klorid	34	40	30	30	30	35
trinatrijev citrat	29	31	27	28	26	37
natrijev acetat	26	33	27	27	21	28
kalijev klorid	23	26	25	30	17	25
kontrola (voda)	25	32	26	28	16	29



**Slika 21: Odvisnost med vsebnostjo Na<sup>+</sup> elekt in Na<sup>+</sup> AAS v raztopini (R = 20) homogeniziranega govejega, prašičjega in piščančjega mesa z dodanimi (10% glede na maso mesa) različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopine.**

Slika 21 kaže primerjavo metod merjenja Na<sup>+</sup> za vzorce govejega, prašičjega in piščančjega mesa z dodanimi različnimi aditivi v obliki 10 % dodatka 0,5 % raztopine. Rezultati nam glede na primerjavo metod pokažejo enake sklepe, kot pri dodajanju vode v meso, in sicer gre za linearno povezavo. Rezultati so pokazali, da vrsta metode bistveno ne vpliva na rezultate analize. Kot je prikazano na sliki 21 je primerljivost uporabljenih metod odvisna od vrste mesa. Rezultati se najmanj razlikujejo pri govejem mesu, medtem ko so največja odstopanja opazna pri prašičjem mesu.

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

V nalogi smo določali kemijske parametre svežega mesa različnih živalskih vrst. Analizirali smo v trgovinah naključno izbrane kose svežega mesa oziroma meso, ki ga je trgovec prodajal kot sveže meso. Pri tem smo za analizo izbrali sveže postreženo ter pakirano meso. Nekaj vzorcev pa je bilo pridobljenih iz mesnic in klavnic. Rezultate meritev slednjih vzorcev mesa smo uporabili kot referenčne vrednosti za umeritvene krivulje in primerjave z rezultati naključno zbranih vzorcev iz trgovin.

Pri delu so se kmalu pojavile težave, saj so že osnovne analize, kot sta vsebnost vode v mesu in določanje koncentracije NaCl z metodo po Volhardu, dale nelogične oziroma nenavadne rezultate. Pri določanju NaCl je bilo nekaj vzorcev neustreznih, saj so se pojavila nenavadna obarvanja in spremembe v vzorcih (pojav kosmičev različnih oblik, velikosti in barv). Zaradi tega smo delo nekoliko prilagodili iskanju vzroka za tak rezultat. Postavljali smo metodo določanja vsebnosti Na<sup>+</sup> na različne načine, ne da bi pri tem spreminjali postopek priprave vzorca. Nato smo spremljali vpliv metode na izmerjene vrednosti in med seboj primerjali metode za posamezne izmerjene vrednosti.

Vzporedno s tem smo se osredotočili na dejansko vsebnost vode v mesu in način, kako dokazati povečano količino vode v mesu (ki je bila tudi nad z zakonom predpisano vrednostjo). Za to smo uporabili analizne metode, kot so določanje vode v mesu, določanje skupnih beljakovin in določanje neproteinskega dušika v mesu. Iz pridobljenih rezultatov smo nato določali razmerja, s pomočjo katerih smo ugotavljali, ali je prisotna potvorba svežega mesa z vidika dodajanja vode.

#### 5.1.1 Homogenizirano goveje in prašičje meso z različno količino dodane vode

Za test dodajanja vode v meso smo uporabili goveje in prašičje meso. Iz rezultatov je razvidno, da se ob dodajanju vode v meso spreminja količina skupne vode, beljakovin in temu posledično tudi razmerji voda/beljakovine in neproteinski dušik/beljakovine. Linearna odvisnost med **vsebnostjo vode in beljakovin** (pri dodatku vode med 11 % in 66 %) je izražena v naslednjih funkcijah:

za goveje meso:  $vsebnost\ beljakovin = -0,9461 \times vsebnost\ vode + 91,645$ ;  $R^2 = 0,894$

za prašičje meso:  $vsebnost\ beljakovin = -0,7445 \times vsebnost\ vode + 77,019$ ;  $R^2 = 0,989$

Iz odvisnosti med **dodano vodo in razmerjem voda/beljakovine** lahko določimo najmanjšo količino dodane vode za obe vrsti:

goveje meso:  $dodatek\ vode\ (\%) = 24,3 \times razmerje\ voda / beljakovine - 79,6$ ;  $R^2 = 0,993$

prašičje meso:  $dodatek\ vode\ (\%) = 26,5 \times razmerje\ voda / beljakovine - 94,8$ ;  $R^2 = 0,999$

Razmerje voda/beljakovine, uporabljeno v formuli, smo izračunali iz podatkov Golobove in sod. (2006) in so prikazani v preglednicah 1 in 2.

Za goveje meso (preglednica 1) so vrednosti za vodo v mejah 73,0-76,3 %, za beljakovine 21,3-23,7 %, torej je izračunano razmerje med 3,43-3,22. Iz formule sledi, da v govejem mesu lahko dokažemo več kot 4 % dodatek vode.

Za prašičje meso (preglednica 2) so vrednosti za vodo v mejah 72,0 in 75,7 %, za beljakovine 18,8-22,9 %, torej je izračunano razmerje med 3,83 in 3,30. Iz formule sledi, da v prašičjem mesu lahko dokažemo več kot 7 % dodatek vode.

**Razmerje NPN/beljakovine** tako za goveje kot tudi prašičje meso (preglednici 10 in 11) se pri 66 % dodatku vode spremeni razmerje le za sedem tisočink enote, iz česar sklepamo, da ni razmerje ni primerno za ugotavljanje količine dodane vode.

Rezultati kažejo na trend padanja koncentracije izmerjenega  $\text{Na}^+$  s povečanjem skupnega deleža vode tako za goveje kot za prašičje meso. Iz odvisnosti med **dodano vodo in vsebnostjo  $\text{Na}^+$**  lahko določimo najmanjšo količino dodane vode za obe vrsti mesa:

goveje meso:  $\text{dodatek vode (\%)} = -0,073 \times \text{Na}_{\text{elekt}} + 24,2$ ;  $R^2 = 0,69$

$\text{dodatek vode (\%)} = -0,199 \times \text{Na}_{\text{AAS}} + 34,8$ ;  $R^2 = 0,97$

prašičje meso:  $\text{dodatek vode (\%)} = -0,164 \times \text{Na}_{\text{elekt}} + 29,6$ ;  $R^2 = 0,99$

$\text{dodatek vode (\%)} = -0,102 \times \text{Na}_{\text{AAS}} + 29,5$ ;  $R^2 = 0,89$

Vsebnosti Na, uporabljeno v formuli, smo izračunali iz podatkov Golobove in sod. (2006) in so prikazani v preglednicah 1 in 2.

Za goveje meso (preglednica 1) so vsebnosti Na v mejah 57 in 73 mg/100 g. Iz formule sledi, da v govejem mesu lahko dokažemo več kot 23 % dodatek z AAS in 31 % dodatek vode z ion selektivno elektrodo.

Za prašičje meso (preglednica 1) so vsebnosti Na v mejah 54 in 80 g/100 g. Iz formule sledi, da v prašičjem mesu lahko dokažemo več kot 24 % dodatek z AAS in 21 % dodatek vode z ion selektivno elektrodo.

Prednost uporabe razmerja NPN/beljakovine pri odkrivanju potvorb mesa in mesnih izdelkov je v odkrivanju namernega dodatka dušika, tako rastlinskega, živalskega ali kemijskega izvora (npr. melamin, jajčne beljakovine, kazeinat, sojini izolati, ...). Za določanje potvorb z dodajanjem vode omenjeno razmerje ni tako uporabno kot razmerje beljakovine/voda.

Sum na potvorbe svežega mesa z dodajanjem vode je v svojem članku opisala Elliot (2007). Ugotovila je na nepravilnosti pri trgovanju svežega piščančjega mesa za javne ustanove v Veliki Britaniji. Svojih ugotovitev sicer ni dokazala, je pa po njenih navedbah v postopku preiskave podjetje, ki je dobavljajo to meso.

### 5.1.2 Homogenizirano goveje, prašičje in piščančje meso z različno količino standardnega dodatka NaCl

Namen tega dela poskusa je bil, kot že povedano v poglavju Metode, določiti količino  $\text{Na}^+$  v vzorcih homogeniziranega govejega, prašičjega in piščančjega mesa in glede na rezultate sklepati, ali je bil mesu dodan  $\text{Na}^+$  oziroma aditiv, ki se uporablja za vezavo vode in vsebuje  $\text{Na}^+$ . Cilj tega poizkusa je bil tudi razviti enotno pripravo vzorca in ugotoviti primerljivost metod ISE in AAS za določanje  $\text{Na}^+$ .

Za poizkus smo uporabili goveje, prašičje in perutninsko meso, ki smo mu dodali različne količine 10 % raztopine NaCl. Iz različnih količin standardnega dodatka NaCl smo izračunali koliko  $\text{Na}^+$  smo dodali v vzorce mesa (teoretični dodatek  $\text{Na}^+$ ) in za vsako vrsto mesa oblikovali umeritveno krivuljo, s katero smo med seboj primerjali tudi metodi določanja  $\text{Na}^+$ . Rezultati meritev  $\text{Na}^+$  kažejo, da med metodama ISE in AAS ni razlik glede na vrsto mesa. Pojavile so se le razlike med metodama pri primerjanju iste točke. Najverjetnejši razlog za to je, da priprava vzorca ni bila povsem ustrezna za katero od obeh metod, saj smo postavili nov način priprave vzorca, ki bi bil enoten za obe metodi.

Ne glede na vrsto mesa je linearna odvisnost med (teoretičnim) dodatkom in izmerjeno vrednostjo  $\text{Na}^+$  izražena v naslednjih funkcijah:

ISE: dodatek  $\text{Na}^+ = (\text{izmerjen } \text{Na}^+ - 20,85)/0,88$ ;  $R^2 = 0,997$

AAS: dodatek  $\text{Na}^+ = (\text{izmerjen } \text{Na}^+ - 39,3)/0,91$ ;  $R^2 = 0,996$

Zgornji formuli sta uporabni za hitro določitev dodanih  $\text{Na}^+$  v mesu v primeru odstopanj od normalnih vrednosti  $\text{Na}^+$  v mesu (ISE nad 400 oz. AAS 780 ppm). Iz zgornjih funkcij lahko ugotovimo tudi veliko točnost obeh metod, razvidno iz naklonov premic ( $k$ ) in je 0,88 za ISE in 0,91 za AAS. Tudi natančnost ( $R^2$ ) rezultatov je zelo dobra, tako je za ISE 0,997 in za AAS 0,996.

### 5.1.3 Zrezki govejega, prašičjega in piščančjega mesa z dodanimi različnimi aditivi v obliki 0,5 % raztopin

Uporabili smo goveje, prašičje in perutninsko meso. S poizkusom smo skušali prikazati vpliv najpogosteje uporabljenih aditivov v mesni industriji na vsebnost skupne vode v mesu in različna razmerja. Prav tako smo ugotavljali, kako se ob dodatku različnih aditivov spreminja vsebnost  $\text{Na}^+$  v mesu, saj se industrija vse bolj trudi zmanjšati vsebnost  $\text{Na}^+$  v mesu in mesnih izdelkih.

#### 5.1.3.1 Beljakovine, vode, NPN in razmerji voda/beljakovine ter NPN/beljakovine

Iz rezultatov za goveje meso je razvidno, da se poveča količina vode ne glede na izbrano raztopino. Iz dobljenih razmerij voda/beljakovine je razvidno, da so vse raztopine prekoračile vrednost 3,2, najvišje razmerje za goveje meso, ki ga še dovoljuje pravilnik (Priporočilo komisije (ES) št. 1146/2003) – nad to vrednostjo lahko govorimo že o potvorbah. Glede na te podatke vsi vzorci predstavljajo primer potvorbe zaradi dodajanja

vode in aditivov za vezanje vode. Največji dejanski doprinos vode dobimo z dodajanjem trinatrijevega citrata, najmanjšega pa z dodajanjem natrijevega askorbata.

Rezultati za prašičje meso pa kažejo, da vzorci v nobenem primeru ne prekoračijo zgornje dovoljene meje 4,3 (Priporočilo komisije (ES) št. 2331/97). Dodatek sicer poveča količino vode, vendar ne nad mejo dovoljenega. Nekoliko presenetljiv je rezultat dodatka KCl, kjer gre po vsej verjetnosti za eksperimentalno napako ali slabo homogenizacijo. Dejanski doprinos vode je najboljši z dodajanjem natrijevega askorbata, najmanjši pa pri trinatrijevem citratu.

Iz rezultatov vzorcev perutnine pa je razvidno, da piščančje meso zadrži največ vode ob dodatku trinatrijevega citrata, kjer tudi preseže zgornjo mejo, ki znaša 3,4 (Priporočilo komisije (ES) št. 175/2005). Tej vrednosti se približa tudi z dodatkom natrijevega acetata, vendar pa je ne preseže. Pri perutnini se pojavi problem pri določanju vsebnosti vode, saj je dovoljena 2, 4 in 6 % večja vsebnost vode glede na izbrano metodo hlajenja mesa (Pravilnik o spremembah in dopolnitvah pravilnika o kakovosti perutninskega mesa, 2004).

#### 5.1.3.2 Na<sup>+</sup>, določeni z ion selektivno elektrodo in AAS

V vzorcih govejega mesa največjo razliko v količini Na<sup>+</sup> lahko zaznamo ob dodatku natrijevega klorida. Nekoliko nižjo vsebnost Na<sup>+</sup> ima meso z dodanim natrijevim askorbatom, medtem ko ima najnižjo vrednost dodatek kalijevega klorida.

Vsebnost Na<sup>+</sup> v prašičjem mesu se najbolj poveča ob dodatku natrijevega askorbata, sledi mu natrijev klorid, najnižjo vrednost pa ima ob dodatek natrijevega acetata.

V piščančjem mesu najbolj poveča vsebnost Na<sup>+</sup> dodatek trinatrijevega citrata. Sledi mu dodatek natrijevega klorida, medtem ko je najmanjša izmerjena vrednost Na<sup>+</sup> ob dodatku kalijevega klorida. Le malo večjo koncentracijo Na<sup>+</sup> pa ima piščančje meso, ki mu je dodan natrijev askorbat.

Povzamemo lahko, da aditivi različno delujejo v različnih vrstah mesa. Npr. dodatek natrijevega askorbata koncentracijo Na<sup>+</sup> najbolj poveča v govedini, medtem ko jo pri piščančjem mesu najmanj.



## 5.2 SKLEPI

Na podlagi rezultatov in meritev lahko postavimo naslednje sklepe:

- Potvorbe svežega mesa z dodajanjem vode lahko določimo iz rezultatov določanja vsebnosti skupnih beljakovin in vode ter njunega razmerja.
- V govejem mesu lahko dokažemo več kot 4 % dodatek vode, v prašičjem pa 7 % dodatek vode.
- Razmerje NPN/beljakovine ni primerno za ugotavljanje količine dodane vode, pač pa za dokazovanje namernega dodatka dušika, tako rastlinskega, živalskega ali kemijskega izvora.
- Na podlagi določanja vsebnosti  $\text{Na}^+$  v govejem mesu z AAS lahko dokažemo več kot 23 % dodatek in z ISE 31 % dodatek vode, v prašičjem mesu pa več kot 24 % dodatek z AAS in 21 % dodatek vode ISE.
- Ne glede na vrsto mesa lahko potvorbo svežega mesa z dodajanjem vode dokažemo z merjenjem  $\text{Na}^+$  z metodama ISE in AAS. Dodatek  $\text{Na}^+$  v sveže meso je dokazan v primeru odstopanj od normalnih vrednosti, ki so za ISE nad 400 ppm oz. za AAS nad 780 ppm.
- Dodatek vode v meso je učinkovitejši ob dodatku aditivov za vezavo vode.
- Za povečanje vsebnosti vode v govejem mesu je najbolj učinkovit dodatek trinatrijevega citrata, najmanj učinkovit pa dodatek natrijevega askorbata, v prašičjem mesu je najbolj učinkovit dodatek natrijevega askorbata, najslabši pa trinatrijev citrat, v piščančjem mesu je najučinkovitejši trinatrijev citrat, najmanj pa natrijev askorbat.
- Vsebnost  $\text{Na}^+$  v govejem mesu najbolj poveča dodatek natrijevega askorbata, v prašičjem in perutninskem mesu dodatek natrijevega klorida; vsebnost  $\text{Na}^+$  v govejem in prašičjem mesu najmanj poveča dodatek natrijevega acetata, v piščančjem mesu pa dodatek natrijevega askorbata.
- Dokazali smo, da je dodana voda oziroma sredstvo za vezanje vode puranjim prsim (razmerje voda/beljakovine in vsebnost soli), govejim zrezkom (vsebnost soli), govejim golaž kockam (razmerje voda/beljakovine) ter mletemu mešanemu mesu (vsebnost soli).

## 6 POVZETEK

V raziskavi smo želeli ugotoviti, ali je mogoče z osnovnimi kemijsko fizikalnimi metodami dokazati in ovrednotiti količino dodane vode v sveže meso. Za cilj smo si zadali, da bomo dokazali že 5 % dodatek vode v meso, povečano količino aditivov, ki vežejo vodo, in  $\text{Na}^+$ . Želeli smo ugotoviti, kako posamezna vrsta mesa vpliva na analizo za izbrano metodo in kako določen aditiv vpliva na vrsto mesa pri zadrževanju vode.

Za delo smo uporabili različne kose na več načinov pakiranega svežega mesa. Uporabili smo goveje, prašičje in perutninsko meso različnih ponudnikov na slovenskem trgu.

V prvem delu raziskave smo se osredotočili na določanje skupne vode, beljakovin in neproteinskega dušika. S tem smo želeli dokazati povečano količino skupne vode glede na razmerja med vodo, beljakovinami in NPN. Uspelo nam je dokazati nekaj primerov dodajanja vode, v nekaterih primerih pa bi bilo potrebno opraviti še dodatne analize, da bi lahko potrdili dodano vodo. Za natančnejše in zanesljivejše sklepe bi bilo potrebno določiti beljakovinsko sestavo, dodatek nemesnih beljakovin in dušika. Iz teh dodatnih analiz bi lahko brez dvoma potrdili ali zavrgli dvom o dodani vodi v vzorec svežega mesa.

V drugem delu raziskave smo se osredotočili na načine in sredstva, s katerimi se vodo dodaja v meso. Skušali smo razviti univerzalno metodo priprave vzorca za merjenje  $\text{Na}^+$  na dva načina, z elektrodo in AAS. Pri tem smo uporabili umeritvene krivulje in standardne dodatke za lažje predvidevanje rezultata. Opravili smo tudi različne teste, kjer smo v meso vbrizgali različne vodne raztopine aditivov, za katere smo menili, da bi jih lahko uporabili v industriji kot sredstva za vezavo in zadrževanje vode. Meso smo nato zamrznili za 72 ur in nato opravili teste, s katerimi smo določili doprinos vode glede na vrsto mesa in posamezen aditiv. Vzporedno smo opravili tudi analizo po Volhardu, kjer smo ugotavljali barvne reakcije vodnih raztopin aditivov in jih primerjali z rezultati merjenih vzorcev. S pomočjo tega smo sklepali, kaj bi lahko bilo dodano v vzorce mesa in v kakšnih količinah.

Dobljeni rezultati so grob vpogled v možnosti, s katerimi lahko določamo potvorbe svežega mesa. Potvorbe svežega mesa z dodajanjem vode lahko določimo iz rezultatov določanja vsebnosti skupnih beljakovin in vode ter njunega razmerja. V govejem mesu lahko dokažemo več kot 4 % dodatek vode, v prašičjem pa 7 % dodatek vode. Razmerje NPN/beljakovine ni primerno za ugotavljanje količine dodane vode, pač pa za dokazovanje namernega dodatka dušika, tako rastlinskega, živalskega ali kemijskega izvora. Na podlagi določanja vsebnosti  $\text{Na}^+$  v govejem mesu z AAS lahko dokažemo več kot 23 % dodatek in z ISE 31 % dodatek vode, v prašičjem mesu pa več kot 24 % dodatek z AAS in 21 % dodatek vode ISE. Ne glede na vrsto mesa lahko potvorbo svežega mesa z dodajanjem vode dokažemo z merjenjem  $\text{Na}^+$  z metodama ISE in AAS. Dodatek  $\text{Na}^+$  v sveže meso je dokazan v primeru odstopanj od normalnih vrednosti, ki so za ISE nad 400 ppm oz. za AAS nad 780 ppm. Dodatek vode v meso je učinkovitejši ob dodatku aditivov za vezavo vode. Za povečanje vsebnosti vode v govejem mesu je najbolj učinkovit dodatek trinatrijevega citrata, najmanj učinkovit pa dodatek natrijevega askorbata, v prašičjem mesu je najbolj učinkovit dodatek natrijevega askorbata, najslabši pa trinatrijev citrat, v piščančjem mesu je najučinkovitejši trinatrijev citrat, najmanj pa natrijev askorbat. Vsebnost  $\text{Na}^+$  v govejem mesu najbolj poveča dodatek natrijevega askorbata, v prašičjem

in perutninskem mesu dodatek natrijevega klorida; vsebnost  $\text{Na}^+$  v govejem in prašičjem mesu najmanj poveča dodatek natrijevega acetata, v piščančjem mesu pa dodatek natrijevega askorbata. Dokazali smo, da je dodana voda oziroma sredstvo za vezanje vode puranjim prsim (razmerje voda/beljakovine in vsebnost soli), govejim zrezkom (vsebnost soli), govejim golaž kockam (razmerje voda/beljakovine) ter mletemu mešanemu mesu (vsebnost soli).

## 7 VIRI

- AOAC Official Method 928.08 Nitrogen in meat Kjeldahl method. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. Vol. 2. 16<sup>th</sup> ed. Cunniff P. (ed.). Gaithersburg, AOAC International, Chapter 39: 5-6
- AOAC Official Method 950.46 Moisture in meat. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. Vol. 2. 16<sup>th</sup> ed. Cunniff P. (ed.). Gaithersburg, AOAC International, Chapter 39: 1-2
- Aristoy M.C., Toldra F. 2004. Histidine dipeptides HLC-based test for the detection of mammalian origin proteins in feeds for ruminants. *Meat Science*, 67, 2: 211-217
- Ayaz Y., Ayaz N.D., Erol I. 2006. Detection of species in meat and meat products using enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Muscle Foods*, 17, 2: 214-220
- Baechele T.R., Earle R.W. 2008. Essentials of strength training and conditioning 3<sup>th</sup> ed. Champaign, Human Kinetics cop: 640 str.
- Ballin N.Z. 2010. Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86: 577-587
- Ballin N.Z., Lametsch R. 2007. Analytical methods for authentication of fresh vs. thawed meat: A review. *Meat Science*, 80: 151-158
- Ballin N.Z., Vogensen F.K., Karlsson A.H. 2009. Species determination – Can we detect and quantify meat adulteration? *Meat Science*, 83: 165-174
- Bertram H.C., Andersen H.J. 2007. NMR and the water-holding issue of pork. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124, Suppl. 1: 35-42
- Bertram H.C., Anderson H.J. 2004. Applications of NMR in meat science. *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, 53: 158-203
- Bučar F. 1997. Meso, poznavanje in priprava. *Kmečki glas*, Ljubljana: 266 str.
- Bučar F., Đorđević V., Žlender B. 1989. Tehnologija mesa (izbrana poglavja). Ljubljana, VDO Biotehniška fakulteta, VTO za živilsko tehnologijo: 5-13
- Chou C-C, Lin S-P, Lee K-M, Hsu C-T, Vickroy T.W., Zen J-M. 2007. Fast differentiation of meats from fifteen animal species by liquid chromatography with electrochemical detection using copper nanoparticle plated electrodes. *Journal of Chromatography B*, 846: 230-239
- Commission Recommendation (EC) No 175/2005 of 1 March 2005 concerning a coordinated programme for the official control of foodstuffs for 2005. *Official Journal of the European Union*, 48, L59: 27-39

- Cooper M.G. 1985. Meat species testing in Australia. V: Biochemical identification of meat species. Patersen R.L.S. (ed.). New York, Elsevier Science Publishing Co.: 80-85
- Demšar L. 2007. Metode distribucije in prodaje svežega mesa. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 52 str.  
(<http://web.bf.uni-lj.si/zt/meso/predavanje.htm>) (november 2011)
- Demšar L., Polak T. 2010. Tehnologije mesa in mesnin I : drugi učbenik za študente univerzitetnega študija Živilstvo in prehrana pri vajah predmeta Tehnologije mesa in mesnin I. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67 str.
- Doberstein K.H., Greuel E. 1985. Identification of meat of African antelope species and kangaroo by the agar gel precipitation test. V: Biochemical identification of meat species. Patersen R.L.S. (ed.). New York, Elsevier Science Publishing Co.: 65-79
- Došler D. 2007. Vpliv kakovosti, proteolize in stopnje pečenosti na nastanek HCA v dolgi hrbtni mišici prašiča. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 123 str.
- Elliot V. 2007. Chicken filets "secretly pumped up with water" to increase weight. The Times Newspaper, 25.6. 2007: 1 str.  
([http://www.timesonline.co.uk/tol/life\\_and\\_style/food\\_and\\_drink/article1980529.ece](http://www.timesonline.co.uk/tol/life_and_style/food_and_drink/article1980529.ece))  
(November 2011)
- Fazarinc G., Rajar A., Štrbenc M. 2007. Osnove anatomije skeletnega in mišičnega sistema pri domačih sesalcih in perutnini ter razseki mesa. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 10-12
- Golob T., Stibilj V., Žlender B., Doberšek U., Jamnik M., Polak T., Salobir J., Čandek-Potokar M. 2006. Slovenske prehranske tabele. Meso in mesni izdelki. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 322 str.
- Hansen C.L., van der Berg F., Ringgaard S., Stødkilde-Jørgensen H. 2008. Diffusion of NaCl in meat studied by  $^1\text{H}$  and  $^{23}\text{Na}$  magnetic resonance imaging. Meat Science, 80: 851-856
- Hargin K.D. 1996. Authenticity issues in meat and meat products. Meat Science, 43, Suppl. S: S277-S289
- Heaton K., Kelly S.D., Hoogewerff J., Woolfe M. 2008. Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace element analysis. Food Chemistry, 107: 506-515
- Honikel K., Kim C., Hamm R. 1986. Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. Meat Science, 16: 267-282
- Honikel K.O. 2004. Conversion of muscle to meat. V: Encyclopedia of meat science. Vol.1. Jensen W.K., Devine C.E., Dikeman M. (eds.). 1<sup>st</sup> ed. Oxford, Elsevier Academic Press: 1363-1369

- Hsieh Y.H.P., Woodward B.B., Ho S.H. 1995. Detection of species substitution in raw and cooked meat using immunoassays. *Journal of Food Protection*, 58, 5: 555-559
- 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
- ISO 1442. Meat and meat products – Determination of moisture content. 1997: 4 str.
- ISO 937. Meat and meat products – Determination of nitrogen content (Reference method). 1978: 3 str.
- Karolyi D. 2004. Sposobnost vezanja vode u mesu. *Meso*, Vol. 4, 6: 26-30
- Ke S., Huang Y., Decker E.A., Hultin H.O. 2009. Impact of citric acid on the tenderness, microstructure and oxidative stability of beef muscle. *Meat Science*, 82: 113-118
- Kent M., Knöchel R., Daschner F., Berger U-K. 2001. Composition of foods including added water using microwave dielectric spectra. *Food Control*, 12: 467-482
- Kim Y.H., Huff-Lonergan E., Sebranek J.G., Lonergan S.M. 2010. Effect of lactate/phosphate injection enhancement on oxidation stability and protein degradation in early *postmortem* beef cuts packaged in high oxygen modified atmosphere. *Meat Science*, 86: 852-858
- Lawrie R.A., Ledward D.A. 2006. *Lawrie's meat science*. 7<sup>th</sup> ed. Cambridge, Woodhead Publishing Ltd.: 442 str.
- Liu C., Xiong Y.L., Rentfrow G.K. 2011. Kiwifruit protease extract injection reduces toughness of pork loin muscle induced by freeze-thaw abuse. *LWT-Food Science and Technology*, 44: 2026-2031
- Paulsen P., Hagen U., Bauer F. 2006. Changes in biogenic amine contents, non-protein nitrogen and crude protein during curing and thermal processing of *M. longissimus, pars lumborum* of pork. *European Food Research and Technology*, 223, 5: 603-608.
- Pearce K.L., Rosenvold K., Andersen H.J., Hopkins D.L. 2011. Water distribution and mobility in meat during the conversation of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes – A review. *Meat Science*, 89: 111-124
- Poulanne E., Halonen M. 2010. Theoretical aspects of water-holding in meat. *Meat Science*, 86: 151-165
- Pravilnik o aditivih za živila. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43: 5263-5336
- Pravilnik o kakovosti mesa klavne živine in divjadi. 1996. Uradni list Republike Slovenije, 6, 31: 2564-2570

- Pravilnik o označevanju govejega mesa. 2001. Uradni list Republike Slovenije, 11, 103: 10879-10881
- Pravilnik o označevanju hranilne vrednosti živil. 2002. Uradni list Republike Slovenije, 12, 60: 6290-6292
- Pravilnik o označevanju in kategorizaciji svinjskega mesa. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 33:3883-3886
- Pravilnik o splošnem označevanju predpakiranih živil. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 50: 6751-6761
- Pravilnik o splošnem označevanju živil, ki niso predpakirana. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 28: 3264-3264
- Pravilnik o spremembah in dopolnitvah pravilnika o kakovosti perutninskega mesa. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 21: 2393-2394
- Prayson N.E., McMahon J.T., Prayson R.A. 2008. Applying morphologic techniques to evaluate hotdogs: What is in the hotdogs we eat? *Annals of Diagnostic Pathology*, 12: 98-102
- Primorose S., Woolfe M., Rollinson S. 2010. Food forensics: methods for determining the authenticity of foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology*, 21: 582-590
- Priporočilo komisije (ES) z dne 1. marca 2005 o usklajenem programu za uradni nadzor živil za leto 2005. Priloga V: Analitski protokol. 2005. Uradni list Evropske unije, 48, L 59: 27-39
- Priporočilo komisije (ES) z dne 25. november 1997 o posebnih pogojih za dodelitev izvoznih nadomestil za nekatere proizvode iz prašičjega mesa. 1997. Uradni list Evropske unije, 40, L 323: 19-22
- Priporočilo komisije (ES) z dne 27. julij 2003 o odprtju uvozne tarifne kvote za zamrznjeno goveje meso, namenjeno predelavi. Skupna ureditev trga za goveje in telečje meso. 2003. Uradni list Evropske unije, 46, L 160: 59-65
- Renou J.P., Foucat L., Bonny J.M. 2003. Magnetic resonance imaging studies of water interactions in meat. *Food Chemistry*, 82: 35-39
- Sadar J. 2006. Spremljanje parametrov kakovosti v govejih mišicah *longissimus lumborum* in *triceps brahii* med zorenjem. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 58 str.
- Saladin K. 2002. *Anatomy and physiology: the unity of form and function*. 3<sup>rd</sup> ed. Boston, McGraw-Hill Science/Engineering/Math: 1216 str.
- Sentandreu M.A., Sentandreu E. 2011. Peptide biomarkers as a way to determinate meat authenticity. *Meat Science*, 89: 280-285

- Sheard P.R., Nute G.R., Richardson R.I., Perry A., Taylor A.A. 1999. Injection of water and polyphosphate into pork to improve juiciness and tenderness after cooking. *Meat Science*, 51: 371-376
- Soares S., Amaral J.S., Oliveira M.B.P.P. 2010. Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by duplex CR assay. *Meat Science*, 85: 531-536
- Soriano A., Cruz B., Gómez L., Mariscal C., Ruiz A.G. 2006. Proteolysis, physicochemical characteristics and free fatty acid composition of dry sausages made with deer (*Cervus elaphus*) or wild boar (*Sus scrofa*) meat: A preliminary study. *Food Chemistry*, 96, 2: 173-184.
- Surowiec I., Fraser P.D., Patel R., Halket J., Brambley P.M. 2011. Metabolic approach for the detection of mechanically recovered meat in food products. *Food Chemistry*, 125: 1468-1475
- Swatland H.J. 1985. Observation on the microstructure of veal and on the detection of cooked pork. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 18: 89-93
- Toldrá F. 2003. Muscle foods: Water, structure and functionality. *Food Science and Technology International*, 9: 173-177
- Toorop R.M., Murch S.J., Ball R.O. 1997. Development of a rapid and accurate method for separation and quantification of myofibrillar proteins in meat. *Food Research International*, 30, 8: 619-627
- Trout G.R. 1988. Techniques for measuring water-holding capacity in muscle foods. A review of methodology. *Meat Science*, 23, 4: 235-252
- Tsimidou M., Boskou D. 2003. Adulteration of food: Detection. V: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Vol. 1. 2<sup>nd</sup> ed. Caballero B., Trugo L., Fingles P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 47-55
- Ünal S.B., Erdoğan F., Ekiz H.İ., Özdemir Y. 2004. Experimental theory, fundamentals and mathematical evaluation of phosphate diffusion in meats. *Journal of Food Engineering*, 65: 293-272
- Vombergar B., Arzenšek Pintar R. 2008. *Tehnologija mesa: 2. letnik: študijsko gradivo*. Maribor, Izobraževalni center Piramida, Višja strokovna šola: 198 str.
- Wissiack R., de la Calle B., Bordin G., Rodriguez A.R. 2003. Screening test to detect meat adulteration through the determination of haemoglobin by cation exchange chromatography with diode array detection. *Meat Science*, 64: 427-432
- Xia X., Kong B., Liu Q., Liu J. 2009. Physicochemical change and protein oxidation in porcine Longissimus dorsi as influenced by different freeze-thaw cycles. *Meat Science*, 83: 239-245



Xiong Y.L. 2004. Protein functionality. V: Encyclopedia of meat sciences. Vol. 1. Jensen W.K., Devine C., Dikeman M. (eds.). 1<sup>st</sup> ed. Oxford, Elsevier Ltd.: 218-238

Zhou G.H., Xu X.L., Liu Y. 2010. Preservation technologies of fresh meat – A review. Meat Science, 86: 119-128

Žlender B. 1997. Sestava in prehranska vrednost mesa in mesnih izdelkov. V: Meso v prehrani in zdravje. Zbornik posveta. Radenci, 20. in 21. november 1997. Žlender B., Demšar L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 141-152

## **ZAHVALA**

Za strokovno pomoč, nasvete, pregled, oblikovanje in veliko mero potrpežljivosti se zahvaljujem mentorici prof. dr. Lei Demšar in somentorju dr. Tomažu Polaku.

Dr. Tomažu Polaku se zahvaljujem za pomoč pri izvedbi praktičnega dela diplomske naloge.

Za konstruktivne nasvete, opombe in strokovni pregled diplomske naloge se zahvaljujem recezentki doc. dr. Nataši Šegatin.

Ivici Hočevar in Lini Burkan Makivić se zahvaljujem za pomoč pri iskanju in urejanju literature.

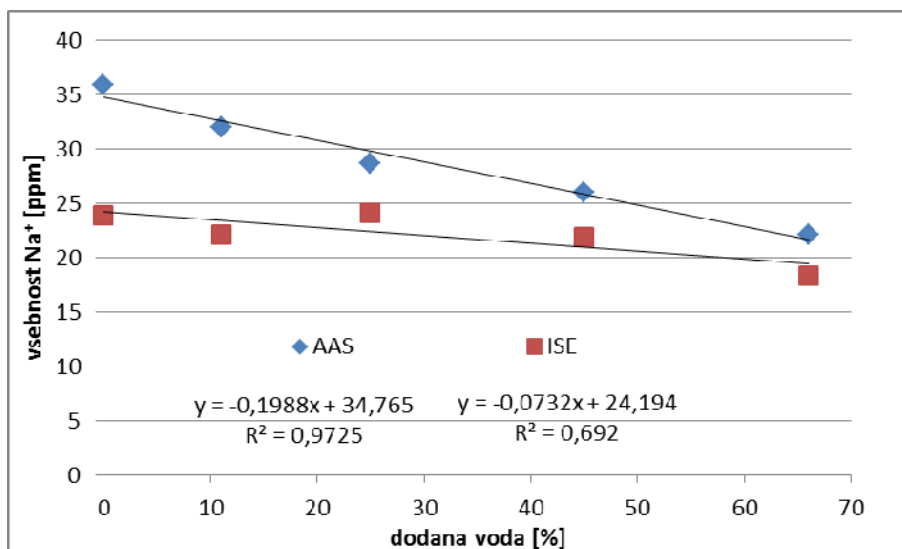
Zahvala Marinki in Mojci za pomoč v laboratoriju in potrpežljivost pri izvajanju analiz.

Hvala staršem in bratu za vso podporo in finančno pomoč pri doseganju tega cilja.

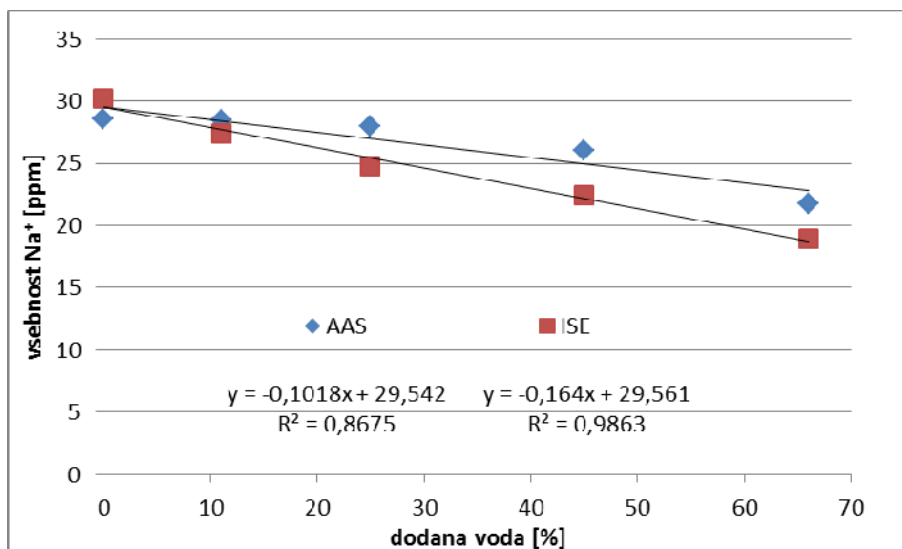
Na koncu se še posebej zahvaljujem Katji, ki mi je skozi študij stala ob strani, me podpirala in verjela vame. Zahvaljujem se ji za lektoriranje in drugačen vpogled v moje delo.

Hvala!

## PRILOGE



**Priloga A: Spremljanje vsebnosti Na<sup>+</sup>, merjenih z AAS in ISE, v govejem mesu glede na količino dodane vode.**



**Priloga B: Spremljanje vsebnosti Na<sup>+</sup>, merjenih z AAS in ISE, v prašičjem mesu glede na količino dodane vode.**