

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

---

Zagreb, rujan 2022.

Krešimir Majcen

---

**UTJECAJ PRODULJENOG  
ZRENJA NA PROTEOLITIČKE I  
LIPOLITIČKE PROCESE U  
DIMLJENOM PRŠUTU**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc. Nives Marušić Radovčić, te pomoć Ivne Poljanec, mag.ing.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

### UTJECAJ PRODULJENOG ZRENJA NA PROTEOLITIČKE I LIPOLITIČKE PROCESE U DIMLJENOM PRŠUTU

Krešimir Majcen, 0058206515

**Sažetak:** Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj produljenog zrenja od 18 mjeseci na proteolitičke i lipolitičke procese u dimljenom pršutu te usporediti određene parametre između mišića *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM). Određeni su L\*a\*b\* parametri boje, parametri teksture, stupanj oksidacije masti, sastav masnih kiselina, indeks proteolize te stupanj oksidacije proteina. Rezultati istraživanja pokazali su veće L\*a\*b\* parametre boje u mišiću BF, a veće vrijednosti tvrdoće, adhezivne sile, gumenosti i žvakljivosti na SM. Mišić SM imao je veći stupanj oksidacije masti, no između BF i SM nije postojala statistički značajna razlika za udio SFA, MUFA i PUFA skupine masnih kiselina. Najzastupljenije masne kiseline bile su oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0) te linolna (C18:2n6). U usporedbi sa zrenjem od 12 mjeseci, produljenim zrenjem došlo je do porasta indeksa proteolize u oba mišića, no BF je imao veći indeks proteolize i koncentraciju karbonila.

**Ključne riječi:** Dalmatinski pršut, produljeno zrenje, proteolitičke promjene, lipolitičke promjene

**Rad sadrži:** 47 stranica, 17 slika, 5 tablica, 86 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf formatu) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** doc. dr. sc. Nives Marušić Radovčić

**Pomoć pri izradi:** Ivna Poljanec, mag. ing.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. prof.dr.sc. Helga Medić (predsjednik)
2. doc.dr.sc. Nives Marušić Radovčić (mentor)
3. izv.prof.dr.sc. Klara Kraljić (član)
4. doc.dr.sc. Marko Obranović (zamjenski član)

**Datum obrane:** 23. rujan 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Department of Food Engineering  
Laboratory for Meat and Fish Technology

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Graduate university study programme:** Food Engineering

### INFLUENCE OF EXTENDED RIPENING ON PROTEOLYTIC AND LIPOLYTIC PROCESSES IN SMOKED DRY-CURED HAM

Krešimir Majcen, 0058206515

**Abstract:** The aim of this study was to determine the effect of prolonged ripening of 18 months on the proteolytic and lipolytic processes in smoked dry-cured ham and compare how they differ between *biceps femoris* (BF) and *semimembranosus* (SM) muscles. L\*a\*b\* color parameters, texture parameters, degree of fat oxidation, the composition of fatty acids, proteolysis index, protein concentration, and carbonyl concentration were determined. The results showed higher L\*a\*b\* color parameters in the BF while higher values of hardness, adhesive force, rubberiness, and chewiness were measured on the SM. SM muscle had a higher degree of fat oxidation, but there was no statistically significant difference in the percentage of SFA, MUFA, and PUFA fatty acids between the two. The most abundant fatty acids were oleic (C18:1c), palmitic (C16:0), stearic (C18:0), and linoleic acid (C18:2n6). Compared to 12 months of ripening, prolonged ripening led to an increase in the proteolysis index in both muscles, but BF had a higher proteolysis index and a higher concentration of total carbonyls.

**Keywords:** Dalmatian dry-cured ham, prolonged ripening, proteolytic changes, lipolytic changes

**Thesis contains:** 47 pages, 17 figures, 5 tables, 86 references

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** PhD. Nives Marušić Radovčić, Assistant professor

**Technical support and assistance:** BSc Ivna Poljanec

#### Reviewers:

1. PhD. Helga Medić, Full professor (president)
2. PhD. Nives Marušić Radovčić, Assistant professor (mentor)
3. PhD. Klara Kraljić, Associate professor (member)
4. PhD. Marko Obranović, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** September 23, 2022

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b>	<b>3</b>
2.1. TRAJNI SUHOMESNATI PROIZVODI	3
2.2. PRŠUT	3
2.2.1. Dalmatinski pršut	3
2.3. TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE DALMATINSKOG PRŠUTA	4
2.3.1. Obrada buta	4
2.3.2. Soljenje	5
2.3.3. Prešanje butova	6
2.3.4. Dimljenje i sušenje pršuta	6
2.3.5. Zrenje	7
2.4. BOJA	9
2.5. TEKSTURA	10
2.6. OKSIDACIJA MASTI	10
2.6.1. TBARS test u određivanju stupnja oksidacije masti	13
2.7. PROTEOLIZA	14
2.8. OKSIDACIJA PROTEINA	16
2.8.1. DNPH metoda	17
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b>	<b>19</b>
3.1. PRIPREMA UZORKA	19
3.2. ODREĐIVANJE BOJE	19
3.3. ODREĐIVANJE TEKSTURE	20
3.4. ODREĐIVANJE STUPNJA OKSIDACIJE MASTI	20
3.5. ODREĐIVANJE SASTAVA MASNIH KISELINA	21
3.6. ODREĐIVANJE INDEKSA PROTEOLIZE	22
3.7. ODREĐIVANJE UKUPNIH KARBONILA	23
3.8. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	24
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b>	<b>25</b>
4.1. BOJA	25
4.2. TEKSTURA	27
4.3. OKSIDACIJA MASTI	31
4.4. SASTAV MASNIH KISELINA	33
4.5. INDEKS PROTEOLIZE	36
4.6. UKUPNI KARBONILI	38
<b>5. ZAKLJUČCI</b>	<b>41</b>
<b>6. LITERATURA</b>	<b>42</b>

# 1. UVOD

Pršut je trajni suhomesnati proizvod dobiven od svinjskog buta te jedan od najcjenjenijih i najkvalitetnijih mesnih proizvoda. Dalmatinski pršut autohtoni je proizvod vrhunske kvalitete koji se proizvodi u južnom dijelu Hrvatske. Nositelj je Zaštićene oznake zemljopisnog porijekla (ZOZP) na EU i nacionalnoj razini. Priprema se tradicionalnim postupkom gdje je zabranjeno dodavanje aditiva kao što su nitriti ili askorbinska kiselina, a odlikuju ga osebujna aroma, miris dima te blago slankast okus.

Posljednjih nekoliko godina, znanstvena dostignuća objasnila su brojne biokemijske procese važne za optimalno stvaranje karakterističnog okusa, mirisa i poželjne konzistencije pršuta. Upravo ta dostignuća uvelike su utjecala na unapređenje i usavršavanje procesa proizvodnje za dobivanje pršuta vrhunske kvalitete. Provedena su mnoga istraživanja na različitim vrstama pršuta s ciljem saznanja kako anatomska lokacija mišića, proizvodni proces, ali i genotip i ishrana svinja utječe na intenzitet proteolize, oksidacije masti i proteina, teksturu i boju. Neka od brojnih istraživanja provedena su na francuskim Bayonne pršutima (Therone i sur., 2011; Harkouss i sur., 2015), talijanskim Parma, San Daniele i Toscano pršutima (Lauerati i sur., 2013; Koutina i sur., 2012), španjolskim Iberijskim i Serrano pršutima (Cava i sur., 2009; Riuz Ramirez i sur., 2006), slovenskim Kraškim pršutima (Pugliese i sur., 2015) te hrvatskim Dalmatinskim pršutima (Marušić Radovčić i sur., 2019).

U znanstvenoj literaturi, najviše istraživanja provedeno je na mišićima *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM). SM je vanjski mišić, dok je BF unutarnji mišić. Vanjska anatomska lokacija mišića SM čini ga u direktnom kontaktu sa soli i atmosferskim uvjetima. Zbog toga, SM podložen je bržoj dehidraciji, što na kraju rezultira većom koncentracijom soli i manjim udjelom vode u usporedbi s BF. S druge strane, zbog svoje lokacije, na kraju proizvodnje BF sadržavat će manji udio soli i veći udio vode (Théron i sur., 2011). Zbog različite anatomske lokacije ta dva mišića, a time i različitih uvjeta kojima su podvrgnuti tijekom proizvodnje, parametri kvalitete BF i SM mogu varirati. Stoga pravilan tehnološki proces je od velike važnosti kako bi dobili pršut ujednačene kvalitete.

Tijekom proizvodnje, uz gubitak vode i porasta koncentracije soli, u pršutu se također dešavaju kompleksne promjene na proteinima i mastima koje imaju značajan utjecaj na kakvoću gotovog proizvoda. Proteini i masti podliježu enzimskoj hidrolizi i oksidaciji koje zajedno s dehidratacijom pretvaraju svježi svinjski but u konzervirani proizvod visoke gastronomske vrijednosti.

Proteoliza je jedna od najvažnijih reakcija u proizvodnji pršuta koja ima utjecaja na teksturu i kvalitetu konačnog proizvoda. Njome dolazi do omekšavanja mesa i dobivanja poželjne teksture karakteristične za Dalmatinski pršut. No, uz proteolizu koja je poželjna, proteini također podliježu i reakcijama oksidacije koja je nepoželjna. Rezultat oksidacije proteina je karbonilacija tj. ireverzibilna modifikacija proteina koja se negativno odražava na kvalitetu pršuta te dolazi do smanjenja nutritivne vrijednosti proizvoda (Estévez i Heinonen, 2010).

Osim proteina, na kvalitetu i prihvatljivost pršuta veliki utjecaj ima udio masti jer utječe na okus, nježnost i sočnost finalnog proizvoda. No, osim poželjnih karakteristika kojima pridonose kvaliteti, masti su podložne promjenama koje se mogu negativno odraziti na gotov proizvod. Masne kiseline, a posebice nezasićene masne kiseline podložne su oksidaciji što može dovesti do smanjenja nutritivne vrijednosti i negativnih promjena na teksturi, mirisu, okusu i boji pršuta (Domínguez i sur., 2019).

Boja je jedan od najvažnijih senzorskih pokazatelja kvalitete mesa i mesnih proizvoda te ima veliku ulogu kod potrošača. Boja gotovog pršuta ovisit će o kemijskim karakteristikama pršuta, koncentraciji mesnih pigmenata te o mišićnoj strukturi (Costa i sur., 2008). Najvažniji pigment za boju je mioglobin čija koncentracija ovisi o anatomskej lokaciji mišića i u pravilu je viša u mišiću BF nego u SM (Yiu i sur., 2001).

Na harmoniju okusa, mirisa i boje gotovog proizvoda pršuta uvelike utječe proces zrenja. Zrenje za Dalmatinski pršut mora trajati minimalno 12 mjeseci i tijekom njega dolazi do brojnih biokemijskih procesa koji pozitivno utječu na senzorska svojstva, teksturu i sočnost pršuta. Duljim zrenjem produljuje se djelovanje enzime te dolazi do intenzivnije proteolize i lipolize što pozitivno utječe na kvalitetu gotovog proizvoda.

Iako postoje istraživanja kako proces produljenog zrenja utječe na parametre kvalitete na različitim vrstama pršuta, kao što su primjerice španjolski (Ruiz i sur., 1999; Cilla i sur., 2005; Salzar i sur., 2015) i talijanski pršuti (Bordini i sur., 2004; Benedini i sur., 2011), za sada, takva istraživanja nisu rađena na Dalmatinskom pršutu.

Cilj ovog rada bio je odrediti kako produljeno zrenje u trajanju od 18 mjeseci utječe na parametre boje, teksture, oksidacije masti, sastav masnih kiselina, proteolize i oksidacije proteina te usporediti kako se navedeni parametri razlikuju između mišića *biceps femoris* i *semimembranosus*.



## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. TRAJNI SUHOMESNATI PROIZVODI**

Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (Pravilnik, 2018), trajni suhomesnati proizvodi su toplinski neobrađeni proizvodi od svinjskog mesa, s ili bez pripadajućih kosti, potkožnog masnog tkiva i kože, a mogu sadržavati i druge dodane sastojke. Na tržištu, trajni suhomesnati proizvodi od svinjskog mesa su: pršut, suha šunka, suha lopatica, suha vratina ili buđola, suha pečenica, suha slanina i panceta.

### **2.2. PRŠUT**

Pršut je trajni suhomesnati proizvod od svinjskog buta s kostima, a ovisno o vrsti pršuta, može biti s ili bez kože i potkožnog masnog tkiva, s ili bez nogice, bez repa, s ili bez zdjeličnih kostiju (Pravilnik, 2018). Proizvodi se postupkom suhog soljenja ili salamurenja, uz mogućnost dodatka drugih začina i začinskog bilja, nakon čega slijede sušenje i zrenje te ovisno o vrsti pršuta i postupku, dimljenje. Prema pravilniku, kao zamjena za dimljenje, nije dozvoljeno proizvoditi pršut upotrebom arome dima (Pravilnik, 2018). Proces proizvodnje pršuta mora trajati minimalno 9 mjeseci.

U Hrvatskoj postoje četiri vrste autohtonih pršuta - Istarski, Krčki, Drniški i Dalmatinski. Istarski je nositelj Zaštićene oznake izvornosti na EU i nacionalnoj razini, dok su Krčki, Dalmatinski i Drniški nositelji Zaštićene oznake geografskog porijekla (Gaćina, 2017).

#### **2.2.1. Dalmatinski pršut**

Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (2018), "Dalmatinski pršut" je trajni suhomesnati proizvod od svinjskog buta s kosti, kožom, potkožnim masnim tkivom, bez zdjeličnih kosti. Smije se proizvoditi od svježih butova s kosti dobivenih od svinja koje su potomci komercijalnih mesnatih pasmina, križanaca ili linija. Kao što mu ime govori, Dalmatinski pršut je usko vezan uz područje Dalmacije, a proizvodnja se smije odvijati isključivo unutar administrativnih granica Ličko-senjske županije, Zadarske, Šibensko-kninske, Splitsko-dalmatinske te Dubrovačko-neretvanske županije.

Proizvodnja uključuje proces suhog soljenja morskom soli, dimljenje blagim izgaranjem tvrdog drva bukve, hrasta ili graba, a na koncu pršut se podvrgava sušenju i zrenju od najmanje 12 mjeseci. Gotov proizvod se odlikuje osebujnom aromom, blagim

slanim okusom, jednoličnom crvenom bojom mesa i poželjnom konzistencijom (Kos i sur., 2015). Tradicionalan proces proizvodnje Dalmatinskog pršuta, osim morske soli, ne smije sadržavati dodatak konzervansa i aditiva. To se posebice odnosi na nitrite, nitrate, kalijev sorbat, askorbinsku i propionsku kiselinu.

### 2.3. TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE DALMATINSKOG PRŠUTA



**Slika 1.** Tehnološki postupak proizvodnje Dalmatinskog pršuta (Kos i sur., 2015)

#### 2.3.1. Obrada buta

But je dio svinjske polovice s najvećim udjelom mišićnog tkiva uz najmanji udio ukupnog masnog tkiva i predstavlja najkvalitetnije meso u svinjskoj polovici (Ukmar i sur., 2008). Tehnološki postupak proizvodnje pršuta započinje odabirom buta zadovoljavajućih karakteristika i kvalitete. Svinjski but Dalmatinskog pršuta mora zadovoljavati jasno definirane kriterije - mora biti odvojen od svinjske polovice između zadnjeg slabinskog kralješka i prvog križnog kralješka, ne smije sadržavati zdjelične kosti te bočna, sjedna, preponska, križna kost i repni kralješci moraju biti odstranjeni. But ne smije sadržavati nogicu te je ona odvojena u skočnom zglobu. S medijalne i lateralne strane but sadrži kožu i potkožno masno tkivo, a masa obrađenog buta mora biti najmanje 11 kg (Turk, 2018). U slučaju manjih nepravilnosti u obliku buta, radi dobivanja konačnog pravilnog oblika, moguće je pojedine butove dodatno obraditi. S druge strane, butovi koji imaju vidljiva oštećenja ili manjkavosti u kakvoći mesa, kože ili potkožnog masnog tkiva moraju se odstraniti iz proizvodnje. Vrijeme od klanja do soljenja buta ne smije biti kraće od 24 sata,

niti dulje od 96 sati (Kos i sur., 2015).

Jedan od najvećih problema u tradicionalnoj proizvodnji je neujednačena kvaliteta butova kao posljedica različitog genotipa, dobi, spola, tjelesne mase te morfoloških osobina svinja. Posljedično tome, udio mišićnog i masnog tkiva između butova varira, što u konačnici može utjecati na kvalitetu gotovog pršuta.

### 2.3.2. Soljenje

U konzerviranju trajnih suhomesnatih proizvoda, soljenje ima vrlo važnu ulogu. Sol snižava aktivitet vode ( $a_w$ ) i time potiče inhibiciju razvoja mikroorganizama. Također, oštećuje enzime i druge stanične strukture odgovorne za metaboličke procese, povećava osmotski tlak na staničnim membranama mikroorganizama što dovodi do plazmolize (Dikeman i Devine, 2004). No osim konzervirajućeg efekta, sol poboljšava organoleptička svojstva gotovog proizvoda i doprinosi kemijskim i biokemijskim reakcijama koje sudjeluju u stvaranju tipične teksture i okusa pršuta (Lorenzo, 2015).

Kod Dalmatinskog pršuta, soljenje se smije provoditi samo s morskom soli (Slika 2.) te nije dozvoljena upotreba nikakvih drugih začina ili konzervansa. Prije soljenja, iz buta treba istisnuti svu preostalu krv, a obrađeni butovi se suhom soli trljaju po cijeloj površini i ostavljaju ležati s medijalnom stranom okrenutom prema gore. Nakon 7 do 10 dana, butove je ponovno potrebno natrljati solju te ih položiti na sličan način i ostaviti idućih 7 do 10 dana. Međutim, ovoga puta medijalna strana okreće se prema dolje (Kos i sur., 2015). Za kvalitetu gotovog proizvoda vrlo je važno brzo i ravnomjerno penetriranje soli u mišiće pri čemu temperatura igra veliku ulogu. Preniska temperatura smanjuje apsorpciju soli, no s druge strane, ako butovi nisu dovoljni ohlađeni, postoji veća opasnost od kvarenja.



**Slika 2.** Soljenje Dalmatinskog pršuta (Špehar, 2018)

### 2.3.3. Prešanje butova

Prešanje butova je dodatna faza čija funkcija je osiguranje pravilnog oblika pršuta. Butovi se prešaju tako da se slažu u redove između ploča koje se zatim opterećuju (prikazano na Slici 3.). Sama faza prešanja traje 7-10 dana na istim uvjetima kao soljenje. Neovisno prešaju li se butovi ili ne, nakon soljenja se ostavljaju ležati 7-10 dana, nakon čega se ispiru čistom vodom i cijede se. Nakon toga, iznad petne kvрге vežu se špagom ili vješaju kukom od nehrđajućeg čelika i prenose u komore s otvorima za zrak gdje se izjednačava temperatura prije dimljenja. Komora mora imati otvore za zrak zaštićene mrežicom, kako kukci ili druge štetočine ne bi mogle ući.



Slika 3. Prešanje butova (Anonymous 1, 2014)

### 2.3.4. Dimljenje i sušenje pršuta

Nakon što se temperatura butova ujednači s temperaturom komore, provodi se dimljenje hladnim dimom čija temperatura ne smije prelaziti 22 °C. Viša temperatura nepovoljno bi utjecala na but jer uzrokuje denaturaciju proteina u površinskom sloju pršuta, što bi otežalo migraciju vode iz unutarnjih dijelova buta prema van. To bi u konačnici moglo rezultirati kvarenjem pršuta (Kos i sur., 2015).

Dimljenje pršuta ima dvostruku ulogu. Od posebnog je značaja jer daje mesu specifični, ugodni miris i okus po dimu te mu daje zlatno-smeđu do smeđu boju (Kovačević, 2017). No osim toga, dimljenje ima i konzervirajući učinak. Konzervirajuće djelovanje dima temelji se na:

- antioksidativnom djelovanju - fenoli iz dima vežu se na slobodne radikale i poništavaju njihovu oksidativnu aktivnost

- baktericidnom i fungicidnom djelovanju - posljedica aktivnosti spojeva u sastavu dima kao što su formaldehidi, smole, masne kiseline, ugljikovodici, amonijak, octena i mravlja kiselina, alkoholi, itd.
- sušenju - posljedica temperature i brzine strujanja zraka i dima (Živković, 1986; Vuković, 2012).

Međutim, sam po sebi, postupak dimljenja nema dovoljno jak konzervirajući efekt pa se mora kombinirati i s drugim metodama konzerviranja, najčešće soljenjem i sušenjem (Vuković, 2012). U proizvodnji tradicionalnog Dalmatinskog pršuta, dim se dobiva izgaranjem tvrdog drveta ili piljevine bukve (*Fagus sp.*), hrasta (*Quercus sp.*) ili graba (*Carpinus sp.*). Oblikovanje specifičnih organoleptičkih svojstava i konzervirajući učinak dima posljedica su taloženja dima na površini mesa i njegove penetracije u dubinu proizvoda.

Sušenje (prikazano na Slici 4.), osim što povećava trajnost proizvoda, ono mijenja i senzorska svojstva mesa. Prvenstveno, promjena senzorskih svojstava posljedica je gubitka određenih hlapljivih spojeva arome zajedno s vodenom parom. Međutim, isto tako dolazi i do povećanja koncentracije pojedinih spojeva okusa i mirisa u mesu. Prosječni gubitak vode, u pravilu iznosi oko 30-40 %. Tijekom sušenja i dimljenja, smanjuje se masa i volumen pršuta, što olakšava daljnje rukovanje pri skladištenju i transportu gotovog proizvoda. Postupak dimljenja i sušenja traje najviše 45 dana.



**Slika 4.** Sušenje Dalmatinskog pršuta (Anonymous 2, 2021)

### 2.3.5. Zrenje

Tijekom zrenja odvijaju se brojni biokemijski procesi koji pršutu daju harmoniju mirisa i okusa te lijepu boju. Zrenje predstavlja proteolitičku i lipolitičku razgradnju mišićnog i masnog tkiva. Katalizirano je endogenim enzima, a odvija se u posebnim komorama koje

osiguravaju optimalne uvjete (Slika 5.). Komore trebaju biti zamračene, imati stabilnu mikroklimu i blagu izmjenu zraka. Temperatura ne smije prelaziti 20°C te mora imati relativnu vlažnost zraka ispod 90%. Pravilnom temperaturom i vlagom osigurava se ravnomjeran gubitak vode i pravilno zrenje pršuta (Kos i sur., 2015).



**Slika 5.** Zrenje Dalmatinskog pršuta (Anonymous 3, 2019)

Godinu dana nakon početka soljenja, pršut je zreo i spreman za konzumaciju. Autohtoni Dalmatinski pršut može se prepoznati po oznaci koja se kao vrući žig nanosi na kožu nakon zrenja (Slika 6.). Tek nakon što je certifikacijsko tijelo utvrdilo sukladnost proizvoda s kriterijima Dalmatinskog pršuta, proizvod s oznakom zemljopisnog podrijetla se smije staviti na tržište te prodavati cijeli ili u komadima. Gotov proizvod Dalmatinskog pršuta nalazi se na Slici 7.



**Slika 6 i 7.** Grafički prikaz znaka za Dalmatinski pršut (lijevo) i gotov proizvod Dalmatinskog pršuta (desno) (Kos i sur., 2015; Anonymous 4, 2021)



## 2.4. BOJA

Osim što je boja jedan od najvažnijih senzorskih pokazatelja kvalitete mesa i mesnih proizvoda, ona također ima i veliku marketinšku ulogu. Boja pršuta ovisi o više faktora, no prvenstveno o kemijskom stanju, koncentraciji mesnih pigmenata te o strukturi samog mišića (Costa i sur., 2008). Glavni pigment koji mesu daje karakterističnu boju je protein mioglobin (Yiu i sur., 2001). Sadržaj mioglobina ovisan je o mišićnom tkivu, a u direktnoj je korelaciji s pasminom svinje, njezinoj starosti te prehrambenom statusu svinje (Honikel, 1998). Primjerice, pršuti mlađih svinja imaju svjetliju i bljeđu nijansu crvene boje jer njihovo meso sadrži manje mioglobina (Karolyi, 2009). Isto tako, količina mioglobina u mišiću, a time i intenzitet boje mesa, proporcionalna je s aktivnošću mišića. Aktivniji mišići sadrže više mioglobina jer zahtijevaju više energije pa će primjerice meso crnih slavonskih svinja iz otvorenog uzgoja zbog aktivnijeg načina života imati intenzivniju crvenu boju. Također, prema Yiu i sur. (2001) možemo vidjeti kako je koncentracija mioglobina različita ovisno o mišiću. Primjerice, kod svinje pasmine hampshire, u unutarnjem mišiću buta, odnosno mišiću BF, koncentracija mioglobina iznosi 5,06 mg/g, dok u vanjskom mišiću SM 4,05 mg/g. Stoga, zbog veće koncentracije mioglobina u mišiću BF, taj mišić intenzivnije je boje u odnosu na SM. Različite kemijske karakteristike pršuta, kao što su sadržaj soli, udio vlage,  $a_w$  i pH također imaju utjecaj na boju. Isto tako, i razdoblje prije klanja, samo klanje i naknadna obrada jer direktno utječu na brzinu pada pH i temperature (Pérez-Alvarez i sur., 1998). Na boju mesa utječu i procesi oksigenacije i oksidacije tijekom skladištenja i distribucije proizvoda (Honikel, 1998).

Boju mesa moguće je odrediti na dva načina - subjektivnom procjenom uz pomoć stručnog senzorskog panela, ili objektivno, odnosno instrumentalno, pomoću spektrofotometra. Kod senzorskog ocjenjivanja, boja se uspoređuje s referentnim vrijednostima na skali boje mesa koja se kreće od 1 do 6. Najniža ocjena predstavlja blijedo-ružičastu boju, a najviša tamno-purpurno-crvenu. Optimalna vrijednost za boju mesa iznosi između 3 i 4. S druge strane, kod instrumentalnog mjerenja koriste se različiti uređaji koji nude niz mogućnosti te nekoliko sustava za mjerenje. Jedan od najčešćih sustava je CIE  $L^*a^*b^*$  sustav koji je definiran pomoću tri vrijednosti -  $L^*$ ,  $a^*$ , i  $b^*$  (Yiu i sur., 2001):

- $L^*$  parametar predstavlja koordinatu boje za svjetlinu (engl. lightness) i kreće se od 0 do 100. 0 predstavlja potpuno crnu boju, a 100 potpuno bijelu.

- a\* parametar boje pokazuje spektar od zelene do crvene i kreće se od -60 do 60 pri čemu pozitivne vrijednosti predstavljaju crvenu boju. Veće vrijednosti karakteristične su za crveno meso.
- b\* parametar pokazuje vrijednosti od plavog i žutog spektra i također se kreću od -60 do 60. Veće vrijednosti karakteristične za žuti dio spektra, a manje za plavi.

## 2.5. TEKSTURA

Tekstura pršuta ovisi o brojnim faktorima od kojih sama sirovina i njena svojstva imaju veliki utjecaj. No isto tako, tijekom procesa proizvodnje na pršutu se događaju brojne fizikalno-kemijske promjene koje utječu na teksturu gotovog proizvoda. Tako će tekstura ovisiti o sadržaju intramuskularne masti, sastavu masnih kiselina, oksidaciji masti, proteolitičkom potencijalu, umrežavanju kolagena, ali i o samom procesu proizvodnje (Toldrá i sur., 1993). Svakako jedna od najvažnijih reakcija koja ima ogroman utjecaj na teksturu je proteoliza. Proteoliza omekšava meso i dolazi do povećanja ekstraktibilnosti proteina što rezultira većom sočnošću i mekšom teksturom. Međutim, prekomjerna proteoliza negativno se održava na pršut i uzrokuje nedostatke i greške u teksturi (Toldrá, 2002). Stoga je bitno da proteoliza bude optimalna, a na njen intenzitet utječu sadržaj vode, temperatura, sadržaj soli, anatomske položaj i pH svježeg pršuta.

Za formiranje teksture pršuta veliki značaj imaju soljenje, sušenje i zrenje, odnosno koncentracija soli, udio vode i pH vrijednost mesa svojstveni za te faze proizvodnje. O njima će ovisiti daljnji tijek reakcija u mesu. Na primjer, manji udio soli pozitivno će utjecati na proteolizu (Toldrá, 2002). Isto tako, na proteolizu utječu pH i udio vode u mesu. Veći pH i veći udio vode poboljšat će proteolizu i enzimatsku aktivnost, a to će rezultirati većom mekoćom pršuta (García-Rey i sur., 2004). Također, važnost ima udio masti i gdje se ona nalazi u mesu. Prisutnost intramuskularne i intermuskularne masti usporava prodiranje soli i sušenje što se posljedično odražava i na teksturu pršuta. Isto tako, veći udio intramuskularne masti pozitivno djeluje na nježnost i sočnost.

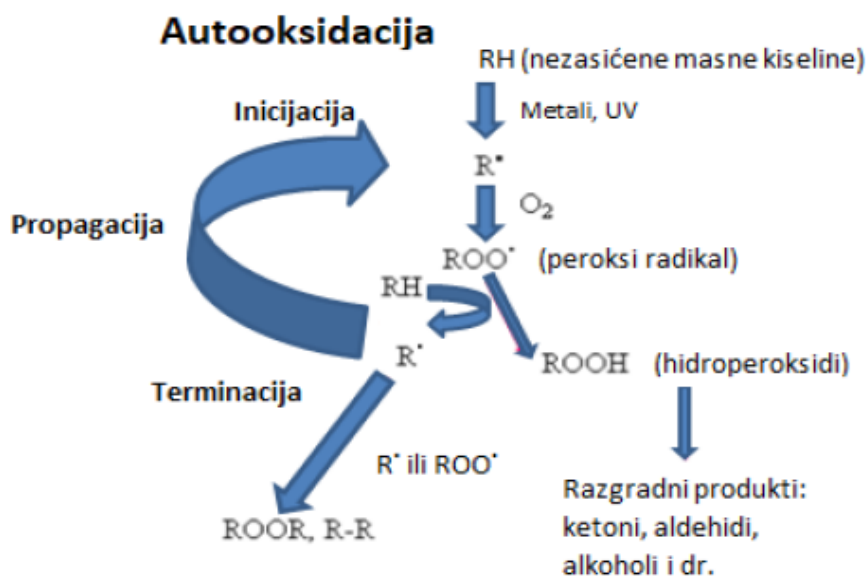
## 2.6. OKSIDACIJA MASTI

Masti su odgovorne za mnoge bitne karakteristike mesa i mesnih proizvoda - utječu na okus, nježnost i sočnost gotovog proizvoda. Stoga, uz boju pršuta, udio i sastav masti jedna je od važnijih karakteristika kvalitete pršuta. Uz anatomske lokacije mišića, udio masti i sastav masnih kiselina u izravnoj su korelaciji s ishranom i pasminom svinja. No osim



poželjnih karakteristika, masti i promjene na mastima mogu negativno utjecati na kvalitetu pršuta. Naime, tijekom proizvodnje pršuta dolazi do oksidacije što se u konačnici može negativno odraziti na senzorsku kvalitetu pršuta jer ona dovodi do negativnih promjena na boji, teksturi, mirisu i okusu. No osim što dolazi do smanjenja senzorske kvalitete mesa, oksidacija masti negativno utječe i na nutritivnu vrijednost mesa. Naime, prilikom oksidacije može doći do gubitka nekih esencijalnih masnih kiselina. Osim sastava i udjela masti, različiti faktori i komponente u mesu mogu utjecati na oksidaciju i odrediti njen tijek. Ako joj pridonose i ubrzavaju je, tada govorimo o prooksidansima, a ako ju sprječavaju ili usporavaju o antioksidansima. Na koncu, oksidativna stabilnost mesa ovisit će o ravnoteži faktora koji ili usporavaju oksidativne procese ili ih poboljšavaju (Domínguez i sur., 2019).

Reakcije oksidacija masti mogu biti enzimatske i neenzimatske, no u oba slučaja glavne komponente reakcije su nezasićene masne kiseline i kisik. Oksidacija masti uključuje tri glavna mehanizma reakcije, a to su autooksidacija, enzimski katalizirana oksidacija i fotooksidacija. Autooksidacija je najvažniji mehanizam oksidacije masti se odvija u tri faze - fazi inicijacije, propagacije i terminacije (Slika 9.) Kao primarni produkti nastaju hidroperoksidi koji su vrlo nestabilni. S obzirom na to da su bez mirisa i okusa, hidroperoksidi sami po sebi ne utječu nužno negativno na senzorsku kvalitetu proizvoda. Međutim, vrlo su reaktivni te će iz njih nastati sekundarni produkti kao što su aldehidi, alkeni, ketoni i alkoholi koji mogu narušiti organoleptička svojstva pršuta.



**Slika 8.** Reakcije autooksidacije masnih kiselina u mesu (Cheng, 2016)

U prvoj fazi inicijacije, kisik iz zraka reagira s nezasićenim masnim kiselinama pri čemu nastaju reaktivni slobodni radikali koji ulaze u daljnje reakcije. Fazom inicijacije pokreće se lančana reakcija i broj reaktivnih spojeva u drugoj fazi propagacije se povećava te nastaju hidroperoksidi i slobodni radikali peroksida. Hidroperoksidi ulaze u daljnje kompleksne reakcije gdje nastaju stabilniji produkti. Ti produkti su uzročnici neugodnog okusa i miris masti. Oksidacija se nastavlja lančano sve do faze terminacije u kojoj nastaju nereaktivni spojevi čime se završava autooksidacija (Domínguez i sur., 2019).

Na reakcije oksidacije utječu mnogi faktori, a oni mogu biti unutarnji i vanjski. Najutjecajniji faktori u oksidaciji masti u mesu su: temperatura, svjetlost, pH, sadržaj kisika, sadržaj fosfolipida i sadržaj nezasićenih masnih kiselina. Stanje prije klanja te procesi koji uništavaju membrane mišića (mljevenje, sjeckanje, kuhanje, itd.) isto imaju veliki utjecaj. No s obzirom na to da su masne kiseline glavni supstrat u oksidaciji masti, svakako jedan od glavnih faktora je sadržaj masti i masnih kiselina u mesu (Cheng, 2016).

Za oksidaciju, najvažnije su dvije skupine masti - triacilgliceroli i fosfolipidi. Porastom intramuskularne masti povećava se udio triacilglicerola, dok s druge strane udio fosfolipida ostaje isti. No bez obzira što porastom udjela masti raste udio triacilglicerola, to ne znači da će meso automatski biti podložnije oksidaciji. Primjerice, svinjsko meso sadrži puno više masti od pilećeg, no ipak je pileće meso sklonije oksidaciji. Razlog tome je sastav masnih kiselina gdje pileće meso sadrži puno veći udio nezasićenih masnih kiselina što ga čini sklonijim negativnom učinku oksidacije. S druge strane, iako se fosfolipidi nalaze u puno manjem udjelu u mesu od triacilglicerola, njihov utjecaj na tijek oksidacije je vrlo velik. Fosfolipidi su sastavni dio membrana što ih čini podložnijima utjecaju kisika, a pri tome sadrže i velik udio polinezasićenih masnih kiselina. Triacilgliceroli sadrže samo 4,5-14 % polinezasićenih masnih kiselina, dok fosfolipidi čak 37-47 % . O važnosti fosfolipida na oksidaciju u mesu govori činjenica da fosfolipidi tvore čak 90 % nepoželjnog malondialdehida koji je jedan od glavnih sekundarnih produkata autooksidacije (Domínguez i sur., 2019).

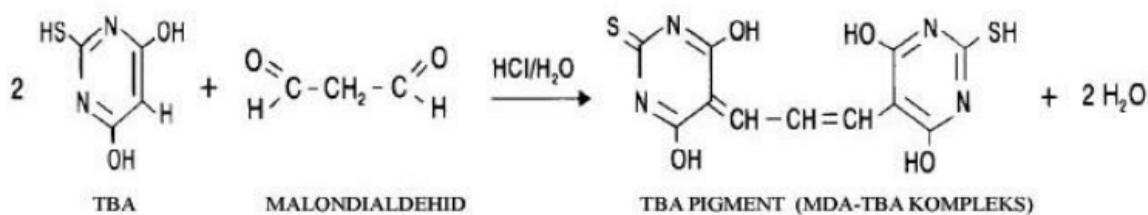
Zbog složenosti reakcija, ne postoji univerzalna metoda za mjerenje stupnja oksidacije masti u mesu. Postoji više različitih metoda, a dijele na one koje određuju primarne promjene te one koje određuju sekundarne promjene u mesu. Metode koje mjere primarne promjene određuju gubitak reaktanata (nezasićenih masnih kiselina ili kisika), prate nastajanje primarnih produkata oksidacije masti (hidroperoksida) ili određuju apsorpciju kisika. S druge strane, sekundarne metode mjere promjene u sekundarnim produktima,

odnosno nastanak karbonila, aldehida, hlapljivih komponenti i malondialdehida (Domínguez i sur., 2019). U tu skupinu pripada i TBARS test koji je korišten u ovome radu.

### 2.6.1. TBARS test u određivanju stupnja oksidacije masti

Test 2-tiobarbiturne kiseline jedan je od najčešće korištenih metoda za mjerenje stupnja oksidacije masti u mesu. Tiobarbiturna kiselina (TBA) je vrlo reaktivna s karbonilnim spojevima (aldehidima i ketonima) te s kiselinama, esterima, amidima, šećerima i pirimidinskim spojevima, zbog čega ima široku primjenu. U određivanju stupnja oksidacije masti, ova metoda koristi se za određivanje sekundarnih produkata kao što su malondialdehid (MDA). MDA nastaje tijekom oksidacije s polinezasićenih masnih kiselina, a s obzirom da je jedan od najzastupljenijih aldehida u sekundarnim reakcijama, ujedno je i jedan je od najčešće korištenih markera pri određivanju stupnja oksidacije (Reitznerová i sur., 2017).

Zagrijavanjem u kiseloj otopini MDA reagira s TBA pri čemu nastaje MDA-TBA kompleks (reakcija prikazana na Slici 10.). Nastali MDA-TBA kompleks daje ružičasto-fluorescentno obojenje koje se mjeri spektrofotometrijski, a intenzitet obojenja predstavlja koncentraciju MDA (Šimat i sur., 2009). MDA se može također dobiti kiselom hidrolizom iz 1,3,3-tetrametoksi-propana (TMP) ili 1,1,3,3-tetraetoksipropana (TEP) u ekvimolekularnoj reakciji. Stoga u određivanju stupnja oksidacije masti TBARS metodom rezultat apsorbancije MDA-TBA kompleksa uspoređuje se sa standardom izrađenim od TEP ili TMP (Fernández i sur., 1997). MDA-TBA kompleks ima apsorpcijski maksimumom pri 530-532 nm, a obojenje se mjeri i na 538 nm (Ganhão i sur, 2011).



**Slika 9.** Reakcija nastajanja MDA-TBA kompleksa (Fernández i sur., 1997)

Međutim iako najvažniji, osim MDA, s TBA reagiraju i drugi produkti oksidacije. Tu pripadaju  $\alpha,\beta$ -nezasićeni aldehidi i njihovi nehlapljivi prekursori. Stoga zbog reaktivnosti TBA s drugim spojevima, ova metoda se još zove i TBARS metoda (TBA reaktivni spoj) (Fernández i sur., 1997). No upravo ta reaktivnost TBA predstavlja i problem kod TBARS metode. S obzirom da je TBA reaktivna s mnogo različitih spojeva potencijalno mogu nastati kompleksi koji apsorbiraju na istoj valnoj duljini kao i MDA-TBA kompleks i smetati

prilikom spektrofotometrijske analize. Zbog toga, kako bi se dobili točniji rezultati, također se koriste i kromatografske metode kao što su plinska kromatografija (GC) i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC). Još jedno ograničenje TBARS metode je što MDA i ostali produkti oksidacije masti nisu dugo stabilni te oksidiraju i stvaraju organske alkohole i kiseline koji se ne mogu odrediti TBARS testom (Tarladgis i Watts, 1960). Međutim, unatoč svojim nedostacima, Hoyland i Taylor (1991) navode kako rezultati TBARS metode ipak su u dobroj korelaciji s rezultatima užeglosti dobivenim senzorskom analizom.

U TBARS testu, ako se pokrivaju svi reaktanti, stupanj oksidacije definira se kao  $\mu\text{mol TBARS/g}$  uzorka ili kao  $\text{mg malonaldehida/kg}$  uzorka ako je definiran molekularni reaktant.

## 2.7. PROTEOLIZA

Proteini su glavna komponenta mišića te kao takvi imaju veliku ulogu u proizvodnim, senzorskim te nutritivnim karakteristikama gotovih mesnih proizvoda. Kod sazrijevanja pršuta, poželjna reakcija na proteinima je proteoliza. Proteolizom se razgrađuju miofibrilarni proteini koji grade mišićnu strukturu što se odražava na teksturu pršuta i rezultira omekšavanjem i većom sočnošću mesa. Isto tako, proteolizom nastaju peptidi i slobodne aminokiseline koje ulaze u niz biokemijskih reakcija i sudjeluju u stvaranju arome, okusa i mirisa pršuta. U tehnologiji proizvodnje pršuta, utjecaj proteolize je sljedeći:

- ona dovodi do povećanja pH kao posljedica povećanja koncentracije slobodnih aminokiselina,
- utječe na okus pršuta stvaranjem malih peptida i slobodnih aminokiselina,
- utječe na miris pršuta razgradnjom nastalih slobodnih aminokiselina i njihovih razgradnih produkata (Toldrá, 2002).

Slobodne aminokiseline ulaze u Mallardove i Streckerove reakcije u kojima nastaju spojevi značajni za oblikovanje specifičnog mirisa pršuta. To je posebice izraženo kod produženog zrenja pršuta u kojem se postižu izraženija senzorska svojstva pršuta. Razlog tome je produljeno djelovanje enzima, što rezultira intenzivnijom proteolizom i lipolizom. S druge strane, skraćivanje procesa prerade, dodavanje enzima ili mijenjanje mikroklimatskih uvjeta uglavnom negativno se odražava na kvalitetu pršuta (Toldrá i Flores, 1998). No osim što proteoliza ima ključnu ulogu u formiranju senzorskih svojstava pršuta, njome također nastaju spojevi s konzervirajućim djelovanjem, kao što su razni alkoholi, terpeni, karboksilne

kiseline, i slično (Dransfield, 1994).

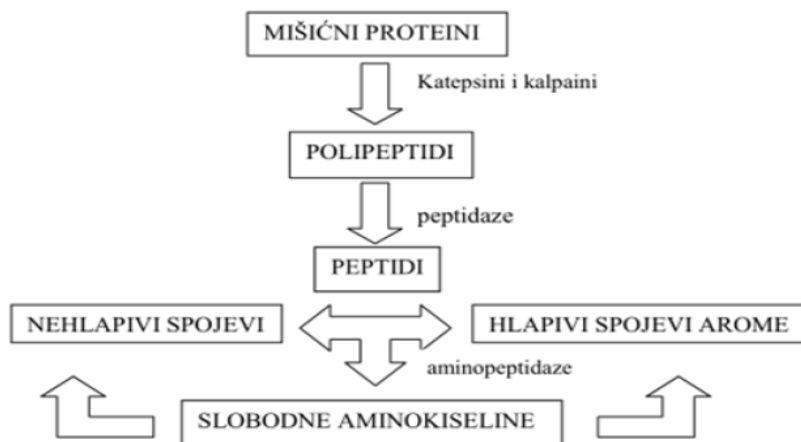
Reakcije proteolize katalizirane su endogenim proteolitičkim enzimima u mesu na čiju proteolitičku aktivnost utječu temperatura, pH, aktivitet vode ( $a_w$ ) te koncentracija soli. Najvažnije mišićne proteinaze su katepsini i kalpaini koji se postmortalno oslobađaju zbog razgradnje membrana (Toldrá, 2002).

Proteoliza intenzivno počinje završetkom postmortalne glikolize pri najvećim koncentracijama mliječne kiseline, odnosno najnižim pH vrijednostima (Kovačević, 2017). Povišenjem temperature, povećava se intenzitet proteolize jer viša temperatura potiče formiranje spojeva neproteinskog dušika te se tako povećava enzimska aktivnost. S druge strane, soljeno i sušeno meso zrije sporije. Sol smanjuje aktivitet vode te ima inhibicijski učinak na enzimsku aktivnost dok visok aktivitet vode povećava proteolitičku aktivnost (Kovačević, 2017). Osim temperature, pH, aktiviteta vode i koncentracije soli, na proteolizu utječu i anatomska lokacija mišića i njegova funkcija. Razlog tome su drugačiji uvjeti kojima su podlegnuti ti mišići. Iako su mišić SM i BF smješteni blizu površine buta, oni neće imati istu raspodjelu soli zbog različite anatomske lokacije. Mišić SM tijekom prve faze soljenja bit će više izložen soli što dovodi do brže dehidracije tijekom sušenja, a to će smanjiti i enzimsku aktivnost proteolitičkih enzima. Stoga, za očekivati je veći stupanj proteolize u mišiću BF (Parreño i sur., 1994).

Tijek i stupanj proteolize, profil i količina nastalih produkata imat će presudan učinak na konačnu kvalitetu pršuta. Preintenzivna proteoliza može se negativno odraziti na kvalitetu pršuta i uzrokovati neprijatan okus i premekanu konzistenciju. Intenzitet proteolize raste s produljenjem zrenja, a tijekom će ovisiti o vrsti pršuta, količini endogenih proteolitičkih enzima i uvjetima prerade. Ponekad zbog pojačane proteolize može doći do pojave bijelog filma na reznoj površini pršuta ili do formiranja vidljivih bijelih kristala tirozina unutar mišićnog tkiva (Toldrá, 2002). Isto tako, zbog povišene koncentracija slobodnih aminokiselina, na pršutu se može mjestimice osjetiti gorkast, "metalni" okus. Prekomjerna proteoliza vezana je s genetskom osnovom, hranidbom i dobi svinja, a rezultira povišenom koncentracijom peptida i slobodnih aminokiselina. Sklonost prekomjerno proteolizi imaju butovi s većim udjelom intramuskularne masti jer dolazi do otežane difuzije soli. Isto tako i butovi s niskim pH jer dolazi do brže postmortalne dezintegracije membrana te bržeg oslobađanja proteolitičkih enzima (Calkins i Hodgen, 2007).

Proteolizu možemo kvantificirati pomoću indeksa proteolize koji služi kao pokazatelj intenziteta proteolize. Tijekom procesa proizvodnje pršuta, vrijednosti indeksa proteolize

rastu te je za očekivati veće vrijednosti za mišić BF nego SM. Glavni razlog tome je veći udio vode, a time i veća proteolitička aktivnost (Harkouss i sur., 2015).



**Slika 10.** Tijek proteolize u mišićima post-mortem mesa (Jurković, 2020)

## 2.8. OKSIDACIJA PROTEINA

Uz proteolizu, proteini mesa podliježu i reakcijama oksidacije. No, za razliku od proteolize koja je poželjna, oksidacija proteina jedan je od glavnih uzročnika narušavanja kvalitete pršuta. Glavne oksidacijske promjene dešavaju se na bočnim lancima aminokiselina ili okosnicama peptida zbog čega dolazi do modifikacija ili potpunog gubitka pojedinih aminokiselina. Te kemijske promjene dovode do promjena fizičkih svojstava proteina i rezultiraju razgradnjom aminokiselina, smanjenjem topljivosti, gubitkom enzimatske aktivnosti, narušenom probavljivošću proteina i smanjenom osjetljivošću na proteolizu (Xiong, 2000).

Sve promjene uzrokovane oksidacijom proteina negativno utječu na teksturu i nutritivnu vrijednost mesnog proizvoda. Oksidacija proteina povezuje se s povećanjem žilavosti mesa, a isto tako smanjuje se i sposobnost zadržavanja vode u mesu što loše utječe na teksturu (Soglia i sur., 2016). Nutritivna vrijednost proizvoda također je smanjena jer zbog ireverzibilne oksidativne modifikacije neke aminokiseline mogu se u potpunosti izgubiti (Huff-Lonergan i sur., 2010). Međutim, iako negativno utječe na sveukupnu kvalitetu pršuta, u pravilu, oksidacija proteina ne utječe na okus. Stoga, iako će tekstura biti uvelike narušena, većina organoleptičkih svojstva ostat će nepromijenjeno (Hu i Jacobsen, 2016).

Rezultat oksidacije proteina je karbonilacija tj. ireverzibilna modifikacija proteina koja dovodi do nastanka raznih oksidacijskih derivata kao što su proteinski karbonili, aldehidi i ketoni (Estévez i Heinonen, 2010). Stupanj i vrsta utjecaja oksidacije na proteine ovisit će o

vrsti radikala kojima su proteini izloženi te o dužini izlaganja. S obzirom na vrstu radikala i put reakcija oksidacije, moguće proteinske modifikacije možemo podijeliti na dva načina:

- modifikacije primarne strukture koje se dešavaju kao posljedica modifikacije pojedinih aminokiselina u proteinskom lancu, gubitka pojedinih aminokiselina, agregacije proteina ili fragmentacije proteina
- modifikacije sekundarne i tercijarne strukture u kojima dolazi do promjene konformacije proteina zbog nastalih promjena u protein-protein interakcijama, naboju, hidrofilnosti, itd.

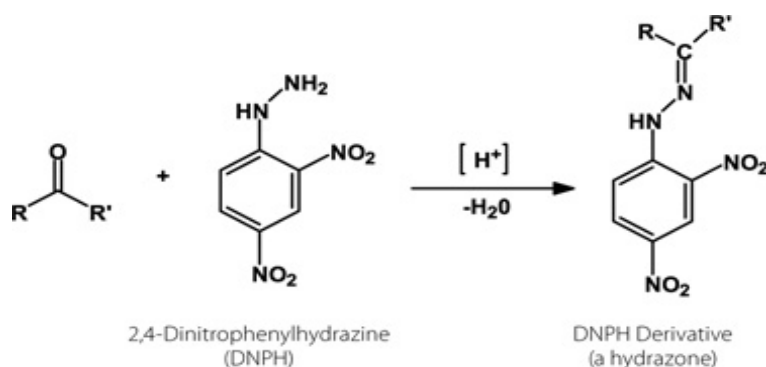
Oksidacija je inducirana direktnim utjecajem reaktivnih kisikovih vrsta, reaktivnih dušikovih vrsta ili sekundarnih produkata oksidativnog stresa. Reaktivne kisikove vrste (ROS) uključuju slobodne radikale ( $\bullet\text{OH}$ ,  $\text{O}_2\bullet-$ ,  $\text{RS}\bullet$ ,  $\text{ROO}\bullet$ ), neradikalne vrste ( $\text{H}_2\text{O}_2$  i  $\text{ROOH}$ ) te reaktivne aldehide i ketone (Estévez, 2011). Također, prirodne komponente mišićnog tkiva, kao što su nezasićeni lipidi, hem pigmenti, prijelazni metali te oksidacijski enzimi mogu biti potencijalni prekursori ili katalizatori nastajanja reaktivnih kisikovih vrsta (Xiong, 2000). Na oksidaciju proteina i aminokiselina utječu i niz okolišnih faktora kao što su: pH, temperatura, aktivitet vode i prisutnost promotora ili inhibitora inhibicije. Primjer promotora oksidacije može biti sol jer ona može povećati prooksidativni učinak na lipidima i uzrokovati njihovu oksidaciju. Posljedično tome, oksidacija lipida može pokrenuti ili ubrzati oksidacijske reakcije i na proteinima (Soladoye i sur., 2015). S druge strane, primjer inhibitora su fenolne komponente. Fenolni spojevi u dimu zbog svog antioksidativnog djelovanja pozitivno utječu na sprječavanje oksidacije na proteinima (Hu i Jacobsen, 2016). U pravilu, veći stupanj oksidacija proteina svojstven je pršutima koji imaju dulji proces proizvodnje, zbog dužeg i intenzivnijeg perioda sušenja i zrenja (Ventanas i sur., 2007.).

Kao marker u određivanju oksidacije proteina često se koristi mjerenje nastalih karbonila ili gubitak sulfhidrilnih skupina. Pri određivanju promjena uzrokovanih oksidacijom proteina u mesnim sustavima, najčešće se koristi DNPH metoda koja mjeri formirane karbonile. Ta metoda korištena je i u ovom radu.

### **2.8.1. DNPH metoda**

Detekcija karbonilnih spojeva DNPH metodom jedan je od najvažnijih načina za kvantifikaciju oksidativnog oštećenja proteina u biološkim sustavima i sustavima hrane (Soladoye i sur., 2015). DNPH metoda mjeri ukupnu količinu karbonila nastalih u uzorku proteina, a dobiveni rezultat predstavlja opći indeks oksidacije proteina. Metoda se temelji na reakciji DNPH (2,4- dinitrofenilhidrazin) s karbonilima pri čemu nastaje DNP hidrazon

(4-dinitrofenil) s apsorpcijskim maksimumom na 370 nm. Reakcija nastajanja DNP hidrozana prikazana je na Slici 12. Sam postupak uključuje paralelno određivanje karbonilnih derivata i sadržaja proteina u uzorku. Sadržaj karbonila dobiva se mjerenjem apsorpcije uzorka na 370 nm, a rezultat se dobiva pomoću koeficijenta apsorpcije proteina hidrozana od  $22,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  i izražava kao nmol/mg proteina (Levine i sur., 1994). S druge strane, koncentracija proteina određuje se na 280 nm pri čemu uzorak ne sadrži DNPH, već kao standard koristi se BSA (Estévez i sur., 2008).



**Slika 11.** Reakcija nastanka DNP hidrozana reakcijom karbonila i DNPH (Santos-Fandila i sur., 2014.)

Međutim, iako jednostavna i praktična, zbog svojih nedostataka ova metoda nije uvijek najpouzdaniji način u određivanju oksidacije proteina u sustavima hrane. Karbonilne skupine mogu se nalaziti u proteinima bez da su nužno rezultat oksidacije aminokiselinskih ostataka. Mogu nastati raznim putevima što može dovesti do precijenjenosti stupnja oksidacije proteina u hrani (Estevez i sur., 2008). To dovodi do povećanja koncentracije ukupnih karbonila, iako nije došlo do oksidacije proteina, a to onda otežava detekciju pravog stupnja oksidacije proteina. Zbog toga, uz DNPH metodu, razvijaju se i druge metode za određivanje oksidacije proteina kao što su fluorescentna spektroskopija i LC-ESI-MS (tekućinska kromatografija-elektrosprej ionizacija-masena spektrometrija) (Armenteros i sur., 2009).



### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. PRIPREMA UZORKA

Za potrebe diplomskog rada, korišteni su uzorci dimljenog Dalmatinskog pršuta pasmine svinje DANBRED. Danbred je tropasminski križanac danskog landrasa, velikog jorkšira i duroka ((danski landras x veliki jorkšir) x durok).

Uzorci Dalmatinskog pršuta istog proizvođača dostavljeni su kao presjeci butova iz kojih su zatim odvojeni i izolirani mišići *semimembranosus* (SM) i *biceps femoris* (BF). Sveukupno je bilo 10 uzoraka pršuta, a svaki od pršuta prošao je fazu produljenog zrenja u trajanju od 18 mjeseci. Izolirani mišići SM i BF usitnjeni su na manje komade, izvagani, vakuumirani te uskladišteni u ledenicu na  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a svaki od uzorka označen je pripadajućim brojem, oznakom mišića i kraticom pripadajuće analizu. U pripremi uzoraka za daljnje analize korištena je aparatura i pribor:

- Uređaj za vakuumiranje (Homevac, HV500, Status, Slovenija)
- Tehnička vaga (Kern 527, KERN & SOHN GmbH, Balingen, Njemačka)

#### 3.2. ODREĐIVANJE BOJE

Mjerenje boje izvršeno je pomoću spektrofotometra CM-700d, prijenosnog instrumenta za mjerenje boje u rasponu valnih duljina 400-700 nm. Boja, odnosno  $L^*a^*b^*$  parametri boje, određeni su na površini mišića odmah po primitku uzoraka. Kako bi dobili što točnije rezultate, prilikom mjerenja izbjegavana su mjesta s većim udjelom masti. Na svakom uzorku, provedeno je po 4 mjerenja na BF i po 4 na SM, a izmjerene vrijednosti za  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  izražene su kao srednja vrijednost.

$L^*$  parametar predstavlja skalu sive boje kojoj vrijednosti idu od 0 do 100. Vrijednost 0 označava potpuno crnu boju, dok vrijednost 100 potpuno bijelu. S druge strane, parametar  $a^*$  ima raspon vrijednosti od -60 do +60 gdje negativne vrijednosti označavaju skalu zelene boje ( $a^* = -60$  je čista zelena boja), a pozitivne vrijednosti označavaju približavanje crvenoj boji ( $a^* = +60$  je čista crvena boja). Parametar  $b^*$  također ima isti raspon vrijednosti gdje negativne vrijednosti označavaju spektar plave boje, a pozitivne žute.

### 3.3. ODREĐIVANJE TEKSTURE

Tekstura uzoraka analizirana je teksturometrom TA1 Texture Analyzer (Ametek Lloyd Instruments Ltd., UK). Mjerenja su učinjena na mišićima BF i SM odmah po primitku uzoraka. Određeni su parametri: tvrdoća (N), adhezivna sila (N), kohezivnost, adhezivnost (N mm), gumenost (N), odgođena elastičnost (mm), žvakljivost (N mm), otpornost (N), lom (N) i žilavost (mm).

Od svakog uzorka izrezano je 6 kockica veličine 10x10x10 mm. Nakon pripreme, uzorci su komprimirani dva puta do 50 % deformacije brzinom od 1 mm s<sup>-1</sup> (vrijeme razmaka između 2 ciklusa 5 s). Rezultati su obrađeni softverom NexygenPlus.

### 3.4. ODREĐIVANJE STUPNJA OKSIDACIJE MASTI

Pri određivanju stupnja oksidacije masti korištena je TBARS metoda prema Bruna i sur. (2001). Metoda se bazira na reakciji malondialdehida (MDA) s tiobarbiturnom kiselinom (TBA) pri čemu nastaje ružičasto fluorescentni kompleks TBA-MDA. Nastali intenzitet obojenja predstavlja koncentraciju MDA i proporcionalan je sa stupnjem užeglosti masti. Nastalo obojenje se spektrofotometrijski mjeri, a iz očitane apsorbancije se izračunava maseni udio MDA u uzorku.

U tube za centrifugu (oak Ridfe Centrifuge Tube, PPCC, ref. 3119 0050, Nalge Nunc Internacional) izvagano je 5 g uzorka, dodano 10 mg BHT i 20 mL 5%-tne trioctene kiseline (TCA). Uzorak je homogeniziran (UltraTurax T25 basic, IKAWERKE) i ohlađen u ledu. Nakon ekvibracije tuba na jednaku težinu, uzorak je centrifugiran 10 min na 12000 rpm pri 4 °C (Rotina 380 R, Hettich). Dobiveni sadržaj je preko filter papira Watma (n°54) filtriran u epruvete. 4 mL filtriranog uzorka uzeto je i preneseno u označene epruvete gdje je dodano 4 mL TBA. Paralelno je izrađena i slijepa proba koja nije sadržavala uzorak. Umjesto uzorka, slijepa proba sadržavala je samo 4 ml TCA i 4 ml TBA. Epruvete s uzorcima i slijepa proba ostavljeni su 1 h na 100°C da reagiraju nakon čega je očitana apsorbancija spektrofotometrom (Specord 50 Plus, Analytik Jena) na 532 nm (A532).

Za potrebe mjerenja napravljena je kalibracijsku krivulju. Otopine za kalibracijsku krivulju pripremljene su iz 25 μmol otopine primarnog standarda TMP (1,1,3,3-tetrametoksipropan). Otopine TMP-a razrijeđene su u koncentracijama: 12.5 μM, 6.25 μM, 3.13 μM, 1.56 μM i 0.75 μM. Otopine za kalibracijsku krivulju zajedno se s uzorcima podvrgavaju kalorimetrijskoj reakciji na 100°C u trajanju od 1 h te im se zatim određuje

apsorbancija na 532 nm (A532) i pomoću dobivenih vrijednosti konstruira kalibracijska krivulja.

### **Izražavanje rezultata**

Koncentracija mg malondialdehida/ kg uzorka izračunata je prema sljedećoj formuli:

$$\text{mg MDA/ kg uzorka} = \mu\text{M MDA} * 0,2888$$

## **3.5. ODREĐIVANJE SASTAVA MASNIIH KISELINA**

Kako bi odredili sastav masnih kiselina pomoću plinske kromatografije, potrebno je masne kiseline najprije prevesti u njihove metilne estere. Metilni esteri pripremljeni su metodom po Bannonu, ISO 5509:2000.

### **Priprema metilnih estera masnih kiselina**

Najprije je odvagano 60 mg uzorka masti i otopljeno u 4 mL izooktana u epruveti sa staklenim čepom (10 mL). U epruvetu je zatim dodano 200  $\mu\text{L}$  metanolne otopine KOH ( $c = 2 \text{ mol L}^{-1}$ ), sve skupa promiješano i ostavljeno na sobnoj temperaturi da reagira. Nakon što se reakcijska smjesa izbistrila i glicerolni sloj na dnu epruvete odvojio, kako bi se smjesa neutralizirala dodano je 1 g natrijeva hidrosulfata monohidrata. Nakon toga, bistra otopina prebačena je u vijalicu.

### **Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom**

Metilni esteri masnih kiselina analizirani su metodom ISO 5508:1990. Uzorak je analiziran na plinskom kromatografu Agilent Technologies 6890N Network GC System (Santa Clara, SAD) opremljenom s plamenoionizacijskim detektorom (FID) koji je preko kanala spojen na računalo. U kompjuterskom sustavu zadani su uvjeti analize. Uvjeti su postavljeni nakon preliminarnih ispitivanja po kojima su određeni optimalni uvjeti (temperatura kolone, detektora, injektora i „aux-a“, protok plina i količina injektiranog uzorka). Identifikacija pojedinih masnih kiselina provedena je usporedbom vremena zadržavanja metilnih estera masne kiseline s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese 37 masnih kiselina (F.A.M.E. C4 - C24, Supelco) poznatog sastava.

### **Uvjeti rada:**

- **Kolona:** kapilarna DB-23 (Agilent),  
60 m x 0,25 mm, debljina filma 0,25 $\mu\text{m}$   
stacionarna faza: cijanopropil-silikon
- **Temperatura kolone:** programirana 60°C do 220°C – 7°C min<sup>-1</sup> zadržava se 17 min

- **Plin nosioc:** Helij
- **Protok plina nosioca:** 1,5 mL min<sup>-1</sup>
- **Temperatura injektora:** 250°C
- **Split:** 1 : 30
- **Temperatura detektora:** 280°C
- **Količina injektiranog uzorka:** 1 µL

### 3.6. ODREĐIVANJE INDEKSA PROTEOLIZE

Indeks proteolize određen je prema metodi koju su opisali Doi i sur. (1981) te Baer i sur. (1996). Prema toj metodi, ukupan broj aminokiselina kvantificira se reakcijom derivatizacije s kadmij-ninhidrinom, a mjerenje apsorbancije se provodi na 490 nm. Ukupan broj aminokiselina izražava se na bazi leucina.

Izvagani uzorak mase 2 g prebačen je u falcon epruvetu u koju je dodano 20 mL hladnog 0,01 M HCl-a. Mješavina je homogenizirana na Ultra-Turrax-u (3x po 20 sekundi) i odmah ohlađena u ledu kako ne bi došlo do zagrijavanja koje bi moglo nepovoljno utjecati na rezultate. Ekvilibrirane tube s uzorcima centrifugirane su 20 min na 10 000 rpm i 4 °C, a dobiveni supernatant je filtriran pomoću staklene vune. Dobiveni filtrat, ovisno o trajanju zrenja pršuta, razrijeđen je s 0,01 M HCl-om u točno zadanom omjeru. U konkretnom primjeru ovoga rada za pršut koji je prošao 18 mjeseci zrenja, 100 µL ekstrakta dodaje se u 9.9 mL HCl-a. U 400 µL dobivene otopine ekstrakta i HCl-a dodano je 800 µL etanola i sve skupa vorteksirano. Uzorci su zatim 30 minuta ostavljeni na sobnoj temperatura kako bi precipitali proteini, nakon čega je otopina centrifugirana (12 000 rpm, 5 min), a 400 µL dobivenog supernatanta pomiješano s 800 µL reagensa kadmij ninhidrina. Uzorci su ponovno vorteksirani i stavljeni u termoblok na 84°C na 5 minuta, nakon čega su ohlađeni u ledu. Na kraju, očitana im je apsorbancija na 490 nm.

Za svako mjerenje, izrađena je kalibracijska krivulja prema koncentraciji Leu i apsorbanciji. Pripremljena 1 mM otopina leucina (0,0133 g leucina otopljeno u 100 mL destilirane vode) pomiješana je s otopinom etanol/voda (2:1) prema zadanim koncentracijama prikazanim u Tablici 1.

**Tablica 1.** Podaci za izradu kalibracijske krivulje

	Leu 1 mMol 13,3 mg/100 mL	EtOH:Voda 2:1		
Kalibracija	mL	mL	mM	µg/mL
Leu 06	0,6	0,4	0,60	79,80
Leu 04	0,4	0,6	0,40	53,20
Leu 02	0,2	0,8	0,20	26,60
Leu 01	0,1	0,9	0,10	13,30
Slijepa proba	0	1	0,00	0,00

### 3.7. ODREĐIVANJE UKUPNIH KARBONILA

Određivanje ukupnih karbonila provedeno je DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazin) metodom uz modifikaciju koju su opisali Armenteros i sur. (2009). Svaki od uzorka rađen je u duplikatu jer metoda zahtjeva jedan uzorak za kvantifikaciju proteina, a drugi za mjerenje karbonila.

Izvagani uzorak od 1 g prebačen je u falconicu, nakon čega se homogenizira s 10 mL pirofosfatnog pufera (pH 7.4; 2 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; 10 mM tris-maleat; 100 mM KCl, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM EGTA) na Ultra Turrax-u u trajanju od 30 sekundi. Kako bi izbjegli zagrijavanje uzorka, nakon homogenizacije uzorak je odmah ohlađen u ledu. Uzorak je zatim podijeljen na dva alikvota od 0,1 mL i prebačen u eppendorficu (2 mL). Kako bi precipitali proteini, dodano je 1 mL 10% TCA i sve skupa pomiješano na Vortexu te centrifugirano na 10000 rpm kroz 5 min (2°C). Dobiveni tekući dio (supernatant) je izbačen, a čvrsti dio (pelet) ostavljen. S obzirom da je uzorak pripremljen u duplikatu, jedan pelet se koristio za kvantifikaciju proteina, a drugi za mjerenje karbonila.

- Pelet 1 → koristi se za kvantifikacija proteina, u njega dodano 1 mL HCl 2N
- Pelet 2 → koristi se za mjerenje karbonila, u njega dodano 1 mL 0,2% DNPH u HCl 2N

Dobiveni uzorci su zatim inkubirani u tami na sobnoj temperaturi kroz 1 h i svakih 15 min promiješani na Vortexu. Nakon sat vremena, uzorci su precipitirani s 1 mL TCA 10%, promiješani na Vortex-u 30 sekundi i centrifugirani 5 min na 10000 rpm (2°C). Nakon centrifuge, supernatant je izdvojen, a pelet ispiran s 1 mL etanol/etil acetata (1:1). Uzorak je ponovno vorteksiran i na kraju centrifugiran 5 min na 10000 rpm. Postupak je ponovljen 2

puta. U sljedećem koraku, pelet je otopljen u 1,5 mL natrijevog fosfatnog pufera 20 mM (pH 6.5) koji sadrži 6M gvanidin hidroklorida. Kako bi se uklonili netopljivi fragmenti, sve skupa je promiješano i centrifugirano na 10000 rpm kroz 5 min. Ovisno radi li se o uzorku za kvantifikaciju proteina ili za mjerenje karbonila, na dobivenom supernatantu je zatim izmjerena apsorbancija na sljedeći način:

- Pelet 1 za kvantifikaciju proteina - apsorbancija se mjeri na 280 nm, a kao standard se koristi BSA (0.5-2 mg/mL) u natrijevom fosfatnom puferu 20 mM (pH 6.5) koji sadrži 6M gvanidin hidroklorid.

- Pelet 2 za mjerenje karbonila - apsorbancija se mjeri na 370 nm, a koncentracija karbonila izračunava pomoću jednadžbe:  $A = \epsilon * M * I$ . A označava apsorbanciju pri 370 nm, I debljinu kivete, M koncentraciju karbonila, a  $\epsilon$  je koeficijent adsorpcije proteina hidrazona (21,0 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). Rezultat se izražava kao nmol karbonila/ mg proteina.

Za potrebe mjerenja, potrebno je napraviti kalibracijsku krivulju. Kalibracijska krivulja pripremljena je otapanjem 20 mg BSA (albumin goveđeg seruma) u 10 mL natrijevog fosfatnog pufera (20 mM, pH 6,5) s gvanidin hidrokloridom (6M) u omjerima prikazanim u Tablici 2.

**Tablica 2.** Podaci za izradu kalibracijske krivulje

BSA (mL)	Fosfatni pufer + gvanidin hidroklorid (mL)	c BSA (mg/mL)
0	2	0 (SP)
0,5	1,5	0,5
1	1	1
1,5	0,5	1,5
2	0	2

### 3.8. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Statistički izračun rezultata određen je jednosmjernom analizom varijance (one-way ANOVA test) uz razinu značajnosti 5 % (P<0,05). Za statističku obradu podataka korišten je računalni program SPSS 12.0 (IBM, USA).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Na mišićima *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM) izuzetih iz uzoraka Dalmatinskog pršuta produljenog zrenja određeni su L\*a\*b\* parametri boje, parametri teksture, stupanj oksidacije masti TBARS testom, sastav masnih kiselina, indeks proteolize te stupanj oksidacije proteina pomoću DNPH metode. Svaki parametar zasebno je mjeren na BF i SM, a cilj istraživanja bio je odrediti kako produljeno zrenje od 18 mjeseci utječe na navedene parametre u odnosu na kraće periode zrenja. Dobiveni rezultati istraživanja nalaze se u nastavku te su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna pogreška.

### 4.1. BOJA

Boja je izuzetno važna karakteristika mesa i jedan je od glavnih pokazatelja tržišne kvalitete mesa i mesnih proizvoda (Huff-Lonergan i sur., 2010). Ne samo da je odraz kvalitete, već igra veliku ulogu i pri izboru potrošača u kupovini mesa. Dalmatinski pršut odlikuje se jednoličnom crvenom bojom mesa i bijelom do ružičasto-bijelom bojom masnog tkiva. Boja pršuta uglavnom ovisi o koncentraciji i kemijskom stanju pigmenata u mesu, ali i o mišićnoj strukturi. Intenzitet boje povećava se s koncentracijom mioglobina koji je viši u aktivnijim mišićima te općenito viši kod starijih životinja (Costa i sur., 2008). Kod dimljenog pršuta, osim mioglobina, na boju utječu i reakcije koje se dešavaju kao posljedica pirolitičke razgradnje drva. Zbog toga na dimljenom pršutu mogu se pojaviti tamnije nijanse i boje.

Na uzorcima Dalmatinskog pršuta produljenog zrenja izmjereni su L\*, a\* i b\* parametri boje. Rezultati se nalaze u Tablici 3. i prikazani su kao srednja vrijednost ± standardna pogreška. Kod svih triju parametara boje (L\*, a\* i b\*), postojala je statistički značajna razlika između mišića BF i SM (P<0,05)

**Tablica 3.** L\*a\*b\* parametri boje na mišićima BF i SM u uzorcima Dalmatinskog pršuta nakon faze produljenog zrenja

	BF	SM	p-vrijednost
L*	51,71±0,42 <sup>a</sup>	46,52±0,15 <sup>b</sup>	0,000
a*	3,83±0,07 <sup>a</sup>	2,01±0,11 <sup>b</sup>	0,000
b*	5,39±0,17 <sup>a</sup>	3,96±0,11 <sup>b</sup>	0,000

\*Različita slova u istom redu (a i b) označavaju statistički značajnu razliku (P<0,05) između mišića BF i SM

**L\* vrijednost** boje na mišiću BF iznosila je 51,71; dok je SM imao nižu vrijednost od 46,52. Prema Marušić Radovčić i sur. (2019), ovisno o proizvođaču, L\* vrijednosti na Dalmatinskom pršutu zrenja 18 mjeseci za BF kretale su se 50,39-51,40, a za SM 47,06-47,36. Usporedbom dobivene vrijednosti s rezultatima na Dalmatinskom pršutu zrenja od 12 mjeseci, možemo uočiti da su rezultati vrlo slični. L\* vrijednost su tako za BF iznosile 52,11, a za SM 47,86 (Katavić, 2020). Možemo uočiti kako u BF pokazuje veće L\* vrijednosti od SM. Drugim riječima, SM je tamnije boje od BF. Razlika u L\* vrijednosti između ta dva mišića povezana je s razlikom u sadržaju vode i dehidracijom površine, pH, ali i samom mišićnom strukturom (García-Esteban i sur., 2003). Tu veliku ulogu ima anatomska lokacija zbog koje ta dva mišića su podvrgnuta različitim uvjetima tijekom proizvodnje. SM kao vanjski mišić u direktnom je kontaktu sa soli i podložen je bržoj površinskoj dehidraciji. S druge strane, BF je prekriven s kožom i potkožnim masnim tkivom i zaštićeniji je utjecaju soli i dehidraciji (Pérez-Alvarez et al, 1998.). Isto tako, zbog svoje vanjske lokacije, tamnija boja SM može biti i posljedica veće izloženosti dimu tijekom dimljenja. Na pršutima stranih proizvođača, L\* vrijednosti bile su nešto niže od vrijednosti Dalmatinskog pršuta. Tako primjerice na talijanskom pršutu L\* vrijednost na BF kretala se 37,9-38,0 (Laureati i sur., 2014), dok prema Pérez-Alvarez i sur. (1998) L\* vrijednosti na različitim španjolskim pršutima bile su 34,8-38,8. Na mišiću SM, L\* vrijednosti na španjolskom Serrano pršutu iznosile su 31,16-38,17 (García-Esteban i sur., 2003), a na Teruel pršutima 31,75 (Cilla i sur., 2006).

**a\* parametar** boje u uzorcima Dalmatinskog pršuta nakon produljenog zrenja iznosio je 3,83 na BF te 2,01 na mišiću SM. Nešto veće vrijednosti dobili su Marušić Radovčić i sur. (2019) gdje se ovisno o proizvođaču, parametar a\* kretao 4,37-5,46 na BF te 2,99-3,99 na SM. Prema Katavić (2020), parametar a\* na Dalmatinskom pršutu zrenja 12 mjeseci iznosio je 2,99 na BF te 2,25 na SM. Možemo uočiti kako pršuti produljenog zrenja ipak imaju nešto veće a\* vrijednosti, posebice na mišiću BF. To nam govori kako je BF u pršutima produljenog zrenja ipak bio nešto izraženije crvene boje. a\* vrijednosti na španjolskim vrstama pršuta, odnosno na Iberijskom i Serrano pršutu kretale su se 16,6–18,9 (Marušić Radovčić i sur., 2016). Isto tako, puno veće vrijednosti od Dalmatinskog pršuta dobivene su i talijanskom Parma i San Daniele pršutu gdje su a\*vrijednost kretala se 15,9–17,7 (Marušić Radovčić i sur., 2016). I na drugim vrstama pršuta stranih proizvođača vrijednosti su bile više. Tako Pérez-Alvarez i sur., (1998) na španjolskom pršutu su dobili a\* vrijednost od 15,55, a García-Esteban i sur. (2003) vrijednosti 20,60-29,02. Prema Costa i sur. (2008), na talijanskom pršutu a\* je iznosio 15,66. Možemo uočiti kako dobivene a\*



vrijednosti stranih proizvođača znatno su veće od vrijednosti dobivenih na Dalmatinskom pršutu. Razlog većim vrijednostima  $a^*$  parametra u španjolskom pršutu, odnosno intenzivnijoj crvenoj, može biti posljedica potrebe nitrita i nitrata prilikom proizvodnje (Marušić Radovčić i sur. 2016). S druge strane, u proizvodnji Dalmatinskog pršuta, upotreba bilo kakvih dodataka osim morske soli je zabranjena. Između BF i SM postojala je statistički značajna razlika u crvenilu ( $a^*$  parametar boje) ( $P < 0,05$ ). Crvena boja pršuta izravno je povezano s koncentracijom pigmenta mioglobina koji je svojstven mišićnom tkivu. Isto tako, on može ovisiti i o pasmini svinje, njenoj starosti te o prehranbenom statusu (Honikel, 1998). Ovisno o anatomskoj lokaciji mišića SM i BF i njen utjecaj na  $a^*$  vrijednost, moramo uzeti u obzir da SM kao vanjski mišić ima direktni kontakt sa soli. To dovodi do reakcija s mioglobinom jer klor iz soli djeluje kao jaki oksidans i uzrokuje denaturaciju mioglobina. To dovodi do promjene u crvenoj boji i tijekom soljenja vrijednost parametra  $a^*$  se smanjuje. Zbog toga na otvorenom dijelu na medijalnoj strani pršuta dolazi do pojave tamne nijanse smeđe i sive boje (Kovačević, 2017). No osim samo utjecaja anatomske lokacije, BF ima sam po sebi višu koncentraciju mioglobina od SM (Yiu i sur., 2001). Stoga i za očekivati je veću vrijednost  $a^*$  parametra kod BF.

U ovome radu,  **$b^*$  parametar** boje na BF iznosio je 5,39, a na SM 3,96. Gotovo identične rezultate na BF dobila je Katavić (2020) gdje je  $b^*$  iznosio 5,34, dok su nešto veće vrijednosti izmjerene na SM (4,51). Prema Marušić Radovčić i sur. (2019) na Dalmatinskim pršutima zrenja 12 mjeseci, ovisno o proizvođaču,  $b^*$  vrijednosti kretale su se 4,35-5,72 na BF i 2,72-4,14 na SM, što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom radu. S druge strane,  $b^*$  vrijednosti na španjolskom Celta pršutu iznosile su 7,65 (Bermúdez i sur., 2014) dok na različitim španjolskim pršutima, prema Pérez-Alvarez i sur. (1998),  $b^*$  vrijednosti bile su znatno više nego na Dalmatinskom pršutu i kretale su se 21,00-25,70 (García-Esteban i sur. 2003).

Ono što je zajedničko svim gore radovima je da BF pokazuje veće  $L^*a^*b^*$  vrijednosti od SM. To je osim različitih uvjeta u proizvodnji zbog različite anatomske lokacije, rezultat i različitog svojstva tkiva ta dva mišića.

## 4.2. TEKSTURA

Tekstura mišića BF i SM na uzorcima Dalmatinskih pršuta određena je pomoću teksturometra pri čemu su mjereni sljedeći parametri teksture: tvrdoća, adhezivna sila,

kohezivnost, adhezivnost, gumenost, odgođena elastičnost, žvkljivost, otpornost, lom i vlaknastost. Dobiveni rezultati prikazani su u Tablici 4.

**Tablica 4.** Rezultati mjerenja parametara teksture na mišićima BF i SM u uzorcima Dalmatinskog pršuta nakon faze produljenog zrenja

PARAMETAR	BF	SM	<i>p-vrijednost</i>
<b>Tvrdoća (N)</b>	52,97±4,61 <sup>a</sup>	145,19±7,62 <sup>b</sup>	0,000
<b>Adhezivna sila (N)</b>	-0,37 ±0,02 <sup>a</sup>	-0,54±0,06 <sup>b</sup>	0,009
<b>Kohezivnost</b>	0,55±0,03	0,59±0,01	0,201
<b>Adhezivnost (Nmm)</b>	0,4±0,04	0,47±0,05	0,291
<b>Gumenost (N)</b>	22,41±1,07 <sup>a</sup>	55,796±3,21 <sup>b</sup>	0,000
<b>Odgođena elastičnost (mm)</b>	-2,04±0,21	-1,77±0,04	0,213
<b>Žvkljivost (Nmm)</b>	57,37±4,02 <sup>a</sup>	98,99±5,68 <sup>b</sup>	0,000
<b>Otpornost</b>	0,5±0,02	0,51±0,02	0,709
<b>Lom (N)</b>	33,34±2,54 <sup>a</sup>	83,14±6,98 <sup>b</sup>	0,000
<b>Vlaknastost (mm)</b>	6,54±0,36	6,74±0,28	0,677

\*Različita slova u istom redu (a i b) označavaju statistički značajnu razliku ( $P<0,05$ ) između mišića BF i SM

Nakon produženog zrenja, **tvrdća** u ispitanim uzorcima za mišić BF iznosila je 52,97, a za SM 145,19 N. Između ta dva mišića postojala je statistički značajna razlika ( $P<0,05$ ). Prema Marušić Radovčić i sur. (2019), uzorci Dalmatinskog pršuta zrenja 18 mjeseci, ovisno o proizvođaču, pokazivali su vrijednosti tvrdoće od 27,42 N do 42,82 N za BF te od 68,57 N do 86,14 za mišić SM. Slične rezultate na mišiću SM dobili su Cilla i sur. (2006) na Teruel pršutima gdje je tvrdoća iznosila 84,48 N. Rezultati u tim radovima dosta su niži od rezultata dobivenih u ovom radu za mišić SM. S druge strane, prema Jurković (2020), tvrdoća na SM na Dalmatinskom pršutu koji je prošao period zrenja od 12 mjeseci iznosila je 126,78 N, a na BF 103,32 N. U radu na Kraškom pršutu, Pugliese i sur. (2015) za mišić SM dobili su vrijednosti od 107,22 N. U drugom radu koji su proveli Harkosuss i sur. (2015), tvrdoća za SM iznosila je 122 N. Ti rezultati znatno su bliži rezultatima u ovome radu. Ono što je zajedničko svim gore navedenim rezultatima je to da mišić BF pokazuje manje vrijednosti za tvrdoću od mišića SM. Razlog tome je što BF kao unutarnji mišić sporije gubi vodu, dok SM kao vanjski mišić podliježe bržoj dehidraciji. To će u BF rezultirati

izraženijom proteolizom, stoga je BF mekše teksture od mišića SM (Virgili i sur., 1995). Isto tako, zbog različite anatomske lokacije koja utječe na dehidraciju BF i SM, u prvim fazama prerade ti mišići biti će izloženi i različitim koncentracijama soli. SM kao vanjski mišić ostvaruje veću koncentraciju soli što inhibira aktivnost proteolitičkih enzima, a time utječe i na teksturu okus (Bermúdez i sur., 2014). S produljenjem zrenja za očekivati je porast tvrdoće, posebice u SM. Ako usporedimo vrijednosti za SM iz ovoga rada s vrijednostima Dalmatinskog pršuta od 12 mjeseci zrenja (Jurković, 2020), možemo vidjeti kako je produženjem zrenja došlo do povećanja tvrdoće.

**Adhezivna sila** u ispitanim uzorcima Dalmatinskog pršuta na mišiću BF iznosila je -0,37 N, a na SM -0,54 N. Između ta dva mišića postojala je statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ). Ovisno o proizvođaču, prema Marušić Radovčić i sur. (2019) vrijednosti na mišiću BF kretale su se od -0,7 N do -0,48 N, a na SM od -1,39 N do -0,49 N. Jurković (2020) je pak na mišiću BF izmjerila adhezivnu silu od -0,53 N, a na SM -0,51 N.

Vrijednosti za **kohezivnost** na uzorcima u ovome radu iznosile su 0,55 za BF te 0,59 za SM. Izmjerena kohezivnost na uzorcima Dalmatinskog pršuta starosti zrenja 12 mjeseci iznosila je 0,48 u BF te 0,43 u SM (Jurković, 2020). Marušić Radovčić i sur. (2019) su na BF, ovisno o proizvođaču, dobili vrijednosti 0,53-0,54, a za SM 0,47-0,56. Slične vrijednosti dobili su Andronikov i sur. (2013) na Kraškom pršutu gdje su vrijednosti za BF iznosile 0,56, a za SM 0,53.

**Adhezivnost** nakon zrenja od 18 mjeseci iznosila je 0,4 N mm u BF i 0,47 N mm u SM. Vrijednosti za Dalmatinski pršut istog perioda zrenja prema Marušić Radovčić i sur. (2019) varirale su ovisno o proizvođaču i kretale su se od 0,33 N mm do 0,7 N mm za BF te od 0,38 N mm do 0,69 N mm za SM. S druge strane, u Dalmatinskom pršutu nakon zrenja od 12 mjeseci, adhezivnost za BF bila je 0,75 N mm i 0,54 N mm (Jurković, 2020). Vrijednosti dobivene u drugim istraživanjima na pršutima stranih proizvođača su se dosta razlikovale. Tako adhezivnost u francuskom Bayonne pršutu iznosila je -13,3 N mm za BF i -37,1 N mm za SM (Harkouss i sur., 2015). Niže vrijednosti na BF zabilježene su i na Kraškom pršutu gdje su iznosile -11,41 N mm, Međutim, na SM su bile znatno više i iznosile 9,51 N mm (Pugliese i sur., 2015).

**Gumenost** nakon 18 mjeseci zrenja iznosila je 22,41 N za BF i 55,796 N za SM. Postojala je statistički značajna razlika između ta dva mišića ( $P < 0,05$ ). Marušić Radovčić i sur. (2019) za BF dobili su vrijednosti 14,59 N- 3.56 N za BF i 16,17 N-41.98 N za SM. Vrijednosti za BF prema Jurković (2020) iznosile su 60,03 N te 40,73 N za SM. S druge strane, u slovenskom Kraškom pršutu Andronikov i sur. (2013) dobili su vrijednosti od 35 N

za BF i 68 N za SM, dok su Pugliese i sur. (2015) za BF izmjerili 24,52 N, a za SM 44,60 N.

**Odgođena elastičnost** u uzorcima BF iznosila je -2,04 mm, a u SM -1,77 mm. Slične vrijednosti za BF dobili su Marušić Radovčić i sur. (2019) gdje su se vrijednosti kretale od -2,30 do -2,52 mm. Vrijednosti za SM bile su nešto niže nego u ovome radu, odnosno od -2,34 mm do -2,78 mm. Odgođena elastičnost prema Jurković (2020) u uzorcima BF iznosila je -3,14 mm, a u SM -2,28 mm. S druge strane, vrijednosti u francuskom Bayonne pršutu (Harkouss i sur., 2015) bile su znatno više u oba mišića ( BF=0,751 mm, SM=0,663 mm), a isto tako i u slovenskom Kraškom pršutu gdje su se vrijednosti za BF kretale 4,79 mm, a za SM 4,68 mm (Pugliese i sur., 2015). Harkouss i sur. (2015) u svome radu navode kako s povećavanjem indeksa proteolize tijekom proizvodnje Bayonne pršuta je došlo do smanjenja odgođene elastičnosti.

**Žvakljivost** uzoraka na mišiću BF u ovome radu iznosila je 57,33 N mm, a na SM 98,99 N mm. Uzorci su pokazivali statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ). U radu koji su proveli Marušić Radovčić i sur. (2019), žvakljivost se kretala od 20,83 N mm do 37,30 N mm za BF, odnosno od 39,39 N mm do 95,96 N mm za SM. Jurković (2020) je na Dalmatinskom pršutu izmjerila žvakljivost od 71,11 N mm na BF i 68,34 N mm na SM. Pugliese i sur. (2015) su nakon 12 mjeseci zrenja Kraškog pršuta dobili vrijednosti za žvakljivost od 105,60 N mm za BF i 206,41 N mm za SM, što je znatno više od vrijednosti na Dalmatinskom pršutu.

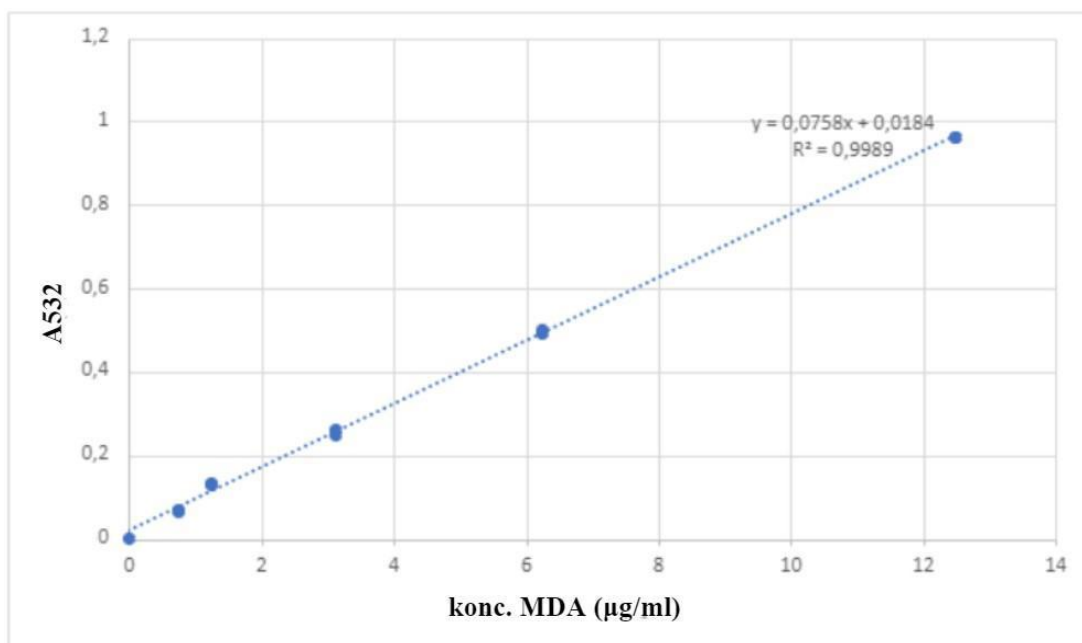
**Otpornost** na mišiću BF iznosila je 0,5, a na SM 0,51. Slične vrijednosti na BF dobili su i Marušić Radovčić i sur. (2019) gdje su se vrijednosti kretale od 0,42 do 0,48. Vrijednosti za SM bile su nešto niže i kretale su se od 0,35 - 0,48. Jurković (2019) izmjerila je otpornost od 0,44 na BF i 0,4 na SM. Slovenski kraški pršut imao je niže vrijednosti koje su se kretale 0,19-0,22 za BF, odnosno 0,15-0,18 za SM (Andronikov i sur., 2013).

Izmjereni **lom** na mišiću BF iznosio je 33,34 N, dok je SM imao dosta veće vrijednosti, odnosno 83,14 N. Postojala je statistički značajna razlika između ta dva mišića ( $P < 0,05$ ). Prema Jurković (2020), BF imao je znatno veće vrijednosti od 86,03 N, dok lom za SM je iznosio 100,11 N. U radu Marušić Radovčić i sur. (2019), lom za BF kretao se od 20,87 N do 35,46 N, a za SM od 21,31 N do 72,53 N.

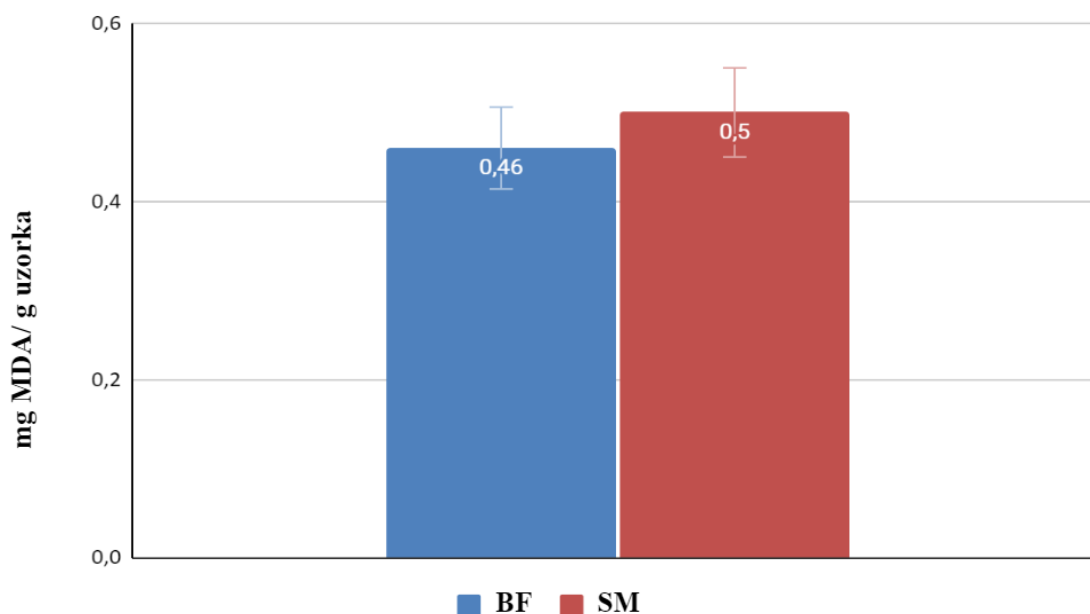
**Vlaknatost** je pak na uzorcima Dalmatinskog pršuta u ovome radu iznosila 6,54 mm na mišiću BF te 6,74 na SM. Te vrijednosti su dosta više od onih dobivenih u radu Jurković (2020) gdje su vrijednosti za BF iznosile 1,86 mm, a za SM 1,76 mm. Isto tako, više su i od rezultata u radu Marušić Radovčić i sur. (2019) gdje su se vrijednosti za vlaknatost u BF kretale od 3,93 mm do 5,14 mm u BF i od 2,44 mm - 5,35 mm u SM.

### 4.3. OKSIDACIJA MASTI

Masne kiseline, a posebice nezasićene masne kiseline, podložne su oksidaciji i negativnom učinku kisika. Kao posljedica oksidacije masti može doći do pojave neugodnih mirisa i okusa na pršutu, ali isto tako i do promjena na teksturi, boji i nutritivnoj vrijednosti. Za određivanje stupnja oksidacije korišten je TBARS test po Bruni i sur. (2001). TBARS test mjeri najvažniji sekundarni produkt autooksidacije - malondialdehid (MDA). MDA reagira s TBA pri čemu dolazi do stvaranja ružičastog kompleksa koji ima maksimum apsorbancije na 532 nm (Ganhão i sur., 2011). Koncentracija malondialdehida ( $\mu\text{M}$  MDA) u uzorku izračunava se pomoću očitane apsorbancije i kalibracijske krivulje. Kalibracijski krivulja prikazana je na Slici 15., a rezultati koncentracije MDA izraženi kao mg MDA/kg uzorka te su grafički prikazani na Slici 16.



Slika 12. Kalibracijska krivulja TBA



**Slika 13.** Grafički prikaz rezultata mjerenja oksidacije masti na mišićima BF i SM u uzorcima Dalmatinskog pršuta nakon faze produljenog zrenja

Srednje vrijednosti TBARS testa dobivene u ovome radu na uzorcima Dalmatinskog pršuta produljenog zrenja iznosile su 0,46 mg MDA/kg uzorka na mišiću BF te 0,5 mg MDA/kg uzorka na mišiću SM. Dobivene vrijednosti ne pokazuju statistički značajnu razliku ( $P > 0,05$ ) između mišića BF i SM.

Prema Katavić (2020), na Dalmatinskom pršutu zrenja od 12 mjeseci, srednja vrijednost za BF iznosila je 0,45 mg MDA/kg uzorka, a za SM 0,53 mg MDA/kg. U tom radu ipak postoji statistički značajna razlika između mišića BF i SM ( $P < 0,05$ ). Prema Marušić Radovčić i sur. (2019), ovisno o proizvođaču, vrijednosti za BF na Dalmatinskom pršutu iznosile su 0,31-0,48 mg MDA/ kg uzorka, a za SM 0,35-0,53 mg MDA/ kg uzorka. Iako je statistički značajna razlika postojala između proizvođača ( $P < 0,05$ ), između mišića BF i SM istog pršuta, TBARS vrijednosti nisu pokazale statistički značajnu razliku ( $P > 0,05$ ). TBARS vrijednosti na Iberijskom pršutu, za BF kretale su se 0,38-0,48 mg MDA/kg uzorka (Andrés i sur., 2004), a za SM 0,34-0,52 mg MDA/kg uzorka. Također na Iberijskom pršutu prema Fuentes i sur. (2014) vrijednosti su iznosile 0,34 mg MDA/kg uzorka. Na talijanskim Parma pršutima, vrijednosti za BF kretale su se 0,3-0,5 mg MDA/kg uzorka (Marušić i sur., 2014). S druge strane, na Parma pršutu, Koutina i sur. (2012) dobili su znatno više vrijednosti od 1 mg MDA/kg uzorka za BF i SM.

U svim radovima mišić SM pokazuje nešto više TBARS vrijednosti nego BF. Razlog tome je što su zbog različite anatomske lokacije BF i SM tijekom proizvodnje podvrgnuti i

drugačijim uvjetima. Naime, SM je vanjski mišić i kao takav u ranijim fazama proizvodnje brže upija sol i izložen je bržoj dehidraciji. S druge strane, BF je unutarnji mišić te tek u kasnijim fazama proizvodnje dolazi do prodiranja soli (nakon otprilike 3 mjeseca). Zbog toga, BF sadrži veći udio vode (Pugliese i sur., 2015). Također, SM je više izložen vanjskim atmosferskim uvjetima što ga čini izloženijim utjecajima oksidacije. S druge strane, BF je s jedne strane prekriven tankim slojem potkožne masti, a s druge mišićima, tankim slojem vezivnog tkiva i međumišićnom masti (Marušić Radovčić i sur., 2019; Andrés i sur., 2004). To čini BF zaštićenijim od oksidacije, a to pokazuju i nešto manje TBARS vrijednosti nego kod SM. Međutim, isto tako važno je napomenuti kako SM sadrži veći udio polinezasićenih masnih kiselina nego BF. Sve to čini SM podložnijim oksidaciji masti nego što je to slučaj kod mišića BF. Stoga, za očekivati je i veće TBARS vrijednosti kod SM (Wang i sur., 2013).

#### **4.4. SASTAV MASNIH KISELINA**

Udio masti utječe na okus, nježnost i sočnost pršuta. Veći udio intramuskularne masti pozitivno utječe na senzorska svojstva, a time i prihvatljivost pršuta. Međutim, ne igra samo udio ukupne masti ulogu u kvaliteti pršuta, već i sastav masnih kiselina u tim mastima (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Sastav masnih kiselina u pršutu najviše će ovisiti o hrani koje su svinje hranjene. Tijekom konzumacije, masne kiseline se iz hrane direktno ugrađuju u masno tkivo svinja, a stupanj ugradnje ovisit će o tipu obroka i vrsti masnih kiselina u njemu (Kovačević, 2017). Svinje koje su se hranile žirevima, njihovo će meso u pravilu sadržavati veći postotak mononezasićenih masnih kiselina (MUFA), a manji udio zasićenih (SFA) i polinezasićenih masnih kiselina (PUFA). Razlog tome je što žirevi sadrže veći udio oleinske kiseline koja pripada skupini mononezasićenih masnih kiselina (Jimenez-Colmenero i sur., 2010). S druge strane, svinje hranjene komercijalnom hranom u pravilu sadrže više zasićenih masnih kiselina. Sastav masnih kiselina također djelomično ovisi i o genotipu svinja, dobi, spolu, tjelesnoj masi, načinu života te anatomskej poziciji mišića (Kovačević, 2017).

U ovome radu, sastav masnih kiselina određen je na mišićima BF i SM u Dalmatinskom pršutu nakon produljenog zrenja u trajanju od 18 mjeseci. Dobiveni rezultati nalaze u Tablici 5., a prikazani su kao % pojedine masne kiseline u odnosu na ukupnu mast. Osim pojedinačno, masne kiseline prikazane su i u skupinama (SFA, MUFA, PUFA) te kao udio n<sub>6</sub> i n<sub>3</sub> i njihov omjer.

**Tablica 5.** Sastav masnih kiselina na mišićima BF i SM u uzorcima Dalmatinskog pršuta nakon faze produljenog zrenja

Masne kiseline	BF	SM	<i>p</i> -vrijednost
<b>C10:0</b>	0,13±0,00	0,13±0,00	0,878
<b>C12:0</b>	0,09±0,00	0,09±0,00	0,464
<b>C14:0</b>	1,37±0,02	1,38±0,02	0,543
<b>C16:0</b>	24,59±0,13	24,67±0,21	0,771
<b>C16:1</b>	3,60±0,15	3,39±0,12	0,316
<b>C17:0</b>	0,17±0,00 <sup>a</sup>	0,20±0,00 <sup>b</sup>	0,001
<b>C17:1</b>	0,19±0,01	0,22±0,01	0,052
<b>C18:0</b>	11,77±0,30	11,70±0,26	0,861
<b>C18:1t</b>	0,15±0,00	0,16±0,00	0,137
<b>C18:1c</b>	48,11±0,35	47,12±0,35	0,065
<b>C18:2t</b>	0,13±0,01	0,12±0,00	0,476
<b>C18:2cn6</b>	7,43±0,221 <sup>a</sup>	8,38±0,292 <sup>b</sup>	0,020
<b>C18:3n6</b>	0,08±0,01	0,08±0,00	0,736
<b>C18:3n3</b>	0,36±0,05	0,41±0,06	0,499
<b>C20:0</b>	0,20±0,01	0,19±0,01	0,377
<b>C20:1</b>	0,66±0,01	0,70±0,02	0,129
<b>C20:2</b>	0,35±0,011 <sup>a</sup>	0,41±0,012 <sup>b</sup>	0,007
<b>C20:4n6</b>	0,22±0,01	0,24±0,01	0,286
<b>C23:0</b>	0,40±0,05	0,41±0,07	0,881
<b>SFA</b>	38,72±0,36	38,77±0,26	0,912
<b>MUFA</b>	52,64±0,48	51,59±0,36	0,087
<b>PUFA</b>	8,56±0,25	9,23±0,32	0,119
<b>n6</b>	7,73±0,221 <sup>a</sup>	8,70±0,302 <sup>b</sup>	0,019
<b>n3</b>	0,36±0,05	0,41±0,06	0,499
<b>n6/n3</b>	24,54±2,02	23,58±1,97	0,742
<b>MUFA/PUFA</b>	6,22±0,21	5,66±0,22	0,091

\*Različita slova u istom redu (a i b) označavaju statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) između mišića BF i SM

Udio grupa masnih kiselina u mišiću BF na pršutu u ovome radu iznosile su 38,72 % SFA, 52,64 % MUFA i 8,56 % PUFA. S druge strane, u SM udio SFA iznosio je 38,77%, 51,59% MUFA i 9,23% PUFA. Nije postojala statistički značajna razlika između ta dva mišića ( $P > 0,05$ ).

Prema Jimenez-Colmenero i sur. (2010) u prosjeku, sastav masnih kiselina pršuta bijelih pasmina svinja sadrži 35-40 % SFA, 45–50 % MUFA i 10–15 % PUFA. Za Dalmatinski pršut ti udjeli iznose 41 % SFA, 51 % MUFA i 8 % PUFA (Marušić i sur., 2013). Prema Katavić (2020) u Dalmatinskom pršutu koji je prošao zrenje od 12 mjeseci udio istih grupa masnih kiselina u mišiću BF iznosile su 37,99 % SFA, 51,82 % MUFA i 10,19 %



PUFA. Za mišić SM, udio SFA bio je 38,07 %, MUFA 50,61 % i PUFA 11,32 %. Ti rezultati za SFA i MUFA su u skladu s rezultatima dobivenim u ovome radu, no vrijednosti za PUFA u mišićima BF i SM na Dalmatinskom pršutu perioda zrenja od 12 mjeseci ipak pokazuju nešto veće vrijednosti nego na pršutu produljenog zrenja. Ako usporedimo vrijednosti s istarskim pršutom koji je sadržavao 39 % SFA, 53 % MUFA i 8 % PUFA (Marušić i sur.,2013), možemo zaključiti kako Istarski i Dalmatinski pršut imaju vrlo sličan omjer masnih kiselina. To se može pripisati sličnim pasminama svinja od kojih se ti pršuti proizvode. Naime, Istarski pršut proizvodi se od pasmine i križanaca bijelih mesnatih svinja veliki jorkšir i landrasi, a Dalmatinski pršut analiziran u ovom radu proizveden je od tropasminskog križanaca DANBRED ((danski landras x veliki jorkšir) x durok).

Pojedinačno najzastupljenije masne kiseline u mišićima BF i SM u ovome radu bile su oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0) te linolna (C18:2cn6). Oleinska predstavlja oko 47 % ukupnih masnih kiselina, palmitinska 24 %, stearinska 11 %, a linolna oko 8 %. Prosječne vrijednosti sastava masnih kiselina odgovaraju vrijednostima dobivenim u radu na Dalmatinskom pršutu zrenja od 12 mjeseci (Katavić, 2020). Jedina razlika bila je u linolnoj masnoj kiselini koja je iznosila 9%. Zbog toga možemo zaključiti kako produljeno zrenje od 18 mjeseci nije značajno utjecalo na udio i sastav najzastupljenijih masnih kiselina. Najveća zastupljenost navedenih masnih kiselina rezultat je njihove najveće početne koncentracije u svježem butu, ali i njihove stabilnosti, odnosno otpornosti na oksidaciju (Kovačević, 2017). U slučaju visokog sadržaja nezasićenih masnih kiselina, to se može negativno odraziti kvalitetu i trajnost pršuta. Naime, lakše dolazi do kvarenja masti i pojave užeglosti, a isto tako može doći i do pojave mekanog i topljivog masnog tkiva (Kovačević 2017).

Vrijednosti udjela masnih kiselina ovisno o anatomskoj lokaciji mišića za većinu masnih kiselina nisu pokazala statistički značajnu razliku ( $P > 0,05$ ). Međutim, masne kiseline C17:0, C18:2cn6, C20:2 te n6 skupina masnih kiselina ipak su pokazale statistički značajna razliku ( $P < 0,05$ ) između mišića BF i SM. S druge strane, u Dalmatinskom pršutu zrenja od 12 mjeseci statistički značajnu razliku između mišića pokazale su druge kiseline, odnosno C18:3n3, C23:0 te n3 skupina masnih kiselina.

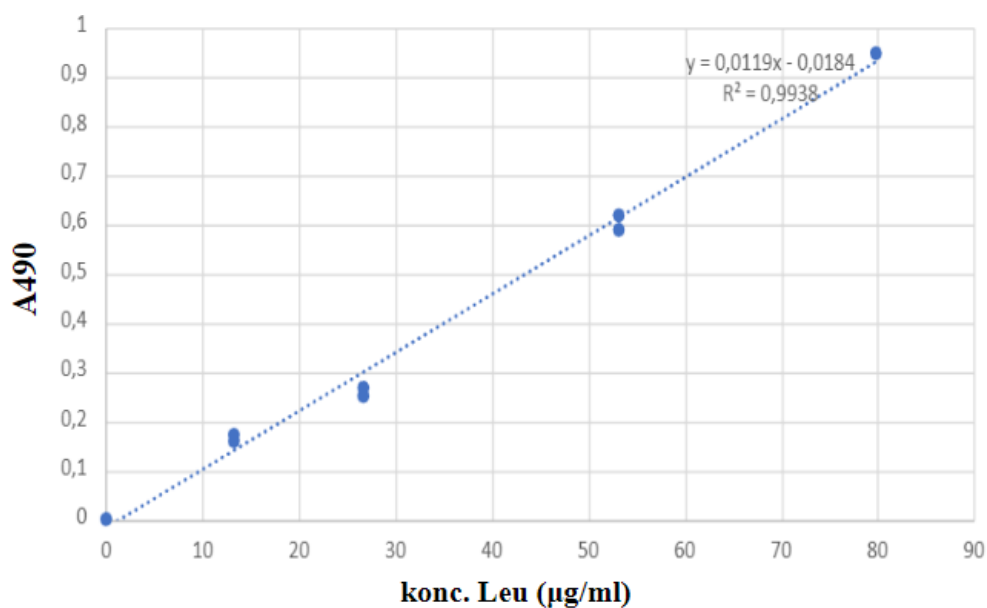
Osim sastava i udjela masnih kiselina, kao odraz kvalitete kod potrošača može imati i omjer n-6/n-3 masnih kiselina. To je posebice naglašeno u današnje vrijeme kada je sve veći naglasak na zdravom načinu života te pravilnoj prehrani. Za zdravlje, omjer n-6/n-3 u prehrani ima veliku ulogu. Prehrana koja sadrži veći udio n-6 masne kiseline naspram n-3 povezana je s pojavom raznih kardiovaskularnih bolesti, raka i autoimunih bolesti, dok niži

udio n-6/n-3 ima suprotan učinak (Jimenez-Colmenero i sur., 2010). Preporučeni omjer n-6/n-3 unesen prehranom je između 4 i 6, dok prehrambene navike s većim omjerom od preporučenoga mogu dugoročno dovesti do zdravstvenih problema. Iz rezultata u Tablici 5. možemo vidjeti kako je omjer n-6/n-3 u Dalmatinskom pršutu puno veći od preporučenog. U ovome radu, n6/n3 u BF iznosio je 24,54, a u SM 23,58 te nije postojala statistički značajna razlika između ta dva mišića ( $P>0,05$ ). Te vrijednosti su u skladu s Dalmatinskim pršutom koji je prošao zrenje od 12 mjeseci gdje je n6/n3 u BF iznosio 25,6, a u SM 24,59 (Katavić, 2020). Međutim, iako je taj omjer veći od preporučenog, u skladu je s vrijednostima za pršute. Naime, trajni suhomesnati proizvodi općenito sadrže više n-6 masnih kiselina od n-3 (Simopoulos, 2002). Na sam omjer n-6/n-3 u svinjskom mesu može se djelomično utjecati modifikacijom sastava obroka, odnosno načinom i tipom hranidbe svinja (Jimenez-Colmenero i sur., 2010)

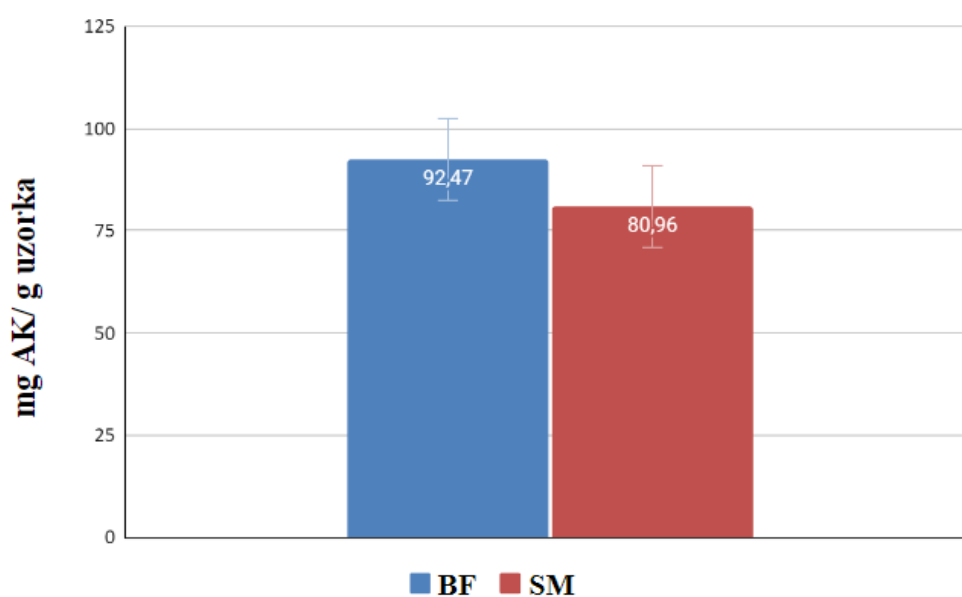
#### **4.5. INDEKS PROTEOLIZE**

Proteoliza započinje razgradnjom miofibrilarnih proteina i omekšavanjem strukture mesa pod utjecajem proteolitičkih enzima koji se oslobađaju post mortem uslijed dezintegracije intracelularnih membrana (Kovačević, 2017). Iako je proteoliza poželjna pojava koja pozitivno utječe na teksturu i senzorska svojstva pršuta, preintenzivna proteoliza može dovesti do neprijatnog okusa i premekane teksture gotovog proizvoda. Kao dobar pokazatelj intenziteta proteolize koristi se indeks proteolize.

U ovome radu, indeks proteolize određen je kvantificiranjem ukupnih aminokiselina reakcijom derivatizacije s kadmij-ninhidrinom, a dobivena vrijednost izražena je na bazi leucina. Za svako mjerenje napravljena je kalibracijska krivulja koja opisuje ovisnost koncentracije leucina o apsorbanciji na 490 nm (Slika 17.). Pomoću jednadžbe pravca kalibracijske krivulje određena je koncentracija aminokiselina, a rezultati su izraženi kao mg aminokiselina/ g uzorka. Dobivene vrijednosti indeksa proteolize nalaze na Slici 18.



**Slika 14.** Kalibracijska krivulja za određivanje koncentracije aminokiselina (izraženih na bazi leucina)



**Slika 15.** Grafički prikaz rezultat indeksa proteolize na mišićima BF i SM u uzorcima Dalmatinskog pršuta nakon faze produljenog zrenja

Indeks proteolize u uzorcima Dalmatinskog pršuta produljenog zrenja iznosio je 92,47 mg AK/ g uzorka u mišiću BF te 80,96 mg AK/ g uzorka u SM. Nije zabilježena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ). U Dalmatinskom pršutu koji je prošao fazu zrenja od 12 mjeseci gdje su vrijednosti za mišić BF iznosile 47,69 mg AK/ g uzorka, a za SM 45,19 mg AK/ g uzorka (Jurković, 2020). Međutim, vrijednosti su znatno manje u usporedbi s vrijednostima

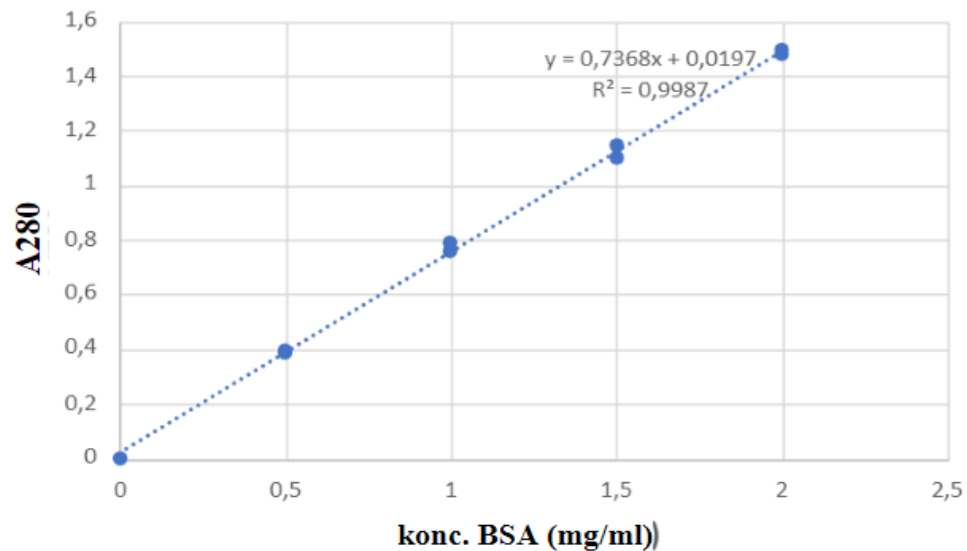
dobivenim na pršutu produljenog zrenja u ovom radu. Razlog tome je što je indeks proteolize proporcionalan duljini zrenja. Naime, duljim zrenjem pojačava se intenzitet proteolize, a time i koncentracija slobodnih aminokiselina (Toldrá, 2002). To je vidljivo i na Kraškom pršutu u radu koji su proveli Pugliese i sur. (2015) gdje je produljenjem zrenja također zabilježen porast indeksa proteolize u oba mišića. Na mišićima BF i SM određivan je indeks proteolize nakon zrenja od 12 i 16 mjeseci. U BF indeks proteolize nakon 12 mjeseci iznosio je 24,0 mg AK/ g uzorka te 25,8 mg AK/ g uzorka nakon 16 mjeseci. S druge strane, nakon 12 mjeseci indeks proteolize u SM iznosio je 17,9 mg AK/ g uzorka i 19,1 mg AK/ g uzorka nakon 16 mjeseci. Međutim, puno veći porast indeksa proteolize zabilježen je u Dalmatinskom pršutu. Razlog tome je najvjerojatnije različit tehnološki proces proizvodnje.

BF pokazuje veće vrijednosti indeksa proteolize od SM što je zabilježeno i na Celta pršutima (Bermúdez i sur., 2014), Bayonne pršutima (Thérona i sur., 2011) te na različitim vrstama dimljenih pršuta (Ruiz-Ramírez i sur., 2006). Isto tako, Andronikov i sur., (2013) su duljim zrenjem zabilježili porast indeksa proteolize na Kraškom pršutu, pri čemu je BF također imao veće vrijednosti nego SM. Glavni razlog zašto BF pokazuje veće vrijednosti indeksa proteolize od SM je različita anatomsko lokacija ta dva mišića, a time i različiti uvjeti proizvodnje. SM kao vanjski mišić ima visok udio soli u početnim fazama proizvodnje te mu se udio vode brzo smanjuje. S druge strane, BF je unutarnji mišić s nižim udjelom soli tijekom prvih faza proizvodnje, ali s višim udjelom vode (Bermúdez i sur., 2014). Zbog niže koncentracije soli i višeg udjela vode u BF, proteolitička aktivnost u BF je intenzivnija nego u SM, što potvrđuju i veće dobivene vrijednosti indeksa proteolize. Uvjeti tijekom proizvodnje kao što su postupak soljenja, trajanje zrenja, relativna vlažnost i temperatura, ali i svojstva sirovine kao što su masa, udio masti i pH vrijednost također određuju brzinu dehidratacije i prodiranje soli (Giovanelli i sur., 2016).

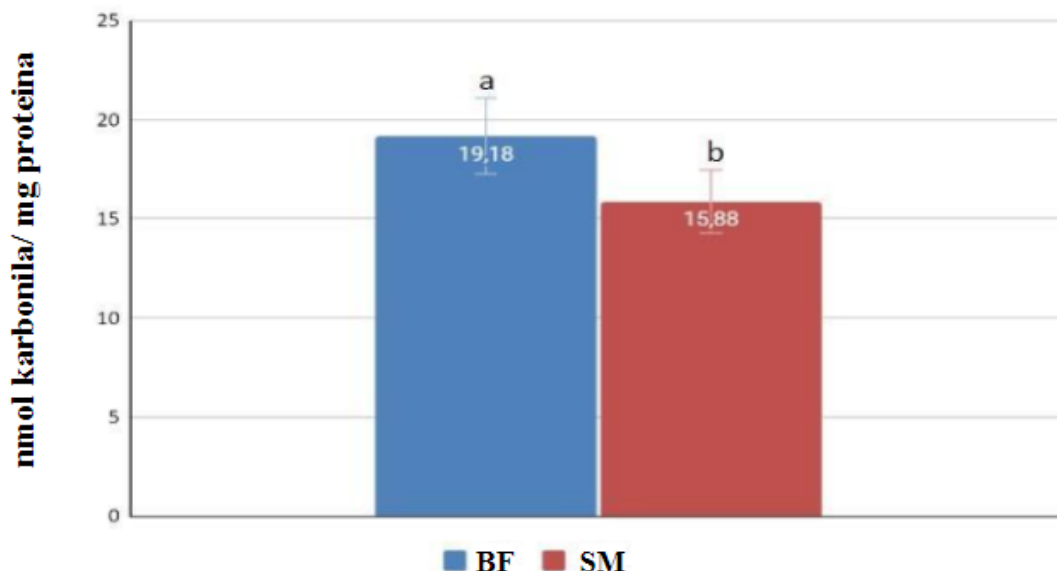
#### **4.6. UKUPNI KARBONILI**

Oksidacija proteina uzrokuje nepovoljne fizikalno-kemijske promjene proteina koje mogu dovesti do gubitka pojedinih aminokiselina, gubitka enzimatske aktivnosti, smanjenja topljivosti, nutritivne vrijednosti i probavljivosti proteina (Marušić Radovčić i sur, 2019). Za kvantifikaciju stupnja oksidacije proteina u mesu i mesnim proizvodima, najčešće se koristi DNPH metoda koja iz uzorka proteina kvantificira ukupne karbonile, a dobiveni rezultat predstavlja indeks oksidacije proteina koji služi kao pokazatelj kvalitete. Postupak se temelji na reakciji DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazin) s karbonilnom skupinom pri čemu nastaje

stabilni 2,4-dinitrofenil hidrazon koji dobro apsorbira ultraljubičastu svjetlost (Dalle-Donne i sur., 2003). Kako bi se odredili ukupni karbonili, DNPH metoda zahtjeva kvantifikaciju proteina. Koncentracija proteina svakog uzorka izračunata je pomoću kalibracijskog pravca koji je dobiven mjerenjem apsorbancije različitih razrjeđenja BSA, a ukupni karbonili određeni su prema formuli i izraženi su kao nmol karbonila/ mg proteina. Kalibracijski pravac BSA nalazi se na Slici 19., a rezultati ukupnih karbonila su prikazani na Slici 20.



**Slika 16.** Kalibracijska krivulja BSA za određivanje koncentracije proteina



\*Različita slova (a, b) označavaju statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) između mišića BF i SM

**Slika 17.** Grafički prikaz rezultata ukupnih karbonila na mišićima BF i SM u uzorcima Dalmatinskog pršuta nakon faze produljenog zrenja

Na uzorcima Dalmatinskog pršuta produljenog zrenja, koncentracija ukupnih karbonila u mišiću BF iznosila je 19,18 nmol karbonila /mg proteina, a u mišiću SM 15,88 nmol karbonila/ mg proteina. Prema dobivenim vrijednostima, postoji statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) između mišića BF i SM.

Prema Marušić Radovčić i sur. (2019), u uzorcima Dalmatinskog pršuta različitih proizvođača, koncentracija karbonila u BF kretala se od 10,57-16,84 nmol karbonil/mg proteina, dok u SM od 9,31-16,47 nmol karbonil/mg proteina. S druge strane, prema Jurković (2020), koncentracija karbonila u BF iznosila je 26,36 nmol karbonila/ mg uzorka, dok u SM 23,7 nmol karbonila/ mg uzorka, što je znatno više nego u ovome radu. U istraživanju na Bayonne pršutima, oksidacija proteina također je bila izraženija u mišiću BF nego SM (Harkouss i sur., 2015.). Slične rezultate dobili su i Toldra i sur. (1998) te Ruiz-Ramirez i sur. (2006) koji intenzivniju oksidaciju u BF objašnjavaju većim sadržajem vode i manjom koncentracijom soli nego što je to u SM. Na koncu, to uzrokuje i veću enzimsku aktivnost endogenih proteaza. U radu na španjolskom iberijskom pršutu koji su proveli Cava i sur. (2009), koncentracija karbonila u BF kretala se 6,8-10,9 nmol karbonila/mg proteina. Slične rezultate također na iberijskim pršutima dobili su i Ventanasa i sur. (2007) gdje se koncentracija karbonila u BF kretala 6,84-8,87 nmol karbonila/ mg proteina. U usporedbi s Dalmatinskim pršutom, te vrijednosti su dosta niže što je najvjerojatnije posljedica različitog procesa proizvodnje. Također, niže vrijednosti sadržaja karbonila u iberijskim pršutima mogu biti posljedica dodatka nitrata i nitriti u procesu proizvodnje i njihovog antioksidativnog djelovanja. S druge strane, u proizvodnji Dalmatinskog pršuta strogo su zabranjeni bilo kakvi dodaci osim morske soli pa su moguće veće vrijednosti.

U svim radovima mišić BF pokazuje veće vrijednosti karbonila nego SM. Razlog tome su različite fizikalno-kemijske karakteristike mišića SM i BF koje kao i u drugim reakcijama, dolaze do izražaja i u oksidaciji proteina. Naime, SM je vanjski mišić i kao takav podliježe bržoj dehidraciji, dok s druge strane unutarnji mišić BF obložen je kožom i masnim tkivom što usporava upijanje soli i dehidraciju. Posljedično tome, BF ima i veću proteolitičku aktivnost što se može odraziti na oksidaciju proteina.

## 5. ZAKLJUČCI

1. Anatomska lokacija mišića imala je statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) na boju pršuta.  $L^*a^*b^*$  parametri boje na Dalmatinskom pršutu nakon produljenog zrenja bili su veći u mišiću BF nego na SM. Produljenim zrenjem došlo je do porasta  $a^*$  vrijednosti u oba mišića.
2. Rezultati određivanja parametara teksture u uzorcima Dalmatinskog pršuta pokazali su veće vrijednosti tvrdoće, adhezivne sile, gumenosti te žvkljivosti na mišiću SM što je posljedica anatomske lokacije. Produljenim zrenjem došlo je do povećanja tvrdoće na BF i SM.
3. Stupanj oksidacije masti nije pokazao statistički značajnu razliku između mišića BF i SM ( $P > 0,05$ ). Međutim, SM je ipak pokazao nešto više vrijednosti što je posljedica anatomske lokacije u butu zbog koje je SM kao vanjski mišić izloženiji utjecaju kisika. Produljeno zrenje nije imalo utjecaja na stupanj oksidacije masti.
4. Anatomska lokacija mišića i produljeno zrenje nisu imali utjecaja ( $P > 0,05$ ) na udio SFA, MUFA i PUFA masnih kiselina. Vrijednosti su iznosile 38,77 % SFA, 52,64 % MUFA i 9,23 % PUFA. Pojedinačno najzastupljenije masne kiseline u mišićima BF i SM bile su oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0) te linolna (C18:2n6). Pojedine masne kiseline (C17:0, C18:2n6, C20:2, n6 skupina masnih kiselina) pokazivale su statistički značajnu razliku između mišića BF i SM ( $P < 0,05$ ). Produljeno zrenje od 18 mjeseci nije značajno utjecalo na udio i sastav najzastupljenijih masnih kiselina.
5. Veći indeks proteolize imao je BF zbog svoje anatomske lokacije koja ga čini zaštićenijim od vanjskih utjecaja nego što je to slučaj kod SM. Poduljenjem zrenja došlo je do porasta indeksa proteolize u oba mišića.
6. Veću koncentraciju ukupnih karbonila pokazao je mišić BF, pri čemu je postojala statistički značajna razlika između SM i BF ( $P < 0,05$ ). Veća koncentracija karbonila u BF posljedica je većeg sadržaja vode i manje koncentracije soli. Produljeno zrenje nije imalo utjecaj na ukupnu koncentraciju karbonila.

## 6. LITERATURA

Andrés, A. I., Cava, R., Ventanas, J., Muriel, E., Ruiz, J. (2004) Lipid oxidative changes throughout the ripening of dry-cured Iberian hams with different salt contents and processing conditions. *Food Chem.* **84**(3), 375–381. doi:10.1016/s0308-8146(03)00243-7

Andronikov, D., Gašperlin, L., Polak, T., Žlender, B. (2013) Texture and quality parameters of Slovenian Dry-Cured Ham Kraski prsut according to mass and salt levels. *Food Technol. Biotechnol.* **51**(1), 112-122.

Anonymous 1 (2014) Slika prešanja butova,  
<[http://www.prsut-vostane.hr/hr/faze\\_proizvodnje\\_prsuta.html](http://www.prsut-vostane.hr/hr/faze_proizvodnje_prsuta.html)>. Pristupljeno 24. lipnja 2022.

Anonymous 2 (2021) Slika sušenja Dalmatinskog pršuta,  
<<https://www.grude-online.info/urnebesna-metoda-susenja-prsuta-u-imotskom/dalmatinski-prsut-susenje-1-jpeg/>>. Pristupljeno 24. lipnja 2022.

Anonymous 3 (2019) Slika zrenja pršuta,  
<<https://dalmatinskiportal.hr/zivot/dani-dalmatinskog-prsuta-i-vina-u-vrgorcu-vise-od-40-izlaga-gaca-predstavilo-najbolje-proizvode/46446>>. Pristupljeno 27. lipnja 2022.

Anonymous 4 (2021) Slika gotovog proizvoda Dalmatinskog pršuta,  
<[https://www.pivac.hr/sites/default/files/2018-10/Dalmatinski-prsut-na-stalku\\_lenta%20novo\\_blank\\_0.png](https://www.pivac.hr/sites/default/files/2018-10/Dalmatinski-prsut-na-stalku_lenta%20novo_blank_0.png)>. Pristupljeno 1. rujna 2022.

Armenteros, M., Heinonen, M., Ollilainen, V., Toldrá, F., Estévez, M. (2009) Analysis of protein carbonyls in meat products by using the DNPH-method, fluorescence spectroscopy and liquid chromatography–electrospray ionisation–mass spectrometry (LC–ESI–MS). *Meat Sci.* **83**, 104-112.

Baer, A., Ryba, I., Meyer, J., Bütikofer, U. (1996) Microplate Assay of Free Amino Acids in Swiss Cheeses. *Food Sci. Technol.* **29**, 58-62.

Bermúdez, R., Carballo, J., Franco, D., Rodríguez, J. M. L. (2014) Influence of type of muscle on volatile compounds throughout the manufacture of Celta dry-cured ham. *Food Sci. Technol. Int.* **21**(8), 582-592.

Bordini, C. S. Virgili, R., Degni, M., Gabba, L., Schivazappa, C. (2004) Effect of ageing time on the analytical and sensory parameters of Parma ham. *Ind. Conserve.* **79**, 149-160.

Bruna, J. M., Ordóñez, J. A., Fernández, M., Herranz, B., de la Hoz, L. (2001) Microbial and physicochemical changes during the ripening of dry fermented sausages superficially inoculated with or having added an intracellular cell-free extract of *Penicillium aurantiogriseum*. *Meat Sci.* **59**, 87-96.

Calkins, C.R., Hodgen, J.M. (2007): A fresh look at meat flavor. *Meat Sci.* **77**, 63-80.

Cava, R., Ladero, L., González, S., Carrasco, A., Rosario Ramírez, M. (2009) Effect of pressure and holding time on colour, protein and lipid oxidation of sliced dry-cured Iberian ham and loin during refrigerated storage. *Trends Food Sci Technol.* **10**, 76–81.



- Cheng J. H. (2016) Lipid Oxidation in Meat. *J Nutr Food Sci.* **6**, 494.
- Cilla, I., Altarriba, J., Guerrero, L., Gispert, M., Martínez, L., Moreno, C., Beltrán, J.A, Guàrdia, M.D., Diestre A., Arnau, J., Roncalés, P. (2006) Effect of different Duroc line sires on carcass composition, meat quality and dry-cured ham acceptability. *Meat Sci.* **72**, 252–260. doi:10.1016/j.meatsci.2005.07.010
- Cilla, I., Martinez, L., Beltran, J. A., Roncales P. (2005) Factors affecting acceptability of dry-cured ham throughout extended maturation under “bodega” conditions. *Meat Sci.* **69**(4), 789–795.
- Costa, M., Bergamin Filho, W., Silveira, E. T. F., Felício, P. E. (2008) Colour and texture profiles of boneless restructured dry-cured hams compared to traditional hams. *Sci Agric.* **65**, 169–173. doi:10.1590/s0103-90162008000200010
- Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., Milzani, A. (2003) Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol. Med.* **9**, 169-76.
- Dikeman, M., Devine, C. (2004) Encyclopedia of meat sciences. II. edition. Academic Press, London, UK.
- Doi, E., Shibata, D., Matoba, T. (1981) Modified colorimetric ninhydrin methods for peptidase assay. *Anal. Biochem.* **118**, 173–184.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., Lorenzo, J. M. (2019) A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. *Antioxidants* **8**(10), 429. doi:10.3390/antiox8100429
- Dransfield, E. (1994) Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. *Meat Sci.* **36**, 105.
- Estévez, M. (2011) Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Sci.* **89**, 259-279.
- Estévez, M., Heinonen, M. (2010) Effect of phenolic compounds on the formation of  $\alpha$ -amino adipic and  $\gamma$ -glutamic semialdehydes from myofibrillar proteins oxidized by copper, iron, and myoglobin. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 4448–4455.
- Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, S. (2008) Determination of oxidation. In Handbook of Processed Meat and Poultry Analysis; Mollet, L. M. L., Toldra, F., Eds.; CRC Press, Boca Raton, Florida, str.141-162.
- Estevez, M., Ventanas, S., Cava, R. (2007) Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chem.* **100**, 55–63.
- Fernández, J., Pérez-Álvarez J.A., Fernández-López J.A., (1997) Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chem.* **59**, 345-353.
- Fuentes, V., Ventanas, S., Ventanas, J., Estévez, M. (2014) The genetic background affects composition, oxidative stability and quality traits of Iberian dry-cured hams: Purebred Iberian versus reciprocal Iberian×Duroc crossbred pigs. *Meat Sci.* **96**(2), 737–743.

Gallego, M., Mora, L., Toldrá, F. (2018) Differences in peptide oxidation between muscles in 12 months Spanish dry-cured ham. *Food Res. Int.* **109**, 343-349.

Ganhão, R., Estévez, M., Morcuende, D. (2011) Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. *Food Chem.* **126**(2), 772–778. doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.064

García-Rey, R. M., García-Garrido, J. A., Quiles-Zafra, R., Tapiador, J., Luque de Castro, M. D. (2004) Relationship between pH before salting and dry-cured ham quality. *Meat Sci.* **67**, 625–632.

García-Esteban, M., Ansorena, D., Gimeno, O., Astiasarán, I. (2003) Optimization of instrumental colour analysis in dry-cured ham. *Meat Sci.* **63**(3) 287–292. doi:10.1016/s0309-1740(02)00084-0

Gačina, N. (2017) Specifičnosti Autohtonih Hrvatskih Pršuta, Zbornik radova Veleučilišta u Šibeniku, (3-4), str. 57-62. Preuzeto s: <<https://hrcak.srce.hr/184520>>. Pristupljeno 27. ožujka 2022.

Giovanelli, G., Buratti, S., Laureati, M., Pagliarini, E. (2016) Evolution of physicochemical, morphological and aromatic characteristics of Italian PDO dry-cured hams during processing. *Eur. Food Res. Technol.* **242**(7), 1117–1127.

Harkouss, R., Astruc, T., Lebert, A., Gatellier, P., Loison, O., Safa, H., Portanguen, S., Parafita, E., Mirade, P.S. (2015) Quantitative study of the relationships among proteolysis, lipid oxidation, structure and texture throughout the dry-cured ham process. *Food Chem.* **166**, 522–530.

Honikel, K. O. (1998) Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* **49**(4), 447–457. doi:10.1016/s0309-1740(98)00034-5

Hoyland, D.V., Taylor, A.J. (1991) A Review of the Methodology of the 2-Thiobarbituric Acid Test. *Food Chem.* **40**, 271-291.

Hu, M., Jacobsen, C. (2016) *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*. Elsevier Inc., Amsterdam.

Huff-Lonergan, E. (2010.): *Chemistry and Biochemistry of Meat*. U: *Handbook of Meat Processing*. Toldrá, F. (ured.), Wiley-Blackwell, Oxford, str. 125-142.

Huff-Lonergan, E., Zhang, W., Lonergan, S.M. (2010) Biochemistry of postmortem muscle-lessons on the mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.* **86**, 184-195.

ISO 5508:1990, Internacional standard of animal and vegetable oils and fats – analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids.

ISO 5509:2000, Internacional standard of animal and vegetable oils and fats – Preparation of methyl esters of fatty acids.

Jiménez-Colmenero, F., Ventanas, J., Toldrá, F. (2010) Nutritional composition of dry-cured ham and its role in a healthy diet. *Meat Sci.* **84**, 585–593. doi:10.1016/j.meatsci.2009.10.029

Jurković, K. (2020) Proteolitički procesi u dimljenom pršutu nakon faze zrenja, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Zagreb, Zagreb

- Karolyi, D. (2009) Najčešći problemi u proizvodnji pršuta. *Meso* **11**, 134-143.
- Katavić, J. (2020) Utjecaj anatomske lokacije mišića na udio, sastav i stupanj oksidacije masti u Dalmatinskom pršutu nakon faze zrenja. Diplomski rad. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagreb, Zagreb
- Kos I., Madir A., Toić U. (2015): Dalmatinski pršut - oznaka zemljopisnog porijekla, Specifikacija proizvoda, Udruga Dalmatinski pršut
- Koutina, G., Jongberg, S., Skibsted, L. H. (2012) Protein and Lipid Oxidation in Parma Ham during Production. *J. Agric. Food Chem.* **60**(38), 973–974.
- Kovačević, D. (2017) Kemija i tehnologija šunki i pršuta, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek
- Laureati, M., Buratti, S., Giovanelli, G., Corazzin, M., P. Lo Fiego, D., Pagliarini, E. (2014) Characterization and differentiation of Italian Parma, San Daniele and Toscano dry-cured hams: A multi-disciplinary approach. *Meat Sci.* **96**, 288–294.
- Levine, R. L., Williams, J. A., Stadtman, E. R., Schacter, E. (1994) Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Method Enzymol.* **233**, 346–357.
- Lorenzo, J. M., Fonseca, S., Gómez, M., Domínguez, R. (2015) Influence of the salting time on physico-chemical parameters, lipolysis and proteolysis of dry-cured foal “cecina”. *Food Sci. Technol.* **60**(1), 332-338.
- Marušić Radovčić, N., Mikulić, A., Turk, M., Medić, H. (2019) Differentiation of Biceps femoris and Semimembranosus muscles of smoked dry-cured ham by quality parameters. *Food Technol Biotechnol.* **14**, 4-9.
- Marušić Radovčić, N., Vidaček, S., Janči, T., Medić, H. (2016) Characterization of volatile compounds, physico-chemical and sensory characteristics of smoked dry-cured ham. *J Food Sci Technol.* **53**(11), 4093-4105.
- Marušić, N., Petrović, M., Vidaček, S., Janči, T., Petrak, T., Medić H. (2013) Udio masti i sastav masnih kiselina u istarskom i dalmatinskom pršutu. *Meso* **15**, 279-284.
- Marušić, N., Vidaček, S., Janči, T., Petrak, T., Medić, H. (2014) Determination of volatile compounds and quality parameters of traditional Istrian dry-cured ham. *Meso* **96**, 1409–1416.
- Miletić, A. (2018) Utjecaj stupnja oksidacije masti i proteina na boju i teksturu dimljenog pršuta, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagreb, Zagreb
- Parreño, M., Cussó, R., Gil, M., Sárraga, C. (1994) Development of cathepsin B, L and H activities and cystatin-like activity during two different manufacturing processes for Spanish dry-cured ham. *Food Chem.* **49**(1), 15-21.
- Pérez-Alvarez, J. A., Sayas-Barberá, M. E., Fernández-López, J., Gago-Gago, M. A., Pagán-Moreno, M. J., Aranda-Catalá, V. (1998) Chemical and color characteristics of spanish dry-cured ham at the end of the aging process. *J. Muscle Foods.* **10**, 195–201.
- Pravilnik o mesnim proizvodima (2018) Narodne novine 62, Zagreb.

- Pugliese, C., Sirtori, F., Škrlep, M., Piasentier, E., Calamai, L., Franci, O., Čandek-Potokar, M. (2015) The effect of ripening time on the chemical, textural, volatile and sensorial traits of Biceps femoris and Semimembranosus muscles of the Slovenian dry-cured ham Kraški pršut. *Meat Sci.* **100**, 58–68. doi:10.1016/j.meatsci.2014.09.012
- Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J., Marcinčák, S., Semjon, B., Čertik, M., Klemková, T. (2017) Lipid Peroxidation Process in Meat and Meat Products: A Comparison Study of Malondialdehyde Determination between Modified 2-Thiobarbituric Acid Spectrophotometric Method and Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Molecules* **22**, 1-12. doi:10.3390/molecules22111988
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A., García, C. (1999) Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Sci.* **52**(1), 19-27. doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00144-2
- Ruiz-Ramírez, J., Arnau, J., Serra, X., Gou, P. (2006) Effect of pH 24, NaCl content and proteolysis index on the relationship between water content and texture parameters in biceps femoris and semimembranosus muscles in dry-cured ham. *Meat Sci.* **72**(2), 185-194.
- Salazar, E., Abellán, A., Cayuela, J. M., Poto, A., Girón, F., Zafrilla Pilar, T. L. (2014) Effect of processing time on the quality of dry-cured ham obtained from a native pig breed (Chato Murciano). *Anim. Prod. Sci.* **55**, 113-121. doi:10.1071/AN13284
- Santos-Fandila, A., Camino-Sánchez, F. J., Zafra-Gómez, A. (2014) Degradation Markers in Nutritional Products a Review. *Austin J Anal Pharm Chem.* **1**(1): 1005.
- Senčić, Đ., Samac, D. (2018) Nutritivna vrijednost suhih šunki i pršuta. *Meso* **20**, 138-142.
- Šimat, V., Maršić-Lučić, J., Bogdanović, T., Dokoza, M. (2009) Oksidacija masti u ribi i ribljim proizvodima. *Meso* **11**, 345-351.
- Simopoulos, A. (2002) The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* **56**(8), 365–379. doi:10.1016/s0753-3322(02)00253-6
- Soglia, F., Petracci, M., Ertbjerg, P. (2016) Novel DNPH-based method for determination of protein carbonylation in muscle and meat. *Food Chem.* **197**, 670-675.
- Soladoye, O.P., Juárez, M.L., Aalhus, J.L., Shand, P., Estévez, M. (2015) Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. *Compr. Rev. Food Sci. F.* **14**, 106-122.
- Špehar, D. (2018) Pripreme pršuta za soljenje i prešanje. <<https://lokalni.vecernji.hr/zupanije/pripreme-prsuta-za-soljenje-i-presanje-12411>>. Pristupljeno 27. lipnja 2022.
- Tarladgis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T. *et al.* (1960) A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc.* **37**, 44–48.
- Théron, L., Sayd, T., Pinguet, J., Chambon, C., Robert, N., Santé-Lhoutellier, V. (2011) Proteomic analysis of semimembranosus and biceps femoris muscles from Bayonne dry-cured ham. *Meat Sci.* **88**, 82-90.

- Toldrá, F. (2002) Manufacturing of dry-cured ham. U: Dry-cured meat products. Food & Nutrition Press Inc. Trumbull, Connecticut, str. 27-62.
- Toldrá, F., Flores, M. (1998) The role of muscle proteases and lipases in flavour development during the processing of dry-cured ham. CRC Critical review. *Food Sci. Nutr.* **38**, 331-352.
- Toldrá, F., Rico, E., Flores, J. (1993) Cathepsin B, D, H and L activity in the processing of dry - cured ham. *J. Sci. Food Agr.* **62**, 157 – 161.
- Turk, M. (2018) Određivanje fizikalno – kemijskih parametara i stupnja proteolize u dimljenom pršutu. Diplomski rad. Prehrambeno – biotehnološki fakultet Zagreb, Zagreb
- Ukmar, R., Đurkin, I., Maltar, Z., Kralik, G., Petricevic, A., Kušec, G. (2008) Mesnatost i sastav klaonički obrađenih trupova svinja u Hrvatskoj. *Meso* **10**, 422-428.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Tovar, J., García, C., Estévez, M. (2007) Extensive feeding versus oleic acid and tocopherol enriched mixed diets for the production of Iberian dry-cured hams: Effect on chemical composition, oxidative status and sensory traits. *Meat Sci.* **77**, 246–256.
- Vuković, K.I. (2012) Osnove tehnologije mesa. IV. izdanje. Veterinarska komora Srbije, Beograd
- Wang, Z., Gao, X., Zhang, J., Zhang, D., Ma, C. (2013) Changes of Intramuscular Fat Composition, Lipid Oxidation and Lipase Activity in Biceps femoris and Semimembranosus of Xuanwei Ham During Controlled Salting Stages. *J. Integr. Agric.* **12**(11), 1993–2001. doi:10.1016/s2095
- Xiong, Y. L. (2000) Protein oxidation and implications for muscle foods quality. U: Antioxidants in muscle foods, (Decker, E. A., Faustman, C., Lopez-Bote, C. J., ured.) Wiley, New York, str. 85-111.
- Yiu, H., Wai-Kit, N., Rogers, R. (2001) Meat Science and Application. CRC Press, Boca Raton, Florida
- Živković, J. (1986.) Higijena i tehnologija mesa. II. dio. GRO Tipografija, Đakovo i Veterinarija, Zagreb

## **IZJAVA O IZVORNOSTI**

Ja KREŠIMIR MAJCEN izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Vlastoručni potpis