

Utjecaj smanjenja koncentracije NaCl na enzimске procese u pršutu

Liović, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:668011>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-04**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Iva Liović
0125156176**

**UTJECAJ SMANJENJA KONCENTRACIJE NaCl NA
ENZIMSKE PROCESSE U PRŠUTU**

ZAVRŠNI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Helga Medić

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj smanjenja koncentracije NaCl na enzimske procese u pršutu

Iva Liović, 0125156176

Sažetak:

Cilj ovog rada bio je proučiti utjecaj dodatka NaCl na aktivnost enzima odgovornih za biokemijske procese proteolize i lipolize u pršutu. NaCl osim svog primarnog konzervirajućeg učinka doprinosi i razvoju okusa mesnih proizvoda. U pršutima se koncentracija NaCl najčešće kreće u rasponu od 4 do 6 %, ovisno o tipu pršuta. Tijekom proizvodnje se dodavanje soli provodi u nekoliko faza, a zatim slijedi faza sušenja i zrenja nužna za ravnomjernu raspodjelu soli i razvoj ujednačenog okusa u svim dijelovima pršuta. Od enzima koji kataliziraju spomenute biokemijske procese najznačajniji su proteolitički enzimi katepsini i kalpain, a od lipolitičkih enzima signifikantna je kisela lipaza mišićnog tkiva koju NaCl snažno aktivira za razliku od ostalih enzima na koje uglavnom djeluje inhibirajuće. Spomenuti procesi su najintenzivniji na početku, a pri kraju zrenja dominira oksidacija. Svi ovi procesi zajedno rezultiraju nastankom hlapljivih i nehlapljivih komponenti arome pršuta.

Ključne riječi: pršut, NaCl, enzimi, proteoliza, lipoliza

Rad sadrži: 23 stranice, 7 slika, 1 tablicu, 25 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Helga Medić

Datum obrane: 17. lipnja 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Meat and Fish Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Impact of reducing NaCl concentration on enzymatic processes in dry-cured ham

Iva Liović, 0125156176

Abstract:

The aim of this work was to study the influence of addition of NaCl on the activity of enzymes responsible for the biochemical processes of proteolysis and lipolysis in dry-cured ham. In addition to its primary conserving effect, NaCl also contributes to the development of the taste of meat products. In dry-cured hams, the concentration of NaCl most often ranges from 4 to 6 %, depending on the type of dry-cured ham. During the production, the addition of salt is carried out in several stages, followed by the drying and ripening phase necessary for the even distribution of salt and the development of uniform taste in all parts of dry-cured ham. Of the enzymes that catalyze these biochemical processes, the most important are proteolytic enzymes cathepsins and kalpain, and of the lipolytic enzymes, acidic lipase of muscle tissue is significant, which is strongly activated by NaCl unlike other enzymes that are mainly inhibited by the addition of NaCl. These processes are most intense at the beginning, and oxidation dominates at the end of ripening. All these together result in the formation of volatile and non-volatile components of the taste of dry-cured ham.

Keywords: dry-cured ham, NaCl, enzymes, proteolysis, lipolysis

Thesis contains: 23 pages, 7 figures, 1 table, 25 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Helga Medić, Full Professor

Thesis defended: June 17, 2024

Zahvaljujem mentorici prof. dr.sc. Helgi Medić na ukazanom povjerenju, vodstvu i savjetima oko izrade rada.

Veliko hvala mojoj majci, ocu i ujaku na pomoći, podršci i beskrajnom razumijevanju tijekom studiranja. Njima posvećujem ovaj rad!

Sadržaj

1.	1	
2.	2	
2.1.	DEFINICIJA PRŠUTA	2
2.2.	TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE PRŠUTA	3
2.3.	ULOGA NA ₂ CO ₃ U PROIZVODNJI PRŠUTA	5
2.4.	METODE ODREĐIVANJA NA ₂ CO ₃ U PRŠUTIMA	5
2.4.1.	METODA PO MOHR-U	5
2.4.2.	ODREĐIVANJE NA ₂ CO ₃ POMOĆU X-ZRAKA	6
2.5.	UTJECAJ NA ₂ CO ₃ NA MIŠIĆNO TKIVO U PRŠUTU	7
2.6.	PROTEOLIZA U PRŠUTU	11
2.7.	MIŠIĆNE ENDOPEPTIDAZE	11
2.7.1.	LIZOSOMSKE PROTEINAZE	12
2.7.2.	NEUTRALNE PROTEINAZE	12
2.8.	MIŠIĆNE EGZOPEPTIDAZE	12
2.8.1.	MIŠIĆNE AMINOPEPTIDAZE	13
2.9.	LIPOLIZA U PRŠUTU	14
2.10.	LIPAZE MASNOG TKIVA	14
2.11.	LIPAZE MIŠIĆNOG TKIVA	14
2.12.	ESTERAZE	15
2.13.	OKSIDACIJA MASNIH KISELINA	17
2.14.	NEHLAPLJIVE KOMPONENTE AROME PRŠUTA	17
2.15.	HLAPLJIVE KOMPONENTE AROME PRŠUTA	18

3.20

4.21

1. UVOD

Prilikom proizvodnje i zrenja pršuta, u njemu se odvijaju mnogobrojni biokemijski procesi. Od njih su za kvalitetu i konačan okus pršuta najznačajniji procesi proteolize i lipolize. Proteoliza u pršutu je kompleksni biokemijski proces kojim se proteini mišićnog tkiva razgrađuju na manje jedinice: peptide i slobodne aminokiseline, a tijekom lipolize razgrađuju se potkožno i mišićno masno tkivo. Oba ova procesa svojim produktima doprinose konačnoj aromi, okusu i teksturi pršuta. Pozitivan ishod sinergije ovih procesa očekuje se samo u produženom zrenju pršuta i uz nizak udio NaCl. Sadržaj enzima koji provode ove biokemijske promjene prvenstveno ovisi o *ante mortem* čimbenicima, odnosno kvaliteti sirovine, no njihova aktivnost u proizvodnji pršuta ovisi o *post mortem* čimbenicima, odnosno načinu obrade. Jedan od važnijih čimbenika je koncentracija dodanog NaCl tijekom proizvodnje koji na većinu tih enzima djeluje inhibirajuće, uz neke iznimke na koje djeluje aktivirajuće. Ovaj rad će na temelju dostupnih znanstvenih radova proučiti utjecaj dodatka različitih koncentracija NaCl na enzimske procese u pršutu i njihov odraz na kvalitetu finalnog proizvoda.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA PRŠUTA

Pršut je trajni suhomesnati proizvod od svinjskog buta s kostima, sa ili bez kože i potkožnog masnog tkiva, sa ili bez nogice, bez repa, sa ili bez zdjeličnih kostiju. Proizvodi se postupkom suhog soljenja ili salamurenja, uz mogućnost dodatka drugih začina ili začinskog bilja, nakon čega slijede procesi sušenja i zrenja, sa ili bez provedbe postupka dimljenja. Nakon sušenja i zrenja, može se stavljati na tržište otkošten. Proces postupka proizvodnje pršuta mora trajati najmanje devet mjeseci (Pravilnik o mesnim proizvodima, 2018). Riječ pršut potiče iz talijanske riječi *prosciutto* koja označava usoljeni, začinjeni i osušeni zreli svinjski but, a konzumira se narezan na tanke listove koji su u pravilu jednake dužine i širine. Proizvodnja pršuta tradicionalno je vezana za mediteranske zemlje, osobito Italiju, Španjolsku, Francusku i Hrvatsku, odakle potječe najveći broj različitih vrsta pršuta. Neki od poznatijih pršuta s navedenih područja su španjolski Iberijski pršut od autohtone iberijske crne svinje hranjene sa žirom, a zrenje ovog pršuta traje oko 2 godine. Iberijski pršuti sadrže i do tri puta više intramuskularne masti od pršuta proizvedenih od bijelih svinja. Iz Španjolske dolazi i Serrano pršut specifičan po tome da se prije faze sušenja i zrenja ispiru vodom kako bi se uklonio višak soli. Predstavnicima talijanskih pršuta su Parma i San Daniele, a predstavnik francuskog pršuta je Bayonne (Gonzalez i Ockerman, 2000). Hrvatska ima čak četiri zaštićena pršuta, a to su: Dalmatinski, Drniški, Krčki i Istarski. Prva tri nose zaštićenu oznaku zemljopisnog podrijetla, a Istarski posjeduje zaštićenu oznaku izvornosti. Svima je zajednička oznaka kvalitete Europske unije. Ovi pršuti moraju se proizvoditi po strogo definiranom protokolu kako bi se mogli dičiti navedenim nazivima.

2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE PRŠUTA

S tehnološkog aspekta, proces proizvodnje pršuta smatra se procesom koji se odvija pri stabilnim uvjetima. Tijekom svih faza procesa temperatura ne prelazi 30 °C, relativna vlažnost zraka je između 70 i 95 %, a pH mesa u rasponu od 5,5 do 6,5. Tijekom soljenja, temperatura se održava ispod 6 °C kako bi se usporila enzimska aktivnost i izbjeglo kvarenje. Kada prilikom sušenja temperatura poraste na 20-25 °C započinju intenzivnije biokemijske promjene. U fazi zrenja na oko 14-16 °C te promjene se nastavljaju. Većina enzima stabilna je tijekom cijelog procesa proizvodnje, a kod nekih pršuta i do dvije godine od početka proizvodnje (Krvavica, 2006). Tradicionalni način proizvodnje pršuta uključuje obradu svinjskog buta, suho soljenje, sušenje i zrenje sa ili bez dimljenja, ovisno o tipu pršuta. U industrijskoj proizvodnji koristi se salamura u koju se osim soli i začina mogu dodavati i nitrati, nitriti, glukoza i askorbinska kiselina. Nakon salamurenja obično slijedi odsoljavanje, tj. pranje ili potapanje butova u hladnoj vodi kako bi se smanjio udio soli u pršutu. Na ovaj način se uklanja višak soli iz površinskih slojeva budući da u tom trenutku difuzija soli još nije privedena kraju. Naime, difundiranje soli sa površine u unutrašnjost buta traje i do dva mjeseca nakon salamurenja. Uklanjanjem viška soli sa površine sprječava se nastanak potencijalno preslanog pršuta, a utječe se i na složene biokemijske promjene unutar pršuta poput proteolize i lipolize. Kroz cijeli proces proizvodnje pršuta prisutan je i gubitak vode koji rezultira gubitkom mase, odnosno kalom. U industrijskoj proizvodnji, ukoliko tržište trenutno diktira jeftiniju sirovinu, uobičajeno je provesti zamrzavanje svježih obrađenih svinjskih butova. No, takav postupak znatno narušava senzorske osobine finalnog proizvoda i nije dozvoljen za tradicionalnu proizvodnju zaštićenih pršuta. Naime, kristali leda koji nastaju prilikom zamrzavanja butova uzrokuju oštećenje i poroznost tkiva, a time je omogućena brža apsorpcija salamure u mišićno tkivo (Medić i sur., 2018). Kalo zamrznutih i zatim soljenih butova je veći, a biokemijski procesi u njima intenzivniji nego kod tradicionalne proizvodnje. Toldrá i Flores (1997) opisuju tradicionalni postupak proizvodnje pršuta u četiri faze:

- 1.) Predsoljenje-nakon prijema i klasifikacije svinjskih butova, sol se utrljava na tanju mišićnu površinu.
- 2.) Soljenje-bez dodatka vode, dolazi do spontane difuzije soli zbog prisutnosti slobodne vode u butovima. Butovi se okreću tako da im je masnija strana dolje, potpuno su okruženi solju i međusobno se ne dodiruju. Ova faza obično traje 8-10 dana (1-1,5 dan/kg buta) pri temperaturi 2-4 °C.
- 3.) Postsoljenje-dolazi do izjednačavanja koncentracija soli, pri temperaturi ispod 4 °C, u trajanju od 20 dana do 2 mjeseca.
- 4.) Sušenje i zrenje-butovi se stavljaju u prirodne ili klimatizirane komore uz regulaciju relativne vlažnosti (RH) i temperature. Temperatura se obično održava između 14 i 20 °C, a RH se smanjuje sa 90 na 70 %. Ova faza može trajati od 6 do 18 mjeseci, ovisno o tipu pršuta.

2.3. ULOGA NaCl U PROIZVODNJI PRŠUTA

Dodatak soli je jedan od najstarijih načina konzerviranja hrane. Prema Girardu (1992) dodatkom 5 % soli na ukupnu masu pršuta inhibira se rast anaerobnih mikroorganizama, a dodatkom dvostruko veće koncentracije inhibiran je rast većine mikroorganizama. Soljenje mesa može se provesti na nekoliko načina, a za pršute se primjenjuje suho soljenje, odnosno trljanje površine mesa solju. Ukoliko se provodi mokro soljenje, tada se meso potapa u salamuru, a industrijski model soljenja uključuje injektiranje salamure u meso (Belitz i sur., 2009). Sol u mesu ima ulogu polifunkcionalnog dodatka pa tako osim svog konzervirajućeg učina sudjeluje i u oblikovanju okusa i arome, utječe na teksturalna svojstva mesa, a djeluje pozitivno i na prinos nekih mesnih proizvoda budući da povećava sposobnost vezanja vode. Ukoliko pršut ima više masnog tkiva bit će izraženo sinergijsko djelovanje masti i soli, pa će takav pršut biti slaniji nego onaj sa manjim udjelom masti. No, s aspekta oksidacije, NaCl djeluje kao prooksidans i dovodi do brže oksidacije i pojave užeglog okusa u pršutu. Ovaj problem može se riješiti dodatkom nitratne soli uz NaCl. Osim bakteriostatskog učinka i formiranja okusa, sol ima značajan utjecaj i na enzime mišićnog i masnog tkiva (Žlender, 2009). Udio soli u pršutu nije propisan Pravilnikom o mesnim proizvodima. No uobičajene koncentracije soli u zrelih pršutima, ovisno o tipu, kreću se između 4 i 6 % kod umjereno slanog pršuta i između 8 i 9 % kod slanog tipova pršuta. Tako primjerice prema specifikacijama hrvatskih pršuta, sadržaj soli u pršutima mora biti između 4,5-7,5 %, ukoliko se na tržište stavljaju pod imenom „Dalmatinski pršut“, odnosno manje od 8 %, ukoliko se na tržište stavljaju pod imenom „Istarski pršut“. Ukoliko se pršut stavlja na tržište pod imenom „Drniški pršut“, sadržaj soli u njemu ne smije biti veći od 7 %, a ako se proizvod stavlja na tržište pod imenom „Krački pršut“, udio soli u njemu kreće se od 4 do 8 % (Krvavica, 2006).

2.4. METODE ODREĐIVANJA NaCl U PRŠUTIMA

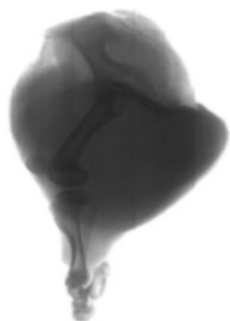
2.4.1. Metoda po Mohr-u

Metoda po Mohr-u je klasična validirana metoda za određivanje udjela soli u prehrambenim proizvodima, a prikladna je za uzorke čija se pH vrijednost kreće od 6,5 do 9. Ukoliko pH uzorka nije u ovom rasponu, pH uzorka treba prilagoditi zahtjevima. Metoda se temelji se na titracijskom određivanju udjela kloridnih iona titracijom sa srebrovim nitratom (AgNO_3). Iz

količine uzorka pršuta uzete za analizu i volumena AgNO_3 utrošenog za titraciju izračunava se udio NaCl u ispitivanom uzorku. Kao indikator za titraciju koristi se kalijev kromat (K_2CrO_4), a titrira se do pojave postojane crvene boje. Za analizu se uzima više uzoraka istog pršuta, a kao rezultat se uzima srednja vrijednost rezultata. Ova metoda je invazivna budući da se pršut mora uzorkovati, a uzorak zatim usitniti i homogenizirati kako bi se mogao analizirati (Visy i sur., 2021).

2.4.2. Određivanje NaCl pomoću X-zraka

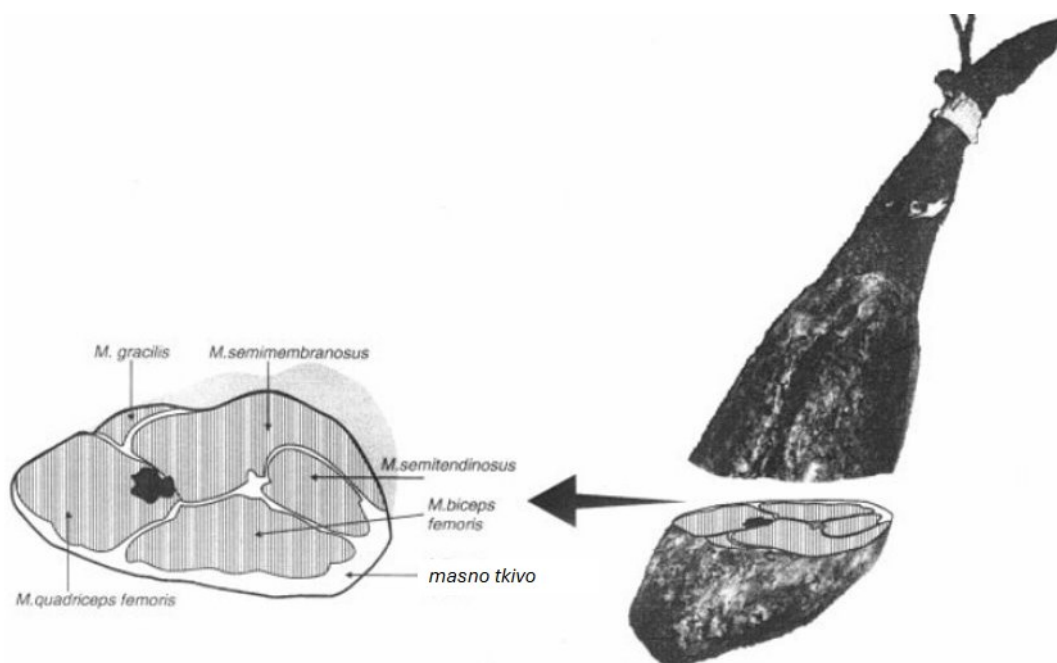
U industrijskoj proizvodnji pršuta pronašlo se inovativno rješenje za predviđanje sadržaja soli u pršutu koje nije invazivno i omogućuje pravovremene modifikacije u procesu proizvodnje pršuta kako bi se dobio proizvod optimalne kvalitete (Håseth i sur., 2012). Naime, radi se o ispitivanju sadržaja NaCl u pršutima primjenom X-zraka. U industrijskim uvjetima proizvodnje radi se sa velikim brojem pršuta istovremeno i teško je u svakome postići isti sadržaj soli, odnosno ista senzorska svojstva. Ukoliko pršut ima previše NaCl bit će preslan, a ukoliko ga ima premalo bit će premekan, no u oba slučaja odbojan potrošačima. Kako se suočiti sa ovim problemom, predložili su Fulladosa i sur. (2015) kada su primijenili komercijalno dostupan rendgenski uređaj X-ray inspector model X20V G90. Ovaj uređaj sastoji se od transportne trake koja pomiče uzorak kroz X-zrake energije 50 kV koje se emitiraju iz donjeg dijela uređaja, a propuštene X-zrake se mjere na gornjem dijelu uređaja. Uređaj pretvara niskoenergetske X-zrake u slike skeniranog predmeta. Što je deblji sloj pršuta i što ima veći udio soli, to će dobivena slika biti tamnija (slika 1).



Slika 1. Pršut snimljen primjenom X-zraka (Fulladosa i sur., 2015)

2.5. UTJECAJ NaCl NA MIŠIĆNO TKIVO U PRŠUTU

Mišić *M. semimembranosus* (SM) je veliki vanjski mišić koji prilikom soljenja stupa u direktni kontakt sa solju (slika 2). Posljedično, raspodjela soli i vode u ostalim mišićima uvelike ovisi o koncentraciji soli u njemu (tablica 1). U prvim fazama obrade pršuta SM zahtjeva dodatak veće količine NaCl jer dolazi do brze difuzije soli u njega i naglog pada sadržaja vode u njemu. Upravo ta visoka koncentracija NaCl u prvim fazama obrade dovodi do promjena u svojstvima topljivosti proteina mišića *M. semimembranosus*. Tako proteini koji su inicijalno bili topljivi pri niskim koncentracijama soli sada precipitiraju na proteine miofibrilarne mreže. U svježem mesu dodatak soli dovodi do denaturacije sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina mišićnog tkiva. Ovaj efekt ovisi o koncentraciji soli i vrsti proteina. Naime, miozin je najviše podložan denaturaciji solju, slijede ga sarkoplazmatski proteini, a zatim aktin (Graiver i sur., 2006). U prvim fazama obrade pršuta javlja se izrazita inhibicija proteolitičke aktivnosti zbog nemogućnosti enzima da prepoznaju mjesta cijepanja proteina. Zbog toga enzimi nisu u mogućnosti cijepati proteine miofibrilarne mreže na manje jedinice, a topljivi proteini počinju taložiti na miofibrilarnim proteinima. Unutarnji mišić *M. biceps femoris* je sa svoje vanjske strane zaštićen slojem masnog tkiva i kože. Mišić *M. semimembranosus* većinom zahvaća vanjski dio pršuta i on se tijekom zrenja suši dehidratacijom. Unutarnji mišići kao što je *M. biceps femoris* (BF) imaju veći sadržaj zaostale vlage koja omogućuje bolju enzimsku aktivnost kroz duže vrijeme, a time i intenzivnije biokemijske promjene. Za razliku SM, *M. biceps femoris* karakterizira manji sadržaj soli, a veći sadržaj vode. Zbog ove razlike dolazi do veće proteolitičke aktivnosti u *M. biceps femoris* koja se odražava na njegovu teksturu (Théron i sur., 2011). U sirovom butu prosječan udio soli u *M. semimembranosus* je 1,28 g NaCl/100 g mesa. Nakon soljenja taj udio poraste na oko 18,26 g NaCl/100 g mesa. U sirovom butu prosječan udio soli u *M. biceps femoris* je 0,89 g NaCl/100 g mesa, a nakon soljenja taj udio poraste na 5,15 g NaCl/100 g mesa (Larrea i sur., 2006).



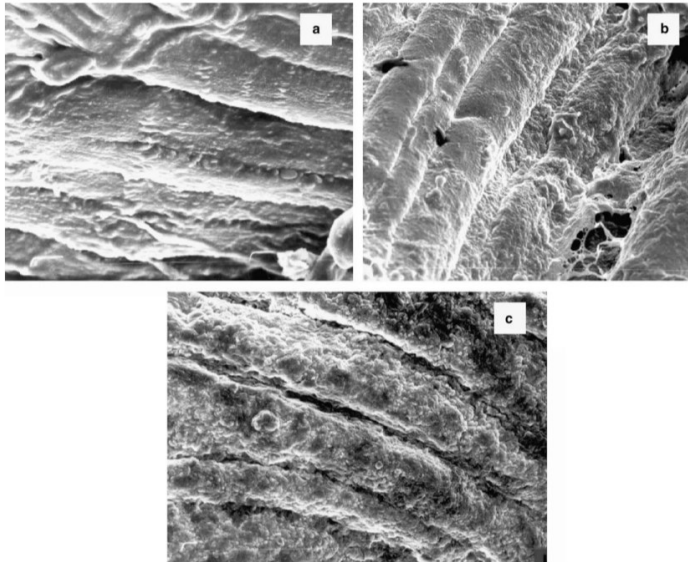
Slika 2. Poprečni presjek pršuta sa označenim mišićima i masnim tkivom (*prema Toldrá i Flores, 1998*)

Tablica 1. Prosječan sadržaj soli u mišićnom tkivu pršuta tijekom različitih faza proizvodnje (*prema Sárraga i sur., 1989*)

FAZA PROIZVODNJE	MIŠIĆ	NaCl (%)
SOLJENJE	<i>M. semimembranosus</i>	5,36
	<i>M. biceps femoris</i>	0,7
POSTSOLJENJE	<i>M. semimembranosus</i>	4,10
	<i>M. biceps femoris</i>	2,12
NA KRAJU ZRENJA	<i>M. semimembranosus</i>	4,94
	<i>M. biceps femoris</i>	5,48

Graiver i sur. (2006) su pod elektronskim mikroskopom proučavali utjecaj dodatka rastućih koncentracija NaCl na svinjsko meso. Izolirali su male komadiće svinjskog mišićnog tkiva promjera 0,5 cm i debljine 0,2-0,3 cm. Uzorci su uronjeni u sljedeće koncentracije NaCl: 5, 140 i 330 g/L u trajanju od minimalno 48 h kako bi došlo do izjednačenja koncentracije soli. 24 h nakon toga uzorcima je dodan etilni alkohol u rastućim koncentracijama kako bi se

osušili. Uzorci su zatim položeni na aluminijsko postolje koristeći dvostranu traku i prekriveni tankim slojem zlata (40-50 nm) koji omogućuje vizualizaciju površine i presjeka uzorka. Slike uzoraka dobivene su skenirajućim elektronskim mikroskopom (SEM) (slika 3).



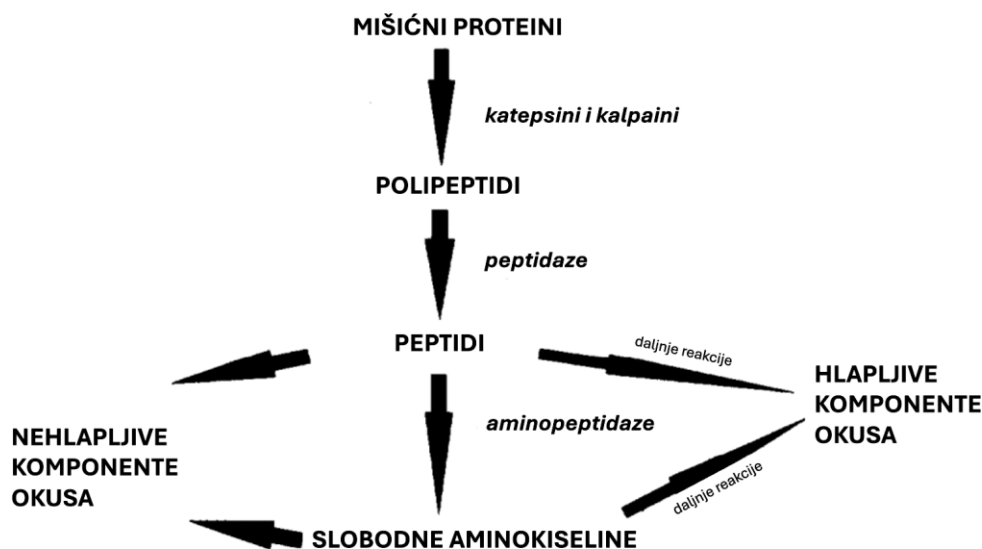
Slika 3. SEM prikaz svinjskog mišićnog tkiva tretiranog različitim koncentracijama NaCl: a) 5 g NaCl/L, b) 140 g NaCl/L, c) 330 g NaCl/L (Graiver i sur., 2006)

Uzorak tretiran sa 5 g/L NaCl ne pokazuje značajnije razlike u odnosu na netretirano tkivo. U uzorku kojem je dodano 140 g/L NaCl uočava se bubrenje tkiva, a u uzorku sa 330 g/L NaCl vidljivo je fragmentiranje i dehidratacija vlakana te dojam granulirane teksture. Dakle, pri manjim koncentracijama NaCl mišićna vlakna bubre i imaju veći kapacitet zadržavanja vode, a pri većim koncentracijama dolazi do suprotnog efekta, tj. voda izlazi iz tkiva, a proteini u njemu talože i uzrokuju njegovu fragmentaciju.

Larrea i sur. (2006) proučavajući španjolski pršut Teruel uočili su kako su neki u vodi topljivi proteini mišića BF izrazito osjetljivi na dodatak soli. To su: fosforilaza B, gliceraldehid fosfat dehidrogenaza, trioza fosfat izomeraza i mioglobin. Fosforilaza B je posebno pogođena, njezin udio se nakon soljenja smanjuje i za 47 %. Značajno je i smanjenje koncentracije enolaze i aldolaze. Udio mioglobina se smanjuje za 31 %. Ove promjene u BF su najintenzivnije u četvrtoj fazi obrade pršuta, točnije u fazi zrenja gdje dolazi do strmog pada koncentracije proteina. Pri kraju zrenja uočava se i nagli pad koncentracija fosfofruktokinaze, fosfoglukoze izomeraze i trioze fosfat izomeraze. No, s druge strane uočen je i porast koncentracije manjih peptida nastalih hidrolizom miofibrilarnih proteina. U vodi topljivi proteini mišića *M. semimembranosus* također prate trend proteina iz BF, no kod SM se intenzivnije promjene događaju u fazi soljenja, a ne u fazi zrenja kao kod BF budući da ovaj mišić dolazi u direktni kontakt sa NaCl. Ovdje je pad koncentracije fosforilaze B još veći i iznosi oko 72 %. Pad koncentracije mioglobina u SF iznosi 45 %. Većina enzima mišićnog tkiva je aktivna između 5,5 i 6,6, a to je ujedno i interval pH vrijednosti u pršutu tijekom cjelokupnog postupka proizvodnje. Enzimi koji odstupaju od ovog pravila su katepsin D, takozvana kiselina proteinaza kojoj je za aktivnost optimalnija kiselija pH vrijednost, a pri pH većem od 6 slabije su aktivne neutralna lipaza i esteraza. Ograničavajući faktor za enzimsku aktivnost je i aktivitet vode (a_w), osobito u fazi sušenja i zrenja kada njegova vrijednost pada ispod 0,90. Pad a_w vrijednosti naročito pogađa mišićne enzime, osim m-kalpaina i kisele lipaze (Krvavica 2006). Vrijednost aktiviteta vode je važna zbog kontrole kvarenja. Naime, ukoliko je aktivitet vode manji od 0,91 bit će reduciran rast bakterija, a ukoliko je manji od 0,80 bit će reduciran i rast plijesni. Upravo zbog sniženog aktiviteta vode se pršuti mogu držati pri sobnoj temperaturi bez posljedičnog kvarenja (Marušić Radovčić i sur., 2016).

2.6. PROTEOLIZA U PRŠUTU

Proteoliza je složeni biokemijski proces razgradnje proteina, a njezin rezultat se izražava kao porast koncentracije neproteinskog dušika. Njenim djelovanjem dolazi do intenzivne razgradnje miozina uz istovremeni nastanak peptidnih lanaca (Toldrá 1998). Najizraženija je u prvim fazama zrenja i rezultat je djelovanja endogenih enzima, tj. endopeptidaza pršuta. Kako se zrenje primiče kraju postaju aktivnije egzopeptidaze. Endopeptidaze su lizosomske i neutralne proteinaze, a egzopeptidaze su peptidaze, aminopeptidaze i karboksipeptidaze (slika 4).



Slika 4. Shema proteolize u pršutu (prema Toldrá, 1998)

2.7. MIŠIĆNE ENDOPEPTIDAZE

Post mortem promjene u proteinima mesa su povezane sa djelovanjem mišićnih endogenih proteinaza. One su lizosomske i neutralne proteinaze.

2.7.1. Lizosomske proteinaze

Lizosomi su vezikule obavijene membranom koje se nalaze u eukariotskim stanicama i sadrže veliki broj enzima za razgradnju velikih biomolekula. Jedni od tih enzima su i proteinaze koje razgrađuju proteine. Glavne lizosomske proteinaze su katepsini B, D, H i L. To su male molekule reda veličine 20-40 kDa i aktivne su u kiseloj sredini. Katepsini B, H i L su cisteinske proteinaze, a katepsin D je aspartatna proteinaza. Sve one u *in vitro* uvjetima pokazuju veliku moć razgradnje miofibrilarnih proteina. No, ukoliko je aktivnost katepsina izrazito velika može dovesti do pretjerane mekoće pršuta i do nastanka tirozinskih kristala između mišićnih vlakana. Kako bi se to spriječilo, ovi enzimi mogu se inhibirati dodatkom NaCl. Katepsini B,H i L su stabilni i aktivni tijekom cijelog procesa proizvodnje pršuta, osobito zrenja. Katepsin D nije tako stabilan i njegova aktivnost nestaje između 6. i 10. mjeseca proizvodnje pršuta (Toldrá i sur., 1997).

2.7.2. Neutralne proteinaze

Neutralne proteinaze, odnosno kalpaini su skupina cisteinskih endopeptidaza i za svoju aktivnost zahtijevaju prisutnost kalcija. Razgrađuju troponin T i I, tropomiozin, a na aktin i miozin ne djeluju. Maksimum svog djelovanja imaju pri neutralnom pH, oko 7,5 pa tako u pršutima u kojima je pH obično oko 6 pokazuju slabiju aktivnost (Krvavica i Lukić, 2007). Drugi limitirajući faktor za njihovo djelovanje u *post mortem* mišiću je prisutnost endogenih inhibitora, kalpastatina. Zbog svega navedenog imaju malu proteolitičku aktivnost pa mogu cijepati proteine samo na veće peptide. U tehnologiji pršuta nakon dodatka soli, kalpaini u potpunosti gube svoju aktivnost.

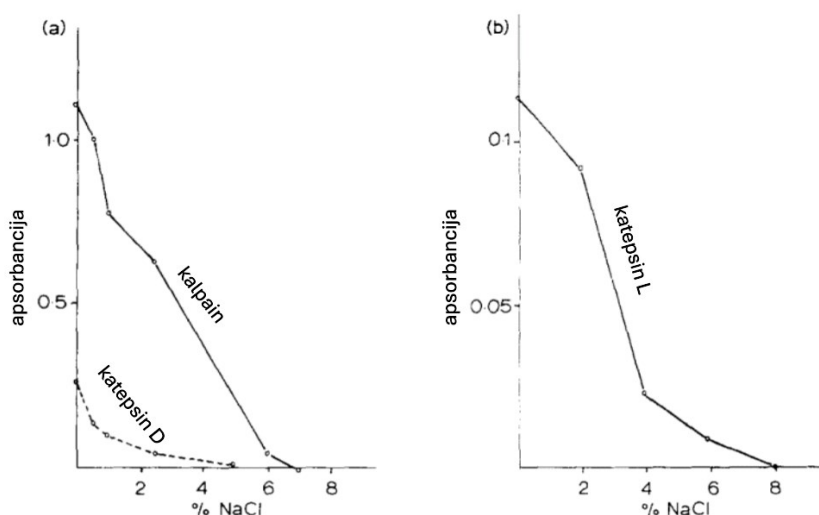
2.8. MIŠIĆNE EGZOPEPTIDAZE

Ovi enzimi su uključeni u kasnije faze proteolitičke razgradnje. U ovu skupinu pripadaju mišićne peptidaze, aminopeptidaze i karboksilaze.

2.8.1. Mišićne aminopeptidaze

Aminopeptidaze pokazuju aktivnost tijekom cijelog postupka proizvodnje pršuta. Zasluzne su za porast koncentracije slobodnih aminokiselina, osobito glutaminske i aspartatne kiseline, alanina, leucina, valina i lizina. Upravo kombinacija ovih slobodnih aminokiselina i manjih peptida doprinosi karakterističnom okusu pršuta. No, ukoliko njihova proteolitička aktivnost pređe preko 30 % može se razviti gorkasti i metalni okus u pršutu budući da ovi enzimi pripadaju skupini metaloproteina (Toldrá i sur., 1997).

Sárraga i sur. (1989) su proučavali utjecaj dodatka različitih koncentracija NaCl na proteolitičku aktivnost katepsina D i L te kalpaina (Ca-ovisna proteinaza) u španjolskom pršutu. Mišićni ekstrakti španjolskog pršuta su pripremljeni tako da se mišićno tkivo izoliralo od masnog i vezivnog tkiva i homogeniziralo u odgovarajućem puferu. Homogenizirani uzorci su se centrifugirali, a zatim filtrirali. U uzorke se dodavao NaCl u rastućoj koncentraciji do 8 %. Uočili su kako dodatak NaCl u koncentraciji od 6 % značajno inaktivira djelovanje kalpaina, a dodatkom 7 % NaCl, kalpain je u potpunosti inaktiviran. Katepsin D je potpuno inaktiviran dodatkom NaCl u koncentraciji od 5 %. Aktivnost katepsina L nije inhibirana pri manjim koncentracijama NaCl, no bilježi pad pri 4 %, a potpuno gubi aktivnost dodatkom NaCl u koncentraciji od 8 % (slika 5).



Slika 5. Utjecaj NaCl na enzimsku aktivnost kalpaina i katepsina (prema Sárraga i sur., 1989)

2.9. LIPOLIZA U PRŠUTU

Lipoliza, kao i proteoliza sastoji se od niza biokemijskih reakcija koje u ovom slučaju rezultiraju tvorbom slobodnih masnih kiselina. Lipidi potkožnog masnog tkiva podliježu lipolizi tijekom zrenja pršuta u fazi predsoljenja i soljenja. Mišićni lipidi podložniji su lipolizi tijekom prvih 5 mjeseci obrade pršuta. Lipolizu kataliziraju lipaze, supstrati lipaza su dugolančani, u vodi netopljivi triacilgliceroli, a produkti lipolize su dugolančane masne kiseline i glicerol. Općenito, pršuti starijih i težih svinja imaju više masnog tkiva. Udio potkožnog i intramuskularnog masnog tkiva u pršutu odredit će stupanj lipolize, a kasnije i oksidacije masti. Masno tkivo predstavlja barijeru difuziji vode i ulasku soli, a poželjno je kako bi spriječilo brzu oksidaciju i procesne gubitke prilikom proizvodnje. Upravo je udio soli u pršutu povezan sa količinom masnog tkiva, tako će pršuti sa manjim udjelom masnog tkiva primiti veće količine soli od masnijih pršuta. Intramuskularna mast pršutu daje sočnost i mekaniju teksturu, no ukoliko je ima previše pršut će biti premekan i imati teksturu paste (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012).

2.10. LIPAZE MASNOG TKIVA

Masno, odnosno adipozno tkivo sadrži tri važna lipolitička enzima, a to su lipoproteinska lipaza koja se nalazi u endotelu kapilara, hormon-ovisna lipaza i monoglicerolna lipaza. Monoglicerolna lipaza je odgovorna za krajnju hidrolizu monoglicerida na slobodne masne kiseline i glicerol. Ovi enzimi su aktivni tijekom faze predsoljenja i soljenja, a hormon-ovisna lipaza je aktivna i tijekom faze sušenja i zrenja. Glavni produkti koji nastaju djelovanjem ovih enzima su miristinska, margarinska, linolenska i arahidonska masna kiselina (Toldrá i sur., 1997). Njihovom oksidacijom kasnije nastaju hlapljivi spojevi koji su jedni od nosioca arome pršuta.

2.11. LIPAZE MIŠIĆNOG TKIVA

Lizosomska kisela lipaza je glavni lipolitički enzim u mišićnom tkivu. Nalazi se u lizosomu, a provodi hidrolizu mono-, di- i tri-acilglicerola u kiselom pH području. Ovaj enzim je stabilan tijekom cijelog procesa proizvodnje pršuta. Drugi značajni enzimi ove skupine su kisele fosfolipaze A1 i A2 koje su uključene u fosfolipidnu razgradnju. Većina slobodnih masnih

kiselina koje nastaju u pršutu upravo su rezultat razgradnje fosfolipida. U 10. mjesecu proizvodnje pršuta slobodne masne kiseline dostižu maksimum svoje koncentracije, no mišićne lipaze ostaju aktivne i do 15. mjeseca od primarne obrade pršuta (Toldrá i sur., 1997). Valja spomenuti i lipoproteinske lipaze koje se nalaze u endotelnim oblogama kapilara.

2.12. ESTERAZE

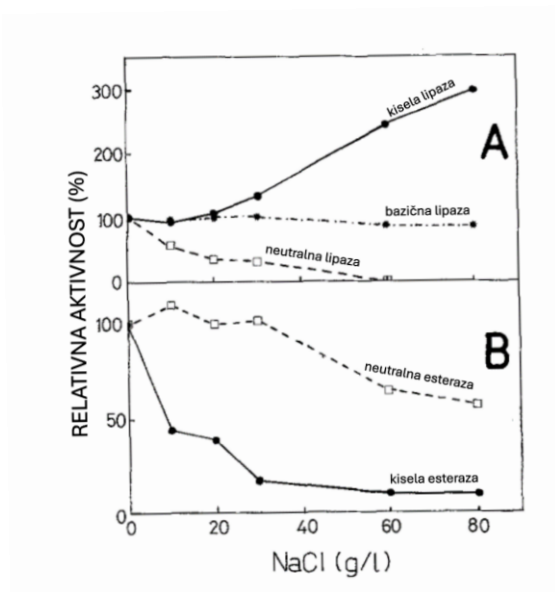
Esteraze su enzimi koji u prisustvu vode cijepaju estere kratkolančanih masnih kiselina. Za razliku od lipaza, esteraze preferiraju supstrate topljive u vodi. Budući da se u proizvodnji pršuta smanjuje udio vode, doprinos esteraza aromi pršuta nije toliko velik kao što je onaj od lipaza, no valja ga spomenuti. Esteraze mogu biti kisele, neutralne i bazične, a nalaze se i u mišićnom i u masnom tkivu. Općenito, esteraze su osjetljivije na dodatak soli od lipaza. Sol djeluje drugačije na svaku od njih, a u nastavku slijedi više o tome. U istraživanju koje su proveli Motilva i Toldrá (1993) ispitan je utjecaj dodatka NaCl na lipaze i esteraze mišićnog i masnog tkiva. Za analizu lipaza mišićnog tkiva je pripremljen uzorak mišića *M. biceps femoris*, a za analizu lipaza masnog tkiva pripremljen je uzorak potkožnog masnog tkiva smještenog uz *M. biceps femoris*. Za određivanje aktivnosti mjerila se fluorescencija uzoraka pri 328 i 470 nm na spektrofluorometru. NaCl je dodavan u rastućim koncentracijama koje odgovaraju vrijednostima tijekom proizvodnje pršuta:

Za mišićno tkivo: 0, 10, 20, 30, 60, 80 g/L

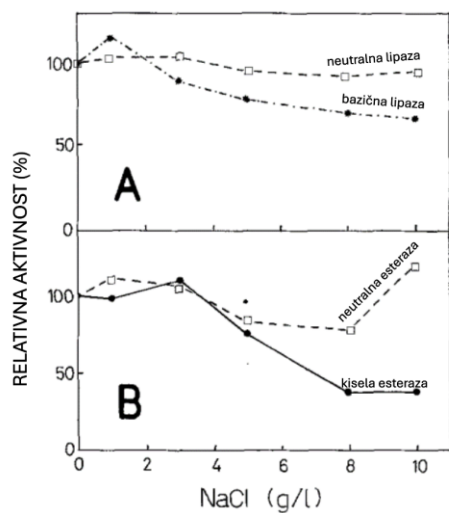
Za masno tkivo: 0, 1, 2.5, 5, 7.5, 10 g/L.

Rezultati ispitivanja za lipaze i esteraze mišićnog tkiva (slika 6) su pokazali kako je aktivnost kisele lipaze snažno aktivirana dodatkom soli, ona je čak tri puta aktivnija pri 6 % NaCl što je prosječna koncentracija soli u mišiću *M. biceps femoris* u trećoj fazi obrade pršuta. Dijametralno tome neutralna mišićna lipaza je snažno inhibirana dodatkom 6 % NaCl, dok je aktivnost bazične mišićne lipaze ostala približno nepromijenjena. Aktivnost mišićnih esteraza je dodatkom soli značajno inhibirana. Pri 6 % NaCl aktivnost kisele esteraze je iznosila samo 10 % od njene početne aktivnosti, dok je pri istoj koncentraciji soli aktivnost neutralne esteraze manje inhibirana i iznosila je oko 60 % od njene početne aktivnosti. Rezultati za lipaze i esteraze masnog tkiva (slika 7) pokazali su sljedeće: bazična lipaza masnog tkiva je blago aktivirana dodatkom 1g NaCl/L, a pri 10 g NaCl/L bilježi pad aktivnosti na 70 % od početne. Neutralna lipaza nije pokazala gotovo nikakve promjene aktivnosti dodatkom soli. Kisela

esteraza masnog tkiva inhibirana je pri koncentraciji NaCl većoj od 2,5 g/L, a neutralna esteraza je blago inhibirana u koncentraciji NaCl između 2,5 i 7 g/L.



Slika 6. Utjecaj NaCl na lipaze (A) i esteraze (B) mišićnog tkiva (prema Motilva i Toldrá, 1993)



Slika 7. Utjecaj NaCl na lipaze (A) i esteraze (B) masnog tkiva (prema Motilva i Toldrá, 1993)

2.13. OKSIDACIJA MASNIH KISELINA

Vežanje kisika na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina zove se autooksidacija jer nastali produkti pospješuju daljnji tijek oksidacije. Primarni produkti autooksidacije su hidroperoksidi, no oni su nestabilni i razgrađuju se na slobodne radikale i na sekundarne produkte oksidacije, a neki od njih su aldehidi, ketoni, alkoholi, masne kiseline, ugljikovodici. Oni ispoljavaju široki spektar okusa, od slatkog i masnog do metalnog i užeglog. Osim ovog tipa oksidacije, u mišićima je prisutna i enzimaska lipidna peroksidacija. Oko petog mjeseca proizvodnje pršuta pojavljuje se pad koncentracije dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina. Lipidnu oksidaciju ubrzava prisutnost prooksidanasa. Osim kisika, kao prooksidansi djeluju i temperatura, svjetlost, prisutnost metala (hem željezo) i enzimi. Važan prooksidans je i NaCl. Iako su nezasićene masne kiseline važni prekursori aromatskih spojeva pršuta, za dugotrajne procese sušenja i zrenja poželjniji je veći udio zasićenih masnih kiselina jer su manje sklone oksidaciji koja bi producirala uljastu površinu, aromu užeglosti i premekanu teksturu (Bosi i Russo, 2004). Profil masnih kiselina bitan je za konzumente, ne samo senzorski nego i nutritivno. Visoki udio polinezasićenih masnih kiselina rezultirat će uljastom površinom i mekanom teksturom, a ako je veći udio zasićenih masnih kiselina, manja je mogućnost razvoja užeglosti i uljaste površine. Profilom masnih kiselina moguće je upravljati režimom prehrane svinja. Dob i masa svinja povezani su sa aktivnošću enzima, pa tako starije i teže svinje imaju manju aktivnost endopeptidaza, a veću aktivnost egzopeptidaza i lipaza (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012).

2.14. NEHLAPLJIVE KOMPONENTE AROME PRŠUTA

Slobodne masne kiseline nastale lipolizom, te slobodne aminokiseline i mali peptidi nastali protelizom pridonose aromi pršuta. Tako npr. peptidi veličine manje od 1000 Da daju kiselkastu aromu, peptidi veličine 1500-1700 Da ispoljavaju slanu aromu, a oni veći od 1800 Da doprinose gorčini. Promatrajući udio slobodnih aminokiselina pokazalo se da veći udjeli tirozina i lizina obogaćuju aromu pršuta, dok asparagin negativno utječe na nju. Glutaminska kiselina pridonosi slanoći, a fenilalanin i izoleucin pridonose kiselkastoj aromi pršuta (Aristoy i Toldrá, 1995).

2.15. HLAPLJIVE KOMPONENTE AROME PRŠUTA

Prepoznatljiva aroma pršuta većinski je rezultat oksidacije masti, odnosno nastanka sekundarnih produkata oksidacije, hlapljivih tvari, nosioca arome. To su aldehidi, ketoni, slobodne masne kiseline, alkoholi i brojni drugi. Do tvorbe ovih tvari većinom dolazi u zadnjoj fazi proizvodnje pršuta, no ovise i o pasmini i ishrani svinje. Najzastupljeniji su ugljikovodici, aldehidi i alkoholi. Slijede ih ketoni, slobodne masne kiseline, laktoni i esteri. Incidencija ovih spojeva u pršutu ovisi o aktivnosti enzima čijim katalitičkim djelovanjem nastaju, a budući da je aktivnost većine enzima inhibirana dodatkom NaCl, slijedi da će konačna aroma pršuta biti intenzivnija ako mu se tijekom proizvodnje dodaje što manje soli. Marušić Radovčić i sur. (2016) su izolirali i analizirali hlapljive komponente iz *M. biceps femoris* dimljenog Dalmatinskog pršuta primjenom mikroekstrakcije čvrstom fazom (SPME) i plinske kromatografije-masene spektrofotometrije (GC-MS). Pronašli su 87 hlapljivih komponenti u pršutu. Najzastupljeniji su aldehidi (35,6 %) i fenoli (34,3 %), slijede ih alkoholi (13,8 %), terpeni (6,4 %), aromatični ugljikovodici (2,6 %), alkani (2,2 %), ketoni (2,2 %), esteri (1,7 %) i kiseline (0,7 %). PCA analizom utvrdili su proporcionalnu ovisnost udjela NaCl i pepela te sadržaja masti sa mramoriranošću mesa. Uočili su kako uzorci sa većim sadržajem NaCl imaju manje aldehida, a što je postupak dimljenja duži, to je veći sadržaj fenola. Od aldehydnih spojeva, najzastupljeniji je nonanal, a slijede ga oktanal, benzaldehid i heksanal. Aldehydni spojevi su sekundarni produkti lipidne oksidacije u pršutu i već u malim količinama djeluju jako aromatično. Nonanal potiče iz oksidacije oleinske masne kiseline, najzastupljenije masne kiseline u pršutu i daje mu voćno-slatku notu. Oktanal pridonosi mesno-voćnoj noti, a heksanal stvara zeleno-travnu notu. U pršutu nastaju i razgranati aldehidi kao posljedica oksidativne deaminacije tijekom Streckerove razgradnje aminokiselina. U Dalmatinskom pršutu pronašli su 3-metilbutanal (0,3-1 %) koji je rezultat proteolize i pršutu daje orašastu aromu. Ostali detektirani razgranati aldehidi su 2,4-heptadienal i 2,4-nonadienal. Druga skupina najzastupljenijih spojeva, fenoli zaslužni su za aromu dimljenih proizvoda, a slijede ih alkoholi koji stvaraju biljnu, drvenastu notu. Tvorba razgranatih alkohola povezana je sa udjelom NaCl. Ukoliko je NaCl reduciran ili zamijenjen drugim formulacijama, nastat će više razgranatih alkohola koji će pridonositi ukupnoj aromi pršuta. Dodatak drugih formulacija poput KCl, CaCl₂ i MgCl₂ produžuje proces zrenja pršuta budući da usporava difuziju soli i pad aktiviteta vode (Aliño i sur., 2010). Esteri se pojavljuju pri kraju zrenja u pršutu, a mogu nastati interakcijom slobodnih masnih kiselina sa alkoholom, stoga što je veći sadržaj alkohola, nastat će i više

estera. Esteri stvaraju voćne note koje rezultiraju slatkastom aromom pršuta (Marušić i sur., 2014). Općenito, dimljeni pršuti pokazuju veći sadržaj fenola i aromatskih ugljikovodika, a nedimljeni pršuti imaju veći udio terpena, ketona, alkohola, estera i alifatskih ugljikovodika.

3. ZAKLJUČCI

1. Prilikom proizvodnje pršuta u njemu se odvijaju mnogobrojne biokemijske reakcije katalizirane enzimima. Iako sadržaj enzima najviše ovisi o kvaliteti sirovine, njihova aktivnost ovisi o uvjetima prerade svinjskih butova, odnosno proizvodnji pršuta. Jedan od glavnih čimbenika koji utječe na njihovu aktivnost je NaCl. Prosječan udio NaCl u pršutima kreće se između 4 i 6 %, ovisno o tipu pršuta.

2. Najznačajniji enzimi odgovorni za razvoj teksture i okusa pršuta su proteinaze (katepsini i kalpain) i lipaze (osobito kisela lipaza mišićnog tkiva). Na kiselu lipazu NaCl djeluje aktivirajuće, a na većinu ostalih enzima djeluje inhibirajuće. Ukoliko je u pršutu previsoka aktivnost proteinaza i prijeto opasnost od nastanka pretjerano mekanog proizvoda, to se može spriječiti dodatkom povećane koncentracije NaCl. Prilikom toga valja uzeti u obzir i da što je veći udio masnog tkiva u pršutu, to će sol teže difundirati u njega.

3. Konačnu aromu pršuta čine hlapljivi i nehlapljivi spojevi koji su većim dijelom nastali proteolizom, lipolizom i oksidacijom. Najznačajnije nehlapljive komponente pršuta su slobodne aminokiseline i peptidi nastali proteolizom proteina. Od hlapljivih komponenti najznačajniji su aldehidi, ketoni, alkoholi, esteri, terpeni i fenoli, a njihov omjer varira ovisno o tipu pršuta.

4. POPIS LITERATURE

Aliño M, Grau R, Fuentes A, Barat JM (2010) Influence of low-sodium mixtures of salts on the post-salting stage of dry-cured ham process. *J Food Eng* **99**, 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.02.020>

Aristoy MC, Toldrá F (1995) Isolation of flavor peptides from raw pork meat and dry-cured ham. U: Bredie WLP, Petersen MA (ured.) *Flavour Science Recent Advances and Trends* 43, Elsevier science, Amsterdam, str. 1323–1344.

Belitz HD, Grosch W, Schieberle P (2009) *Food Chemistry*, 4. izd., Springer, Berlin.

Bosi P, Russo V (2004) The production of the heavy pig for high quality processed products. *Ital J Anim Sci* **3**, 309–321. <https://doi.org/10.4081/ijas.2004.309>

Čandek-Potokar M, Škrlep M (2012) Factors in pig production that impact the quality of dry-cured ham: A review. *Animal* **6**, 327–338. <https://doi.org/10.1017/S1751731111001625>

Fulladosa E, Muñoz I, Serra X, Arnau J, Gou P (2015) X-ray absorptiometry for non-destructive monitoring of the salt uptake in bone-in raw hams during salting. *Food Control* **47**, 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.023>

Girard, JP (1992) *Technology of meat products*. Ellis Horwood Limited, England.

Gonzalez CB, Ockerman HW (2000) Dry-cured Mediterranean hams: Long process, slow changes and high quality: A review. *J Muscle Foods* **11**, 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2000.tb00411.x>

Graiver N, Pinotti A, Califano A, Zaritzky N (2006) Diffusion of sodium chloride in pork tissue. *J Food Eng* **77**, 910–918. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.08.018>

Håseth TT, Sørheim O, Høy M, Egelanddal B (2012) Use of computed tomography to study raw ham properties and predict salt content and distribution during dry-cured ham production. *Meat Sci* **90**, 858–864. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.11.029>

Krvavica M (2006) Čimbenici kakvoće pršuta. *Prvi hrvatski časopis o mesu*, **8**(5), 279–290.

Krvavica M, Lukić A (2007) Aktivnost proteolitičkih i lipolitičkih enzima tijekom proizvodnje pršuta. *MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu*, **9**(3), 158–162.

Larrea V, Hernando I, Quiles A, Lluch MA, Pérez-Munuera I (2006) Changes in proteins during Teruel dry-cured ham processing. *Meat Sci* **74**, 586–593. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.009>

Marušić N, Vidaček S, Janči T, Petrak T, Medić H (2014) Determination of volatile compounds and quality parameters of traditional Istrian dry-cured ham. *Meat Sci* **96**, 1409–1416. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.12.003>

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**, 4093–4105. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2418-2>

Medić H, Djurkin Kušec I, Pleadin J, Kozačinski L, Njari B, Hengl B, Kušec G (2018) The impact of frozen storage duration on physical, chemical and microbiological properties of pork. *Meat Sci* **140**, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.006>

Motilva M-J, Toldrá F (1993) Effect of curing agents and water activity on pork muscle and adipose subcutaneous tissue lipolytic activity. *Z Lebensm Unters Forsch* **196**, 228–232. <https://doi.org/10.1007/BF01202737>

Pravilnik (2018) Pravilnik o mesnim proizvodima. Narodne novine 62, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018_07_62_1292.html Pristupljeno 9. svibnja 2024.

Sárraga C, Gil M, Arnau J, Monfort JM, Cussó R (1989) Effect of curing salt and phosphate on the activity of porcine muscle proteases. *Meat Sci* **25**, 241–249. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(89\)90042-9](https://doi.org/10.1016/0309-1740(89)90042-9)

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. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.006>

Toldrá F (1998) Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Sci* **49**, 101–110. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)90041-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90041-9)

Toldrá F, Flores M (1998) The Role of Muscle Proteases and Lipases in Flavor Development During the Processing of Dry-Cured Ham: Crit Rev. *Food Sci Nutr* **38**, 331–352. <https://doi.org/10.1080/10408699891274237>

Toldrá F, Flores M, Sanz Y (1997) Dry-cured ham flavour: enzymatic generation and process influence. *Food Chem* **59**, 523–530. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00013-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00013-7)

Visy A, Hidas KI, Surányi J, Jónás G, Friedrich L (2021) Monitoring of salt content during the dry salting of ham. *Prog Agric Eng Sci* **16**, 45–54. <https://doi.org/10.1556/446.2020.20006>

Žlender B (2009) Smanjenje koncentracije soli u mesnim proizvodima. *MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu* **11**(3), 189–195.

Izjava o izvornosti

Ja Iva Liović izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.


Vlastoručni potpis