

# Određivanje fizikalno kemijskih parametara i stupnja proteolize u dimljenom pršutu

---

**Turk, Martina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

*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:159:614430>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-15**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2018

Martina Turk

907/PI

**ODREĐIVANJE FIZIKALNO-  
KEMIJSKIH PARAMETARA I  
STUPNJA PROTEOLIZE 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 dr.sc. Nives Marušić Radovčić, doc. Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

*Zahvaljujemo se Hrvatskoj zakladi za znanost koja je omogućila sredstva za ovo istraživanje u sklopu projekta "Primjena inovativnih metoda u praćenju proteolitičkih, lipolitičkih i oksidativnih procesa tijekom proizvodnje pršuta, IM-HQHAM " ( IP-2016-06-6793).*

*Zahvaljujem se svojoj mentorici doc.dr.sc. Nives Marušić Radovčić na stručnoj pomoći, strpljenju i vodstvu prilikom izrade i pisanja ovog Diplomskog rada.*

*Posebno hvala mojim roditeljima, bratu i sestri kojima i posvećujem ovaj Diplomski rad. Hvala Vam što ste mi omogućili studiranje i što ste sve ove godine bili uz mene, podržavali me, imali razumijevanja i vjerovali u mene čak i kada ja sama to nisam. Hvala Vam na beskonačnom strpljenju i ljubavi.*

## 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

### ODREĐIVANJE FIZIKALNO-KEMIJSKIH PARAMETARA I STUPNJA PROTEOLIZE U DIMLJENOM PRŠUTU

*Martina Turk, 907/PI*

**Sažetak:** Cilj ovog rada bio je odrediti fizikalno-kemijske parametre: udio soli, proteina, boju i teksturu u uzorcima dimljenog pršuta, te stupanj proteolitičkih procesa što uključuje udio proteinskog i neproteinskog dušika, koncentraciju karbonila te indeks proteolize. Boja je određena spektrofotometrom, tekstura teksturometrom, proteinski (N) i neproteinski dušik (NPN) metodom po Kjeldahlu, udio soli metodom po Mohru, koncentracija karbonila DNPH metodom, a indeks proteolize određen je kao NPN/N omjer. Udio soli kretao se u rasponu od 6,64-9,63 %, udio ukupnih proteina 29,91-38,60%, udio proteinskog dušika 4,79-6,18% te udio neproteinskog dušika 1,10-2,71%. L\* vrijednost iznosila je od 48,11-54,79, a\* vrijednost 3,48-6,70 te b\* vrijednost 5,49-8,58. Dobiveni rezultati pokazuju da dimljeni pršuti s višim indeksom proteolize imaju manju tvrdoću. Također uzorci s većim udjelom soli sadrže manju koncentraciju karbonila tj. manji stupanj oksidacije proteina zbog konzervirajućeg djelovanja NaCl.

**Ključne riječi:** dimljeni pršut, proteini, karbonili, indeks proteolize, tekstura

**Rad sadrži:** 53 stranice, 5 slika, 13 tablica, 75 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

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

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. Prof.dr.sc. *Helga Medić*
2. Doc.dr.sc. *Nives Marušić Radovčić*
3. Prof.dr.sc. *Nada Vahčić*
4. Prof.dr.sc. *Ksenija Marković* (zamjena)

**Datum obrane:** 19. srpnja 2018.

## 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

### THE DETERMINATION OF PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS AND THE LEVEL OF PROTEOLYSIS IN SMOKED DRY-CURED HAM

*Martina Turk, 907/PI*

**Abstract:** The aim of this paper was to determine the physico-chemical parameters: salt and protein content, color and texture and the level of proteolytic processes including protein and nonprotein nitrogen, concentration of carbonyls and the proteolysis index in samples of smoked dry-cured ham. The color was determined by a spectrophotometer, texture by texture analyzer, protein (N) and nonprotein nitrogen (NPN) by Kjeldahl method, salt content by Mohr method, concentration of carbonyls by DNPH method and the proteolysis index as the NPN/N ratio. Salt content ranged from 6,64 to 9,63%, total protein content from 29,91-38,60%, protein nitrogen content from 4,79-6,18% and non-protein nitrogen content from 1,10-2,71%. L\* value ranges from 48,11 to 54,79, a\* value from 3,48 to 6,70 and b\* value from 5,49 to 8,58. Obtained results showed that samples of smoked dry-cured hams with higher proteolysis index had lower hardness. Also samples with higher salt content had lower concentration of carbonyls therefore lower protein oxidation due to the conservation effect of NaCl.

**Keywords:** smoked dry-cured ham, proteins, carbonyls, proteolysis index, texture

**Thesis contains:** 53 pages, 5 figures, 13 tables, 75 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*

**Reviewers:**

1. PhD. *Helga Medić*, Full professor
2. PhD. *Nives Marušić Radovčić*, Assistant professor
3. PhD. *Nada Vahčić*, Full professor
4. PhD. *Ksenija Marković*, Full professor (substitute)

**Thesis defended:** 19 July 2018

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
2.1. PODJELA MESNIH PROIZVODA .....	3
2.1.1. Suhomesnati proizvodi .....	3
2.1.2. Trajni suhomesnati proizvodi .....	4
2.1.3. Pršut .....	5
2.2. DALMATINSKI PRŠUT .....	6
2.2.1. Opća definicija .....	6
2.2.2. Opis sirovine .....	6
2.2.3. Tehnološki postupak proizvodnje Dalmatinskog pršuta .....	7
2.2.3.1. <i>Soljenje pršuta</i> .....	7
2.2.3.2. <i>Prešanje butova</i> .....	8
2.2.3.3. <i>Dimljenje i sušenje pršuta</i> .....	8
2.2.3.4. <i>Zrenje pršuta</i> .....	8
2.2.3.5. <i>Pakiranje i način stavljanja na tržište</i> .....	9
2.2.3.6. <i>Opis gotovog proizvoda</i> .....	9
2.3. KVALITETA PRŠUTA .....	10
2.3.1. Boja .....	10
2.3.2. Tekstura .....	11
2.4. OKSIDACIJA PROTEINA .....	11
2.4.1. Proteinska karbonilacija .....	13
2.4.2. Proteoliza .....	14
2.4.3. Indeks proteolize .....	16
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>17</b>
3.1. MATERIJALI .....	17
3.1.1. Uzorci .....	17
3.1.2. Priprema uzorka za analizu .....	18
3.2. METODE RADA .....	18
3.2.1. Određivanje boje .....	18
3.2.2. Određivanje teksture .....	19
3.2.3. Određivanje natrijeva klorida metodom po Mohru .....	20
3.2.4. Određivanje karbonila DNPH metodom .....	21
3.2.5. Određivanje udjela proteina .....	24
3.2.5.1. <i>Određivanje proteinskog dušika</i> .....	25
3.2.5.2. <i>Određivanje neproteinskog dušika</i> .....	26
3.2.6. Statistička obrada podataka .....	27
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>28</b>
4.1. Boja .....	29
4.2. Tekstura .....	31
4.3. NaCl .....	36
4.4. Proteini, proteinski i neproteinski dušik .....	38
4.5. Indeks proteolize .....	40
4.6. Karbonili .....	41
4.7. Utjecaj udjela soli na teksturu i proteolitičke promjene .....	44
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>46</b>
<b>6. LITERATURA</b> .....	<b>47</b>



# 1. UVOD

Pršut je trajni suhomesnati proizvod čija je proizvodnja tradicionalno vezana za mediteranske zemlje kao što su Italija, Španjolska, Francuska, Portugal i Hrvatska. Kombinacija različitih čimbenika poput genetske osnove, načina uzgoja, dobi, tjelesne mase te prehrane svinja, klimatskih uvjeta, kakvoće buta, načina obrade buta i sama tehnologije prerade dovela je do pojave velikog broja različitih vrsta pršuta (Krvavica i Đugum, 2006).

Dalmatinski pršut je trajan suhomesnati proizvod od svinjskog buta s kosti, kožom i potkožnim masnim tkivom, bez zdjeličnih kosti, suho soljen morskom soli, dimljen blagim izgaranjem tvrdog drva bukve, hrasta ili graba te podvrgnut procesu sušenja i zrenja u trajanju od najmanje godinu dana. Gotov proizvod se odlikuje osebujnom aromom, blagim slanim okusom, jednoličnom crvenom bojom mesa i poželjnom konzistencijom (Udruga Dalmatinski pršut, 2015).

Proteoliza je značajan niz biokemijskih reakcija u tkivima pršuta, koje sudjeluju u stvaranju karakteristične ukupne arome, okusa i mirisa tijekom procesa prerade, te je glavna značajka endogenih enzimskih sustava u tkivima pršuta (Toldrá i Flores, 1998). Posljedica prekomjerne proteolize je mekša konzistencija pršuta, zbog razgradnje miofibrilarnih proteina koji grade mišićnu strukturu, te slaba ocjena organoleptičkih osobina samih pršuta (Parolari i sur., 1994). Intenzitet proteolize može se kvantificirati kroz indeks proteolize koji predstavlja odnos neproteinskog i ukupnog dušika, te je dobar pokazatelj njezinog intenziteta (Harkouss i sur., 2015). Kao rezultat proteolize dolazi i do oksidativne modifikacije proteina koja rezultira promjenama izazvanim reaktivnim intermedijtima slobodnih radikala ili njihovim krajnjim produktima tijekom koje proteini mijenjaju primarnu strukturu, kao posljedicu modifikacije pojedinih aminokiselina, ili dolazi do kompletnog gubitka neke aminokiseline (Xiong, 2000). Oksidacija proteina može negativno utjecati na boju, teksturu i nutritivnu vrijednost proizvoda od mesa (Huff-Lonergan i sur., 2010). Rezultat oksidacije proteina je karbonilacija tj. ireverzibilna modifikacija proteina koja dovodi do nastanka proteinskih karbonila, aldehida i ketona (Estevez i Heinonen, 2010). Direktna oksidacija lanaca osjetljive aminokiseline koristi se kao glavni način za proteinsku karbonilaciju i kao glavni izvor direktnog oksidativnog napada na proteine (Shacter, 2000; Stadtman i Levine, 2003).

Stoga je cilj ovog rada odrediti fizikalno-kemijske parametre: udio soli i proteina, boju i teksturu u uzorcima dimljenog pršuta, te stupanj proteolitičkih procesa što uključuje udio

proteinskog i neproteinskog dušika, koncentraciju karbonila i indeksa proteolize. Boja će se odrediti pomoću spektrofotometra, a tekstura pomoću teksturometra. Udio proteinskog, neproteinskog dušika kao i udio ukupnih proteina odredit će se metodom po Kjeldahlu, udio soli metodom po Mohru, koncentracija karbonila DNPH metodom, dok će se indeks proteolize odrediti kao odnos neproteinskog i ukupnog dušika.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. PODJELA MESNIH PROIZVODA**

Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (Pravilnik, 2012) glavna sistematizacija mesnih proizvoda određena je na sljedeći način: (1) proizvodi od cijelih ili rezanih komada ili mljevenog mesa, (2) kobasice, (3) suhomesnati proizvodi, (4) gotova jela od mesa, (5) mesni proizvodu u komadima, (6) mesni proizvodi u vlastitom soku, (7) proizvodi od usitnjenog mesa, (8) slanina, (9) čvarci i (10) ostali mesni proizvodi. Svaka od navedenih skupina mesnih proizvoda dijeli se još i na podskupine ovisno o vrsti proizvoda, samom tehnološkom načinu prerade, trajnosti i dr.

Lakše čuvanje, duži rok trajanja, smanjen rizik od kvarenja i kaliranja te općenito veća prihvaćenost od strane samih potrošača samo su neke od prednosti mesnih proizvoda u usporedbi sa svježim mesom.

Međutim u proizvodnji mesnih proizvoda najvažnija je tehnološka sistematizacija koja mesne proizvode dijeli na: proizvode od sirovog (nesalamurenog) mesa, sušene mesne (suhomesnate) proizvode, termički obrađene mesne proizvode, dehidrirane mesne proizvode i mesne specijalitete (Kovačević, 2001).

#### **2.1.1. Suhomesnati proizvodi**

Suhomesnati proizvodi su proizvodi od različitih vrsta mesa u komadima s pripadajućim kostima, potkožnim masnim tkivom i kožom ili bez njih uz dodatak dodatnih sastojaka, koji se konzerviraju postupcima soljenja, salamurenja, sušenja i zrenja, sa ili bez toplinske obrade ili dimljenja.

Na osnovi tehnološkog postupka proizvodnje i načina konzerviranja, suhomesnati proizvodi mogu biti: trajni suhomesnati proizvodi i polutrajni suhomesnati proizvodi (Pravilnik, 2012).

Glavna razlika između polutrajnih i trajnih suhomesnatih proizvoda je u vrsti toplinske obrade. U proizvodnji polutrajnih suhomesnatih proizvoda uz soljenje ili salamurenje provodi se i toplo dimljenje, dok se kod tehnološkog postupka proizvodnje trajnih suhomesnatih

proizvoda ne primjenjuje toplinska obrada, već se uz soljenje ili salamurenje provodi sušenje i eventualno hladno dimljenje te je sam postupak proizvodnje dugotrajniji (Kovačević, 2001).

### 2.1.2. Trajni suhomesnati proizvodi

Trajni suhomesnati proizvodi su proizvodi od različitih vrsta mesa u komadima s pripadajućim kostima, potkožnim masnim tkivom i kožom ili bez njih i dodatnih sastojaka, koji se konzerviraju postupcima soljenja, salamurenja, sušenja i zrenja, sa ili bez dimljenja, do stupnja primjerenog za konzumaciju bez prethodne toplinske obrade te se mogu puniti u odgovarajuće ovitke.

Prilikom stavljanja na tržište trajni suhomesnati proizvodi moraju zadovoljiti sljedeća senzorska svojstva:

- površina treba biti suha i čista ili s mjestimičnim manjim naslagama plijesni u tankom sloju, a proizvodi s kožom moraju imati kožu svijetle do tamnosmeđe boje, bez zasjeka i drugih oštećenja
- moraju biti dovoljno osušeni, a vanjski izgled, izgled presjeka, miris, okus, konzistencija i tekstura moraju odgovarati zreлом proizvodu i vrsti mesa, a ako su dimljeni moraju imati miris i okus na dim
- moraju biti što pravilnijeg oblika, uredno obrezanih rubova i bez zasjeka
- mesnati dijelovi moraju biti svijetlocrvene do tamnocrvene boje, a periferni dijelovi mogu biti tamnije boje
- masno tkivo mora biti čvrsto i bijele boje, a površinski slojevi mogu imati žućkastu nijansu.

Trajni suhomesnati proizvodi od svinjskog mesa proizvode se i stavljaju na tržište pod nazivima: pršut, suha šunka, suha lopatica, suha vratina, kraška vratina, buđola, suha svinjska pečena ili pod drugim nazivima sukladno članku 5. stavku 3. Pravilnika o mesnim proizvodima (Pravilnik, 2012).

Trajni suhomesnati proizvodi podvrgavaju se dugom procesu sušenja, koji dovodi do sniženja  $a_w$  (maksimalno 0,93) i pH pri čemu se stvara snažan konzervirajući učinak te se formiraju želirajuća svojstva proizvoda (Kovačević, 2001).

### 2.1.3. Pršut

U prošlosti, najčešće upotrebljavana latinska riječ za oznaku svinjskog buta i nožice je bila “perna”. Kasnije se koristio termin “prosciutto” (Dall'Olio, 1989). Izraz “prosciutto” etimološki potiče od latinskog “prae exuctus” što znači jako suh, prosušen, u pučkom jeziku prelazi u “perexuctus” pa sve do “presciutto” koji u italijaniziranom toskanskom prelazi u “prosciuto” (Comi i Duratti, 1993).

Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (Pravilnik, 2012) pršut je zapravo trajni suhomesnati proizvod dobiven od svinjskog buta sa kostima, sa ili bez kože i potkožnog masnog tkiva, sa ili bez nogice, bez repa, sa ili bez zdjeličnih kostiju, sa ili bez dodatka začina, koji se konzervira postupkom suhog soljenja ili salamurenja sa ili bez dimljenja, podvrgnut procesima sušenja i zrenja u trajanju od najmanje 9 mjeseci, a koji se nakon sušenja i zrenja može stavljati na tržište otkošten.

Sastoji se od 3 dijela koje čine slijedeći mišići: prvi dio je *M. quadriceps femoris* (autohtoni naziv „frikado“), drugi dio čine *M. biceps femoris*, *M. semitendinosus* i *M. semimembranosus* (autohtoni naziv „kana“) te treći dio koji čini *M. triceps surae* (autohtoni naziv „gornji mišić“) (Petrač i sur., 1987).

Proizvodnja pršuta tradicionalno je vezana uz mediteranske zemlje poput Italije, Španjolske, Francuske, Portugala i Hrvatske zbog posebnih klimatskih uvjeta koji prevladavaju u tim zemljama, a koji ujedno pogoduju prirodnom sušenju i zrenju pršuta. Najpoznatije talijanske vrste pršuta su Prosciutto di Parma, Prosciutto di Carpegana, Prosciutto di Modena, Prosciutto di San Daniele, Prosciutto Toscano i Prosciutto Ve netto Berico-Euganeo. U Španjolskoj su to iberijski Guijuelo, Teruel pršut i Serrano pršut, a u Francuskoj Jambon de Bayonne i Corsican pršut. Naši tradicionalni Dalmatinski, Istarski, Drniški i Krčki pršuti ni malo ne zaostaju po kvaliteti od navedenih pršuta.

Kombinacija različitih čimbenika poput pasmine odnosno genetske osnove, načina uzgoja, dobi, tjelesne mase te prehrane svinja, klimatskih uvjeta, kakvoće buta, načina obrade buta, tehnologije prerade i dr. dovela je do pojave velikog broja različitih vrsta pršuta (Krvavica i Đugum, 2006). Zbog njihove visoke cijene i tržišne vrijednosti, visoke kakvoće i poznatog podrijetla, udruženja proizvođača su radi zaštite svojih proizvoda odredila kriterije za proizvodnju koji su kasnije i zakonom definirani.

Europska Komisija osnovala je registar za upis određenih prehrambenih proizvoda s ciljem njihove zaštite:

- Registar proizvoda izvornog podrijetla, Protected Designation of Origin - PDO
- Registar proizvoda zaštićene zemljopisne oznake, Protected Geographical Indication - PGI
- Registar proizvoda s garancijom tradicionalne kakvoće, Traditional Speciality Guaranteed - TSG.

Pršute kontrolira konzorcij, poput Parma konzorcija ili Serrano zaklada, koji nadgleda poštuju li se zadani parametri proizvodnje (Toldrá, 2010).

Svi hrvatski pršuti (Dalmatinski, Istarski, Drniški i Krčki) su zaštićeni na razini Europske unije, pa tako Istarski pršut ima PDO oznaku izvornog podrijetla (PDO- Protected Designation of Origin), dok Dalmatinski, Drniški i Krčki pršutu nose PGI oznaku zaštićene zemljopisne oznake (PGI-Protected Geographical Indication).

## **2.2. DALMATINSKI PRŠUT**

### 2.2.1. Opća definicija

Dalmatinski pršut je trajan suhomesnati proizvod od svinjskog buta s kosti, kožom i potkožnim masnim tkivom, bez zdjeličnih kosti, suho soljen morskom soli, dimljen blagim izgaranjem tvrdog drva bukve (*Fagus sp.*), hrasta (*Quercus sp.*) ili graba (*Carpinus sp.*) te podvrgnut procesu sušenja i zrenja u trajanju od najmanje godinu dana (Udruga Dalmatinski pršut, 2015).

Tradicionalan je proizvod seoskih gospodarstava pogotovo Dalmatinske zagore (područje Drniša, Knina, Sinja, Imotskog i zaleđa Šibenika, Zadra i Omiša) (Krvavica i Đugum, 2006).

### 2.2.2. Opis sirovine

Dalmatinski pršut smije se proizvoditi od svježih butova s kosti dobivenih od svinja koje su potomci komercijalnih mesnatih pasmina, križanaca ili linija odnosno njihovih križanaca u bilo kojoj kombinaciji.

But mora biti odvojen od svinjske polovice između zadnjeg slabinskog kralješka (v. *lumbales*) i prvog križnog kralješka (v. *sacrales*). U njemu se ne smiju nalaziti zdjeljene kosti, odnosno bočna kost, sjedna, križna kost te moraju biti odstranjeni repni kralješci. U muskulaturi buta mora ostati samo dio sjedne kosti s hrskavicom, a sama muskulatura mora biti pravilno polukružno zaobljena tako da proksimalni rub obrađenog buta bude cca 8 do 10 cm udaljen od glave bedrene kosti. But nema nogicu koja je odvojena u skočnom zglobu. But se veže ili vješa za sušenje iznad same petne kvrge (*tuber calcanei*). S medijalne i lateralne strane but ima kožu i potkožno masno tkivo. Masa obrađenog buta mora iznositi najmanje 11 kg.

Što se tiče kvalitete mesa, na svježem butu ne smije biti nikakvih vidljivih znakova bilo kakvih traumatskih procesa. Meso buta mora biti crvenkasto-ružičaste boje, kompaktne strukture i suhe površine. Zabranjena je uporaba blijedog, mekanog i vodenastog mesa ili tamnog, suhog i tvrdog mesa. U trenutku ulaska buta u pršutanu, pH vrijednost, mjerena u području poluopnastog mišića (*m. semimembranosus*), treba iznositi između 5,5 i 6,1.

Debljina slanine s kožom na vanjskom dijelu svježeg obrađenog buta treba iznositi najmanje 15 mm, a poželjno je da debljina slanine s kožom bude 20 - 25 mm. Prekrivenost mašću mora biti takva da onemogući odvajanje kože od mišića koji se nalaze ispod nje.

Svježi butovi ne smiju biti podvrgnuti bilo kojem postupku konzerviranja osim hlađenja što znači da se u fazama skladištenja i transporta moraju čuvati na temperaturi u rasponu od 1 do 4 °C. Vrijeme koje smije proteći od klanja svinja do početka soljenja buta ne smije biti kraće od 24 ni dulje od 96 sati. (Udruga Dalmatinski pršut, 2015)

### 2.2.3. Tehnološki postupak proizvodnje Dalmatinskog pršuta

Postupak proizvodnje Dalmatinskog pršuta započinje kontrolom kvalitete sirovine, odnosno izborom samo onih svježih butova čija fizikalno-kemijska i senzorska svojstva zadovoljavaju odgovarajuće propisane zahtjeve.

#### 2.2.3.1. Soljenje pršuta

Faza soljenja je najkritičnija u tehnološkom procesu proizvodnje pršuta i zbog toga vrlo važno održavati nisku temperatura da ne dođe do neželjenih posljedica poput smrdljivog zrenja. Postupak soljenja se obavlja u čistoj prostoriji pri temperaturi 2-6 °C, relativnoj vlazi

zraka višoj od 80 % i to isključivo samo morskom soli. Nije dozvoljena upotreba nikakvih konzervansa, začina niti aditiva. Radi brzog i ravnomjernog prodiranja soli u mišićje najvažnije je da butovi imaju istu temperaturu od 1-4 °C. Sami butovi se dobro natrljaju suhom soli po cijeloj površini te se ostave ležati s medijalnom stranom okrenutom prema gore. Nakon 7-10 dana butovi se ponovno natrljaju sa soli, okrenu na suprotnu stranu i polože se ležati idućih 7-10 dana.

#### *2.2.3.2. Prešanje butova*

Osnovni cilj faze prešanja je pravilno oblikovanje pršuta što je posebno važno za one pršute koji se stavljaju na tržište u cjelovitom obliku s kosti. Prešanje se odvija na temperaturi 2-6 °C i relativnoj vlazi zraka višoj od 80 % tako da se butovi slože u redove između ploča i opterete. Samo prešanje traje 7-10 dana nakon čega se butovi isperu čistom vodom i ocijede te su spremni za dimljenje, sušenje i zrenje. Ako se postupak prešanja izostavi, tada se usoljeni butovi 14-20 dana od soljenja, ostave ležati još 7-10 dana bez preslagivanja, nakon čega se isperu čistom vodom i ocijede.

#### *2.2.3.3. Dimljenje i sušenje pršuta*

Butovi se vežu špagom ili se vješaju na kuku od nehrđajućeg čelika iznad petne kvrge (*tuber calcanei*) i prenašaju u drugu, besprijekorno čistu komoru radi ujednačavanja temperature prije dimljenja. Komora mora imati otvore za zrak zaštićene mrežicom da se sprječi ulazak kukaca. Nakon izjednačavanja temperature soljenih i ocijedenih butova sa temperaturom komore slijedi faza dimljenja koja se vrši uporabom hladnog dima dobivenog izgaranjem tvrdog drva ili piljevine bukve, hrasta ili graba. Ako se dimljenje vrši na klasičan način s otvorenim ložištem, potrebno je pratiti temperaturu prostorije za dimljenje koja ne smije prijeći 22 °C. Dimljenje i sušenje pršuta traje do najviše 45 dana.

#### *2.2.3.4. Zrenje pršuta*

Faza zrenja se odvija u zamračenoj prostoriji sa stabilnom mikroklimom koja ima otvore za izmjenu zraka radi pravilnog odvijanja samog procesa. Svi otvori moraju biti zaštićeni gustom mrežicom da se onemogući ulaz bilo kakvog nametnika. U samoj prostoriji temperatura ne bi smjela prelaziti 20 °C, a relativna vlaga zraka bi trebala biti ispod 90 %. U takvim mikroklimatskim prilikama pršuti ravnomjerno gube vlagu i pravilno zriju, postiže se lijepa boja i optimalna harmonija mirisa i okusa u samim pršutima. Tijekom ove faze



dozvoljeno je „štukovati“ pukotine nastale na medijalnoj strani pršuta smjesom napravljenom od usitnjenog svinjskog sala pomiješanog pšeničnim ili rižinim brašnom uz dodatak soli. Nakon godinu dana od dana početka soljenja pršut je zreo i spreman za konzumaciju.

#### *2.2.3.5. Pakiranje i način stavljanja na tržište*

Proizvod s oznakom zemljopisnog podrijetla Dalmatinski pršut smije se stavljati na tržište samo po završetku posljednje faze proizvodnje i nakon što je certifikacijsko tijelo utvrdilo sukladnost proizvoda sa specifikacijom. Proizvod se na tržište smije stavljati kao cijeli pršut ili u komadima.

#### *2.2.3.6. Opis gotovog proizvoda*

Gotov proizvod se odlikuje osebujnom aromom, blagim slanim okusom, jednoličnom crvenom bojom mesa i poželjnom konzistencijom. Dalmatinski pršut ne smije sadržavati nikakve dodatke (nitrite, nitrate, kalijev sorbat, askorbinsku i propionsku kiselinu) osim morske soli.

U trenutku stavljanja na tržište Dalmatinski pršut mora posjedovati slijedeća senzorska svojstva:

- vanjski izgled – pršut mora biti pravilno oblikovan, bez pukotina, zarezotina i visećih dijelova mišića i kože, te bez velikih nabora na koži
- presjek: potkožno masno tkivo mora biti bijele do ružičasto-bijele boje, a mišićno tkivo jednolične crvene do svijetlocrvene boje
- miris: ugodne arome na fermentirano, usoljeno, suho i dimljeno svinjsko meso, bez stranih mirisa (katran, nafta, svježe meso, mokra ili suha trava); miris dima mora biti blago izražen
- okus: blago slankast ili slan; preslan pršut, kiselkasto gorak ili isprepletana i nedefinirana mješavina okusa nije dozvoljena
- žvakaća konzistencija: mekana, dok tvrda konzistencija nije prihvatljiva kao ni minimalna topivost.

Osim navedenih senzorskih svojstava, Dalmatinski pršut mora posjedovati slijedeća kemijska svojstva:

- sadržaj vode 40 do 55 %
- aktivnost vode ( $a_w$ ) ispod 0,93

- sadržaj soli (NaCl) 4,5 do 7,5 %.

Masa Dalmatinskog pršuta u trenutku stavljanja zajedničkog vrućeg žiga (postupak kojim se odobrava stavljanje pršuta na tržište) mora iznositi najmanje 6,5 kg. Zajednički znak Dalmatinskog pršuta (slika 2), koji se nanosi kao vrući žig, ima ovalni oblik pečata unutar kojeg se nalaze tri lavlje glave, a na gornjem vanjskom obodu piše „Dalmatinski pršut“.

(Udruga Dalmatinski pršut, 2015)



Slika 1. Dalmatinski pršut (Anonymous 1)



Slika 2. Grafički prikaz zajedničkog znaka dalmatinskog pršuta (Udruga Dalmatinski pršut, 2015).

## 2.3. KVALITETA PRŠUTA

### 2.3.1. Boja

Boja mesa ima važnu marketinšku ulogu i jedan je od najvažnijih senzorskih pokazatelja tržišne kvalitete mesa i mesnih proizvoda (Joo i sur., 1999; Senčić i Samac, 2016). Tipična crvena boja pršuta potječe od formiranja nitrozomioglobina, koji nastaje reakcijom dušikovog oksida s mioglobinom. Intenzitet boje se povećava s koncentracijom

mioglobina, veći je u mišićima starijih životinja (Rosell i Toldrá, 1998). Kada je pršut dimljen mogu se na pršutu pojaviti tamnije boje zbog pirolitičke razgradnje drva.

### 2.3.2. Tekstura

Tekstura proizvoda ne ovisi samo o razgradnji miofibrilalnih proteina već i o drugim čimbenicima kao što su duljina sušenja, razgradnja vezivnog tkiva, sadržaj intramuskularne masti. Razgradnja proteina je razlog omekšavanja mesa. Intenzivna razgradnja miofibrilarnih proteina je zamijećena tijekom sušenja pršuta. Proteolizi su podložni strukturni proteini, kao što su titin, nebulin i troponin T, miozin i aktinin (Toldrá i sur., 1993). Primjenom analize teksture proizlazi da pršuti s blijedim, mekanim i vedenastim mesom (PSE) imaju manju tvrdoću, elastičnost, kohezivnost i žvakljivost (Tabilo i sur., 1999).

## 2.4. OKSIDACIJA PROTEINA

U pogledu zastupljenosti u hrani i s prehrambenog aspekta proteini su najznačajniji predstavnici tvari s dušikom. Svaki protein ima različiti aminokiselinski sastav koji predstavlja njegovu najvažniju karakteristiku, a ujedno služi i kao kriterij vrijednosti tog proteina u prehrani (Koprivnjak, 2014). Prema položaju u mesu te topivosti proteini se mogu razvrstavati na: mišićne miofibrilarne proteine (nisu topivi u vodi, topivi u slabim otopinama soli), sarkoplazmatske (topivi u vodi) i stromatske ili vezivnotkivne (nisu topivi u vodi ni u slabim otopinama soli). Mišićni proteini su punovrijedni, dok proteini vezivnog tkiva imaju znatno manje esencijalnih aminokiselina. Kao glavni sastojak mišićnog tkiva, proteini igraju presudnu ulogu u mesnim proizvodima u pogledu osjetnih, prehrambenih i tehnoloških svojstava (Lawrie, 1998) i predmet su brojnih istraživanja fokusiranih na modifikacije nastale tijekom postmortalnih promjena, procesuiranja i skladištenja mesa i mesnih proizvoda.

Oksidacija proteina je jedan od glavnih uzroka za pogoršanje kvalitete tijekom prerade i skladištenja prehrambenog proizvoda (Stadman, 1990). Pojava oksidacije proteina u biološkim sustavima poznata je i izučavana već oko pedeset godina, dok je do unazad dvadeset godina uglavnom zanemarivana činjenica da su mišićni proteini iz hrane osjetljivi na reakcije oksidacije, što dovodi do potencijalnog oštećenja kvalitete mesa (Estévez, 2011).

Kemijske modifikacije nanese specifičnim bočnim lancima aminokiseline i/ili okosnici peptida, mogu dovesti do promjene fizičkih svojstava proteina, uključujući

fragmentacije, agregacije, gubitak topljivosti i funkcionalnosti te smanjenu osjetljivost na proteolizu. Reakcije modifikacije strukture proteina pod djelovanjem slobodnih radikala odvijaju se u *in vivo* uvjetima i odgovorne su za fiziološki proces starenja, degradacije i obnavljanja proteina, kao i za regulaciju aerobnog i anaerobnog metabolizma.

Oksidativna modifikacija proteina je promjena izazvana reaktivnim intermedijatima slobodnih radikala ili njihovim krajnjim produktima. Tijekom oksidativne modifikacije proteini mijenjaju primarnu strukturu, kao posljedicu modifikacije pojedinih aminokiselina, ili dolazi do kompletnog gubitka neke aminokiseline. Vrsta radikala koji se oslobađaju u reakcijama kao i dužina ekspozicije u velikoj mjeri utječu na stupanj i tip efekta na proteinima. Na temelju toga razlikujemo sljedeće modifikacije: (1) modifikacija primarne strukture proteina kao posljedica: modifikacije pojedinih aminokiselina, gubitka pojedinih aminokiselina, agregacije proteina i fragmentacije proteina, (2) modifikacija sekundarne i tercijarne strukture proteina koja dovodi do promjene rastvorljivosti (jača hidrofobnost ili hidrofilnost) i promjena naelektriziranosti (prema pozitivnijem ili prema negativnijem) (Xiong, 2000).

Proteini mesa osjetljivi su na reakcije oksidacije koje dovode do formiranja karbonilnih spojeva i upravo ta reakcija je označena kao jedna od najistaknutijih modifikacija oksidiranih proteina (Stadtman i Levine, 2003; Xiong, 2000).

Kao potencijalni inicijatori oksidacije proteina prepoznati su brojni reaktivni oblici kisika (engl. *Reactive Oxygen Species* - ROS) poput superoksida ( $O_2^*$ ), hidroperoksila ( $HO_2^*$ ) i hidroksil ( $HO^*$ ) radikala te druge neradikalne vrste poput vodikova peroksida ( $H_2O_2$ ) i hidroperoksida (ROOH) (Estévez, 2011).

Na oksidaciju proteina i aminokiselina utječu i brojni tehnološki čimbenici, uključujući temperaturu, aktivitet vode i pH vrijednost (Estevez i Heinonen, 2010). Hidrolitička razgradnja proteina tijekom proizvodnje suhomesnatih proizvoda igra važnu ulogu u tehnološkim i senzorskim aspektima kvalitete gotovog proizvoda (Ventanas i sur., 2007). Oksidacija proteina može negativno utjecati na teksturu i nutritivnu vrijednost proizvoda od mesa. Parametri teksture kao mekoća, sočnost i tvrdoća mogu biti promijenjeni oksidacijom proteina uslijed inaktivacije proteolitičkih enzima uključenih u mekšanje mesa i oksidativnih promjena miofibrilnih proteina i posljedično, njihove smanjene podložnosti proteolizi. Nutritivna vrijednost proizvoda s oksidiranim proteinima je smanjena uslijed

promjene aminokiselinskog profila, budući da formiranje proteinskih karbonila uključuje ireverzibilnu oksidativnu modifikaciju esencijalnih aminokiselina kao što su lizin, arginin i treonin (Huff-Lonergan i sur., 2010).

#### 2.4.1. Proteinska karbonilacija

Karbonilacija je ireverzibilna modifikacija proteina koja dovodi do nastanka proteinskih karbonila, aldehida i ketona (Estevez i Heinonen, 2010). U proteinima karbonili mogu biti formirani različitim načinima: (1) direktnom oksidacijom lanaca iz lizina, treonina, arginina i prolina (Requena i sur., 2001), (2) neenzimskom glikacijom u prisutnosti reducirajućih šećera (Akagawa i sur., 2006), (3) oksidativnim raspadom peptidne veze putem alfa amidiranja ili putem oksidacije lanaca glutamila (Berlett i Stadtman, 1997, Garrison, 1987) i (4) kovalentnom vezom za neproteinske karbonile poput 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) ili malondialdehid (MDA) (Soladoye i sur., 2015).

Između ova četiri načina, direktna oksidacija lanaca osjetljive aminokiseline koristi se kao glavni način za proteinsku karbonilaciju i kao glavni izvor direktnog oksidativnog napada na proteine (Shacter, 2000; Stadtman i Levine, 2003). Također, ovo je jedini mehanizam koji dokazano doprinosi karbonilima iz mesnih proteina (Estévez i sur., 2009; Estévez i Heinonen, 2010).

Formiranje karbonilnih derivata iz lizina, treonina, arginina i prolina, obično se pripisuje MCO sustavima (engl. *Metalcatalyzed Oxidation*). Prema ovom mehanizmu, reducirani oblici prijelaznih metala reducirali bi  $H_2O_2$  kako bi se formirali reaktivni intermedijari (hidroksil radikal) kroz Fenton reakciju u neposrednoj blizini osjetljive aminokiseline. Prisutnost metalnih vezivnih mjesta u proteinima objašnjava da su aminokiselinski ostaci, smješteni na takvim lokacijama, jedinstveno osjetljivi na MCO od strane specifičnog mehanizma za to mjesto (Stadtman i Levine, 2003). U ovom slučaju, neki autori smatraju da je MCO ograničen na metalna vezivna mjesta proteina pri blagim oksidacijskim uvjetima, dok bi gotovo svi ostaci aminokiselina bili afektirani pri visokim koncentracijama  $H_2O_2$  i metalnih iona poput  $Fe^{2+}$  i  $Fe^{3+}$  (De Laat i Gallard, 1999). Mnogo je znanstvenih dokaza koji podržavaju da su oba oblika željeza, reducirani i oksidirani, u mogućnosti promovirati *in vitro* formiranje proteinskih karbonila tijekom ROS posredovane reakcije (Soladoye i sur., 2015).

Kao posljedica MCO, treonin je konvertiran u alfa-amino-3-keto-butansku kiselinu, lizin u alfa-amino-adipin-polialdehid (AAS) i arginin i prolin u gama-glutamin-polialdehid (GGS). AAS i GGS originalno su korišteni kao biomarkeri za oksidativna oštećenja proteinima (Daneshvar i sur., 1997). Soladoye i sur. (2015) navode kako su dvanaest godina nakon izvješća Daneshvara i sur. (1997), u proteinima hrane oksidirane MCO sustavima pronađeni specifični protein karbonili AAS i GGS (Estévez i sur., 2009). AAS i GGS se smatraju podobnim pokazateljima oksidacije proteina jer predstavljaju do 60% ukupnih karbonilnih spojeva u sustavima hrane (Utrera i Estevez, 2013).

Osim prijelaznih metala, druge prirodne komponente mišića poput mioglobina (Mb) dokazano unaprjeđuju oksidaciju proteina i posebno proteinsku karbonilaciju (Estévez i Heinonen 2010). Karbonilacija proteina može se dogoditi u odsutnosti lipida, ali prateća pojava oksidacije proteina i lipida u mesu sugerira interakciju između te dvije reakcije (Estévez i sur., 2008).

Postoji velik broj metoda za detekciju karbonilnih skupina proteina. Najčešće korištena metoda koristi 2,4-dinitrofenilhidrazin, koji u reakciji s karbonilnom skupinom daje stabilni 2,4-dinitrofenil hidrazon. Ta skupina apsorbira ultraljubičastu svjetlost, tako da se ukupni karbonilni udio proteina može odrediti spektrofotometrijom (Dalle-Donne i sur., 2003).

#### 2.4.2. Proteoliza

Proteoliza je značajan niz biokemijskih reakcija u tkivima pršuta, koje sudjeluju u stvaranju karakteristične ukupne arome, okusa i mirisa tijekom procesa prerade. Proteolitička aktivnost glavna je značajka endogenih enzimskih sustava u tkivima pršuta. Oni uz limitirajuće čimbenike (pH, koncentracija soli i vlage itd.) stvaraju nepovoljne uvjete za rast mikroorganizama, te je i aktivnost mikrobnih enzima unutar pršuta beznačajna.

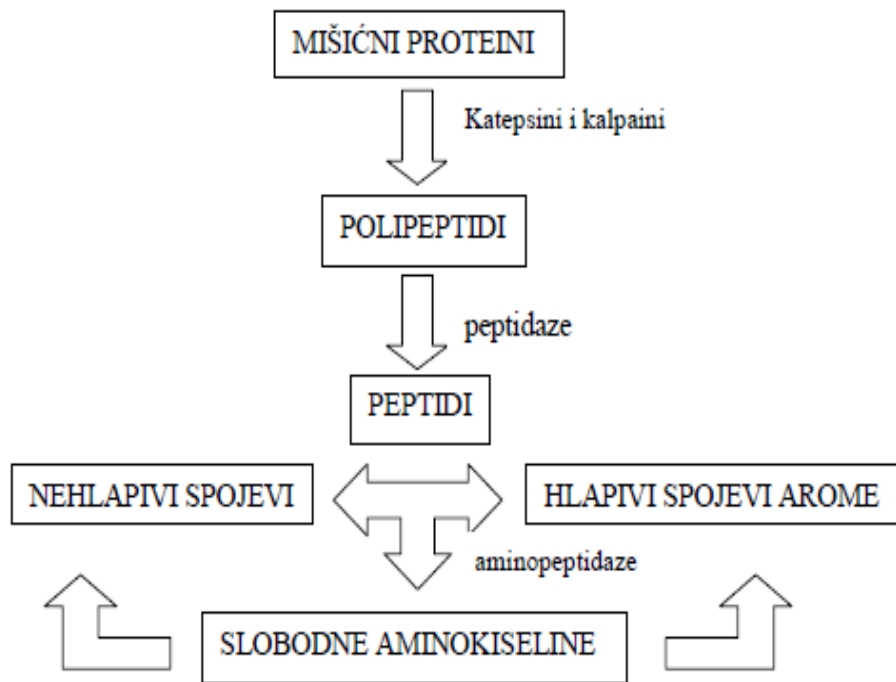
Važnost proteolize kao čimbenika kakvoće pršuta, očituje se na nekoliko načina. Proteoliza izravno sudjeluje u formiranju konzistencije pršuta temeljem razgradnje miofibrilarnih proteina koji grade mišićnu strukturu. Stvaranje peptida i slobodnih aminokiselina utječe na okus pršuta, a slobodne aminokiseline sudjeluju kao supstrat u budućim reakcijama, koje doprinose formiranju konačne arome i okusa pršuta, odnosno

djeluju kao prekursori arome i okusa. Najvažnije proteolitičke promjene, koje sudjeluju u stvaranju posebnog okusa i arome pršuta visoke kakvoće, događaju se jedino u produženom procesu zrenja i kod pršuta sa niskim udjelom soli (Toldrá i Flores, 1998). Tijek proteolize u pršutu može jako varirati ovisno o tipu pršuta, količini endogenih proteolitičkih enzima i specifičnim preradbenim uvjetima.

Proteolitički enzimi koji razgrađuju mišićno tkivo *post mortem* su mišićne proteaze (Toldrá, 2002) koje se dijele na endopeptidaze (proteinaze) i egzopeptidaze. Endopeptidaze hidroliziraju miofibrilarne proteine, stvaraju proteinske ostatake polipeptida te na taj način sudjeluju u postmortalnom omekšavanju mišićnog tkiva (Dransfield, 1994). Egzopeptidaze stvaranjem slobodnih aminokiselina sudjeluju u formiranju okusa i arome pršuta (Nishimura i sur., 1990). Najvažnije mišićne endopeptidaze su katepsini i kalpaini dok su najvažnije mišićne egzopeptidaze podijeljene na amino-, karboksi-, di-, tri-, dipeptidil- i tripeptidil-peptidaze.

Neki problemi vezani za konzistenciju i organoleptičke osobine pršuta povezani su s intenzitetom proteolize, odnosno s prekomjernom proteolizom. Prekomjerna proteoliza u pršutu vezana je s genetskom osnovom, hranidbom i dobi svinja, što može značajno utjecati na aktivnost nekih enzima, osobito viša razina katepsinske aktivnosti. Posljedica je mekša konzistencija pršuta i lošija ocjena organoleptičkih osobina pršuta (Parolari i sur., 1994). Povišena koncentracija peptida i slobodnih aminokiselina, kao rezultat prekomjerne proteolize, može uzrokovati neprijatan okus pršuta.

Povećanjem koncentracije soli smanjuje se stvaranje peptida (Martín i sur., 1998). Prekomjerno stvaranje slobodnih aminokiselina tijekom procesa prerade pršuta, rezultat je intenzivne proteolize u mišićnom tkivu. Najčešće se u većoj količini nalaze alanin, leucin, valin, arginin, lizin, glutaminska i asparaginska kiselina. Konačna koncentracija ovisi o duljini procesa prerade i tipu pršuta. Ponekad se kao rezultat pojačane proteolize može javiti pojačana produkcija peptida, osobito molekulske mase od 26.000 do 87.000 Da, koji uzrokuju stvaranje površinskog bijelog filma na reznoj površini pršuta (Toldrá i Flores, 1998) ili formiranje vidljivih bijelih kristala tirozina unutar mišićnog tkiva pršuta.



Slika 3. Proteoliza u mišićima post-mortem (Toldrà, 2002)

#### 2.4.3. Indeks proteolize

Harkouss i sur. (2014) kvantificirali proteolizu kroz indeks proteolize, u pet različitih svinjskih mišića, kao funkciju temperature i udjela vode te soli. Proteolitički indeks je dobar pokazatelj intenziteta proteolize, a određuje se fluorometrijski ili kao omjer neproteinskog i ukupnog dušika. Njegove vrijednosti rastu tijekom tehnološkog procesa proizvodnje šunke, a veće su u *biceps femoris* (BF) nego u *semimembranaceus* (SM) što se može objasniti većim udjelom vode u tom unutrašnjem mišiću pa tako i jačom proteolitičkom aktivnošću (Harkouss i sur., 2015).



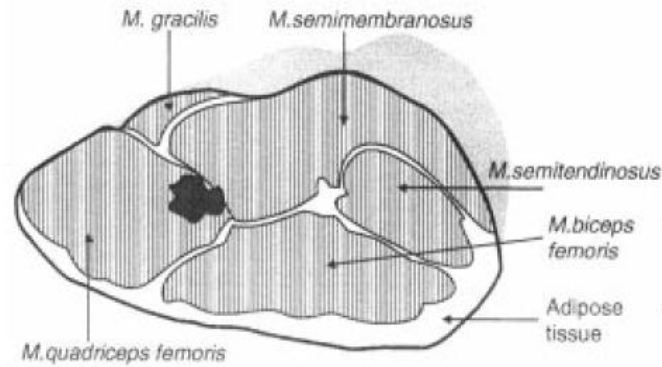
## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJALI

#### 3.1.1. Uzorci

Za provedbu ovog eksperimenta korišteno je 14 uzoraka Dalmatinskih pršuta od 14 različitih proizvođača označenih brojevima 2, 3, 9, 10, 12, 14, 16, 17, 19, 21 te slovima A, B, C i D. Uzorci pod brojevima 9, 12, 14, 16 i 21 bili su zaštićeni Dalmatinski pršuti, dok su uzorci pod brojevima 2, 3, 10, 17, 19 i slovima A, B, C i D bili nezaštićeni Dalmatinski pršuti. Dalmatinski pršuti proizvedeni su prema tradicionalnoj recepturi i procesu od buta svinja pasmine jorkšir i landras te njihovih križanaca, težine 140-180 kg. Svinjski but, sa kostima i kožom, solio se morskom solju na temperaturi 4-6 °C i nakon 7 dana se dosoljavao po potrebi. Soljeni butovi su zatim stavljeni na prešanje (tlačenje). Butovi se prosječno opterećuju 10 puta većom masom od vlastite. Postupak tlačenja trajao je 5-8 dana, ovisno o veličini buta ili dok nije prestalo cijedenje mesnog soka. Nakon toga pršuti su se lagano dimili u što hladnijoj prostoriji i što daljim izvorom dima. U proizvodnji pršuta upotrebljavalo se hladno dimljenje pri temperaturi manjoj od 22 °C koja ne sprečava proces fermentacije odnosno zrenja. Zatim je uslijedio proces sušenja i zrenja. Pršuti su zriili u podrumskim tamnim prostorijama kako bi se izbjeglo nepoželjno djelovanje sunčeve svjetlosti na masnu komponentu pršuta. Za vrijeme zrenja održavala se konstantna temperatura 12-15 °C i relativna vlažnost zraka 60-70 %. Korišteni Dalmatinski pršuti bili su strari 18 mjeseci te su preuzeti s Nacionalnog sajma pršuta i suhomesnatih proizvoda u Sinju 2018. godine.

Određivanje fizikalno-kemijskih parametara i stupnja proteolitičkih procesa provedeno je na mišićju *biceps femoris* (slika 4).



Slika 4. Poprečni presjek pršuta s pripadajućim masnim tkivima i najrelevantnijim mišićima (Toldrá i Flores, 1998).

### 3.1.2. Priprema uzoraka za analizu

Aparatura i pribor:

- Uređaj za vakumiranje
- Analitička vaga

Boja i tekstura na svim uzorcima odmah je određena na mišiću *biceps femoris*, a nakon toga svaki uzorak je izrezan na manje komadiće, homogeniziran komercijalnim blenderom, pakiran u male sterilne vrećice, vakumiran pomoću uređaja za vakumiranje, označen odgovarajućom oznakom i pohranjen u hladnjaku na 4 °C do daljnjih analiza.

## 3.2. METODE RADA

### 3.2.1. Određivanje boje

Aparatura i pribor:

- Spektrofotometar (Konica Minolta CM-700d/600d, Osaka, Japan)

Princip metode:

Objektivno mjerenje boje mesa temelji se na parametrima trodimenzionalnog spektra boja, korištenjem uređaja koji rade na principu mjerenja stupnja reflektirane svjetlosti od mjerne površine. Referentna metoda mjerenja boje mesa (Honikel, 1998) je ona koja koristi  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  spektar boja. Parametar  $L^*$  je mjera svjetlosti mesa iskazana vrijednostima od 0 do 100 (0 = crno; 100 = bijelo). Vrijednost parametra  $a^*$  je mjera crvenila mesa iskazana vrijednostima od -60 do 60, a iskazuje spektar od crvene do zelene boje, pri čemu veća vrijednost  $a^*$  parametra karakterizira crvenije meso. Vrijednost  $b^*$  parametra ukazuje na spektar nijansi između plave i žute boje, a njegova veća vrijednost označava izraženost žutog dijela spektra (Yiu i sur., 2001).

Postupak rada:

Za određivanje boje pršuta korišten je spektrofotometar Konica Minolta CM-700d/600d (Osaka, Japan). Izmjerene su  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti (CIE, 1976). Svaka vrijednost je srednja vrijednost od 3 mjerenja po uzorku. Boja je mjerena na *M. biceps femoris* na način da se pokušavalo izbjeći zone sa masnim tkivom tako da vrijednosti boje prezentiraju pravu boju mišićnog tkiva pršuta.

### 3.2.2. Određivanje teksture

Aparatura i pribor:

- Teksturometar (Ametek Lloyd Instruments Ltd., UK)

Postupak rada:

Tekstura pršuta određena je pomoću teksturometra (Ametek Lloyd Instruments Ltd., UK) s ćelijom od 50 kg. Uzorci pršuta, točnije *M. biceps femoris* izrezani su na kockice veličine 10 x 10 x 10 mm te su ostavljeni 2 h na temperaturi od 20 °C prije samog mjerenja. Uzorci su komprimirani dva puta do 50 % deformacije brzinom od 1 mm/s (vrijeme razmaka između 2 ciklusa 5 s). Rezultati su obrađeni softverom NexygenPlus, a određeni su slijedeći parametri: tvrdoća (N), adhezivna sila (N), kohezivnost, adhezivnost (Nmm), gumenost (N), odgođena elastičnost (mm), žvakljivost (Nmm), otpornost i vlaknastost (mm).

### 3.2.3. Određivanje natrijeva klorida metodom po Mohru

Aparatura i pribor:

- Laboratorijske čaše, 100 mL
- Odmjerne tikvice, 100 mL
- Analitička vaga
- Stakleni štapić
- Električna grijača ploča
- Filter papir, promjera 20-25 cm
- pH metar
- Pipete, 25 mL
- Propipeta
- Bireta, 50 mL

Reagensi:

- 0,1 M otopina  $\text{AgNO}_3$
- zasićena otopina indikatora  $\text{K}_2\text{CrO}_4$
- 0,1 M otopina  $\text{NaOH}$

Princip metode:

Dokazivanje i određivanje udjela natrijeva klorida određeno se titracijskom metodom po Mohru (AOAC, 1984). Rađene su dvije paralelne titracije. U izračunu je korištena srednja vrijednost utrošenih volumena otopine srebrovog nitrata ( $\text{AgNO}_3$ ). Iz analitičkih podataka i volumena otopine  $\text{AgNO}_3$  utrošenog za titraciju izračunat je maseni udio natrijevog klorida (%) u ispitivanom uzorku.

Postupak rada:

U čašu od 100 mL izvagano je oko 2g (+/- 0,01 g) dobro usitnjenog i homogeniziranog uzorka, dodano 2-3 mL tople vode i miješano staklenim štapićem dok se nije dobila homogena smjesa. Smjesa je kvantitativno prenesena u odmjernu tikvicu od 100 mL (uz ispiranje čašice vodom), tikvica se dopunila destiliranom vodom do oznake, zatvorila čepom,

dobro promiješala i držala u ključaloj vodenoj kupelji 15 minuta od trena kad je zakipio sadržaj tikvice. Tikvica je bila poklopljena tijekom ključanja uz povremeno dizanje čepa. Otopina u tikvici je ohlađena (ako je potrebno vodom dopuni do oznake), promiješana i filtrirana preko filter papira. pH-vrijednost filtrata ispitala se pomoću pH metra (pH mora biti oko 10), ako je filtrat reagirao kiselo potrebno ga je bilo neutralizirati s otopinom natrijevog hidroksida. Od dobivenog filtrata otpipetirano je 25 mL filtrata u Erlenmeyerovu tikvicu, dodane su 2-3 kapi indikatora zasićene otopine  $K_2CrO_4$  i titrirano s 0,1 M otopinom  $AgNO_3$  do prve promjene boje.

Najprije je izračunata  $m_{100}(NaCl)$  prema formuli 1., a zatim je izračunat maseni udio NaCl (%) prema formuli 2.

$$m_{100}(NaCl) = 4 * c(AgNO_3) * V_s(AgNO_3) * M(NaCl) \quad [1]$$

gdje je:

$V_s$ - srednja vrijednost volumena 0,1 M otopine srebrovog (I) nitrata utrošenog za titraciju

$$w(NaCl) = \frac{m_{100}(NaCl)}{m(uzorka)} * 100 \quad [2]$$

#### 3.2.4. Određivanje karbonila DNPH metodom

Aparatura i pribor:

- Analitička vaga
- Homogenizator (IKA- Werke GmbH & Co.KG, Staufen, Njemačka)
- Falcon epruvete, 50 mL
- Eppendorf epruvete, 2 mL
- Mikropipetor
- Tresilica
- Centrifuga (ROTINA 380 R, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Njemačka)
- UV-VIS Spektrofotometar Specord 50 PLUS (Analytik Jena, Njemačka)

## Reagensi:

- pirofosfatni pufer (pH 7,4; 2 mM  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  ( $M_r=221,97$  g/mol); 10 mM tris-maleat ( $M_r=237,21$  g/mol); 100 mM KCl ( $M_r=74,56$  g/mol), 2 mM  $\text{MgCl}_2$  ( $M_r=203,30$  g/mol), 2 mM EGTA ( $M_r=380,95$  g/mol))
- 10 % triklorooctena kiselina (TCA)
- 2 M HCl
- 0,2 % DNPH u 2 M HCl
- etanol : etil acetat = 1 : 1
- natrijev pufer u 6 M gvanidin hidrokoloиду
- Bovine serum albumin (BSA) - 2 mg/mL

## Priprema baždarne krivulje:

Otopina standardnog proteina BSA 2 mg/mL - otopljeno je 20 mg (0,02 g) u 10 mL fosfatnog pufera + gvanidin hidroklorida.

Baždarna krivulja napravljena je prema podacima prikazanim u tablici 1.

Tablica 1. Podaci za izradu baždarne 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

Priprema uzorka za određivanje ukupnih karbonila provedena je prema izmijenjenom postupku koji su opisali Armenteros i sur. (2009).

Postupak rada:

Izvagan je 1 g uzorka u Falcon epruvetu (u duplikatu) i homogeniziran s 10 mL pirofosfatnog pufera na homogenizatoru 30 sekundi te su uzorci nakon toga stavljeni u led kako ne bi došlo do zagrijavanja odnosno do oksidacije. Tako pripremljen uzorak podijeljen je na dva alikvota od 0,1 mL u eppendorf epruvetu od 2 mL te je u svaku dodano još 1 mL 10 % TCA da se proteini precipitiraju. Eppendorf epruvete s uzorkom su izmiješane na tresilici i stavljene u centrifugu na centrifugiranje brzinom od 10 000 okretaja / minuti tijekom 5 minuta na temperaturi od 2 °C. Sljedeći korak bilo je izbacivanje supernatanta i to za:

*Pelet 1* → *kvantifikacija proteina*: dodano 1 mL HCl 2N

*Pelet 2* → *mjerenje karbonila*: dodano 1 mL 0,2 % DNPH u HCl 2N

Tako pripremljeni uzorci inkubirani su 1 h na sobnoj temperaturi u tami pri čemu su svakih 15 minuta miješani na tresilici. Zatim su uzorci precipitirani s 1 mL 10 % TCA, promiješani na tresilici 30 sekundi i centrifugirani tijekom 5 minuta brzinom od 10 000 okretaja / minuti na temperaturi od 2 °C. Nakon toga supernatant je opet izbačen, pelet je ispran s 1 mL etanol : acetata (1:1), promiješan na tresilici i opet centrifugiran brzinom od 10 000 okretaja po minuti tijekom 5 minuta (2 puta). Nakon završenog centrifugiranja supernatant je izbačen, a zaostali pelet je otopljen u 1,5 mL natrijevom fosfatnom puferu s 6 M gvanidin hidrokloridom, promiješan na tresilici i opet stavljen na centrifugiranje pri istim uvjetima kako bi se uklonili netopljivi fragmenti. Nakon završene centrifuge supernatant je ostavljen i na njemu je mjerena absorbancija na sljedeći način:

*Pelet 1* → *kvantifikacija proteina*: mjeri se na 280 nm, koristeći BSA kao standard (0,5-2 mg/mL) u natrijevom fosfatnom puferu 20 mM (pH 6,5) koji sadrži 6 M gvanidin hidroklorid

*Pelet 2* → *mjerenje karbonila*: mjeri se na 370 nm i izračunava koncentracija karbonila koristeći formulu 3.

$$A = \xi \cdot M \cdot I \quad [3]$$

Rezultat je izražen kao nmol karbonila po mg proteina korištenjem adsorpcijskog koeficijenta za proteinske hidrazone  $\xi = 21.0 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

### 3.2.5. Određivanje udjela proteina

Aparatura i pribor:

- Analitička vaga
- Aluminijska folija
- Uređaj za mineralizaciju – blok za spaljivanje (Tecator Digestion System 6, 1007 Digester, Foss, UK)
- Uređaj za destilaciju (Kjeltec<sup>TM</sup>2100, Foss Tecator AB, Švedska)
- Menzura, 100 mL
- Erlenmeyer tikvice, 250 mL
- Pipete, 5 mL, 10 mL, 20 mL, 25 mL
- Bireta, 50 mL
- Plastične epruvete
- Homogenizator (IKA- Werke GmbH & Co.KG, Staufen, Njemačka)
- Centrifuga (ROTINA 380 R, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Njemačka)
- Stakleni lijevak
- Filter papir
- Laboratorijske čaše

Reagensi:

- Katalizator – Kjeldahl tablete (bez žive i selena)
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, koncentrirana
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30%
- NaOH, 40 %
- H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 4 %
- HCl 0,2 M
- TCA, 20 %, 99 % čistoće



### 3.2.5.1. Određivanje proteinskog dušika

Postupak se zasniva na Kjeldahlovom principu određivanja količine dušika prisutnog u uzorku te se sastoji od tri faze: vlažnog spaljivanja/oksidacije, destilacije i titracije s klorovodičnom kiselinom (AOAC, 1999).

Postupak rada:

Na listić aluminijske folije izvagano je 2 g uzorka koji je nakon toga umotan i ubačen u Kjeldahl kivetu za mineralizaciju u koju je zatim dodano 6 tableta Kjeldahl katalizatora, 14 mL koncentrirane sulfatne kiseline i 5 mL vodikovog peroksida. Sadržaj kivete je lagano promješšan kako bi se sav uzorak navlažio kiselinom te su, po završetku reakcije, Kjeldahl kivete stavljene u digestijsku jedinicu za mineralizaciju. Zagrijavanje je provedeno postepeno. Sam postupak mineralizacije trajao je tako dugo dok tekućina u kivetama nije poprimila bistru, svjetlo zelenu boju nakon čega su kivete uklonjene iz digestijske jedinice i ostavljene hladiti do sobne temperature.

Zatim je u svaku kivetu oprezno dodano 80 mL destilirane vode te je ista postavljena na za nju predviđeno mjesto u aparat Tecator Kjeltex™ 2100. Na postolje destilacijske jedinice postavljena je Erlenmeyerova tikvica u koju je dodano 25 mL borne kiseline te je podignuta u gornji položaj na način da je destilacijska cijevčica uronjena u otopinu. Uzorci su automatizirano destilirani uz dodatak 50 mL 40 %-tne otopine natrijeva hidroksida.

Nakon završene destilacije destilat u Erlenmeyerovoj tikvici je bio zelene boje što ukazuje na prisutnost amonijaka te je isti nakon toga titran sa standardiziranom klorovodičnom kiselinom (0,2 M HCl) do prelaska boje u ružičastu što je označilo kraj same titracije.

Isti postupak je ponovljen i sa slijepom probom koja je sadržavala sve osim uzorka.

Udio proteinskog dušika (N) izračunat je prema formuli 4.

$$\% N = \frac{(T-B) \cdot c(\text{HCl}) \cdot 14,007 \cdot 100}{m(\text{uzorka})} \quad [4]$$

gdje je:

T – volumen 0,2 M otopine HCl utrošen za titraciju uzorka (mL),

B – volumen 0,2 M otopine HCl utrošen za titraciju slijepe probe (mL),

c (HCl) - 0,2 mol/L,

m – masa uzorka (mg).

Prema formuli 5. iz dobivenog postotka dušika množenjem faktorom za meso dobiven je ukupni postotak proteina u uzorku

$$\% \text{ proteina} = \% \text{ N} * 6,25 \quad [5]$$

### 3.2.5.2. *Određivanje neproteinskog dušika*

Priprema uzorka:

Priprema uzorka za određivanje neproteinskog dušika provedena je kako su opisali Monin i sur. (Monin i sur., 1997). U Falcon epruvetu je izvagano oko 2,5 g uzorka i dodano 25 mL deionizirane vode. Sadržaj u Falcon epruveti je zatim homogeniziran na homogenizatoru i centrifugiran u centrifugi brzinom od 3 500 okretaja / minuti tijekom 30 minuta. Nakon toga je dodano 10 mL 20 % trikloroctene kiseline (99 % čistoće), promiješano i ostavljeno na sobnoj temperaturi 60 minuta da se stabilizira. Zatim je opet uslijedila centrifuga pri isti uvjetima nakon čega je supernatant filtriran preko filter papira.

Postupak rada:

15 ml filtrata se koristilo za određivanje dušika prema metodi za ukupni dušik HRN ISO 937 : 1999 (HRN ISO, 1999). U Kjeldahlovu kivetu za mineralizaciju je stavljeno 15 mL dobivenog filtrata, dodano je 6 tableta Kjeldahl katalizatora, 14 ml koncentrirane sulfatne kiseline i 5 mL vodikovog peroksida te je sadržaj u kiveti lagano promiješan da se uzorak potpuno navlaži. Spaljivanje u digestijskoj jedinici za mineralizaciju je provedeno postepeno i ukupno je trajalo oko 2 sata, odnosno sve dok tekućina u kivetama nije poprimila bistru, svjetlo zelenu boju nakon čega su kivete uklonjene iz digestijske jedinice i ostavljene hladiti do sobne temperature. Daljnji postupak je bio isti kao i pri određivanju ukupnog dušika, a prvi sljedeći korak je bio oprezno dodavanje 80 mL destilirane vode nakon čega je uslijedila destilacija. Nakon destilacije dobiveni destilat je titriran s 0,1 M HCl do prelaska boje u ružičastu što je označilo kraj same titracije. Isti postupak je ponovljen i sa slijepom probom

koja je sadržavala 25 mL destilirane vode i 10 mL TCA. Od toga je uzeto 15 mL i dalje je slijedio isti postupak kao i za uzorke.

Maseni udio neproteinskog dušika u uzorku izračunat je prema formuli 6.

$$W_N = \frac{1,4007 * (V_s - V_b) * c_s}{m \text{ (uzorka)}} \quad [6]$$

gdje je:

$W_N$  – maseni udio dušika u uzorku (%),

$V_s$  – volumen 0,1 M otopine HCl utrošen za titraciju uzorka (mL),

$V_b$  – volumen 0,1 M otopine HCl utrošen za titraciju slijepe probe (mL),

$c_s$  – koncentracija 0,1 M klorovodične kiseline,

$m$  – masa uzorka (g).

Indeks proteolize izračunat je prema formuli 7.

$$\text{Indeks proteolize} = \frac{\text{neproteinski dušik}}{\text{ukupni dušik}} * 100 \quad [7]$$

### 3.2.6. 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

U ovom radu određeni su fizikalno-kemijski paramateri, točnije boja, tekstura, udio soli i udio proteina u uzorcima zaštićenih i nezaštićenih dimljenih pršuta na *M. biceps femoris*. Istraživanje je provedeno na 14 uzoraka dimljenih pršuta, od kojih su 5 bili zaštićeni, a preostalih 9 nezaštićeni. Kod boje su određeni parametri L\*, a\* i b\*, dok je kod teksture određena tvrdoća, adhezivna sila, kohezivnost, adhezivnost, gumenost, odgođena elastičnost, žvakljivost, otpornost i vlaknastost. U uzorcima je također određen udio proteinskog i neproteinskog dušika, indeks proteolize i koncentracija karbonila.

Dobiveni rezultati prikazani su u tablicama 2., 4., 6., 8., 10. i 12. kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija svih 14 uzoraka.

U tablicama 3., 5., 7., 9., 11. i 13. prikazane su srednje vrijednosti  $\pm$  standardna devijacija svih zaštićenih i nezaštićenih grupa uzoraka.

#### 4.1. Boja

Boja je vrlo važna karakteristika mesa i jedan je od najvažnijih senzorskih pokazatelja tržišne kvalitete mesa i mesnih proizvoda (Huff-Lonergan i sur., 2010). Također je navedeno da je boja najvažnija značajka za izbor mesa od strane potrošača (MacDougall, 1982). Boja pršuta uglavnom ovisi o koncentraciji i kemijskom stanju pigmenta u mesu te o mišićnoj strukturi (Pérez-Alvarez i sur., 1998).

Određivanje boje provedeno je mjereći vrijednosti koordinata svjetloće ( $L^*$ ), spektra od zelene do crvene boje ( $a^*$ ), te spektra od plave do žute boje ( $b^*$ ). Rezultati određivanja boje ( $L^*$   $a^*$   $b^*$  parametri) u svih 14 uzoraka dimljenih pršuta prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Boja ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  vrijednosti) u uzorcima dimljenih pršuta

	UZORAK	$L^*$	$a^*$	$b^*$
NEZAŠTIĆENI	A	49,27 ± 2,00 <sup>ab</sup>	6,34 ± 0,50 <sup>fg</sup>	7,46 ± 1,12 <sup>bcde</sup>
	B	48,11 ± 0,68 <sup>a</sup>	4,12 ± 0,66 <sup>abc</sup>	6,37 ± 0,12 <sup>a<sup>bc</sup></sup>
	C	49,84 ± 0,42 <sup>abc</sup>	6,70 ± 0,16 <sup>g</sup>	6,74 ± 0,39 <sup>abcd</sup>
	D	49,02 ± 0,86 <sup>ab</sup>	4,92 ± 0,15 <sup>bcde</sup>	8,58 ± 0,33 <sup>e</sup>
	2	49,87 ± 0,46 <sup>abc</sup>	5,25 ± 0,15 <sup>cdef</sup>	8,34 ± 0,41 <sup>de</sup>
	3	54,79 ± 0,97 <sup>e</sup>	3,48 ± 0,33 <sup>a</sup>	7,88 ± 0,40 <sup>cde</sup>
	10	48,95 ± 0,13 <sup>ab</sup>	6,07 ± 0,48 <sup>efg</sup>	8,46 ± 0,21 <sup>de</sup>
	17	50,88 ± 0,41 <sup>bcd</sup>	3,59 ± 0,30 <sup>a</sup>	6,40 ± 0,56 <sup>abc</sup>
	19	49,09 ± 0,76 <sup>ab</sup>	5,42 ± 0,40 <sup>def</sup>	6,35 ± 0,08 <sup>abc</sup>
ZAŠTIĆENI	9	52,33 ± 0,66 <sup>cd</sup>	3,55 ± 0,40 <sup>a</sup>	5,94 ± 1,33 <sup>ab</sup>
	12	50,63 ± 1,13 <sup>abcd</sup>	3,84 ± 0,62 <sup>ab</sup>	5,97 ± 0,19 <sup>ab</sup>
	14	51,16 ± 0,83 <sup>bcd</sup>	4,31 ± 0,43 <sup>abcd</sup>	5,49 ± 0,39 <sup>a</sup>
	16	52,32 ± 1,45 <sup>cd</sup>	5,66 ± 0,83 <sup>efg</sup>	7,24 ± 1,16 <sup>abcde</sup>
	21	52,97 ± 0,85 <sup>de</sup>	3,59 ± 0,41 <sup>a</sup>	6,09 ± 0,51 <sup>abc</sup>
	<i>p-vrijednost</i>	0,000	0,000	0,000

\*različita slova a-g označavaju statistički značajnu razliku,  $p < 0,05$

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 2. vidljivo je da je postojala statistički značajana razlika u  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednostima između svih 14 uzoraka dimljenih pršuta ( $p < 0,05$ ).

U ispitivanim uzorcima dimljenih pršuta dobivene vrijednosti za L\* parametar kretale su se u rasponu 48,11-54,79, što je znatno veće od L\* vrijednosti određene u talijanskom Parma pršutu (34,25) (Rezende Costa i sur., 2008), španjolskom Iberijskom pršutu (38,78) (Carrapisco i Garcia, 2008) i drugim španjolskim vrstama pršuta (34,80) (Pérez- Alvarez i sur., 1998). L\* vrijednost, koja određuje svjetloću, povezana je s tankim slojem vode na površini mišića (Hunt, 1980). Također, L\* vrijednost u mišićima ovisi o udjelu vode (odnosno vlažnosti) i dehidraciji prema površini (Pérez-Alvarez i sur., 1998).

U uzorcima dimljenih pršuta vrijednosti za a\* parametar kretale su se u rasponu 3,48-6,70, što je znatno niže od vrijednosti za a\* parametar određene u Iberijskom pršutu (18,92) (Carrapisco i Garcia, 2008) i drugim španjolskim vrstama pršuta (15,55) (Pérez-Alvarez i sur., 1998). Rezende Costa i suradnici (2008) u talijanskom Parma pršutu su, između ostalog, odredili i vrijednost za a\* parametar od 12,08, što je također znatno veće od vrijednosti dobivene u ovom radu. Razlog manjeg a\* parametra kod Dalmatinskog pršuta, u odnosu na ostale vrste, je taj što se u njegovoj proizvodnji koristi isključivo samo morska sol, bez upotrebe nitrita i nitrata koji utječu na intenzitet crvene boje krajnjeg proizvoda i čija je upotreba dozvoljena samo u proizvodnji španjolskih pršuta.

Dobivene vrijednosti za b\* parametar, u uzorcima dimljenih pršutima, kretale su se u rasponu 5,49-8,58, što je u skladu s vrijednostima za b\* parametar određene u Iberijskom pršutu (7,59) (Carrapisco i Garcia, 2008). U istraživanju koje su Pérez-Alvarez i suradnici (1998) proveli na španjolskim vrstama pršuta odredili su vrijednost za b\* parametar od 10,50 što je veće od vrijednosti dobivene u ovom radu. U talijanskom Parma pršutu Rezende Costa i suradnici (2008) odredili su b\* parametar od 2,38 što je znatno manje od vrijednosti za b\* određene u ovom radu u uzorcima dimljenih pršuta.

Tablica 3. Prosječne L\*, a\* i b\* vrijednosti u nezaštićenim i zaštićenim uzorcima dimljenih pršuta

UZORAK	L*	a*	b*
NEZAŠTIĆENI	49,98 ± 1,96	5,1 ± 1,18	7,4 ± 0,95 <sup>a</sup>
ZAŠTIĆENI	51,88 ± 0,96	4,19 ± 0,88	6,15 ± 0,65 <sup>b</sup>
<i>p-vrijednost</i>	<i>0,349</i>	<i>0,395</i>	<i>0,016</i>

\*različita slova a,b označavaju statistički značajnu razliku, p<0,05

Iz podataka prikazanih u tablici 3. vidljivo je da jedino za vrijednost parametra  $b^*$  postoji statistički značajna razlika između nezaštićenih i zaštićenih uzoraka dimljenih pršuta ( $p < 0,05$ ). Isto tako vidljivo je da su zaštićeni uzorci imali veću vrijednost  $L^*$  parametra, te da su vrijednosti za  $a^*$  i  $b^*$  parametar bile nešto veće kod nezaštićenih uzoraka.

#### 4.2. Tekstura

Tekstura je senzorska i funkcionalna osobina hrane nastala iz strukturnih, mehaničkih i površinskih svojstava hrane koji se opažaju kroz osjetila vida, sluha i dodira (uključujući i osjećaj u ustima) (Szczesniak, 2002). Tekstura pršuta ne ovisi samo o razgradnji miofibrilalnih proteina već i o drugim čimbenicima kao što su duljina sušenja, razgradnja vezivnog tkiva, sadržaj intramuskularne masti (Toldrá i sur., 1993).

U uzorcima dimljenih pršuta tekstura je određena pomoću teksturometra u *M. biceps femoris*. Određeni su sljedeći parametri teksture: tvrdoća, adhezivna sila, kohezivnost, adhezivnost, gumenost, odgođena elastičnost, žvakljivost, otpornost i vlaknastost, a dobiveni rezultati prikazani su u tablici 4.

Tablica 4. Vrijednosti parametra teksture u uzorcima dimljenih pršuta

	UZORAK	Tvrdoća (N)	Adhezivna sila (N)	Kohezivnost	Adhezivnost (Nmm)	Gumenost (N)	Odgođena elastičnost (mm)	Žvakljivost (Nmm)	Otpornost	Vlaknastost (mm)
NEZAŠTIĆENI	A	52,16±16,13 <sup>abcd</sup>	-0,96±0,14 <sup>ab</sup>	0,39±0,09 <sup>ab</sup>	0,37±0,25 <sup>ab</sup>	17,32±4,83 <sup>abc</sup>	-2,95±0,25 <sup>bc</sup>	34,52±13,12 <sup>abc</sup>	0,25 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,36±0,27 <sup>a</sup>
	B	52,05± 3,25 <sup>abcd</sup>	-0,34± 0,23 <sup>b</sup>	0,54±0,04 <sup>cd</sup>	0,71±0,38 <sup>ab</sup>	27,92±3,67 <sup>bcde</sup>	-2,37±0,17 <sup>de</sup>	71,51±5,30 <sup>cde</sup>	0,39±0,04 <sup>ab</sup>	6,08±0,11 <sup>abcde</sup>
	C	58,44± 6,21 <sup>bcde</sup>	-0,21± 0,07 <sup>b</sup>	0,54±0,02 <sup>cd</sup>	-0,06 ± 0,40 <sup>a</sup>	31,41±4,76 <sup>cde</sup>	-2,21±0,15 <sup>def</sup>	84,57±8,69 <sup>de</sup>	0,48±0,02 <sup>ab</sup>	6,53±0,22 <sup>bcde</sup>
	D	57,48± 5,12 <sup>bcde</sup>	-0,61±0,11 <sup>ab</sup>	0,48±0,03 <sup>bc</sup>	0,50±0,29 <sup>ab</sup>	27,43±0,86 <sup>bcde</sup>	-2,05±0,06 <sup>def</sup>	78,13±4,64 <sup>de</sup>	0,43±0,08 <sup>ab</sup>	3,19±2,20 <sup>abcd</sup>
	2	37,21 ± 4,62 <sup>abc</sup>	-1,63± 0,37 <sup>a</sup>	0,46±0,00 <sup>abc</sup>	0,87±0,61 <sup>ab</sup>	16,97±2,27 <sup>abc</sup>	-3,64± 0,02 <sup>a</sup>	22,43±4,08 <sup>a</sup>	0,33±0,09 <sup>ab</sup>	4,77±3,95 <sup>abcde</sup>
	3	67,95 ± 13,39 <sup>de</sup>	-0,58± 0,18 <sup>b</sup>	0,61 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,45±0,30 <sup>ab</sup>	41,13±7,86 <sup>ef</sup>	-2,38±0,02 <sup>de</sup>	104,87±21,68 <sup>e</sup>	0,48±0,02 <sup>ab</sup>	1,77±0,99 <sup>ab</sup>
	10	49,53±13,75 <sup>abcd</sup>	-0,59± 0,40 <sup>b</sup>	0,53±0,02 <sup>cd</sup>	0,81±0,32 <sup>ab</sup>	26,29±8,28 <sup>bcd</sup>	-2,59±0,19 <sup>cd</sup>	62,40±24,62 <sup>bcd</sup>	0,42±0,06 <sup>ab</sup>	6,56±0,64 <sup>bcde</sup>
	17	41,41±2,94 <sup>abcd</sup>	-0,45± 0,04 <sup>b</sup>	0,55±0,01 <sup>cd</sup>	0,37±0,11 <sup>ab</sup>	22,97±1,27 <sup>bcd</sup>	-1,96±0,03 <sup>ef</sup>	68,83±4,66 <sup>cde</sup>	0,55 ± 0,08 <sup>b</sup>	6,80±0,31 <sup>cde</sup>
	19	24,17 ± 0,23 <sup>a</sup>	-0,70±0,13 <sup>ab</sup>	0,37 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,77±0,08 <sup>ab</sup>	6,90±2,15 <sup>a</sup>	-3,75±0,13 <sup>a</sup>	6,19±0,55 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,05 <sup>a</sup>	7,65±0,65 <sup>de</sup>
ZAŠTIĆENI	9	81,87 ± 0,82 <sup>e</sup>	-0,61±0,06 <sup>ab</sup>	0,56±0,02 <sup>cd</sup>	0,47±0,29 <sup>ab</sup>	45,98±1,25 <sup>f</sup>	-1,75±0,09 <sup>f</sup>	145,18±0,55 <sup>f</sup>	0,51 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,23±0,38 <sup>bcde</sup>
	12	51,36±1,54 <sup>abcd</sup>	-0,96±0,22 <sup>ab</sup>	0,53±0,02 <sup>cd</sup>	0,31±0,07 <sup>ab</sup>	27,35±0,25 <sup>bcde</sup>	-2,25±0,07 <sup>def</sup>	73,34±2,78 <sup>de</sup>	0,44±0,04 <sup>ab</sup>	9,06±0,83 <sup>e</sup>
	14	40,70±6,54 <sup>abcd</sup>	-0,96±0,62 <sup>ab</sup>	0,47±0,03 <sup>abc</sup>	1,41 ± 0,26 <sup>b</sup>	19,23±4,17 <sup>abcd</sup>	-3,63±0,34 <sup>a</sup>	25,80±12,00 <sup>a</sup>	0,55 ± 0,03 <sup>b</sup>	8,18±0,07 <sup>de</sup>
	16	31,82 ± 1,72 <sup>ab</sup>	-1,11±0,40 <sup>ab</sup>	0,48±0,02 <sup>bc</sup>	0,85±0,15 <sup>ab</sup>	15,29±0,27 <sup>ab</sup>	-3,13±0,14 <sup>b</sup>	28,11±2,60 <sup>ab</sup>	0,34±0,03 <sup>ab</sup>	2,28±0,03 <sup>abc</sup>
	21	64,16± 6,74 <sup>cde</sup>	-0,53±0,05 <sup>b</sup>	0,56±0,00 <sup>cd</sup>	0,67±0,02 <sup>ab</sup>	34,20±1,64 <sup>def</sup>	-2,98±0,13 <sup>bc</sup>	67,30±2,41 <sup>cde</sup>	0,43±0,15 <sup>ab</sup>	7,41±0,86 <sup>de</sup>
	<i>p-vrijednost</i>	0,000	0,012	0,000	0,036	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000

\*različita slova a-f označavaju statistički značajnu razliku, p<0,05



Na temelju dobivenih rezultata prikazanih u tablici 4., vidljivo je da postoji statistički značajana razlika u tvrdoći, adhezivnoj sili, kohezivnosti, adhezivnosti, gumenosti, odgođenoj elastičnosti, žvakljivosti, otpornosti i vlaknastosti između svih 14 uzoraka dimljenih pršuta ( $p < 0,05$ ).

U ispitivanim uzorcima dimljenih pršuta **tvrdoća** se kretala u raponu 24,17-81,87 N, što je u skladu s tvrdoćom (52,51 N) određenom u slovenskom Kraškom pršutu koji je sazrijevao 16 mjeseci (Pugliese i sur., 2015). Harkouss i suradnici (2015) su u francuskom Bayonn pršutu odredili tvrdoću od 183 N što je puno više od vrijednosti dobivene u ovom radu. Visoka tvrdoća pršuta nastaje kao posljedica prekomjernog prešanja i/ili isušivanja (Karolyi, 2009). U istraživanju koje su proveli Laureati i suradnici (2014) na talijanskim pršutima dobili su sljedeće vrijednosti za tvrdoću: u Parama pršutu je ona iznosila 6,22 N, u San Daniele 6,49 N što je znatno manje od vrijednosti za tvrdoću dobivene u ovom radu. U Toscano pršutu izmjerena je tvrdoća od 23,91 N što je nešto manje od tvrdoće dobivene u ovom radu. Rezende Costa i suradnici (2008) proveli su istraživanje na španjolskom Serrano pršutu u kojem su odredili tvrdoću od 19,63 N što je manje od tvrdoće dobivene u ovom radu. Različiti uzorci i upotreba različitih teksturometara mogu biti jedan od razloga za različite vrijednosti tvrdoće među navedenim pršutima.

Dobivena vrijednost za **adhezivnu silu** u ispitivanim uzorcima dimljenih pršuta kretala se u rasponu (-1,63) - (-0,21) N.

U ispitivanim uzorcima **kohezivnost** se kretala u rasponu 0,37-0,61, što je u skladu s kohezivnošću određenom u talijanskom Parma (0,49), San Daniele (0,50) i Toscano (0,60) pršutu (Laureati i sur., 2014), a blizu vrijednosti za kohezivnost (0,63) određene u Kraškom pršutu (Pugliese i sur., 2015). Harkouss i suradnici (2015) u francuskom Bayonne pršutu odredili su kohezivnost u vrijednosti od 0,489, koja je u skladu s rezultatima ovog rada. U španjolskom Serrano pršutu, Rezende Costa i suradnici (2008) su izmjerili kohezivnost od 0,69 što je više od kohezivnosti određene u uzorcima dimljenih pršuta.

Izmjerena **adhezivnost** u ispitivanim uzorcima dimljenih pršuta kretala se u rasponu (-0,06)-(-1,41) Nmm, što je znatno više od adhezivnosti (-5,60 Nmm) određene u Kraškom pršutu (Pugliese i sur., 2015). U talijanskim pršutima Laureati i suradnici (2014) dobili su sljedeće vrijednosti za adhezivnost: Parma pršut (-0,42 Nmm), pršut San Daniele (-0,52

Nmm), Toscano pršut (-0,19 Nmm), te je vidljivo da dobivene vrijednosti nisu u skladu s vrijednostima za adhezivnost određen u uzorcima dimljenih pršuta.

U ispitivanim uzorcima dimljenih pršuta **gumenost** se kretala 6,90-45,98 N, što je u skladu s vrijednostima za gumenost određene u Toscano pršutu (14,40 N) (Laureati i sur., 2014) i Kraškom pršutu (33,54 N) (Pugliese i sur., 2015). U talijanskim pršutima Laureati i suradnici (2014) dobili su sljedeće vrijednosti za gumenost: Parma pršut 2,99 N, pršut San Daniele 3,23 N, te su te vrijednosti puno manje od vrijednosti za gumenost određene u ovom radu.

**Odgodena elastičnost**, izmjerena u ovom radu, kretala se u rasponu (-3,75) - (-1,75) mm, što je znatno manje od vrijednosti za odgođenu elastičnost (4,79 mm) određene u Kraškom pršutu (Pugliese i sur., 2015). U talijanskim pršutima Laureati i suradnici (2014) dobili su sljedeće vrijednosti za odgođenu elastičnost: Parma pršut 0,46 mm, Toscano pršut 0,57 mm, pršut San Daniele 0,49 mm, te je vidljivo da su te vrijednosti znatno veće od odgođene elastičnosti određene u uzorcima dimljenih pršuta. Odgođena elastičnost određena u francuskom Bayonn pršutu (0,75mm) (Harkouss i sur., 2015), i španjolskom Serrano pršutu (0,73 mm) (Rezende Costa i sur., 2008), također je znatno veća od one izmjerene na dimljenim pršutima.

Izmjerena **žvakljivost** u uzorcima dimljenih pršuta kretala se u rasponu 6,19-145,18 Nmm, te je ona znatno manja u odnosu na žvakljivosti koju su Rezende Costa i suradnici (2008) izmjerili u španjolskom Serrano pršutu i Pugliese i suradnici (2015) u Kraškom pršutu (160,57 Nmm). U Parma i San Daniele pršutu, Laureati i suradnici (2014) su izmjerili puno manju žvakljivost (1,44-1,62 Nmm), dok je žvakljivost u Toscano pršutu (8,68 Nmm) bila u skladu s žvakljivosti dobivenoj u ovom radu.

U uzorcima dimljenih pršuta **otpornost** se kretala 0,25-0,55, dok se **vlaknastost** kretala 1,36-9,06 mm.

Tablica 5. Prosječne vrijednosti parametra teksture u nezaštićenim i zaštićenim uzorcima dimljenih pršuta

	Tvrdoća (N)	Adhezivna sila (N)	Kohezivnost	Adhezivnost (Nmm)	Gumenost (N)	Odgođena elastičnost (mm)	Žvakljivost (Nmm)	Otpornost	Vlknastost (mm)
NEZAŠTIĆENI	48,93±13,00	-0,67±0,42	0,50±0,08	0,61±0,21	24,26±9,80	-2,66±0,66	59,27±31,85	0,40±0,10	4,97±2,32
ZAŠTIĆENI	53,98±19,72	-0,83±0,25	0,52±0,04	0,74±0,43	28,41±12,24	-2,75±0,75	67,95±48,37	0,45±0,08	6,63±2,65
<i>p-vrijednost</i>	<i>0,386</i>	<i>0,743</i>	<i>0,746</i>	<i>0,465</i>	<i>0,484</i>	<i>0,955</i>	<i>0,631</i>	<i>0,412</i>	<i>0,212</i>

Na temelju podataka prikazanih u tablici 5. vidljivo je da nije postojala statistički značajna razlika između nezaštićenih i zaštićenih uzoraka dimljenih pršuta. Također je vidljivo da su zaštićeni uzorci Dalmatinskih pršuta imali nešto veće vrijednosti za parametre teksture u odnosu na nezaštićene uzorke.

### 4.3. NaCl

Kuhinjska sol, tj. NaCl je bila prva antimikrobna tvar koja se koristila kao konzervans. Danas ima veliku važnosti u proizvodnji trajnih suhomesnatih proizvoda zbog svog učinka na smanjenje  $a_w$  vrijednosti čime se smanjuje mogućnost kvarenja proizvoda. Osim u svrhu konzerviranja, kuhinjska sol se koristi i za poboljšanje organoleptičkih svojstava finalnog proizvoda. U krajnjem proizvodu udio soli će biti veći ako je u procesu soljenja dodana veća količina soli, ako je korištena sol manje granulacije i ako je sam proces soljenja duže trajao. Isto tako, pršut može imati povećan udio soli ako su sami pršuti manje mase te ako butovi imaju veću površinu mišićnog tkiva koji nije pokriven s masti pa je samim time penetracija NaCl-a brža.

Udio NaCl-a u uzorcima dimljenih pršuta određen je metodom po Mohru, a dobiveni rezultati su prikazani u tablici 6.

Tablica 6. Udio NaCl (%) u uzorcima dimljenih pršuta

	UZORAK	NaCl (%)
NEZAŠTIĆENI	A	$7,75 \pm 0,17^b$
	B	$8,22 \pm 0,00^c$
	C	$9,63 \pm 0,16^e$
	D	$7,58 \pm 0,08^b$
	2	$7,70 \pm 0,08^b$
	3	$8,32 \pm 0,00^{cd}$
	10	$8,43 \pm 0,08^{cd}$
	17	$7,77 \pm 0,08^b$
ZAŠTIĆENI	19	$9,39 \pm 0,08^e$
	9	$8,40 \pm 0,08^{cd}$
	12	$7,54 \pm 0,08^b$
	14	$8,58 \pm 0,08^d$
	16	$7,51 \pm 0,08^b$
21	$6,64 \pm 0,08^a$	
	<i>p-vrijednost</i>	<i>0,000</i>

\*različita slova a-e označavaju statistički značajnu razliku,  $p < 0,05$

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 6. vidljivo je da postoji statistički značajna razlika između svih 14 uzoraka dimljenih pršuta ( $p < 0,05$ ). Udio NaCl-a kretao se u rasponu 6,64-9,63 %. Najmanji udio NaCl-a imao je uzorak 21 (6,64 %) a najviši uzorak C (9,63 %). Laureati i suradnici (2014) proveli su istraživanje na talijanskim pršutima te su dobili sljedeće vrijednosti za udio NaCl: Parma pršut 2,43 %, San Daniele pršut 2,63 %, Toscana pršut 4,48 %. Sve te vrijednosti su puno niže od vrijednosti dobivene u uzorcima dimljenih pršuta u ovom radu. U istraživanju koje su proveli Pugliese i suradnici (2015) na Kraškom pršutu dobiveni udio NaCl (2,44 %) bio je manji od udjela dobivenih u ovom radu. U Iberijskom pršutu, proizvedenim na tradicionalan način, Martin i suradnici (1998) su odredili 5,85 % NaCl-a što je u skladu s rezultatima dobivenim u ispitivanim uzorcima dimljenih pršuta u ovom radu. Harkouss i suradnici (2015) u francuskom Bayonne pršutu su odredili 5,5 % NaCl-a što je manje od udjela NaCl izmjenenog u dimljenim pršutima.

Udio soli općenito je viši što je u fazi soljenja dodano više soli, a trajanje procesa soljenja duže.

Tablica 7. Prosječan udio NaCl (%) u nezaštićenim i zaštićenim uzorcima dimljenih pršuta

UZORAK	NaCl (%)
NEZAŠTIĆENI	8,31 ± 0,75
ZAŠTIĆENI	7,73 ± 0,78
<i>p-vrijednost</i>	0,059

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 7. vidljivo je da nije postojala statistički značajna razlika između nezaštićenih i zaštićenih uzoraka dimljenih pršuta ( $p > 0,05$ ). Isto tako je vidljivo da su nezaštićeni uzorci imali nešto veći prosječan udio soli (8,31 %) s prosječnim odstupanjem od prosječne vrijednosti 9 %, u odnosu na zaštićene uzorke dimljenih pršuta. Marušić i suradnici (2016) proveli su istraživanje na Dalmatinskom pršutu gdje su, između ostalog, odredili udio soli u rasponu 7,5-9,8 % što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom radu. Petričević i suradnici (2018) također su proveli istraživanje na Dalmatinskom pršutu u kojem su odredili udio soli od 6,79 % što je u skladu s udjelom soli određenim u ovom radu.

#### 4.4. Proteini, proteinski i neproteinski dušik

Pršuti sadrže visok udio proteina visoke biološke vrijednosti jer sadrže esencijalne aminokiseline u povoljnim omjerima. Esencijalne aminokiseline su od visokog značaja u ljudskoj prehrani jer ih sam organizam ne može sintetizirati i zbog tog razloga se moraju uzimati hranom (Rieg i Toldrá, 1998). Sadržaj proteina u dimljenom pršutu iznosi oko 30 g / 100 g ovisno o duljini sušenja i sadržaju masti u pršutu (Toldrá, 2002).

Rezultati za ukupni udio proteina, udio proteinskog i neproteinskog dušika u ispitivanim uzorcima dimljenih pršuta prikazani su u tablici 8.

Tablica 8. Ukupni udio proteina, udio proteinskog i neproteinskog dušika u uzorcima dimljenih pršuta

	UZORAK	Ukupni udio proteina (%)	N-proteinski dušik (%)	NPN-neproteinski dušik (%)
NEZAŠTIĆENI	A	31,88 ± 0,12 <sup>c</sup>	5,10 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,47 ± 0,02 <sup>f</sup>
	B	29,91 ± 0,17 <sup>a</sup>	4,79 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,97 ± 0,00 <sup>j</sup>
	C	32,01 ± 0,30 <sup>c</sup>	5,12 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,61 ± 0,02 <sup>g</sup>
	D	38,55 ± 0,20 <sup>h</sup>	6,17 ± 0,03 <sup>h</sup>	1,33 ± 0,02 <sup>d</sup>
	2	38,60 ± 0,26 <sup>h</sup>	6,18 ± 0,04 <sup>h</sup>	2,71 ± 0,03 <sup>k</sup>
	3	37,46 ± 0,37 <sup>gh</sup>	5,99 ± 0,06 <sup>gh</sup>	1,29 ± 0,00 <sup>cd</sup>
	10	36,50 ± 0,25 <sup>fg</sup>	5,84 ± 0,04 <sup>fg</sup>	1,41 ± 0,01 <sup>e</sup>
	17	30,52 ± 0,20 <sup>ab</sup>	4,88 ± 0,03 <sup>ab</sup>	1,29 ± 0,02 <sup>cd</sup>
ZAŠTIĆENI	19	35,72 ± 0,13 <sup>f</sup>	5,71 ± 0,02 <sup>f</sup>	1,77 ± 0,03 <sup>i</sup>
	9	33,75 ± 0,31 <sup>de</sup>	5,40 ± 0,05 <sup>de</sup>	1,10 ± 0,00 <sup>a</sup>
	12	33,97 ± 0,37 <sup>e</sup>	5,44 ± 0,06 <sup>e</sup>	1,17 ± 0,01 <sup>b</sup>
	14	31,75 ± 1,05 <sup>c</sup>	5,08 ± 0,17 <sup>c</sup>	1,70 ± 0,02 <sup>h</sup>
	16	31,49 ± 0,18 <sup>bc</sup>	5,04 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,27 ± 0,01 <sup>c</sup>
	21	32,75 ± 0,12 <sup>cd</sup>	5,24 ± 0,02 <sup>cd</sup>	1,14 ± 0,01 <sup>ab</sup>
	<i>p-vrijednost</i>	0,000	0,000	0,000

\*različita slova a-k označavaju statistički značajnu razliku, p<0,05

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 8. vidljivo je da je postojala statistički značajna razlika u udjelu ukupnih proteina, udjelu proteinskog i neproteinskog dušika između svih 14 uzoraka dimljenih pršuta (p<0,05). Ukupni udio proteina u uzorcima kretao se u

rasponu 29,91-38,60 %, što je u skladu su s rezultatima koje su Marušić i suradnici (2016) dobili u svom istraživanju na Dalmatinskom pršutu (27,5-40,2 %). Najveći udio proteina određen je u nezaštićenom uzorku 2 (38,60 %), dok je najmanji udio određen u uzorku B (29,91 %). Laucarini i suradnici (2013) proveli su istraživanje na talijanskim pršutima gdje su u Parma pršutu odredili 25,9 % proteina, a u pršutu San Daniele 25,7 %, te je vidljivo da su njihove vrijednosti manje od vrijednosti za ukupni udio proteina određene u ovom radu. U španjolskom Serrano pršutu Garcia i suradnici (2004) odredili su ukupni udio proteina od 27,97 % što je nešto manji udio u odnosu na rezultate ovog rada, dok je udio proteina određen u francuskom Bayonne pršutu (30 %) (Toldrá, 2002) bio u skladu s udjelom određenim u dalmatinskim pršutima u ovom radu.

Udio proteinskog dušika (N) kretao se u rasponu 4,79-6,18 %, dok se udio neproteinskog dušika (NPN) kretao u rasponu 1,10-2,71 % što je znatno manje od udjela za proteinski dušik (11,70-11,85 %) i udjela za neproteinski dušik (3,76-4,42 %) kojeg su Pérez-Santaescolastica i suradnici (2018) odredili u španjolskim vrstama pršuta.

Tablica 9. Prosječan ukupni udio proteina, udio proteinskog i neproteinskog dušika u nezaštićenim i zaštićenim uzorcima dimljenih pršuta

UZORAK	Ukupni udio proteina (%)	N-proteinski dušik (%)	NPN-neproteinski dušik (%)
NEZAŠTIĆENI	34,57 ± 3,49	5,53 ± 0,56	1,65 ± 0,46 <sup>a</sup>
ZAŠTIĆENI	32,74 ± 1,13	5,24 ± 0,18	1,28 ± 0,25 <sup>b</sup>
<i>p-vrijednost</i>	0,095	0,096	0,024

\*različita slova a,b označavaju statistički značajnu razliku,  $p < 0,05$

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 9. vidljivo je da je statistički značajna razlika između nezaštićenih i zaštićenih uzoraka postojala jedino u udjelu neproteinskog dušika ( $p < 0,05$ ). Nezaštićeni uzorci su imali nešto veći prosječan udio ukupnih proteina s prosječnim odstupanjem od prosječne vrijednost 10 %.

#### 4.5. Indeks proteolize

Indeks proteolize koristi za mjerenje intenziteta proteolize tijekom prerade pršuta, a definira se kao postotak neproteinskog dušika koji obuhvaća ukupni dušik. Dobiveni rezultati za vrijednost indeksa proteolize prikazani su u tablici 10.

Tablica 10. Indeks proteolize u uzorcima dimljenih pršuta

	UZORAK	Indeks proteolize (%)
NEZAŠTIĆENI	A	28,84 ± 0,25 <sup>e</sup>
	B	41,25 ± 0,23 <sup>h</sup>
	C	31,40 ± 0,65 <sup>f</sup>
	D	21,53 ± 0,41 <sup>ab</sup>
	2	43,96 ± 0,15 <sup>i</sup>
	3	21,51 ± 0,21 <sup>ab</sup>
	10	24,07 ± 0,32 <sup>c</sup>
	17	26,51 ± 0,55 <sup>d</sup>
	19	31,00 ± 0,38 <sup>f</sup>
ZAŠTIĆENI	9	20,38 ± 0,13 <sup>a</sup>
	12	21,44 ± 0,40 <sup>ab</sup>
	14	33,53 ± 0,66 <sup>g</sup>
	16	25,20 ± 0,03 <sup>c</sup>
	21	21,79 ± 0,20 <sup>b</sup>
	<i>p-vrijednost</i>	<i>0,000</i>

\*različita slova a-h označavaju statistički značajnu razliku,  $p < 0,05$

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 10. vidljivo je da je postojala statistički značajna razlika u indeksu proteolize između svih 14 ispitivanih uzoraka dimljenih pršuta ( $p < 0,05$ ). Indeks proteolize kretao se u rasponu 20,38-43,96 %. Najmanji indeks proteolize određen je kod uzorka 9 (20,38 %), dok je najveći zabilježen kod uzorka 2 (43,93 %). Schivazappa i suradnici (2002) proveli su istraživanje na talijanskom Parma pršutu u kojem su odredili indeks proteolize od 29,4 % što je u skladu s rezultatima dobivenih u ovom radu. U španjolski pršutima grupiranim prema razini proteolize, Pérez-Santaescolástica i suradnici (2018) su odredili indeks proteolize koji se kretao u rasponu 31,10-38,59 %, dok su Pugliese i



suradnici (2015) u Kraškom pršutu izmjerili indeks proteolize od 25,8 % što je u skladu s indeksom proteolize određenim u ispitivanim dalmatinskim pršutima. Dobivene razlike u indeksu proteolize između različitih vrsta pršuta mogu biti posljedica razlike u sirovinama, postupku soljenja, procesu i vremenu trajanja samog zrenja, relativnoj vlažnosti i temperaturi koja se primjenjuje u proizvodnji pršuta. Indeks proteolize veći je u *biceps femoris* (BF) nego u *semimembranaceus* (SM) što se može objasniti većim udjelom vode u tom unutrašnjem mišiću pa tako i jačom proteolitičkom aktivnošću (Harkouss i sur., 2015). Stariji pršuti imaju manji udio soli, a samim time veći indeks proteolize što su dokazali Pugliese i suradnici (2015).

Tablica 11. Prosječni indeks proteolize u uzorcima nezaštićenih i zaštićenih dimljenih pršuta

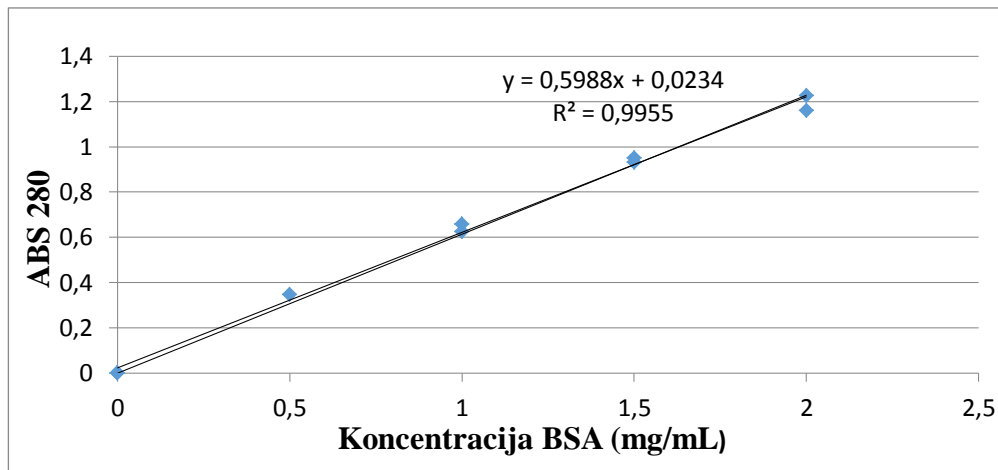
UZORAK	Indeks proteolize (%)
NEZAŠTIĆENI	30,01 ± 8,04
ZAŠTIĆENI	24,47 ± 5,38
<i>p-vrijednost</i>	0,066

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 11. vidljivo je da nije postojala statistički značajna razlika između nezaštićenih i zaštićenih uzoraka dimljenih pršuta ( $p > 0,05$ ). Također je vidljivo da su nezaštićeni pršuti imali veći prosječan indeks proteolize u odnosu na zaštićene.

#### 4.6. Karbonili

Sadržaj karbonila određen je spektrofotometrijski na 370 nm.

Baždardnom pravcu BSA pridružena je odgovarajuća jednadžba pravca te je izračunat i koeficijent determinacije ( $R^2$ ) koji iznosi 0,9955 (slika 5).



Slika 5. Baždarni pravac BSA

Proizvodnja suhomesnatih proizvoda obično je dugotrajan proces koji uključuje nekoliko operacija kao što su soljenje, sušenje i zrenje (Ventanas i sur., 2007). Malo se zna o utjecaju svake od njih na početak i intenzitet oksidativnih reakcija koje obuhvaćaju proteine mesa. Soljenje je jedna od operacija koja može imati značajan utjecaj na proteinsku karbonilaciju. Vrlo je mali broj istraživanja koja su se bavila utjecajem soli na nastanak proteinskih karbonila, ali bez konkretnih rezultata (Montero i sur., 2005; Shimizu i sur., 2009; Srinivasan i sur., 1996).

Koncentracija karbonila određena u uzorcima dimljenih pršuta prikazana je u tablici 12.

Tablica 12. Koncentracija karbonila u uzorcima dimljenih pršuta

	UZORAK	Koncentracija karbonila (nmol karbonila / mg proteina)
NEZAŠTIĆENI	A	17,87 ± 0,89 <sup>abc</sup>
	B	18,68 ± 0,22 <sup>abc</sup>
	C	17,16 ± 2,25 <sup>abc</sup>
	D	23,24 ± 1,56 <sup>bc</sup>
	2	23,81 ± 5,79 <sup>bc</sup>
	3	12,79 ± 0,54 <sup>abc</sup>
	10	17,02 ± 3,45 <sup>abc</sup>
	17	24,31 ± 1,63 <sup>bc</sup>
ZAŠTIĆENI	19	16,79 ± 2,41 <sup>abc</sup>
	9	19,47 ± 0,86 <sup>abc</sup>
	12	23,28 ± 2,97 <sup>bc</sup>
	14	16,42 ± 0,65 <sup>abc</sup>
	16	18,72 ± 1,21 <sup>abc</sup>
	21	26,22 ± 0,13 <sup>c</sup>
	<i>p-vrijednost</i>	<i>0,001</i>

\*različita slova a-c označavaju statistički značajnu razliku,  $p < 0,05$

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 12. vidljivo je da je postojala statistički značajna razlika u koncentraciji karbonila između svih 14 ispitivanih uzoraka dimljenih pršuta ( $p < 0,05$ ). Koncentracija karbonila kretala se u rasponu 12,79-24,31 nmol karbonila / mg proteina. Najmanja koncentracija karbonila određena je u uzorku 3, dok je najveća određena u uzorku 17, pri čemu oba uzorka spadaju u grupu nezaštićenih pršuta. Cava i suradnici (2009) proveli su istraživanje na španjolskom Iberijskom pršutu u kojem se koncentracija karbonila kretala u rasponu 7,6-10,9 nmol karbonila / mg proteina što je znatno manje od koncentracije karbonila određenog u ovom radu. Dobivena koncentracija karbonila, određena u ovom radu, znatno je veća od koncentracije koje su Ventanas i suradnici (2007) odredili u Iberijskom pršutu.

Tablica 13. Prosječna koncentracija karbonila u nezaštićenim i zaštićenim uzorcima dimljenih pršuta

UZORAK	Koncentracija karbonila (nmol karbonila / mg proteina)
NEZAŠTIĆENI	19,07 ± 3,90
ZAŠTIĆENI	20,82 ± 3,90
<i>p-vrijednost</i>	0,269

Prema rezultatima prikazanih u tablici 13. vidljivo je da nije postojala statistički značajna razlika u koncentraciji karbonila između nezaštićenih i zaštićenih grupa ispitivanih dimljenih pršuta ( $p > 0,05$ ). Isto tako, vidljivo je da su zaštićeni uzorci imali nešto veću prosječanu koncentraciju karbonila u odnosu na nezaštićene s prosječnim odstupanjem od prosječne vrijednosti 18,73 %.

#### 4.7. Utjecaj udjela soli na teksturu i proteolitičke promjene u dimljenom pršutu

U ispitivanim uzorcima dimljenih pršuta udio soli se kretao u rasponu 6,64-9,63 %. Uzorak 21 sadržavao je najmanji udio soli od 6,64 % soli, a uzorak C najviši od 9,63 %. Razlog za veći udio soli u krajnjem proizvodu može biti taj što je u samom procesu soljenja dodana veća količina soli. Isto tako, upotreba soli manje granulacije i duži proces solje također mogu povećati udio soli u pršutu (Kovačević, 2011).

Tijekom proizvodnje pršuta dolazi do brojnih biokemijskih reakcija čiji tijek i obim ovise o aktivnosti endogenog enzimskog sustava. Jedna od najznačajnijih biokemijskih promjena je proteoliza (Toldrá i sur., 1997a). Najvažnije proteolitičke promjene događaju se jedino u produženom procesu zrenja i kod pršuta niske koncentracije soli (Toldrá i Flores, 1998). Dobiveni rezultati su pokazali da uzorak 2, s manjim udjelom soli od 7,70 %, imao znatno veći indeks proteolize (43,96 %) u odnosu na uzorak C koji je imao znatno veći udio soli (9,63 %), ali znatno manji indeks proteolize (31,40 %). Isti slučaj je bio i s uzorcima 12 i 9. Većina uzoraka s manjim udjelom soli, imala je i manji indeks proteolize. Morales i suradnici (2007) u svom istraživanju su dokazali da povećanjem koncentracije soli smanjuje se indeks proteolize.

Redukcija soli u konačnom proizvodu može uzrokovati intenzivnu proteolizu (Virgili i sur. 1995), a jedna od posljedica prekomjerne proteolize je mekša konzistencija pršuta zbog razgradnje miofibrilarnih proteina koji grade mišićnu strukturu (Parolari i sur., 1994). Intenzitet proteolize može se kvantificirati kroz indeks proteolize, te je dobar pokazatelj njezinog intenziteta (Harkouss i sur., 2015). Dobiveni rezultati su pokazali da su dimljeni pršuti s većim indeksom proteolize imali manju tvrdoću što je u skladu s prethodno navedenim istraživanjima. Veći indeks proteolize znači intenzivniju proteolizu, pa u skladu s time je vidljivo da je kod uzorka 2 određena najintenzivnija proteoliza, dok je kod uzorka 9 ona bila najmanje izražena.

Kao rezultat proteolize dolazi i do oksidativne modifikacije proteina tijekom koje proteini mijenjaju primarnu strukturu ili dolazi do potpunog gubitka neke aminokiseline. Proteini mesa osjetljivi su na reakcije oksidacije koje dovode do formiranja karbonilnih spojeva (Stadtman i Levine, 2003; Xiong, 2000). Svega nekoliko istraživanja bavilo se utjecajem soli na nastanak proteinskih karbonila, ali bez konkretnih rezultata. Dodatak soli ima utjecaj na ionsku jakost okoline što dovodi do veće izloženosti miofibrilarnih proteina prooksidansima i stoga utječe na njihovu sklonost oksidaciji (Montero i sur., 2005, Shimizu i sur., 2009). Prema dobivenim rezultatima prikazanim u tablici 12. vidljivo je da su u većini slučajeva manje soljeni uzorci imali veću koncentraciju karbonila što je bilo i za očekivati, jer manji udio soli u uzorcima uzrokuje veći indeks proteolize pa samim time i veću proteolitičku aktivnost (Martin i sur., 1998) koja dovodi do veće oksidacije proteina što na kraju rezultira većom koncentracijom karbonila (Estévez i sur., 2009).

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata te provedene rasprave može se zaključiti sljedeće:

1. Udio soli u dimljenim pršutima kretao se u rasponu od 6,64-9,63 %.
2. Ispitivani uzorci dimljenog pršuta sadrže visok udio proteina: 29,91-38,60 %. Udio proteinskog dušika iznosio je 4,79-6,18 % a udio neproteinskog dušika 1,10-2,71 %.
3. Boja je određena L\*, a\* i b\* vrijednostima. L\* vrijednost iznosila je od 48,11-54,79, a\* vrijednost 3,48-6,70 te b\* vrijednost 5,49-8,58.
4. Indeks proteolize kretao se u rasponu 20,38-43,96 % dok koncentracija karbonila od 12,79-24,31 nmol karbonila / mg proteina.
5. Dimljeni pršuti s višim indeksom proteolize imaju intenzivniju proteolizu i višu koncentraciju karbonila.
6. Dobiveni rezultati pokazuju da dimljeni pršuti s višim indeksom proteolize imaju manju tvrdoću.
7. Uzorci sa većim udjelom soli sadrže manju koncentraciju karbonila tj. manji stupanj oksidacije proteina zbog konzervirajućeg djelovanja NaCl.
8. Između nezaštićenih i zaštićenih uzoraka dimljenih pršuta statistički značajna razlika je postojala za vrijednost parametra b\* i za udio neproteinskog dušika.

## 6. LITERATURA

Akagawa, M., Sasaki, D., Ishii, Y., Kurota, Y. Yotsu-Yamashita, M., Uchida, K., Suyama, K. (2006) New method for the quantitative determination of major protein carbonyls,  $\alpha$ -aminoadipic and  $\gamma$ -glutamic semialdehydes: investigation of the formation mechanism and chemical nature in vitro and in vivo. *Chem. Res. Toxicol.* **19**, 1059-1065.

Anonymous 1 (2016) Dalmatinski pršut sa zaštićenom oznakom sada i na na europskom tržištu, <[http://hrturizam.hr/wp-content/uploads/2016/02/hrturizam\\_prsut\\_2.jpg](http://hrturizam.hr/wp-content/uploads/2016/02/hrturizam_prsut_2.jpg)>. Pristupljeno 21. lipnja 2018.

AOAC (1984) Official methods of analysis, Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

AOAC (1999) Official method 981.10 crude protein in meat. U: Meat and meat products, vol. II., (Cunniff P., ured., 16. izd.). Official methods of analysis of the AOAC International, Gaithersburg, MD, SAD. str. 1-15.

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.

Berlett, B.S., Stadtman, E.R. (1997) Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J. Biol. Chem.* **272**, 20313-20316.

Carrapiso, I.A., García, C. (2008) Effect of the Iberian pig line on dry-cured ham characteristics. *Meat Sci.* **80**, 529–534.

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. *Innov. Food Sci. Emerg.* **10**, 76–81.

CIE, Commission Internationale de l'Eclairage (1976) Official recommendations on uniform colour spaces, colour differences equations and metric colour terms. Paris: France

Comi, G., Duratti, G. (1993) Organizzazione funzionale e controllo dell'igiene e della Sicurezza negli ambienti di lavorazione del prosciutto di San Daniele. Collana tecnica n. 1, Consorzio del prosciutto di San Daniele.

Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., Milzani, A. (2003) Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol. Med.* **9**, 169-76.

Dall'Olio, E. (1989) Il prosciutto di Parma. Agenzia 78.

Daneshvar, B., Frandsen, H., Dragsted, L.O., Knudsen, L.E., Autrup, H. (1997) Analysis of native human plasma proteins and haemoglobin for the presence of bityrosine by high-performance liquid chromatography. *Pharm. Tox.* **81**, 205-208.

De Laat, J., Gallard, H. (1999) Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Fe(III) in Homogeneous Aqueous Solution: Mechanism and Kinetic Modeling. *Environ. Sci. Technol.* **33**, 2726-2732.

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. U: Handbook of Processed Meat and Poultry Analysis, (Mollet, L. M. L., Toldra, F., ured.), CRC Press: Boca Raton, FL, str. 141-162.

Estévez, M., Ollilainen, V., Heinonen, M. (2009) Analysis of protein oxidation markers  $\alpha$ -amino adipic and  $\gamma$ -glutamic semialdehydes in food proteins using liquid chromatography (LC) electrospray ionization (ESI)-multistage tandem mass spectrometry (MS). *J. Agric. Food Chem.* **57**, 3901-3910.

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.



Garrison, W.M. (1987) Reaction mechanisms in the radiolysis of peptides, polypeptides, and proteins. *Chem. Rev.* **87**, 381-98.

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.

Harkouss, R., Safa, H., Gatellier, P., Lebert, A., Mirade, P.S. (2014) Building phenomenological models that relate proteolysis in pork muscles to temperature, water and salt content. *Food Chem.* **151**, 7-14.

Honikel, K. O. (1998) Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* **49**, 447-457.

HRN ISO 937:1999, Meso i mesni proizvodi - Određivanje količine dušika (Referentna metoda).

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, SM (2010) Biochemistry of postmortem muscle-lessons on mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.* **86**, 184-195.

Hunt, M.C. (1980) Meat Color Measurements. Proceedings of Reciprocal Meat Conference, **33**, 41-46.

Joo, S.T., Kaufmann, R.G., Kim, B.C., Pork, G.B. (1999) The relation ship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to color and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Sci.* **52**, 291-297.

Karolyi, D. (2009) Najčešći problemi u proizvodnji pršuta. *Meso.* **11**, 134-143.

Koprivnjak, O. (2014) Kvaliteta, sigurnost i konzerviranje hrane, udžbenik iz kolegija Uvod u prehrambene tehnologije, Sveučilište u Rijeci, Rijeka.

Kovačević, D. (2001) Kemija i tehnologija mesa i ribe, Sveučilište J.J. Strossmayera: Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek.

- Krvavica, M., Đugum, J. (2006) Proizvodnja pršuta u svijetu i kod nas. *Meso*. **7**, 355-365.
- 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.
- Lawrie, R. A. (1998) The eating quality of meat. U: Meat science, 6. izd., (Lawrie, R. A., ured.), Woodhead Publishing, Cambridge.
- Lucarini, M., Saccani, G., D’Evoli, L., Tufi, S., Aguzzi, A., Gabrielli, P., Marletta, L., Lombardi-Boccia, G. (2013) Micronutrients in Italian ham: A survey of traditional products. *Food Chem*. **140**, 837–842
- MacDougall D.B. (1982) Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chem*. **9**, 75–88.
- Martín, L., Córdoba, J.J., Antequera, T., Timón, M.L., Ventanas, J. (1998) Effects of salt and temperature on proteolysis during ripening of Iberian ham. *Meat Sci*. **49**, 145-53.
- 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*.
- Monin, G., Marinova, P., Talmant, A., Martin, J. F., Cornet, M., Lanore, D. Grasso, F. (1997) Chemical and structural dry-cured hams (Bayonne hams) during processing and effect of the dehairing technique. *Meat Sci*. **47**, 29-47.
- Montero, P., Gimenez, B., Perez-Mateos, M., Gomez-Guillen, M.C. (2005) Oxidation stability of muscle with quercetin and rosemary during thermal and high-pressure. *Food Chem*. **93**, 17-23.
- Morales, R., Serra, X., Guerrero, L., Gou, P. (2007) Softness in dry-cured porcine biceps femoris muscles in relation to meat quality characteristics and processing conditions. *Meat Sci*. **77**, 662–669.
- Nishimura, T., Okitani, A., Rhue, M.R., Kato, H. (1990) Survey of neutral amino peptidases in bovine, porcine and chicken skeletal muscles. *Agric. Biol. Chem*. **54**, 2769.

- Parolari, G., Virgili, R., Schivazappa, C. (1994) Relationship between cathepsin B activity and compositional parameters in drycured hams of normal and defective texture. *Meat Sci.* **38**, 117-122.
- 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.
- Pérez-Santaescolástica, C., Carballo, J., Fulladosa, E., Garcia-Perez, J.V., Benedicto, J., Lorenzo, J.M. (2018) Effect of proteolysis index level on instrumental adhesiveness, free amino acids content and volatile compounds profile of dry-cured ham. *Food Res. Int.* **107**, 559-566.
- Petrak, T., Roseg, Đ., Hraste, A., Babić, K. (1987) Morfološka i histokemijska ispitivanja količine lipida tijekom procesa soljenja i prešanja istarskog pršuta. U: “Biodinamika mišića” (Bego, ured.), Veterinarski fakultet, Zagreb, 348-357.
- Petričević, S., Marušić Radovčić, N., Lukić, K., Listeša, E., Medić, H. (2018) Differentiation of dry-cured hams from different processing methods by means of volatile compounds, physico-chemical and sensory analysis. *Meat Sci.* **137**, 217-227.
- Pravilnik o mesnim proizvodima (2012) *Narodne novine* **131**, 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.
- Reig, M., Toldrá, F. (1998) Protein nutritional quality of muscle foods. *Recent Res. Devel. Agric. Food Chem.* **2**, 71-78.
- Requena, J.R., Groth, D., Legname, G., Stadtman, E.R., Prusiner, S.B., Levine, R.L. (2001) Copper-catalyzed oxidation of the recombinant SHa (29-231) prion protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **98**, 7170-7175.

- Rezende Costa, M., Filho, W.B., Silveira, E., Felício P.E. (2008) Colour and texture profiles of boneless restructured dry-cured hams compared to traditional hams. *Food Sci. Technol.* **65**, 169-173.
- Rosell, C.M., Toldrá, F. (1998) Comparison of muscle proteolytic and lipolytic enzyme levels in raw hams from Iberian and White pigs. *J. Sci. Food Agric.* **76**, 117-122.
- Schivazappaa, C., Degnib, M., Nanni Costac, L., Russoc, I., Buttazzonid, L., Virgili, R. (2002) Analisis of raw meat to product proteolysis in Parma ham. *Meat Sci.* **60**, 77-83.
- Senčić, Đ., Samac, D. (2016) Nutritivna vrijednost svinjskog mesa - predrasude i stvarnost. *Meso.* **18**, 264-268.
- Shacter, E. (2000) Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Met Rev.* **32**, 307-326.
- Shimizu, Y., Kiriake, S., Ohtubo, S., & Sakai, T. (2009). Effect of NaCl on protein and lipid oxidation in frozen yellowtail meat. *Biosci. Biotech Bioch.* **73**, 923-925.
- Soladoye, O.P., Juarez, M.L., Aalhus, J.L., Shand, P., Estévez, M. (2015) Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. *Comp. Rev. Food Sci. & Food Safety.* **14**, 106-122.
- Srinivasan, S., Xiong, Y. L., & Decker, E. A. (1996). Inhibition of protein and lipid oxidation in beef heart surimi-like material by antioxidants and combinations of pH, NaCl and buffer type in the washing media. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 119-125.
- Stadtman, E. R. (1990) Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: Biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Biol. Med.* **9**, 315-325.
- Stadtman, E.R., Levine, R.L. (2003) Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* **25**, 207-218.
- Szczesniak, A. (2002) Texture is a sensory property. *Food. Qual. Pref.* **13**, 215-225.
- Tabilo, G., Flores, M., Fiszman, S., Toldrá, F. (1999) Postmortem meat quality and sex affect textural properties and protein breakdown of dry-cured ham. *Meat Sci.* **51**, 255-260.

Toldrà, F. (2002). Manufacturing of dry-cured ham. U: Dry-cured meat products. Trumbull, Connecticut, USA: Food & Nutrition Press Inc. str. 27-62.

Toldrà, F. (2010) Handbook of Meat Processing, Blackwell Publishing, Iowa, USA.

Toldrà, 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.

Toldrà, F., Flores, M., Sanz, Y. (1997a). Dry-cured ham flavour: enzymatic generation and process influence. *Food Chem.*, **59**, 523–530.

Toldrà, 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.

Udruga Dalmatinski pršut (2015) OZP DALMATINSKI PRŠUT – Specifikacija.

Utrera M., Estevez M.(2013) Impact of trolox, quercetin, genistein and gallic acid on the oxidative damage to myofibrillar proteins: The carbonylation pathway. *Food Chem.* **141**, 4000-4009.

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.

Virgili, R., Prolari, G., Schivazzappa, C., Soresi, C., Borri, M. (1995) Sensory and texture quality of dry-cured ham as affected by endogenous cathepsin B activity and muscle composition. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 1183–1186.

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.

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

*Martina Terešk*

Ime i prezime studenta