

Proteolitički, lipolitički i oksidacijski procesi tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Poljanec, Ivna

Doctoral thesis / Disertacija

2022

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:159:017182>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-18**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Ivna Poljanec

**PROTEOLITIČKI, LIPOLITIČKI I
OKSIDACIJSKI PROCESI TIJEKOM
PROIZVODNJE DIMLJENOGA PRŠUTA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.



Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Ivna Poljanec

**PROTEOLITIČKI, LIPOLITIČKI I
OKSIDACIJSKI PROCESI TIJEKOM
PROIZVODNJE DIMLJENOGA PRŠUTA**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

Prof. dr. sc. Helga Medić

Zagreb, 2022.



Sveučilište u Zagrebu

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Ivna Poljanec

**PROTEOLYTIC, LIPOLYTIC AND
OXIDATIVE CHANGES THROUGHOUT
THE SMOKED DRY-CURED HAM
PROCESS**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:

PhD Helga Medić, Full Professor

Zagreb, 2022

Ovaj doktorski rad izrađen je u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Helge Medić. Rad doktorandice Ivne Poljanec financiran je iz „Projekta razvoja karijera mladih istraživača – izobrazba novih doktora znanosti“ (DOK-01-2018) Hrvatske zaklade za znanost koji je financirala Europska unija iz Europskog socijalnog fonda. Istraživanje je provedeno u okviru, projekta Hrvatske zaklade za znanost: "Primjena inovativnih metoda u praćenju proteolitičkih, lipolitičkih i oksidativnih procesa tijekom proizvodnje pršuta, IM – HQHAM" (IP-2016-06-6793) (voditelj: prof. dr. sc. Helge Medić).

Informacije o mentoru:

prof. dr. sc. Helga Medić, redovita profesorica u trajnom zvanju

Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

ŽIVOTOPIS

Dr. sc. Helga Medić redovita je profesorica u trajnom zvanju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu od 2021. godine. Od 1996. godine zaposlena je u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe, Zavoda za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Akademski stupanj doktora biotehničkih znanosti, znanstveno polje prehrambena tehnologija, stekla je 2006. godine, također na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Znanstveno-istraživački rad prof. dr. sc. Helge Medić usmjeren je na istraživanja mikrobiološke sigurnosti i kvalitete mesa i mesnih proizvoda, mesa peradi i jaja, mogućnost primjene bioelektrične impedancijske analize u kontroli kvalitete proizvoda životinjskog porijekla, istraživanje hlapivih spojeva u hrvatskim autohtonim mesnim proizvodima i manipulacije sastavom masnih kiselina u jajima. Važan dio istraživanja prof. dr. sc. Helge Medić predstavlja i primjena novih tehnologija u produženju trajnosti mesa peradi kao što su vakuum hlađenje, tretman visokim hidrostatskim tlakom i ultrazvukom visokog intenziteta. Istraživanja u području kontrole kvalitete obuhvaćaju i razvitak brzih metoda temeljenih na impedancijskoj i Raman spektroskopiji, a posljednjih godina i na primjenu inovativnih tehnika u praćenju proteolitičkih, lipolitičkih i oksidativnih procesa tijekom proizvodnje pršuta.

Prof. dr. sc. Helga Medić aktivno je sudjelovala u četiri nacionalna znanstvena i četiri međunarodna projekta. Bila je voditeljica nacionalnog znanstvenog projekta HRZZ-a „Primjena inovativnih metoda u praćenju proteolitičkih, lipolitičkih i oksidativnih procesa tijekom proizvodnje pršuta“ (HRZZ IP-2016-06-6793) i partner na međunarodnom projektu Erasmus + Programme – Key Action 2 (KA2) Alliance for Skills and Knowledge to Widen Food Sector-related Open Innovation, Optimization and Development. Autor i koautor je 67 znanstvenih radova od čega je 25 indeksirano u CC i/ili SCI bazama. Kao članica znanstvenog ili organizacijskog odbora, sudjelovala je u organizaciji 15 međunarodnih znanstvenih kongresa. Članica je uredničkog kolegija znanstvenog časopisa „Meso“, područna urednica međunarodnog časopisa Food Technology and Biotechnology te je glavna urednica Zbornika radova VII. Međunarodnog kongresa prehrambenih tehnologa, biotehnologa i nutricionista.

Znanstveno se usavršavala u inozemstvu na prestižnim znanstvenim institucijama u više navrata, od čega je provela 6 mjeseci (2007.) u kontinuitetu na University of Ghent, Belgija, u sklopu European FP6 projekta „Pathogen Combat“. Kao gostujući profesor boravila je na Warsaw University of Life Sciences, Faculty of Food Sciences, Division of Meat Technology u travnju 2013. gdje je održala i više predavanja. Autorica je tri poglavlja u međunarodnim znanstvenim knjigama, dva recenzirana nastavna materijala, a pod njenim mentorstvom izrađeno je 45 diplomskih i 32 završna rada te je mentor šest obranjenih doktorskih disertacija. Prof. dr. sc. Helga Medić uključena je u nastavni rad na preddiplomskim, diplomskim i poslijediplomskim studijima na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu 26 godina, pri kojem je trenutno voditeljica diplomskog studija Prehrambeno inženjerstvo. Članica je Hrvatska akademije znanosti i umjetnosti Znanstvenog vijeća za poljoprivredu i šumarstvo, Sekcije za preradu poljoprivrednih proizvoda i biotehnologiju. Tajnica je Udruge za znanost o peradi – hrvatski ogranak World's Poultry Science Association te članica Izvršnog odbora, Društva prehrambenih tehnologa, biotehnologa i nutricionista Hrvatske i Hrvatskog društva za medicinsku i biološku tehniku. Predsjednica je European Hygienic Engineering and Design Group – regionalne sekcije Hrvatska te je članica Odbora za regionalni razvoj iste organizacije. Članica je više povjerenstva, odbora i radnih skupina, kako na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu, tako i u Hrvatskoj agenciji za hranu.

Iskreno se zahvaljujem svojoj mentorici, prof.dr.sc. Helgi Medić, na pruženoj prilici i ukazanom povjerenju, kao i na poticaju i strpljivosti čime mi je omogućen slobodan rad i izrada ove disertacije.

Također, veliko hvala i doc.dr.sc. Nives Marušić Radovčić, na pomoći, podršci i uloženom vremenu pruženome tijekom ovih godina provedenih u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe, kao i na brojnim korisnim savjetima vezanima uz znanstveno-istraživački rad.

Hvala ostalim kolegama iz Laboratorija za tehnologiju mesa i ribe, Tiboru i Sanji, na brojnim savjetima i ugodnom vremenu provedenome tijekom ove četiri godine.

Zahvaljujem se i ostalim kolegama sa Zavoda za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, na ugodnoj i prijateljskoj radnoj atmosferi.

Na kraju, zahvaljujem se svojoj obitelji, Ivanu i prijateljima na razumijevanju, podršci i ohrabrenju koje sam uvijek dobivala.

Sveučilište u Zagrebu

Doktorski rad

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Sveučilišni poslijediplomski studij Biotehnologija i bioproceno inženjerstvo, prehrambena tehnologija i nutricionizam

UDK: 542.943:612.397:612.398:637.525(043.3)

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**PROTEOLITIČKI, LIPOLITIČKI I OKSIDACIJSKI PROCESI
TIJEKOM PROIZVODNJE DIMLJENOGA PRŠUTA**

Ivna Poljanec, mag. ing.

Rad je izrađen na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu

Mentor: Dr.sc. Helga Medić, red. prof.

Kratki sažetak

Cilj rada bio je istražiti utjecaj proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih procesa na teksturu, boju i aromu dimljenoga pršuta tijekom tehnološkog procesa proizvodnje. Istraživanje je provedeno paralelno na mišićima *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM) izuzetih nakon šest faza proizvodnje. Provedene su analize: boje, teksture, fizikalno-kemijskih parametara, proteolitičkog indeksa, sastava proteina, aminokiselina i dipeptida, oksidacije masti i proteina, profila masnih kiselina (MK) i spojeva arome i senzorsko ocjenjivanje. Utvrđen je različit tijek istraživanih procesa tijekom proizvodnje. BF dimljenog pršuta karakteriziran je višim vrijednostima parametara boje (L^* , a^* i b^*), višim udjelima vode, pepela i NaCl-a, većom adhezivnom silom, adhezivnosti i kohezivnosti, a SM višim udjelima proteina, većom tvrdoćom, gumenosti, žvakljivosti i prijelomom. Određen je porast indeksa proteolize i udjela aminokiselina te degradacija sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina, uz veći intenzitet u BF. Mišići dimljenog pršuta imali su sličan sastav MK (38,72-38,77 % SFA, 51,59-52,64 % MUFA i 8,56-9,23 % PUFA). Formiranje oksidacijskih produkata stabiliziralo se nakon zrenja. Utvrđena je pozitivna korelacija oksidacije proteina i proteolize. Identificirano je 95 spojeva arome, predominantno aldehida, fenola i alkohola. SM je karakteriziran većim ($p < 0,05$) intenzitetom mirisa, mirisa po mesu i po dimljenome, intenzitetom boje mišićnog tkiva i tvrdoćom, a BF većom ($p < 0,05$) vlažnošću površine, slanosti i topivosti. Faza dimljenja utjecala je na formiranje karakteristične boje, mirisa i aromatskog profila pršuta, bez utjecaja na proteolizu i lipolizu.

Broj stranica: 227

Broj slika: 28

Broj tablica: 18

Broj literaturnih navoda: 297

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: dalmatinski pršut, dimljenje, lipoliza, oksidacija, proteoliza, senzorska svojstva

Datum obrane: 06.07.2022.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Dr. sc. Nives Marušić Radovčić, doc.
2. Dr. sc. Dubravka Škevin, red.prof.
3. Dr. sc. Danijel Karolyi, red. prof.
4. Dr. sc. Tibor Janči, doc. (zamjenski član)

Rad je pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu, Kačićeva 23, u Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb te u Sveučilištu u Zagrebu, Trg Republike Hrvatske 14, Zagreb.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Ph.D. thesis

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Postgraduate study in Biotechnology and Bioprocess Engineering, Food Technology and Nutrition

UDK: 542.943:612.397:612.398:637.525(043.3)

Scientific Area: Biotechnical Sciences

Scientific Field: Food Technology

PROTEOLYTIC, LIPOLYTIC AND OXIDATIVE CHANGES THROUGHOUT THE SMOKED DRY-CURED HAM PROCESS

Ivna Poljanec, MSc

Thesis performed at Faculty of Food Technology and Biotechnology, Zagreb

Supervisor: PhD. Helga Medić, Full professor

Short Abstract

The aim of this study was to investigate the influence of proteolytic, lipolytic and oxidative processes on the texture, color and aroma of dry-cured ham throughout processing. The study was conducted simultaneously on ham muscles, the biceps femoris (BF) and the semimembranosus (SM), sampled after six stages of the production process. Samples were analysed for color, texture and physicochemical parameters, proteolysis index, protein, amino acid and fatty acid profiles, lipid and protein oxidation, fatty acid profile (FA) and aroma compounds and sensory properties. Monitored processes on BF and SM proceeded at different rates during production. BF had higher values for color parameters (L^* , a^* , b^*), higher water, ash, and NaCl contents, higher adhesive force, adhesiveness and cohesiveness. SM had higher protein contents, hardness, gumminess, chewiness and fracture. Increases in proteolysis index values, amino acid and dipeptide contents and degradation of sarcoplasmic and myofibrillar proteins were observed, with more pronounced effects in BF. Muscles of the final product showed similar FA profiles (38.72-38.77% SFA, 51.59-52.64% MUFA, 8.56-9.23% PUFA). The formation of oxidation products stabilized after ripening. A positive correlation between protein oxidation and proteolysis was observed. A total of 95 aroma compounds were identified, mainly aldehydes, phenols and alcohols. SM had higher ($p < 0.05$) odor intensity, meat and smoke odor, muscle color and hardness and BF higher ($p < 0.05$) moisture, saltiness and melting sensation. Smoking affected the development of the characteristic color, odor and aroma of dry-cured ham, but had no effect on proteolysis and lipolysis.

Number of pages: 227

Number of figures: 28

Number of tables: 18

Number of references: 297

Original in: Croatian

Key words: Dalmatian dry-cured ham, smoking, lipolysis, oxidation, proteolysis, sensory properties

Date of the thesis defense: 06.07.2022.

Reviewers:

1. PhD. Nives Marušić Radovčić, Assistant professor
2. PhD. Dubravka Škevin, Full professor
3. PhD. Danijel Karolyi, Full professor
4. PhD. Tibor Janči, Assistant professor (substitute)

Thesis deposited in: Library of Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb, National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb, Zagreb, University of Zagreb, Trg Republike Hrvatske 14, Zagreb.

Tema doktorskog rada prihvaćena je na 11. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta akademske godine 2018./2019. održanoj 30. rujna 2019. godine u Zagrebu, a Senat Sveučilišta u Zagrebu donio je odluku o odobravanju pokretanja postupka stjecanja doktorata znanosti u okviru doktorskog studija na 5. sjednici održanoj 18. veljače 2020. u 351. akademskoj godini (2019./2020.).

SAŽETAK

Pršut je jedan od najcjenjenijih mesnih proizvoda na tržištu čija je kvaliteta uvjetovana tehnološkim postupkom i biokemijskim promjenama koje se odvijaju tijekom proizvodnje. Znanstvenim istraživanjima na različitim vrstama pršuta utvrđeno je kako je tijek i intenzitet proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih procesa tijekom prerade uvjetovan različitim faktorima, posebno temperaturom te udjelom soli i vode. Cilj ovoga rada je bio istražiti utjecaj brzine i intenziteta proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih procesa na teksturu, boju i aromu dimljenog pršuta, prateći promjene na proteinima i lipidima kroz cijeli proizvodni proces.

Istraživanje je provedeno na Dalmatinskom pršutu, dimljenom pršutu koji u skladu s europskim zakonodavstvom nosi zaštićenu oznaku zemljopisnog podrijetla (ZOZP), a predstavlja proizvodno najznačajniji pršut na domaćem tržištu. Istraživanje je provedeno na ukupno 60 uzoraka pršuta. Uzorci pršuta ($n=10$) su izuzeti nakon svake od šest faza proizvodnog procesa: sirovi butovi, nakon soljenja, nakon dimljenja, nakon sušenja, nakon zrenja (pršut starosti 12 mjeseci) i nakon produljenog zrenja (pršut starosti 18 mjeseci). Istraživani parametri simultano su praćeni na dva najvažnija mišića buta *biceps femoris* (BF) i *semimembranosus* (SM).

Provedeno je instrumentalno određivanje parametara boje (L^* , a^* , b^*) i analiza profila teksture (TPA) te fizikalno-kemijskih parametara. Proteolitičke promjene praćene su određivanjem proteolitičkog indeksa (standardnom metodom i metodom s Cd-ninhidrinom), analizom sastava proteina primjenom SDS-elektroforeze (SDS-PAGE) i sastava aminokiselina i dipeptida primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC). Lipolitičke promjene praćene su određivanjem profila masnih kiselina primjenom plinske kromatografije (GC). Oksidacijske promjene na mastima i proteinima praćene su spektrofotometrijski, određivanjem koncentracija malondialdehida u uzorku (MDA/kg) primjenom TBARS testa i određivanjem udjela proteinskih karbonila DNPH metodom (nmol karbonila/mg proteina). Analiza profila hlapivih spojeva arome provedena je primjenom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom (GC-MS). Senzorsko ocjenjivanje dimljenoga pršuta nakon faze zrenja (pršut starosti 12 mjeseci) i produljenog zrenja (pršut starosti 18 mjeseci) provedeno je primjenom kvantitativne deskriptivne senzorske analize.

Istraživani parametri statistički su se značajno ($p<0,05$) mijenjali u BF i SM tijekom proizvodnje. Određene su razlike u tijeku istraživanih procesa i količini nastalih produkata između mišića. U BF je određena viša ($p < 0,05$) vrijednost parametra svjetline (L^*), crvenosti (a^*) i žutine (b^*), vode, pepela i NaCl-a, dok su u SM su određeni viši udjeli proteina. TPA

analizom utvrđena je veća adhezivna sila, adhezivnost i kohezivnost u BF, a veća tvrdoća, gumenost, žvackljivost i prijelom u SM.

Određen je porast stupnja proteolize koji je bio popraćen nakupljanjem proteolitičkih produkata i progresivnom degradacijom proteina, posebno u BF. SDS-PAGE analizom utvrđen je pad relativnih intenziteta većine proteinskih vrpca. Naintenzivnija razgradnja određena je u sarkoplazmatskoj frakciji za fosforilazu B (97,0 kDa), područje 64,1 - 41,7 kDa, gliceraldehid fosfat dehidrogenazu (36,7 kDa) i mioglobin (18,5 kDa), a u miofibrilarnoj za vrpce 130 kDa, α -aktinin (96,7 kDa) i područje 28,1 kDa -16,9 kDa. Razgradnja miofibrilarnih proteina tijekom proizvodnje odvijala se mnogo većim opsegom i intenzitetom u BF. Određen je statistički značajan ($p < 0,05$) porast udjela ukupnih aminokiselina i pad udjela dipeptida u oba mišića tijekom proizvodnje. U gotovom dimljenom pršutu u najvišim su udjelima određene glutaminska kiselina, lizin, alanin i leucin. Na kraju proizvodnje BF je sadržavao više udjele ($p < 0,05$) ukupnih aminokiselina i dipeptida u odnosu na SM.

Između profila masnih kiselina BF i SM nisu određene značajnije razlike tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. Predominantne masne kiseline u gotovom pršutu bile su oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), linolna (C18:2cn6) i miristinska (C14:0) kiselina. BF i SM dimljenog pršuta sadržavali su 38,72-38,77 % SFA, 51,59-52,64 % MUFA i 8,56-9,23 % PUFA.

Oksidacijski procesi su se odvijali sličnim tijekom u istraživanim mišićima. Maksimalne koncentracije produkata oksidacije masti (MDA) i proteina (ukupnih proteinskih karbonila) određene su nakon faze zrenja. Formiranje oksidacijskih produkata stabiliziralo se u zadnjoj fazi proizvodnje te su u gotovom dimljenom pršutu određene konačne vrijednosti od 0,46 MDA/kg i 19,18 nmol karbonila/mg proteina u BF te 0,50 MDA/kg i 15,88 nmol karbonila/mg proteina u SM. Rezultati istraživanja međuovisnosti proteolize i oksidacije proteina sugeriraju njihovo simultano odvijanje tijekom proizvodnje i međusoban promovirajući efekt. S druge strane, nije utvrđena značajna korelacija ($p > 0,05$) između procesa oksidacije masti i oksidacije proteina tijekom proizvodnje.

Analizom profila hlapivih spojeva arome metodom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom (GC-MS) detektirano je i identificirano ukupno 95 spojeva, od kojih su najzastupljeniji bili spojevi iz skupine aldehida, fenola i alkohola. Utvrđene su značajne ($p < 0,05$) promjene aromatskih profila te porast broja individualnih aromatskih spojeva u istraživanim mišićima tijekom 18 mjeseci proizvodnje. U gotovom dimljenom pršutu određeni su značajno viši ($p < 0,05$) udjeli većine aromatskih spojeva u BF.

Senzorskim ocjenjivanjem dimljenoga pršuta nakon faze zrenja i produljenog zrenja

utvrđene su značajne razlike ($p < 0,05$) u intenzitetu pojedinih senzorskih deskriptora između mišića. SM je karakteriziran većim ($p < 0,05$) intenzitetom mirisa, mirisa po mesu i po dimljenome, intenzitetom boje mišićnog tkiva i tvrdoćom, a BF većom ($p < 0,05$) vlažnošću površine, slanosti i topivosti.

Različit opseg i tijek istraživanih procesa i različita količina nastalih produkata u BF i SM tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta posljedica su različite anatomske lokacije mišića u butu tijekom proizvodnje. Primijenjeni postupak hladnog dimljenja ($< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) utjecao je na formiranje specifičnih senzorskih svojstava: karakteristične boje i mirisa i aromatskog profila (porast ukupnih fenola), bez značajnijeg utjecaja na tijek proteolitičkih i lipolitičkih procesa.

Ključne riječi: dalmatinski pršut, dimljenje, lipoliza, oksidacija, proteoliza, senzorska svojstva

SUMMARY

Dry-cured ham is one of the best-known meat products on the market, and its quality is highly dependent on the technological process and biochemical changes that occur during production. Previous studies on different types of dry-cured hams have shown that the rate and extent of proteolytic, lipolytic and oxidative processes during processing are influenced by various factors, especially temperature and salt and water content. The aim of this study was to investigate the influence of proteolytic, lipolytic and oxidative processes on the texture, color and aroma of smoked dry-cured ham during processing by monitoring the changes in proteins and lipids throughout the production process.

The study was conducted on Dalmatian dry-cured ham, a smoked dry-cured ham with Protected Geographical Indication (PGI) according to the European legislation, which is also the most commercially important and well-known brand of dry-cured ham on the Croatian market. The study was conducted on a total of 60 hams. Dry-cured hams (n=10) were selected for analysis according to each of the six stages of production: Raw ham, after salting, after smoking, after drying, after ripening (after 12 months of processing) and after prolonged ripening (after 18 months of processing). Analyses were conducted simultaneously on the two main muscles of the ham, the biceps femoris (BF) and the semimembranosus (SM).

Instrumental analysis of color parameters (L^* , a^* , b^*), analyses of texture profile (TPA) and physicochemical parameters were performed. Proteolytic changes were monitored by proteolysis index (standard method and Cd-ninhydrin method), protein composition analysis by SDS-PAGE and amino acid and dipeptide composition by high-performance liquid chromatography (HPLC). Lipolytic changes were monitored by determining the fatty acid profile (FA) using gas chromatography (GC). The extent of lipid and protein oxidation was assessed spectrophotometrically by determining the concentration of malondialdehyde in the sample (MDA / kg) using the TBARS assay and the concentration of protein carbonyls using the DNPH method (nmol carbonyl / mg protein). The analysis of volatile aroma compounds was performed by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). The sensory characteristics of dry-cured ham after ripening (12 months after processing) and after prolonged ripening (18 months after processing) were evaluated using quantitative descriptive sensory analysis.

The rate and extent of monitored processes and the amount of reaction products differed ($p < 0.05$) according to the muscle type.

BF was characterised by higher values in color parameters (L^* , a^* , b^*), higher water, ash, and NaCl contents, and SM by higher protein content. TPA analysis showed higher adhesive force, adhesiveness and cohesiveness of BF and higher hardness, gumminess, chewiness and fracture of SM.

An increase in proteolysis index was accompanied by accumulation of proteolysis products and progressive degradation of proteins, with higher intensity in BF. SDS- PAGE showed a decrease in the relative intensities of most protein bands, with the most notable changes in the sarcoplasmic fraction for phosphorylase B (97.0 kDa), 64.1 - 41.7 kDa bands, glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (36.7 kDa) and myoglobin (18.7 kDa) and the myofibrillar fraction for the 130 kDa, α -actinin (96.7 kDa) and 28.1 kDa -16.9 kDa bands. The myofibrillar fraction of BF was degraded to a much higher extent. A significant ($p < 0.05$) increase in total amino acids and decrease in total dipeptides were observed in both muscles during processing, with higher final levels of total amino acids and dipeptides in BF. Glutamic acid, lysine, alanine, and leucine were the most abundant amino acids in both muscles at the end of processing.

No significant differences were observed between the FA profiles of BF and SM during production. Oleic acid (C18: 1c), palmitic acid (C16: 0), stearic acid (C18: 0), linoleic acid (C18: 2cn6) and myristic acid (C14: 0) were the most abundant FFA in the final product. BF and SM of the final product showed similar FFA profiles (38.72-38.77% SFA, 51.59-52.64% MUFA, 8.56-9.23% PUFA).

A similar trend was observed for lipid and protein oxidation. The highest levels of lipid oxidation products (MDA) and protein oxidation products (total carbonyl) were determined after the ripening phase. The formation of MDA and carbonyls stabilized at the final stage of production, with final values of 0.46 MDA/kg and 19.18 nmol carbonyls/mg proteins for BF and 0.50 MDA/kg and 15.88 nmol carbonyls/mg proteins in SM. The results of this study suggest that proteolysis and protein oxidation that occurred during the production of smoked dry-cured ham are interrelated and promoted one another. However, a significant relationship between lipid and protein oxidation was not found ($p > 0.05$).

A total of 95 volatile aroma compounds were identified, of which aldehydes, phenols and alcohols were the most abundant. Significant ($p < 0.05$) changes in the profiles of aromatic compounds with an increase in the number of individual aromatic compounds in the studied muscles during 18 months of production were detected, with BF of the final product having higher ($p < 0.05$) levels of most aromatic compounds.

Sensory evaluation of smoked dry-cured ham after ripening and prolonged

ripening revealed significant differences ($p < 0.05$) in the intensity of several sensory descriptors between muscles. SM was characterised by higher ($p < 0.05$) odor intensity, meat and smoke odor, muscle color and hardness, and BF by higher ($p < 0.05$) moisture, saltiness and melting sensation.

The different intensity of the studied processes and the different number of products obtained during the production of smoked dry-cured ham on BF and SM are the result of the different anatomical position of the muscles in the ham during production. The cold smoking phase ($< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) influenced the formation of specific sensory properties: characteristic color, odor and aromatic profile (increase in total phenols), without significant influence on the course of proteolytic and lipolytic processes.

Key words: Dalmatian dry-cured ham, smoking, lipolysis, oxidation, proteolysis, sensory properties

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	5
2.1. Pršut.....	6
2.1.1. Definicija pršuta	6
2.1.2. Povijest proizvodnje pršuta	6
2.1.3. Vrste pršuta	7
2.2. Sirovina za proizvodnju pršuta.....	14
2.2.1. Glavne karakteristike mišićnog tkiva svinjskog buta.....	15
2.2.2. Glavne karakteristike masnog tkiva svinjskog buta	20
2.2.3. Čimbenici kvalitete svinjskog buta za proizvodnju pršuta.....	21
2.3. Tehnološki postupak proizvodnje dimljenoga pršuta	23
2.3.1. Prijem sirovine	24
2.3.2. Soljenje.....	25
2.3.3. Dimljenje	28
2.3.4. Sušenje	29
2.3.5. Zrenje	30
2.3.6. Finalni proizvod	32
2.4. Fizikalno-kemijske promjene tijekom proizvodnje pršuta	34
2.5. Biokemijske promjene tijekom proizvodnje pršuta.....	35
2.5.1. Proteoliza.....	35
2.5.2. Lipoliza.....	40
2.5.3. Oksidacijske promjene tijekom proizvodnje pršuta	43
2.6. Razvoj senzorskih karakteristika pršuta	49
2.6.1. Boja pršuta.....	49
2.6.2. Tekstura pršuta	50
2.6.3. Okus i aroma pršuta.....	51
2.7. Nutritivna vrijednost pršuta	54
2.7. Sigurnosni aspekti u proizvodnji dimljenog pršuta	55
2.8. Trendovi u proizvodnji pršuta	57
3. MATERIJALI I METODE	60
3.1. Materijali.....	61
3.1.1. Uzorci	61
3.1.2. Uređaji	65
3.1.3. Pribor	66
3.1.4. Kemikalije	67
3.1.5. Standardi.....	69
3.1.6. Računalni programi	70
3.2. Metode rada	70
3.2.1. Instrumentalno određivanje boje	70
3.2.2. Instrumentalno određivanje teksture	71
3.2.3. Određivanje udjela vode.....	73
3.2.4. Određivanje udjela masti po Soxhletu	74

3.2.5. Određivanje udjela proteina po Kjeldahlu	74
3.2.6. Određivanje pepela.....	75
3.2.7. Određivanje neproteinskog dušika	76
3.2.8. Određivanje udjela NaCl-a.....	77
3.2.9. Određivanje a_w	77
3.2.10. Određivanje pH	78
3.2.11. Određivanje indeksa proteolize iz omjera neproteinskog i proteinskog dušika...	78
3.2.12. Određivanje indeksa proteolize metodom s Cd-ninhidrinom	78
3.2.13. Određivanje sastava proteina pršuta.....	79
3.2.14. Određivanje sastava aminokiselina i dipeptida	82
3.2.15. Određivanje sastava masnih kiselina u pršutu.....	83
3.2.16. Određivanje stupnja oksidacije masti.....	84
3.2.17. Određivanje oksidacije proteina.....	85
3.2.18. Analiza profila hlapivih spojeva arome pršuta.....	86
3.2.19. Senzorska analiza pršuta starosti 12 i 18 mjeseci	88
3.2.20. Statistička obrada podataka	93
4. REZULTATI	94
4.1. Fizikalno-kemijski parametri tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	95
4.1.1. Rezultati instrumentalnog određivanja boje i teksture tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	95
4.1.2. Rezultati određivanja fizikalno-kemijskih parametara tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	99
4.2. Proteolitičke i lipolitičke promjene tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	101
4.2.1. Rezultati određivanja indeksa proteolize tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	102
4.2.2. Rezultati određivanja sastava proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta..	104
4.2.3. Rezultati određivanja sastava aminokiselina i dipeptida tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	112
4.2.4. Rezultati određivanja sastava masnih kiselina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	117
4.3. Oksidacijske promjene tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	122
4.3.1. Rezultati određivanja oksidacije masti tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta..	123
4.3.2. Rezultati određivanja oksidacije proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	124
4.4. Rezultati određivanja profila hlapivih spojeva arome tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	125
4.5. Rezultati određivanja senzorskih karakteristika dimljenoga pršuta (pršut starosti 12 i 18 mjeseci).....	141
4.6. Rezultati određivanja međuovisnosti fizikalno-kemijskih, proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena i odabranih parametara senzorske kvalitete dimljenoga pršuta.....	143
5. RASPRAVA.....	163
5.1. Fizikalno-kemijski parametri tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	164
5.1.1. Boja i tekstura tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	164

5.1.2. Osnovni kemijski sastav, pH i a_w vrijednost tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	168
5.2. Proteolitičke i lipolitičke promjene tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	170
5.2.1. Indeks proteolize tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	171
5.2.2. Sastav proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	173
5.2.3. Sastav aminokiselina i dipeptida tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	176
5.2.4. Sastav masnih kiselina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	178
5.3. Oksidacijske promjene tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	182
5.3.1. Oksidacija masti tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta	182
5.3.2. Oksidacija proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	183
5.3.3. Međuovisnost proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena tijekom proizvodnje dimljenog pršuta.....	185
5.4. Profil hlapivih spojeva arome tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.....	186
5.5. Senzorske karakteristika dimljenoga pršuta (pršut starosti 12 i 18 mjeseci).....	191
6. ZAKLJUČCI	194
7. LITERATURA	199

1. UVOD

Pršut je jedan od najcjenjenijih mesnih proizvoda na tržištu čije izrazite senzorske karakteristike i kvalitetan nutritivni profil zadovoljavaju očekivanja i afinitete modernih potrošača koji pokazuju rastući interes za kupovinom visokokvalitetnih autohtonih mesnih proizvoda (Vitale i sur., 2020; García-Gudiño i sur., 2021). Razlozi za povećanom potražnjom autohtonih proizvoda su prvenstveno povjerenje u tradicionalne načine proizvodnje, nostalgija za tradicionalnim proizvodima te želja za očuvanjem lokalnog i regionalnog gospodarstva (Cerjak i sur., 2014; Mesić i sur., 2017; Díaz-Caro i sur., 2019). Ovi tržišni trendovi donose proizvođačima nove prilike za plasman pršuta visoke kvalitete koji uz pomoć novih znanstvenih spoznaja mogu standardizirati tehnologiju proizvodnje te unaprijediti kvalitetu i sigurnost proizvoda.

Na tržištu su prisutne mnoge vrste pršuta, čije senzorske i nutritivne karakteristike ovise o brojnim faktorima poput karakteristika sirovine, uvjeta prerade, kulturnih i regionalnih specifičnosti te klimatskih uvjeta (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). Hrvatska je također jedna od mediteranskih zemalja s dugom tradicijom proizvodnje pršuta. Dalmatinski, Drniški i Krčki pršut zaštićeni su oznakom zemljopisnog podrijetla (ZOZP), dok je Istarski pršut zaštićen oznakom izvornosti (ZOI). Dalmatinski i Drniški pršut ističu se svojom posebnom aromom i bojom koje su posljedica primjene dimljenja tijekom tehnološkog postupka proizvodnje (Petričević i sur., 2018).

Fizikalno-kemijska i senzorska svojstva pršuta i njihova ovisnost o tehnološkom postupku proizvodnje zadnja dva desetljeća opsežno su istraživani (Pugliese i sur., 2010; Harkouss i sur., 2015; Giovanelli i sur., 2016; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018; Sirtori i sur., 2020), što je dovelo do spoznaja o brojnim kompleksnim biokemijskim procesima koji se događaju prilikom pretvorbe sirovog mišićja buta u pršut. Gubitak vode i porast koncentracije soli, promjene fizikalno-kemijskih parametara poput pH i aktiviteta vode (a_w), zajedno s proteolitičkim i lipolitičkim reakcijama dovode do promjene boje, okusa, arome i teksture (Harkouss i sur., 2015).

Proteoliza i lipoliza dvije su najvažnije skupine biokemijskih procesa koji se odvijaju tijekom proizvodnje s izravnim utjecajem na kvalitetu pršuta (Toldrá, 2014). Razgradnja mišićnih proteina (proteoliza) posredovana je brojnim enzimima prisutnima u mišićnom tkivu buta (Toldrá, 1998). Proteolitičke promjene dovode do nastanka manjih peptida i aminokiselina (koji sudjeluju u formiranju okusa i arome) (Toldrá, 1998; Zhou i sur., 2021), razvoja specifične teksture pršuta (López-Pedrouso i sur., 2018) i nastanka bioaktivnih peptida koji imaju širok raspon funkcionalnih i bioloških aktivnosti (Toldrá i sur., 2020).

Lipidi su ključni za nutritivnu vrijednost, ali i senzorska svojstva pršuta jer služe kao otapalo raznih tvari arome, a ujedno su i prekursori brojnih aromatskih spojeva (Gilles, 2009). Promjene na mastima uključuju hidrolitičke procese uz oslobađanje slobodnih masnih kiselina (SMK) (proces lipolize) i njihovu naknadnu oksidaciju. Produkti oksidacije SMK, ovisno o koncentraciji u kojoj nastaju, mogu uzrokovati pojavu poželjne ili nepoželjne arome i mirisa (Domínguez i sur., 2019a).

Tijek proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena uvjetovan je različitim faktorima tijekom procesa proizvodnje, posebno udjelom soli i vode, pH, temperaturi i anatomskej lokaciji mišića u butu tijekom proizvodnje (Gandemer, 2002; Ruiz-Ramírez i sur., 2006; Garrido i sur., 2012; Harkouss i sur., 2015; Petrova i sur., 2015a). Mnoge studije bavile su se istraživanjem fizikalno-kemijskih i senzorskih karakteristika te lipolitičkih i proteolitičkih promjena u dva glavna mišića pršuta, *m. biceps femoris* (BF) i *m. semimembranosus* (SM) (Andres i sur., 2005a; Harkouss i sur., 2012; Andronikov i sur., 2013; Bermúdez i sur., 2014a,b; 2015, Pugliese i sur., 2015). Zbog različitih uvjeta u BF i SM tijekom proizvodnje (primarno zbog različitog udjela soli i vode), lipolitički i proteolitički procesi imaju drugačiji intenzitet i tijekom što dovodi do razlika u fizikalno-kemijskim svojstvima, udjelu nastalih produkata te u senzorskim karakteristikama između ova dva mišića (Bermúdez i sur., 2014a,b).

Oksidacija proteina aktualna je tema u području analitike mesa i mesnih proizvoda (Estévez, 2011; Soladoye i sur., 2017a; Gallego i sur., 2018a,b). Utvrđeno je kako je oksidacija proteina mesa inicirana mnogim prooksidansima, posebno mioglobinom, ionima metala, sekundarnim produktima oksidacije lipida i različitim kemijskim spojevima (Bao i Ertbjerg, 2019). Oksidativnim modifikacijama proteina dolazi različitih kompleksnih kemijskih promjena, najvećim dijelom do nastanka proteinskih karbonila (Estévez, 2011), što dovodi do narušavanja nutritivnih, senzornih, tehnoloških i funkcionalnih svojstava mesnih proizvoda (Soladoye i sur., 2015, 2017a; Bao i Ertbjerg, 2019). Novija znanstvena istraživanja uglavnom su se bavila identifikacijom i kvantifikacijom oksidiranih peptida u gotovim pršutima (Gallego i sur., 2018a, b; Li i sur., 2020), no samo je manji broj autora (Wang i sur., 2011; Koutina i sur., 2012) istraživao tijekom oksidacije proteina tijekom cijelog tehnološkog procesa proizvodnje pršuta. Upravo zbog spoznaje o brojnim negativnim učincima na kvalitetu pršuta, od relevantnog je znanstvenog značaja razjasniti tijekom oksidacijskih promjena na proteinima tijekom tehnološkog procesa proizvodnje pršuta.

Procesi oksidacije lipida i oksidacije proteina uzajamno su povezani te je utvrđeno kako se ova dva procesa međusobno pospješuju (Armenteros i sur., 2009; Wang i sur., 2018; Li i sur., 2020), dok karakter međusobnog odnosa proteolize i oksidacije proteina još uvijek nije u

potpunosti razjašnjen. Pretpostavlja se kako umjerena oksidacija proteina povoljno djeluje na proteolitičke procese, dok intenzivna oksidacija ograničava proteolitičku aktivnost (Bao i Erthjerg, 2019).

Dosadašnja istraživanja hrvatskih pršuta u najvećem dijelu bila su usmjerena na analizu hlapivih komponenta arome i fizikalno-kemijskih svojstava gotovog pršuta (Marušić i sur., 2011; 2014; Marušić Radovčić i sur., 2016; Petričević i sur., 2018). Tijek biokemijskih procesa, fizikalno-kemijska svojstva i senzorske karakteristike hrvatskih pršuta tijekom svih faza proizvodnje još uvijek predstavljaju neistraženo područje, no aktualna su tema znanstvenih istraživanja u svijetu (Koutina i sur., 2012; Bermúdez i sur., 2014a; Harkouss i sur., 2015; Bermúdez i sur., 2018).

U Hrvatskoj se posljednjih godina bilježi trend rasta proizvodnje hrvatskih autohtonih pršuta (Duić, 2020). Prema podacima iz 2020. godine, 90 % ukupne proizvodnje hrvatskih pršuta zauzima Dalmatinski pršut (Duić, 2020), no proizvedene količine nisu dovoljne da zadovolje rastuću potražnju. Zbog nedovoljnih sirovinskih kapaciteta na domaćem tržištu i uvoza sirovine različitog podrijetla često dolazi do velikih varijacija u tehnološkim svojstvima i kvaliteti butova, a time i neujednačene kvalitete pršuta na tržištu (Kovačević, 2017). Time se nameće potreba za razvojem i implementacijom inovativnih analitičkih metoda za sveobuhvatno praćenje kvalitete pršuta, od sirovine do konačnog proizvoda. Utjecaj faze dimljenja na biokemijske procese u pršutu još uvijek je nedovoljno istražen, budući da je primjena dimljenja pri proizvodnji pršuta opcionalna i uglavnom ovisi o zemlji ili regiji proizvodnje (Petrova i sur., 2015a). Istraživanja senzorskog i aromatskog profila dimljenih pršuta utvrdila su kako određene komponente dima pozitivno utječu na aromu i boju dimljenih proizvoda (Marušić Radovčić i sur., 2016; Petričević i sur., 2018), a dimljeni mesni proizvodi često su kod potrošača su i bolje prihvaćeni od nedimljenih (Pham i sur., 2008; Marušić Radovčić i sur., 2016).

Cilj disertacije je istražiti utjecaj brzine i intenziteta proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih procesa na teksturu, boju i aromu dimljenog pršuta, prateći promjene na proteinima i lipidima kroz cijeli proizvodni proces. Istraživanje je provedeno na Dalmatinskom pršutu, dimljenom pršutu koji u skladu s europskim zakonodavstvom nosi zaštićenu oznaku zemljopisnog porijekla (ZOZP), a predstavlja proizvodno najznačajniji pršut na domaćem tržištu. Istraživanje je provedeno dva najvažnija mišića buta (BF i SM), koji se smatraju „mišićima markerima“ u znanstvenim istraživanjima pršuta (Bermúdez i sur., 2014b; Pugliese i sur., 2015; Harkouss i sur., 2018).

Glavne hipoteze ove disertacije su: (i) postojanje razlika između dva istraživana mišića (BF i SM) dimljenog pršuta u intenzitetu i tijeku proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih procesa i senzorskim svojstvima, zbog njihovog različitog anatomskeg položaja u butu tijekom proizvodnje i različite kinetike transfera soli i vode (ii) postojanje međuovisnosti između tijeka proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih procesa i fizikalno-kemijskih i senzorskih parametara dimljenog pršuta i (iii) hladno dimljenje ($< 22^{\circ}\text{C}$) primijenjeno tijekom proizvodnje pršuta utjecat će na povećanje pojedinih hlapivih spojeva arome, no neće u značajnoj mjeri utjecati na tijek proteolitičkih i lipolitičkih procesa.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Pršut

2.1.1. Definicija pršuta

Pršut pripada skupini trajnih suhomesnatih proizvoda od svinjskog buta s kostima, sa ili bez kože i potkožnog masnog tkiva, sa ili bez nogice, bez repa te sa ili bez zdjeličnih kostiju. Temelj postupka proizvodnje pršuta je postupak suhog soljenja ili salamurenja, uz mogućnost dodatka drugih začina ili začinskog bilja, nakon čega slijede procesi sušenja i zrenja, opcionalno uz primjenu dimljenja. Ukupno trajanje proizvodnje pršuta je minimalno devet mjeseci (Pravilnik, NN 62/2018).

2.1.2. Povijest proizvodnje pršuta

Povijest proizvodnje pršuta seže iz ranog rimskog doba kada su soljenje i sušenje predstavljale glavne metode konzerviranja mesa. Porijeklo riječi „pršut“ dolazi od latinske riječi *perexsuctus* – temeljito osušen (per- po, na + exsuctus - isušiti), koja je u kasnijem modernom talijanskom jeziku oblikovana u riječ „prosciutto“, a označava usoljeni, začinjeni i osušeni zreli svinjski but narezan na tanke listove (Krvavica i Đugum, 2006). Proizvodnja pršuta se povijesno temeljila na tradicijskim načinima proizvodnje, slijedeći uglavnom metode prenošene usmenom predajom kroz generacije. Međutim, potreba za dobivanjem proizvoda standardne kvalitete, temeljenih na kontroliranim proizvodnim procesima, u zadnjim desetljećima 20. stoljeća potaknula je brojna znanstvena istraživanja na pršutu (Motilva i sur., 1992; Buscailhon i sur., 1994a,b; Parreño i sur., 1994; Toldrá, 2012). Velik ekonomski značaj ovog proizvoda, posebice u mediteranskim zemljama gdje pršut zauzima veliki tržišni udio (Jiménez-Colmenero i sur., 2010), izvor je kontinuirane potrebe za optimizacijom kvalitete sirovine i kontrolom biokemijskih reakcija koje se odvijaju tijekom prerade.

Kolijevka proizvodnje pršuta je područje Mediterana, čiji su klimatski uvjeti pogodni za prirodno sušenje i zrenje. U zemljama sjeverne Europe (Njemačka, Skandinavija) također se prakticirala proizvodnja pršuta koja je tradicionalno uključivala i dimljenje, s obzirom da niske temperature i klimatski uvjeti (visoka vlažnost) na tim područjima nisu omogućavali prirodno sušenje (Toldrá, 2002).

Proizvodnja pršuta u Hrvatskoj započela je vjerojatno u isto vrijeme kao i na području drugih mediteranskih zemalja širenjem rimskog utjecaja i prenošenjem znanja i vještina obrade i soljenja svinjskog mesa. O vrlo dugoj tradiciji svinjogojstva i proizvodnji sušenog i usoljenog svinjskog mesa na našim područjima svjedoče brojni povijesni zapisi (Božac i sur., 2011; Žužić

i Toić, 2014; Kos i sur., 2015; Karolyi i sur., 2015). Masovnija proizvodnja pršuta u Hrvatskoj započela je nakon završetka Drugog svjetskog rata, a u drugoj polovici 20. stoljeća razvojem turizma i porastom životnog standarda pršut postaje uobičajeni prehrambeni proizvod (Kos i sur., 2015; Karolyi i sur., 2015).

2.1.3. Vrste pršuta

2.1.3.1. Pršuti u svijetu

Na tržištu su prisutne brojne vrste pršuta, čije karakteristike ovise o podrijetlu i karakteristikama sirovine (pasmina svinja, način uzgoja i hranidbe) te o razlikama u tehnološkom postupku prerade (vrsti i trajanju pojedinih tehnoloških operacija). Različiti postupci proizvodnje, način rezanja buta i oblici pršuta ovise o tradiciji pripreme i klimatskim uvjetima u pojedinoj regiji ili zemlji proizvodnje (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). U Tablici 1. dan je pregled karakteristika nekih od proizvodno najznačajnijih i najpoznatijih pršuta u svijetu.

Tablica 1. Glavne karakteristike najznačajnijih svjetskih pršuta (Zhou i Zhao, 2007; Huang i sur, 2011; Toldrá, 2012; Petrova i sur, 2015a; Kovačević, 2017; Anonymous, 2021a)

<i>Naziv pršuta</i>	<i>Država proizvodnje</i>	<i>Pasmina svinje</i>	<i>Duljina proizvodnje (mjeseci)</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Zaštićena oznaka¹</i>
<i>Jamón ibérico de bellota (Dehesa Extremadura)</i>	Španjolska	Iberijska svinja	24-48	Ne	PDO
<i>Jamón Serrano</i>	Španjolska	Landras, Veliki Jorkšir, Durok, Pietrain	9-18	Ne	TSG
<i>Jamón de Teruel</i>	Španjolska	(Landras x Veliki Jorkšir) x Durok	14-22	Ne	PDO

<i>Presunto de Campo Maior e Elvas</i>	Portugal	Alentejano	12-14	Ne	PGI
<i>Presunto de Vinhais</i>	Portugal	Bisaro	> 12	Da	PGI
<i>Jambon de Bayonne</i>	Francuska	Baskijska svinja („Pie noir“)	9-12	Ne	PGI
<i>Jambon sec de Corse</i>	Francuska	Nustrale	24	Ne	PDO
<i>Prosciutto di Parma</i>	Italija	Veliki Jorkšir, Landras, Durok	12-18	Ne	PDO
<i>Prosciutto di San Danielle</i>	Italija	Velika bijela Italiana, Landras, Durok	9-18	Ne	PDO
<i>Prosciutto Toscano</i>	Italija	Veliki Jorkšir, talijanski Landras i njihovi križanci	> 12	Ne	PDO
<i>Holsteiner Katenschinken</i>	Njemačka	Komercijalne bijele pasmine svinja	3-5	Da	PGI
<i>Westfälischer Knochenschincken</i>	Njemačka	Komercijalne bijele pasmine svinja	3-5	Da	PGI
<i>Country-style</i>	SAD / Kentucky, Virginia	Chester White, Berkšir, američki Durok, američke	3-9	Da	-

		domaće pasmine			
<i>Jinhua</i>	Kina	Liangtouwu	8-10	Ne	-
<i>Xuanwei</i>	Kina	Wujin	10-12	Ne	-

¹ odnosi se na oznake na razini Europske unije: Zaštićena oznaka zemljopisnog podrijetla (*engl.* Protected geographical indication, PGI), Zaštićena oznaka izvornosti (*engl.* Protected designation of origin, PDO), Zajamčeno tradicionalnog specijaliteta (*engl.* Traditional Speciality Guaranteed, TSG).

Mediterranski tip, sjeverno-europski tip, američki („country-style“) i kineski tip pršuta glavni su tipovi pršuta u svijetu. Za mediteranske vrste pršuta svojstveno je suho soljenje bez dimljenja i dug period zrenja, dok se pršuti sjeverne Europe podvrgavaju dimljenju i kratkom zrenju. Američki („Country-style“) način proizvodnje uključuje dimljenje i kratko zrenje, a konzumaciji prethodi termička obrada (prženje ili kuhanje). Kineski pršuti proizvode se od svinjskih butova visokog sadržaja masti sušenih na suncu (Kovačević, 2017). Najveći proizvođač pršuta je Španjolska (najpoznatiji Jamón Ibérico i Jamón Serrano), zatim Italija (najzastupljeniji Prosciutto di Parma i Prosciutto di San Daniele te nešto manje Prosciutto Toscano), Francuska (Jambon de Bayonne) i Portugal (različite pršuta tzv. „presunto“) (Kovačević, 2017).

Europski pršuti visoke kvalitete zaštićeni su oznakama Europske unije: Zaštićena oznaka zemljopisnog podrijetla (*engl.* Protected geographical indication, PGI), Zaštićena oznaka izvornosti (*engl.* Protected designation of origin, PDO), Zajamčeno tradicionalnog specijaliteta (*engl.* Traditional Speciality Guaranteed, TSG) (tablica 1, slika 1). Proizvodi koji nose navedene oznake moraju udovoljiti specifičnim zahtjevima vezanima uz zemljopisno podrijetlo ili područja proizvodnje, uvjete proizvodnje svinja, odabira linija i križanaca, hranidbe, klanja, tehnologije prerade i dr. Njihova uloga je zaštita naziva određenih proizvoda, promicanje njihovih jedinstvenih karakteristika povezanih s njihovim zemljopisnim podrijetlom i tradicionalnim načinima proizvodnje te postizanje odgovarajuće tržišne vrijednosti proizvoda (Krvavica i Đugum, 2006; Anonymous, 2021b). Države s najvećim brojem zaštićenih pršuta su Italija, Španjolska, Portugal i Francuska (Kovačević, 2017).



Slika 1. Zaštićene oznake prehrambenih proizvoda na razini oznake na razini Europske unije: Zaštićena oznaka zemljopisnog podrijetla (*engl.* Protected geographical indication, PGI), Zaštićena oznaka izvornosti (*engl.* Protected designation of origin, PDO), Zajamčeno tradicionalnog specijaliteta (*engl.* Traditional Speciality Guaranteed, TSG) (Anonymous, 2021c)

2.1.3.2. Hrvatski pršuti

Hrvatska ima velik broj tradicionalnih prehrambenih proizvoda zahvaljujući zemljopisnim i klimatskim specifičnostima te bogatoj povijesti i kulturi. Republika Hrvatska na razini Europske unije zauzima deveto mjesto s 31 poljoprivrednim i prehrambenim proizvodom čiji je naziv registriran u Europskoj uniji kao ZOI ili ZOZP. Među njima se nalaze i hrvatski autohtoni pršuti, Istarski („Istrski“) pršut (ZOI) te Krčki, Dalmatinski i Drniški pršut (ZOZP) (Ministarstvo poljoprivrede, 2021). Pršut predstavlja jedan od najpopularnijih hrvatskih proizvoda i nezaobilazan je dio turističke i gastronomske ponude.

Istarski pršut najviše se proizvodi u unutrašnjosti Istarskog poluotoka i to pretežito na području između Pazina i Poreča. Tradicionalna proizvodnja Istarskog pršuta ima nekoliko specifičnosti u odnosu na ostale pršute: skidanje kože i potkožnog masnog tkiva s buta sve do samog mesa, ostavljanje zdjelične kosti na butu i suho salamurenje morskom solju uz dodatak papra, češnjaka, lovora i ružmarina. Odsutnost kože i masnog tkiva rezultira većim isušivanjem (kalom) nego kod drugih pršuta, ali i obrastanje vanjske površine buta plijesnima. Budući da nema kože i potkožnog masnog tkiva i da sadrži zdjelične kosti vizualno je karakterističnog izduženog oblika sa većim ili manjim nakupinama plijesni na svojoj površini. Proizvodnja Istarskog pršuta traje od 12-18 mjeseci (ovisno o početnoj masi buta). Po završetku faze zrenja nanosi se vrući žig Istarskog pršuta na kožu ispod skočnog zgloba onih pršuta koji posjeduju sva fizikalno-kemijska i senzorska svojstva predviđena Specifikacijom (Božac i sur., 2011; Gaćina, 2017).



Slika 2. Istarski pršut i Zajednički znak Istarskog pršuta (Božac i sur., 2011; Anonymous, 2016)

Krčki pršut proizvodi se isključivo na području otoka Krka. Glavne karakteristike proizvodnje Krčkog pršuta su obrada buta na način da se na butu ostavlja koža i potkožno masno tkivo, suho salamurenje solju uz dodatak papra (smiju se koristiti i lovor i ružmarin) i sušenje na zraku bez dimljenja. Pukotine koje se tijekom faze sušenja ili zrenja pojave na otvorenom dijelu buta (medijalna strana) dozvoljeno je premazati zaštitnom smjesom od svinjske masti, rižinog ili pšeničnog brašna, morske soli i mljevenog papra u svrhu sprječavanja pretjeranog isušivanja i kvarenja pršuta. Proizvodnja Krčkog pršuta, od trenutka početka soljenja do kraja faze zrenja, traje najmanje 12 mjeseci. Nakon završetka zrenja na kožu se nanosi zajednički žig Krčkog pršuta (obično s lateralne strane buta) pršutima koji posjeduju sva fizikalno-kemijska i senzorska svojstva propisana Specifikacijom (Žužić i Toić, 2014).



Slika 3. Krčki pršut i Zajednički znak Krčkog pršuta (Žužić i Toić, 2014; Kovačević, 2017)

Dalmatinski pršut proizvodi se 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. U zaćecima proizvodnje Dalmatinskog pršuta sušenje se provodilo samo na zraku bez dimljenja. Naknadnom spoznajom o konzervirajućem učinku dima pršutari su uveli hladno dimljenje kao standardni postupak u proizvodnji. U današnjem postupku proizvodnje dim se ne koristi u konzervirajuće svrhe već radi postizanja karakteristične arome dimljenog suhog svinjskog mesa (Kos i sur., 2015). Dalmatinski pršut smije se proizvoditi isključivo unutar administrativnih granica Ličko-senjske (samo grad Novalja), Zadarske, Šibensko-kninske, Splitsko-dalmatinske i Dubrovačko-neretvanske županije (Kos i sur., 2015). Na tim područjima prevladava mediteranska i submediteranska klima i planinski reljef s krškim oblicima uz relativnu vlažnost zraka između 56 – 76 % i vjetrovi, posebno hladna i suha bura koja je idealna za sušenje pršuta (Kos i sur., 2015; Kovačević, 2017).

Svinje koje se koriste za proizvodnju Dalmatinskog pršuta potomci su komercijalnih mesnatih pasmina ili njihovih križanaca. Nakon odabira butova čija svojstva zadovoljavaju Specifikaciju (Kos i sur., 2015), slijedi faza soljenja pri 1 - 4 °C (ohlađeni butovi apsorbiraju manje soli). U posljednjoj fazi soljenja butovi se mogu i prešati kako bi se postigao pravilan oblik pršuta. Pravilno soljeni, isprani i ocijeđeni butovi vežu se špagom ili se vješaju na kuku od nehrđajućeg čelika iznad petne kvrge i odnose u komoru radi ujednačavanja temperature prije hladnog dimljenja. Dimljenje i sušenje pršuta provodi se istovremeno i traje najviše 45 dana, a pritom je potrebno voditi računa da temperatura ne prijeđe 22 °C. Više temperature prelaze granicu hladnog dimljenja i uzrokuju denaturaciju proteina u površinskom sloju pršuta. Nakon dimljenja pršuti se premještaju u zamračene komore za zrenje (maksimalna temperatura od 20 °C) sa stabilnom mikroklimom i otvorima za izmjenu zraka koji moraju biti zaštićeni mrežicom za zaštitu od kukaca, glodavaca i drugih nametnika. Pukotine nastale tijekom zrenja na medijalnoj strani buta mogu se premazati smjesom usitnjenog svinjskog sala i pšeničnog ili rižinog brašna uz dodatak soli. Nakon godinu dana proizvodnje pršut je spreman za konzumaciju. Proizvod sa zaštićenom oznakom zemljopisnog podrijetla "Dalmatinski pršut" smije se stavljati na tržište kao cijeli pršut ili u zapakiran u obliku iskoštenog pršuta, u komadima pršuta ili kao porcioniran (narezan) pršut (Kos i sur., 2015).

Dalmatinski pršut smije sadržavati isključivo morsku sol bez dodataka (nitrata, nitrita, kalijeva sorbata, askorbinske ili propionske kiseline). Zajednički znak „Dalmatinskog pršuta“ se po završetku faze zrenja nanosi kao vrući žig na kožu onih pršuta za koje je utvrđeno da su

proizvedeni u skladu sa specifikacijom i posjeduju sva propisana fizikalno-kemijska i senzorska svojstva. Osim zajedničkog znaka, vrući žig sadrži i šifru proizvođača koja je istovjetna kontrolnom veterinarskom broju objekta (Kos i sur., 2015). Dalmatinski pršut posjeduje posebnu aromu, blago slankasti ili slani okus, jednoličnu crvenu do svijetlocrvenu boju mišićnog tkiva i bijelu do ružičasto-bijelu boju masnog tkiva. Meke je teksture i blagog mirisa na fermentirano, usoljeno, suho i dimljeno svinjsko meso. Dalmatinski pršut mora biti pravilnog oblika, bez pukotina, zarezotina i visećih dijelova mišića i kože i bez velikih nabora na koži. Prilikom rezanja prirodni spoj masnog i mišićnog tkiva pršuta ne smije se odvajati (Kovačević, 2017).



Slika 4. Dalmatinski pršut i Zajednički znak Dalmatinskog pršuta (Kos i sur., 2015; Anonymous, 2018)

Drniški pršut proizvodi se na području Grada Drniša i susjednih općina u Šibensko-kninskoj županiji. Proizvodi se tradicionalnim postupkom proizvodnje koji se sastoji od obrade buta uz uklanjanje zdjeličnih kosti i nožice, suhog soljenja krupnom morskom soli, prešanja, ispiranja, dimljenja, sušenja na zraku i zrenja, u ukupnom trajanju od minimalno 12 mjeseci. Značajne razlike između tehnološkog postupka proizvodnje Dalmatinskog i Drniškog pršuta nema, no postoje određene specifičnosti u fazi soljenja i dimljenja Drniškog pršuta koje dovode do razlika u karakteristikama gotovog proizvoda. Kod proizvodnje Drniškog pršuta but se soli sa umjerenom količinom soli uz uklanjanje „nečiste soli“ i završno ispiranje, zbog čega je Drniški pršut manje slan i blago slatkast. Poseban režim dimljenja u povišenim sušnicama uz korištenje drveta s manjom količinom smole (bukve, graba, suha smrekovina i lokalno mirisno raslinje) dovode do razvitka blaže arome dima u odnosu na Dalmatinski pršut. Zrelost pršuta postiže se za 12 do 18 mjeseci od soljenja, a dug period zrenja daje Drniškom pršutu karakterističnu rubin-crvenu, povoljnu strukturu pršuta i viši stupanj dehidracije (Karolyi i sur.,

2015; Gaćina, 2017). Zreli pršuti koji zadovoljavaju sva propisana fizikalno-kemijska i senzorska svojstva označavaju se vrućim žigom i zajedničkim znakom Drniškog pršuta sukladno Specifikaciji (Karolyi i sur., 2015).



Slika 5. Drniški pršut i Zajednički znak Drniškog pršuta (Karolyi i sur., 2015; Kovačević, 2017)

2.2. Sirovina za proizvodnju pršuta

Osnovna sirovina za proizvodnju pršuta je svinjski but (stražnja noge svinje). Od ostalih sirovina u proizvodnji pršuta koriste se sol (morska ili kamena), a kod nekih vrsta pršuta i razni začini te salamure (smjese soli nitrata i nitrita i drugih dodataka) (Toldrá, 2002; Kovačević, 2017). Svinjski but je sastavljen od mišićnog, masnog i vezivnog tkiva, kostiju i kože. Butovi obrađeni za proizvodnju pršuta uglavnom sadrže zdjeličnu kost (*os coxae*), butnu kost (*os femoris*), kosti potkoljenice (*ossa curtis*), iver (*os patella*) i proksimalni dio (dio kostiju bližih trupu) tarzalnih kostiju: *os calcaneus* i *os talus* (Kovačević, 2017).

U narednim poglavljima naglasak je stavljen na opis karakteristika mišićnog i masnog tkiva svinjskog buta, budući da ona prolaze kroz niz fizikalno-kemijskih i biokemijskih promjena tijekom prerade koje dovode do pretvorbe sirovog buta u pršut (Toldrá, 2002).

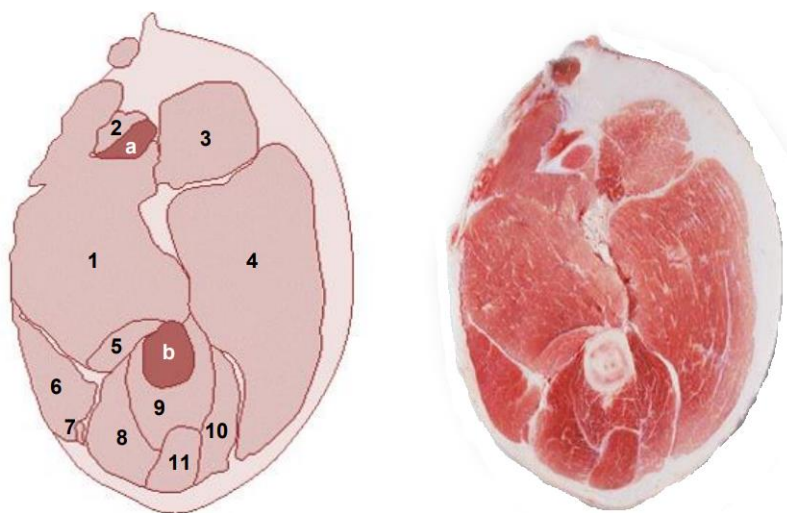
2.2.1. Glavne karakteristike mišićnog tkiva svinjskog buta

Mišići buta predstavljaju tržišno najvrjednije dijelove svinjskog trupa (Kovačević, 2017). Mišićno tkivo se, histološki gledano, može definirati kao skup primarnih i sekundarnih snopova mišićnih vlakana međusobno povezanih ovojnicama vezivnog tkiva (Kovačević, 2001). Svinjski but građen je od skeletnih (prugastih) mišića koji su izvana obavijeni ovojnicom zvanom epimizij (lat. *epimysium*), a perimizijem (lat. *perimysium*) su podijeljeni u mišićne snopove. Mišićni snopovi su sastavljeni od velikoga broja mišićnih vlakana obavijenih endomizijem (lat. *endomysium*).

U sarkoplazmi svakog mišićnog vlakna nalazi se oko tisuću paralelno poredanih miofibrila sastavljenih od tankih i debelih proteinskih niti zaslužnih za mišićnu kontrakciju i relaksaciju (Toldrá, 2002). Debele („miozinske“) niti sastavljene su od proteina miozina, kojeg čine četiri laka i dva teška miozinska lanca. Tanke („aktinske“) niti sastavljene su pretežito od proteina aktina te u manjoj mjeri od troponina i tropomiozina. Aktinske i miozinske niti formiraju kontraktilne jedinice (sarkomere) unutar kojih su pravilno poredane i ulaze jedne među druge. Strukturu miofibrila čine anizotropni segmenti (segmenti A) građeni od miozinskih niti tamnije boje i izotropni segmenti (segmenti I) svjetlije boje građeni od aktinskih niti. Oni se u susjednim miofibrilima pravilno izmjenjuju, dajući skeletnom mišiću karakterističan prugasti izgled. Tijekom mišićne kontrakcije dolazi do uvlačenja miozinskih između aktinskih po principu „kliznog mehanizma“ uslijed čega dolazi do skraćivanja sarkomere (Kovačević, 2001). Za proces mišićne kontrakcije nužna je energija koja se dobiva hidrolizom adenozin trifosfata (ATP) pomoću miozinske ATP-aze te prisutnost kalcijevih iona (Toldrá, 2002; Astruc, 2014a).

Skeletni mišići mogu biti građeni od više tipova mišićnih vlakana koja se, unatoč različitim podjelama koje se mogu pronaći u literaturi, osnovno kategoriziraju kao (i) spora, (ii) brza i (iii) intermedijarna vlakna (Paerson i Young, 1989; Toldrá, 2002; Astruc, 2014a). Sporo kontrahirajuća mišićna vlakna („crvena“ ili tip I) imaju značajno manju aktivnost miozinskih ATP-aza, oksidativni metabolizam te veći sadržaj mioglobina (nosioca crvene boje mesa). Brzo kontrahirajuća mišićna vlakna („bijela“ ili tip IIA) karakterizirana su visokom aktivnošću miozinskih ATP-aza (što im omogućava brzu kontrakciju), glikolitičkim metabolizmom i manjim sadržajem mioglobina. Intermedijarna vlakna (tip IIB) imaju brzinu kontrakcije između sporih i brzih te oksidativno-glikolitički metabolizam (Toldrá, 2002; Astruc, 2014a).

Glavni mišići svinjskog buta prikazani su na poprečnom presjeku svinjskog buta na slici 6.



Slika 6. Poprečni presjek svinjskog buta s mišićima i kostima: i) mišići: 1 - *m. semimembranosus*, 2 - *m. obturator internus*, 3 - *m. semitendinosus*, 4 - *m. biceps femoris*, 5 - *m. pectinus*, 6 - *m. gracilis*, 7 - *m. sartorius*, 8 - *m. vastus lateralis*, 9 - *m. vastus intermedialis*, 10 - *m. vastus medialis*, 11 - *rectus femoris*; ii) kosti: a - os ischii, b - os femoris (preuzeto iz Kovačević, 2017, izvorno: NPPC, 2000.)

Dvoglavi butni mišić (*m. biceps femoris*) i poluopnasti mišić (*m. semimembranosus*) (u daljnjem tekstu: BF i SM) predstavljaju glavne mišiće buta. Tijekom proizvodnje pršuta, butovi su položeni na način da se SM nalazi s vanjske strane buta, zbog čega je izložen većoj koncentraciji soli u početnim fazama procesa te većoj dehidraciji jer većim dijelom nije prekriven kožom i potkožnim masnim tkivom. BF se tijekom proizvodnje nalazi s unutarnje strane buta te je prekriven kožom i potkožnim masnim tkivom, zbog čega je u manjoj mjeri izložen površinskoj dehidraciji i brzoj difuziji soli. Kao posljedica različitih uvjeta (prvenstveno različitih udjela soli i vode), opseg i tijek fizikalno-kemijskih i biokemijskih promjena tijekom procesa proizvodnje različit je za ova dva mišića (Harkouss i sur., 2015). Iz

tog razloga često su korišteni kao „mišići markeri“ u znanstvenim istraživanjima (Koutina i sur., 2012; Bermúdez i sur., 2014b; Harkouss i sur., 2015, Pugliese i sur., 2015).

Mišići buta sastoje se od otprilike 74 % vode, 21 % proteina, 4 % masti i 1 % pepela, iako ovi omjeri mogu ponešto varirati ovisno o udjelu intramuskularne masti. Mišićni proteini glavne su komponente mišićnog tkiva čiji sadržaj u mišićima iznosi otprilike 15-22 % ukupne mišićne mase, odnosno oko 80 % suhe tvari (Toldrá, 2002). Proteini u mesu imaju nutritivnu (sadrže esencijalne aminokiseline) i funkcionalnu (želatinizacija, emulgiranje, vezanje vode u mesu i dr.) ulogu (Xiong, 2018). Proteini imaju posebnu važnost tijekom proizvodnje pršuta jer njihovom razgradnjom nastaju mnogi spojevi važni za formiranje okusa i arome (Toldrá, 2002).

Mišićni proteini dijele se u tri skupine na temelju njihove lokacije i karakteristika topljivosti: i) sarkoplazmatski, ii) miofibrilarni i iii) stromalni proteini (Xiong, 2018). U tablici 2. dan je opis karakteristika određenih sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina, najznačajnijih u kontekstu ove disertacije, ali i općenito značajnih za kvalitetu mesa i mesnih proizvoda.

Sarkoplazmatski proteini smješteni su u sarkoplazmi (citoplazmi mišićne stanice) koja okružuje miofibrile te čine 25-30 % od ukupnih mišićnih proteina. Topivi su u vodi i otopinama niske ionske jakosti ($I < 0,1$), a najčešće se ekstrahiraju razrijeđenim puferima ($< 0,1 \mu\text{M}$) neutralnog pH. Frakciju sarkoplazmatskih proteina čini oko 100 različitih proteina, među kojima se u najvećem udjelu nalaze brojni enzimi, pigmenti hema i nukleoproteini. Udio pojedinih sarkoplazmatskih proteina ovisi vrsti životinje, genetici (pasmini), dobi, tipu mišićnog vlakna te anatomskom položaju i funkciji mišića (Paerson i Young, 1989). Najzastupljeniji sarkoplazmatski proteini u mišićnom tkivu su (u opadajućem redoslijedu): gliceraldehid fosfat dehidrogenaza (GHD), aldolaza, enolaza, kreatin kinaza, laktat dehidrogenaza, piruvat kinaza, fosforilaza i mioglobin (Keeton i sur., 2014). Mioglobin (17 kDa) je najpoznatiji pripadnik sarkoplazmatske frakcije proteina zbog svoje uloge nosioca crvene boje mesa. Zbog sposobnosti reverzibilnog (oksidoredukcijskog) vezanja O_2 , koju zadržava i nakon smrti životinje, dolazi do postmortalnih promjena boje mesa (Kovačević, 2001). Sarkoplazmatski proteini također su podložni proteolizi, no u značajno manjoj mjeri od miofibrilarnih (Xiong, 2018).

Miofibrilarni proteini su glavne komponente mišićnih vlakana te čine 50-60 % od ukupnog udjela proteina u mišićima. Topivi su u otopinama soli ($> 2 \text{ \% NaCl}$) i drugim otopinama visoke ionske jakosti ($I > 0,5$), najčešće otopinama natrijevih ili kalijevih soli. Skupinu miofibrilarnih proteina čine tri razreda proteina koji imaju različitu ulogu u mišićima:

kontraktilni (mišićna kontrakcija), regulatorni (inicijacija i kontrola kontrakcije) i citoskeletni (održavanje strukture i rasporeda miofibrila) (Pearson i Young, 1989). Najzastupljeniji proteini u mišićnim vlaknima su: miozin (43%), aktin (22%), titin (8%), tropomiozin (5%), troponin (4%), nebulin (3%), C-protein (2%), α -aktinin (2%), M protein (2%) i desmin (1%) (Keeton i sur., 2014). Aktin i miozin najvažniji su proteini sa stajališta kvalitete mesa jer zajedno formiraju aktomiozinski kompleks u *post rigor* mesu, utječu na kapacitet zadržavanja vode (*engl.* water-holding capacity, WHC) i teksturu mesa. Na mikrostrukturnalnoj razini dokazano je kako je ova skupina proteina najviše podložna proteolizi (Xiong, 2018).

Stromalni proteini (proteini vezivnog tkiva) čine 10-20 % ukupnog udjela mišićnih proteina. Topivi su u isključivo kiselim ili alkalnim otopinama (nemaju sposobnost topljenja u vodi i otopinama soli). Glavni proteini ove skupne su kolagen (najzastupljeniji), elastin i retikulin.

Tablica 2. Glavne karakteristike najznačajnijih mišićnih proteina (Paerson i Young, 1989; Toldrá, 2002; Astruc, 2014b; Keeton i sur., 2014; Kovačević, 2017; Xiong, 2018)

Sarkoplazmatski proteini	Grada	Funkcija
Mitohondrijski enzimi	-	Biokemijske reakcije u respiratornom lancu, β -oksidaciji masti, TCA-ciklusu, oksidativnoj dekarboksilaciji i dr.
Glikolitički enzimi (GHD, aldolaza, enolaza i dr.)	-	Razgradnja glukoze uz oslobađanje energije
Lizosomalne proteaze (katepsini), lipaze i fosfolipaze, fosfataze, nukleaze	-	Proteoliza (MLC, aktin, titin, M i C protein, tropomiozin, troponin T i I), lipoliza, replikacija i transkripcija DNA/RNA
Neutralne proteaze (kalpaini)	-	Proteoliza (tropomiozin, troponin T i I, titin, nebulin, desmin)

Mioglobin (17 kDa)	Polipeptid (α -heliks uzvojnica) s vezanom hem skupinom	Boja mesa, oksido-redukcijsko vezanje i transport kisika u stanici
Miofibrilarni proteini / MW	Grada	Funkcija
Miozin (500 kDa)	Molekula miozina građena je od četiri laka (svaki 14-20 kDa) i dva identična teška lanca (svaki 230 kDa)	Mišićna kontrakcija, hidroliza ATP-a na globularnoj miozinskoj glavi koja se veže za aktin
Aktin (42 kDa)	Monomer G- ili F-aktina	Mišićna kontrakcija
Titin (3 MDa)	Dug proteinski lanac (d= 2-2,5 μ m), najveći protein kod sisavaca	Citoskeletni, odgovoran za pasivnu elastičnost mišića
Tropomiozin (70 kDa)	Duga molekula građena od dva jednaka polipeptidna lanca (svaki 35 kDa)	Regulatorna uloga u kontrakciji mišića, učvršćuje aktin
Troponin kompleks (80 kDa)	Proteinski kompleks građen od tri podjedinice (T (37 kDa), C (23 kDa), I (18 kDa))	Regulatorna uloga, regulacija ciklusa kontrakcija-relaksacija
Nebulin (800 kDa)	Dug filamentni proteinski lanac	Citoskeletni, struktura i regulacija duljine aktinskih filamenata
M protein (miomezin) (160 kDa), C protein (140 kDa)	Svaki građen od jedne polipeptidne jedinice	Citoskeletni, odgovorni za strukturu miozinskih filamenata
α -aktinin (200 kDa), β -aktinin (75 kDa)	α -dva polipeptidna lanca (svaki 100 kDa), β -heterodimer, dva polipeptidna lanca (34 i 37 kDa)	Citoskeletni, α - učvršćuje aktinske filamente u sidrišta (Z-liniju), β - regulira dužinu aktinskih filamenata
Desmin (55 kDa)	α -heliks uzvojnica	Citoskeletni, bočno povezuje susjedne miofibrile i

		povezuje miofibrile s drugim staničnim strukturama
--	--	--

2.2.2. Glavne karakteristike masnog tkiva svinjskog buta

U svinjskom butu nalaze se tri tipa masnog tkiva: i) potkožno (adipozno) masno tkivo, ii) intermuskularno (između mišića) i iii) intramuskularno (unutar mišića) (Toldrá, 2002). Masno tkivo buta pomaže u umjerenom prodiranju soli i usporavanju dehidracije tijekom proizvodnje pršuta te je od velikog značaja za senzorsku kvalitetu pršuta. Potkožno i intermuskularno masno tkivo čine triacilgliceroli (TAG) i manji udjeli kolesterola (40-50 mg/100 g), dok je intramuskularno uglavnom sastavljeno od TAG pohranjenih u masnim stanicama i fosfolipida (PL) pohranjenih u membranskim lipidima (Gandemer, 2002; Petrova i sur., 2015a). Intramuskularna mast pršuta ima najznačajniji utjecaj na izgled, teksturu (mekoću i sočnost) te intenzitet i postojanost arome i okusa pršuta (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). TAG intramuskularnog masnog tkiva „otapaju“ mnoge tvari arome, dok PL, iako prisutni u mnogo manjem udjelu, imaju značajniji utjecaj na senzorska svojstva pršuta jer služe kao glavni supstrat u reakcijama lipolize i oksidacije (sadrže značajno veće količine PUFA) (Gandemer, 2002).

Lipolizom komponenata intramuskularnog masnog tkiva nastaju slobodne masne kiseline (SMK) koje mogu direktno utjecati na senzorska svojstva pršuta ili su kao takve prekursori za različite hlapive spojeve arome zbog podložnosti oksidaciji (Gilles, 2009). Masne kiseline svinjskog mesa sastavljene su uglavnom od 12 - 22 ugljikovih atoma (C-atoma). Sastav masnih kiselina svinjskog mesa prosječno sadrži 35-40 % zasićenih masnih kiselina (*engl.*, saturated fatty acids, SFA), 45-50 % mononezasićenih masnih kiselina (*engl.*, monounsaturated fatty acids, MUFA) i 10-15 % polinezasićenih masnih kiselina (*engl.*, polyunsaturated fatty acids, PUFA) (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Najzastupljenije MK u pršutu su oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), linolna (C18:2cn6) i miristinska (C14:0) masna kiselina (Timón i sur., 2001; Bermúdez i sur., 2012; Pugliese i sur., 2015). Ipak, profil masnih kiselina u različitim pršutima može ponešto varirati, budući da na sastav masnog tkiva svinja primarno utječe sastav hrane, no također i genetsko porijeklo, dob i način uzgoja svinja (Smith i Smith, 2014).

Profil masnih kiselina u pršutu važan je s tehnološkog i senzorskog aspekta. Veći udio PUFA može dovesti do nepoželjne mekane konzistencije, pojave masnog sjaja na kriškama pršuta i intenzivnijih procesa oksidacije koji dovode do užglosti. Kod pršuta većeg udjela SFA

manja je učestalost pojave užeglosti uslijed dužeg tehnološkog procesa proizvodnje (Jiménez-Colmenero i sur., 2010; Čandek-Potokar i Škrlep, 2012).

2.2.3. Čimbenici kvalitete svinjskog buta za proizvodnju pršuta

Kvaliteta svinjskog buta kao sirovine za proizvodnju pršuta uvjetovana je brojnim faktorima, od kojih su najznačajniji: (i) pasmina svinje, (ii) prehrana i načina uzgoja, (iii) tretman svinja *ante* i *post mortem*, (iv) spol, dob i težina svinje u trenutku klanja (Toldrá, 2002; Čandek-Potokar i Škrlep, 2012).

Pasmina (genotip svinja) značajno utječe na senzorske karakteristike pršuta (aroma, boja, udio i sastav masti) (Čandek-Potokar i sur., 2002; Franco i sur., 2014; Choi i sur., 2016; Bermúdez i sur., 2017). Za proizvodnju pojedinih vrsta mediteranskih pršuta koriste se autohtone lokalne pasmine i njihovi križanci koji nisu podvrgnuti intenzivnoj selekciji u svrhu postizanja većeg rasta i mišićavosti. Takve pasmine često su uzgajane u silvo-pastoralnim sustavima uzgoja što rezultira povoljnijim senzorskim karakteristikama pršuta (Jiménez-Colmenero i sur., 2010; Čandek-Potokar i Škrlep, 2012; Fuentes i sur., 2014). Poznati primjer takve pasmine je Iberijska svinja (Fuentes i sur., 2014), a na našim područjima hrvatska autohtona pasmina Crna slavonska svinja („Fajferica“) (Karolyi i sur., 2010). Komercijalne pasmine bijelih svinja i njihovi križanci (posebno tropasminski križanci Landras x (Jorkšir x Durok) karakterizirani su bržim rastom, brojnijim potomstvom i većim prinosom mesa u odnosu na druge pasmine zbog čega se naširoko koriste u mesnoj industriji (Choi i sur., 2016). Komercijalne bijele pasmine koriste se u proizvodnji autohtonih hrvatskih pršuta, ali i nekih europskih poput Parma, Bayonne i Serrano (Jiménez-Colmenero i sur., 2010).

Tretman svinjama *ante mortem* i rukovanje svinjskim trupovima *post mortem* presudni su za kvalitetu mesa. Izlaganje životinja raznim čimbenicima stresa i neadekvatno rukovanje trupovima mogu narušiti normalan tijek postmortalnog pada pH u mišićima (prebrz ili prespor pad pH), dovodeći do raznih kvalitativnih odstupanja (Honikel, 2014). Otprilike 1 h *post mortem*, u mišićju životinje započinje proces anaerobne glikolize, pretvorbe mišićnog glikogena preko piruvata u mliječnu kiselinu. Tijekom hlađenja trupa, počinje kontinuirani pad pH u mišićju uslijed povećanja koncentracije mliječne kiseline. U vremenskom periodu od 24 sata nakon klanja (pH₂₄) vrijednosti padaju s početnih 7,4 do konačnih 5,7-5,5 (Braden, 2013).

U slučaju izlaganja životinja akutnom stresu pred klanje ili neadekvatnog rukovanja trupovima (visokih temperatura trupova (> 38 °C)) dolazi do ubrzane mišićne glikolize i nakupljanja visokih koncentracija mliječne kiseline. Tada u mišićima kreće brzi pad pH

vrijednosti (do pH 5,1) i dolazi do djelomične denaturacije proteina. Navedene promjene manifestiraju se kao blijedo, mekano i vodnjikavo mesa, poznato kao PSE meso (*engl.* pale, soft, exudative) (Karolyi, 2004; Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). PSE meso karakterizira nizak WHC što može dovesti do velikih proizvodnih gubitaka (Braden, 2013; Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). Nastanak PSE mesa također može biti uzrokovan genetskim nasljeđem, odnosno povećanom osjetljivošću na stres kod nekih pasmina svinja (Karolyi, 2004).

Dug transport životinja i izlaganje životinje stresu mogu dovesti do trošenja zaliha glikogena u mišićima *ante mortem*, rezultirajući sporim postmortalnim padom pH u mišićju (do 6,6-6,9). Takvo meso postaje tamno, čvrsto i suho, poznato kao DFD meso (*engl.* dark, firm, dry). DFD meso zbog svojeg neutralnog pH ima visok WHC stoga je podložnije mikrobnjoj kontaminaciji (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). Bilo koje od navedena dva stanja (PSE ili DFD) predstavlja ekstremno odstupanje od normalnih karakteristika te utječe na daljnji razvoj kvalitete svježeg mesa i prerađenih mesnih proizvoda (Braden, 2013).

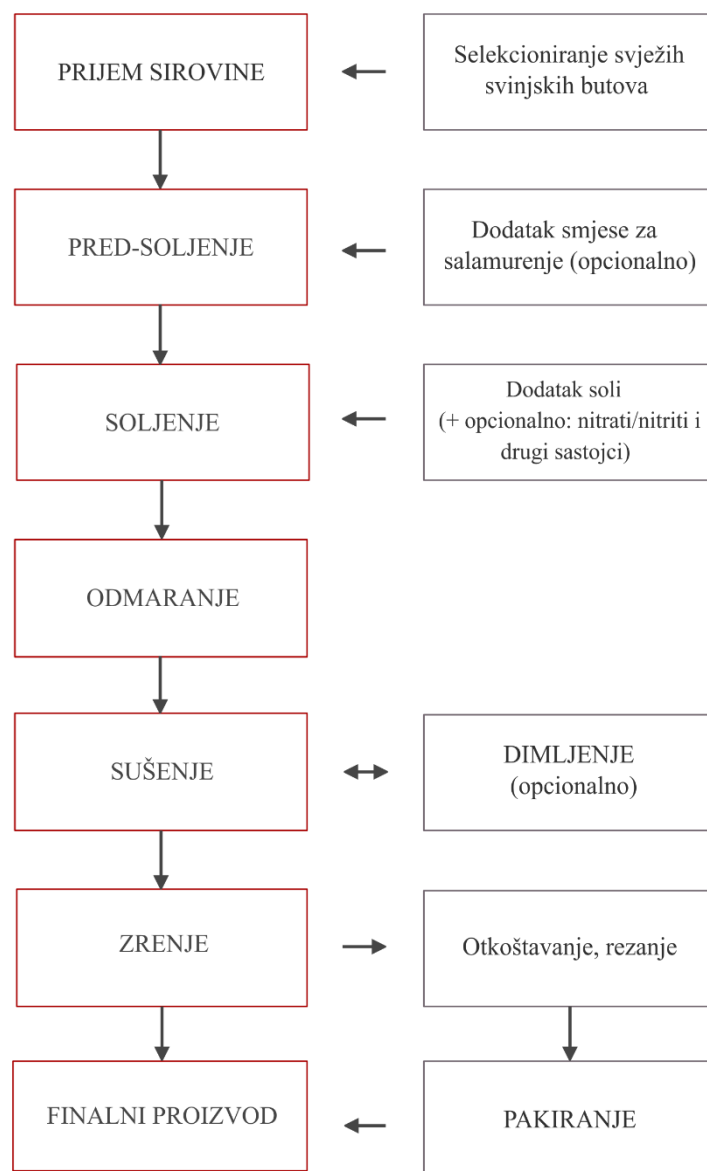
Većina butova za proizvodnju pršuta standardne kvalitete potječe od lakših i mlađih svinja prosječne mase pri klanju od 110-120 kg. Za meso starijih svinja, koje sadrži veći udio mioglobina, manji udio vode (time i nižu aktivnost pojedinih proteolitičkih enzima) i drugačiji enzimski profil od mesa mlađih svinja, svojstvena je intenzivnija crvena boja, veći udio masti, povoljnija konzistencija te intenzivniji okus i aroma (Toldrá, 2002). S komercijalnog stajališta, primjena takve sirovine nije uvijek isplativa te se butovi starijih i težih svinja danas uglavnom koriste proizvodnju pršuta visoke kvalitete koji prolaze vrlo dug period zrenja (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). Poznato je kako meso nekastriranih mužjaka svinja (nerasta) nije prihvatljiva sirovina za proizvodnju mesnih proizvoda zbog oslobađanja intenzivnog odbojnog mirisa pri preradi (tzv. nerastovsko svojstvo) (Karolyi, 2021). Između butova koji potječu od kastriranih mužjaka i nazimica nema značajnijih razlika u enzimskoj aktivnosti, senzorskim svojstvima (Fuentes i sur., 2014; Tomažin i sur., 2020) i sastavu masnih kiselina (Franco i sur., 2014), no butovi kastrata imaju nešto veći udio masti, a time i veću mramoriranost mesa, sporiju apsorpciju soli i manji proizvodni kalo (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012).

Sustav držanja svinja (otvoreni, poluotvoreni ili zatvoreni) i hranidba može značajno utjecati na kvalitetu svinjskog mesa. U zatvorenom (intenzivnom) tipu svinje se drže u objektima izvan kojih im je na omogućeno kretanje u betonski ograđenim i natkrivenim jedinicama), a hranidba je bazirana na koncentriranim krmivima. Mješoviti sustav podrazumijeva držanje svinja u objektima te povremeno puštanje na pašnjake ili šume, u određeno godišnje doba ili pri određenim ciklusima u životu krmače (Früh i sur., 2014). Otvoreni sustav podrazumijeva držanje svinja u potpunosti na otvorenom uz slobodno kretanje

po pašnjacima i šumama. U otvorenom sustavu svinje izravno pronalaze hranu, uglavnom travu i plodove poput žira ili kestena, što rezultira višim udjelom intramuskularnog masnog tkiva u mišićju životinja (Bonneau i Lebret, 2010). Sastav obroka u najvećoj mjeri utječe na sastav masnih kiselina intramuskularne masti jer se masne kiseline iz hrane ugrađuju u masno tkivo svinja (Gilles, 2009). Radi veće fizičke aktivnosti svinja držanih u otvorenim sustavima, njihovo meso intenzivnije je crvene boje (veći udio mioglobina zbog veće potrebe za intenzivnijim transportom kisika u mišićnim vlaknima) (Kovačević, 2017), veće čvrstoće mišićnih vlakana i većeg WHC kapaciteta. Zbog karakterističnog načina hranidbe, meso svinja iz otvorenih sustava sadrži veći udio vitamina E, željeza, polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) (posebno oleinske kiseline) i manji udio zasićenih masnih kiselina (SFA) (Bonneau i Lebret, 2010; Pugliese i Sirtori, 2012).

2.3. Tehnološki postupak proizvodnje dimljenoga pršuta

Tehnološki postupak proizvodnje pršuta uključuje nekoliko faza: prijem i obradu buta, soljenje, sušenje (kod nekih vrsta pršuta u kombinaciji dimljenjem) i zrenje (slika 7) (Toldrá, 2012). Postupak proizvodnje može ponešto varirati ovisno o vrsti pršuta koji se proizvodi, no soljenje i sušenje neizostavan su dio proizvodnje svakog pršuta (Medić, 2017). Na slici 7. prikazana je tehnološka shema proizvodnje pršuta.



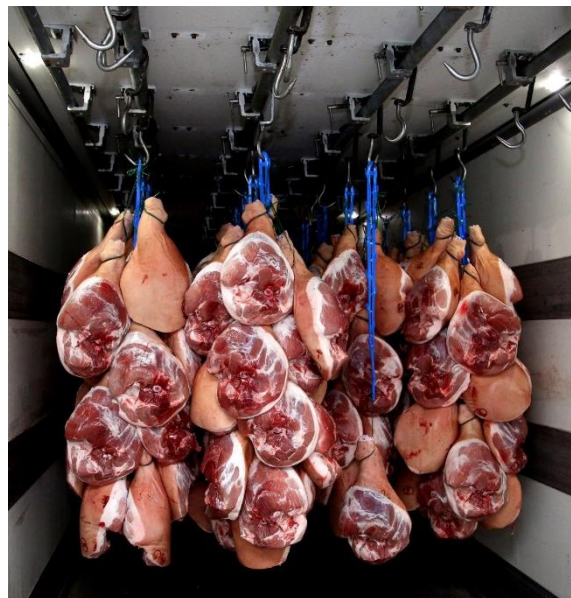
Slika 7. Dijagram proizvodnje pršuta (prilagođeno prema Toldrá, 2012)

2.3.1. Prijem sirovine

Svježi butovi za proizvodnju pršuta klasificiraju pri dolasku u proizvodni pogon u prema pH vrijednosti u mišićju buta i težini. U nekim slučajevima, butovi se razvrstavaju i prema boji mišićja, sposobnosti vezanja vode i mramoriranosti mesa. Razvrstavanje butova prema pH vrijednosti i težini posebice je važno zbog određivanja optimalne količine soli koja će se koristiti u fazi soljenja (Toldrá 2002; Petrova i sur., 2015a; Kovačević, 2017).

Za proizvodnju pršuta uzimaju se svježi svinjski butovi mase između 9-16 kg, mikrobiološke čistoće od 10^2 – 10^4 CFU/gram te pH₂₄ od 5,5-5,8. DFD meso visokih pH

vrijednosti nije pogodno za obradu zbog podložnosti mikrobnjoj kontaminaciji te se odbacuje odmah po prijemu. Prije soljenja butovi moraju biti dobro ohlađeni (do 1–4 °C kroz 24-48 h). U slučaju korištenja zamrznutih butova, nužno je provoditi odmrzavanje na adekvatnim vrijednostima temperature i vlažnosti (*engl.*, relative humidity, RH) kako bi se izbjegla dodatna mikrobiološka kontaminacija (do - 4 °C u središtu buta). Svježi butovi za proizvodnju pršuta ne smiju imati vidljive defekte, poput zarezotina po mišićima ili visećih dijelova mišića ili kože, a vidljivo vezivno tkivo preporučljivo je ukloniti s buta u svrhu bolje penetracije soli u meso. Kako je ranije navedeno, način obrade butova (različiti oblici i rezovi) se ponešto razlikuje ovisno o vrsti pršuta koji se proizvodi. Ohlađeni i oblikovani butovi podvrgavaju se ručnom ili strojnom masiranju radi istiskivanja zaostale krvi iz bedrene arterije i ostalih prokrvljenih područja (Fenier, 2006; Toldrá 2012).



Slika 8. Prijem svježih svinjskih butova za proizvodnju pršuta (Jaramaz, 2020)

2.3.2. Soljenje

Soljenje predstavlja najkritičniju fazu u tehnološkom procesu proizvodnje pršuta. Zato se tijekom cijele faze soljenja održavaju niske temperature ($< 5\text{ °C}$) zbog opasnosti od kvarenja, odnosno pojave tzv. smrdljivog zrenja (Kovačević, 2017).

Primjena soli pri proizvodnji pršuta ima višestruku ulogu: (i) postizanje slanog okusa, (ii) osiguravanje mikrobiološke stabilnosti (redukcija a_w) i (iii) povećanje topljivosti miofibrilarnih proteina. Sol u značajnoj mjeri utječe na biokemijske procese koji se odvijaju u

mišićju buta zbog sposobnosti inhibicije ili aktivacije određenih mišićnih enzima, kao i prooksidansnog učinka (Gandemer, 2002; Bermúdez i sur., 2014a,b; Harkouss i sur., 2015). Tijekom soljenja dolazi do fenomena osmotske dehidracije jer tijekom difuzije soli u mišićje buta, voda iz mišićja istovremeno izlazi van (Petrova i sur., 2015a).

U mediteranskim zemljama koristi se postupak suhog soljenja (isključivo NaCl sa ili bez drugih dodataka), dok se u sjevernoj Europi u nekim slučajevima primjenjuje i u salamurenje. Salamurenje se provodi homogenom suhom smjesom ili otopinom NaCl-a i nitrata i/ili nitrita (najčešće K ili Na), ugljikohidrata (npr. glukoze), fosfata, askorbata, začina i drugih propisima dopuštenih sastojaka (Arnau Arboix, 2014; Kovačević, 2017). Soljenje i salamurenje se provodi pri temperaturama hlađenja što rezultira sporijom i postupnom difuzijom soli u mesu, ali i dodatnom inhibicijom razvoja mikroorganizama (Kovačević, 2017).

U proizvodnji nekih vrsta pršuta provodi se kratka faza predsoljenja smjesom za salamurenje (NaCl s nitrata i/ili nitritima) (npr. pri proizvodnji španjolskog Serrano pršuta), dok se kod nekih vrsta pršuta ova smjesa dodaje pri samom soljenju (francuski pršuti i američki country-style). Nitrati se u mesu reduciraju u nitrite pomoću nitrat reduktaze prisutne u prirodnoj flori u mesu (porodica *Micrococcaceae*) i daljnjim se procesima pretvaraju u dušikov oksid pri pH oko 6 u prisustvu reducirajućih agenasa (često askorbata) (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Dušikov oksid reagira s mioglobinom pri čemu nastaje nitrozomioglobin te se razvija karakteristična crvena boja mesa. Kod nekih vrsta pršuta u salamuru se dodaje i šećer koji doprinosi razvoju reducirajućih bakterija (Kovačević, 2017). Nitrati i nitriti pridonose razvoju specifične crvene boje mesa, mirisa i okusa salamurenog mesa te imaju antimikrobno (posebice protiv *Clostridium botulinum*) i antioksidativno djelovanje (Toldrá, 2012). Zbog potencijalnog rizika za ljudsko zdravlje (stvaranje nitrozamina) dozvoljeno ih je dodavati isključivo u propisanim dozvoljenim količinama (maksimalno 150 mg/kg kalijevog nitrita, odnosno 300 mg/kg za smjesu kalijevog i natrijevog nitrita) (Berardi i sur., 2021). Pri proizvodnji nekih vrsta pršuta njihova primjena je zabranjena (npr. proizvodnji Parma pršuta) (Toldrá, 2012), dok se pri proizvodnji hrvatskih pršuta također ne koriste.

Soljenje pršuta provodi se pri temperaturama od 2-6 °C i RH > 80 %. Za postizanje optimalnog učinka soljenja potrebno je osigurati dovoljne količine soli koja će brzo i ravnomjerno prodrijeti u mišićje buta. Soljenje se može provoditi na dva različita načina, točno određenom količinom soli ili neodređenom količinom sol (Toldrá, 2012).

Metoda soljenja točno određenom količinom soli provodi se na način da se butovi sole količinom soli proporcionalnom težini butova (oko 35 g/kg buta), a sol utrljava ručno i apsorbira u periodu od 15-20 dana. Metoda soljenja neodređenom količinom soli provodi se

slaganjem butova na police ili u posude od nehrđajućeg čelika s masnim tkivom okrenutim prema dolje i okruživanjem morskom soli (najčešće krupnom), uz strogo kontrolirano vrijeme soljenja (otprilike tijekom dva tjedna pri 0-4 °C i RH > 95 %, uz gubitak mase od 3-4 %). Višak soli se odstranjuje četkanjem ili ispiranjem (Toldrá, 2012; Petrova i sur., 2015a).



Slika 9. Soljenje pršuta (lijevo: Anonymous, 2014; desno: Jaramaz, 2020)

Faza odmaranja provodi se u svrhu jednolike distribucije soli kroz cijeli but, uz prosječni gubitak na masi od 4-6 % u trajanju od 20-60 dana (Toldrá i sur., 1997; Toldrá, 2012). Konačni udio soli kod većine pršuta iznosi 4-6 % (Iberijski, Parma, Krčki pršut), no kod nekih vrsta pršuta može iznositi i 8-9 % (Dalmatinski i Drniški pršut) (Toldrá, 2002; Kovačević, 2017).

U posljednjem dijelu faze soljenja butovi se mogu i prešati, što je karakteristično za tradicionalnu proizvodnju Dalmatinskog pršuta. Prešanjem se postiže pravilan oblik pršuta, što je posebno važno kada se pršut stavlja na tržište u cjelovitom obliku s kosti. Butovi se prešaju tako da se slože u redove između ploča i opterete. Prešanje se provodi se u trajanju od 7-10 dana, uz pri niskim temperaturama (2-6 °C) i RH > 80 % (Kos i sur., 2015).



Slika 10. Prešanje Dalmatinskog pršuta (Anonymous, 2014)

Duljina trajanja faze soljenja uz predsoljenje i odmaranje može trajati od jednog do nekoliko mjeseci, ovisno o težini buta, pH, udjelu intramuskularne masti i uvjetima u komorama za soljenje (Petrova i sur., 2015a).

Mišić buta SM izložen je većoj količini soli tijekom faze soljenja stoga sadrži više soli u početnim fazama proizvodnje od BF prekrivenog kožom i masnim tkivom. Međutim, tijekom cijelog proizvodnog procesa postoji tendencija izjednačavanja koncentracije soli u butu. Taj fenomen posebno je vidljiv kod dugog procesa proizvodnje pršuta, kada zbog gradijenta koncentracije unutarnji dijelovi buta s većim udjelom vode sadrže više koncentracije otopljene soli od vanjskih dijelova (Toldrá, 2002; Harkouss i sur., 2018).

2.3.3. Dimljenje

Provođenje dimljenja u proizvodnji pršuta je opcionalno i uglavnom ovisi o zemlji i/ili regiji proizvodnje. Često se primjenjuje u zemljama Sjeverne Europe gdje klimatski uvjeti (visoka vlažnost i niže temperature) ne pogoduju brzom sušenju mesa, dok se na Mediteranu uglavnom ne provodi (Petrova i sur., 2015a). Dimljenje, u kombinaciji sa soljenjem i sušenjem, ima konzervirajući učinak, a fenolni spojevi djeluju antioksidativno i pridonose specifičnoj boji i aromi mesnih proizvoda (Martuscelli i sur., 2009).

Dim koji se koristi u proizvodnji mesnih proizvoda nastaje uglavnom sagorijevanjem usitnjenog drveta, najčešće strugotina bukve, graba, javora ili drugih tvrdih drva poput mahagonija. Četinari nisu pogodni za dimljenje zbog prisutnosti eteričnih smola koje dovode do razvitka čađi i mirisa terpentina. U industriji se koriste automatizirane komore i generatori

za proizvodnju dima koji osiguravaju niske temperature tinjanja i stvaranja poželjnih aroma drveta, dok se u seoskim domaćinstvima koriste pušnice (dim se proizvodi u pušnici) ili su izgrađena vanjska ložišta iz kojih se pomoću cijevi dim doprema u pušnicu (Kovačević, 2017).

Apsorpcija i prodiranje spojeva dima u proizvod ovisi o parametrima procesa kao što su temperatura dima, vrijeme dimljenja, udaljenost proizvoda od izvora dima i RH (Martuscelli i sur., 2009). Za proces proizvodnje Dalmatinskog i Drniškog pršuta karakteristična je primjena hladnog dimljenja (15- 25 °C), unatoč tome što pripadaju mediteranskom tipu pršuta koji se ne dime. Primjena hladnog dimljenja posljedica je tradicije i raznih kulturnih utjecaja. Hladno dimljenje Dalmatinskog i Drniškog pršuta se u praksi provodi zajedno sa sušenjem u trajanju od otprilike 45 dana, na način da se pršuti hladno dime za vrijeme toplijih dana, dok se tijekom hladnijih izlažu buri i suše (Kovačević, 2017).

2.3.4. Sušenje

Procesom sušenja uklanja se voda iz svinjskog buta isparavanjem potaknutim koncentracijskim gradijentom između zraka za sušenje i proizvoda koji se suši (Petrova i sur., 2015b). Sušenjem se postiže redukcija masenog udjela vode i a_w u butu i povećanje trajnosti pršuta (inhibicija mikroorganizama kvarenja), razvoj tipične teksture te smanjenje mase i volumena (proizvodni kalo iznosi 30-40 %) (Kovačević, 2017). Redukcija a_w pod kontroliranim temperaturnim uvjetima utječe na aktivnost endogenih mišićnih enzima važnih za formiranje organoleptičkih značajki pršuta (Toldrá, 2002). U industrijskoj proizvodnji sušenje se provodi u automatiziranim komorama s mogućnošću regulacije parametara sušenja (temperature, RH, brzine strujanja zraka) u kojima se optimalni uvjeti sušenja mogu održavati tijekom cijele godine (Kovačević, 2017).

Tijekom faze sušenja, udio vode u smanjuje se u svim mišićima buta, a pritom je smanjenje izraženije u SM u odnosu na BF koji je prekriven kožom i potkožnim masnim tkivom. Budući da se butovi sole prije sušenja, fluktuacije u udjelu vode mogu biti i veće radi različitog stupnja prodiranja soli u mišiće (Petrova i sur., 2015b).



Slika 11. Sušenje Dalmatinskog pršuta (u kombinaciji s dimljenjem) (Anonymous, 2014)

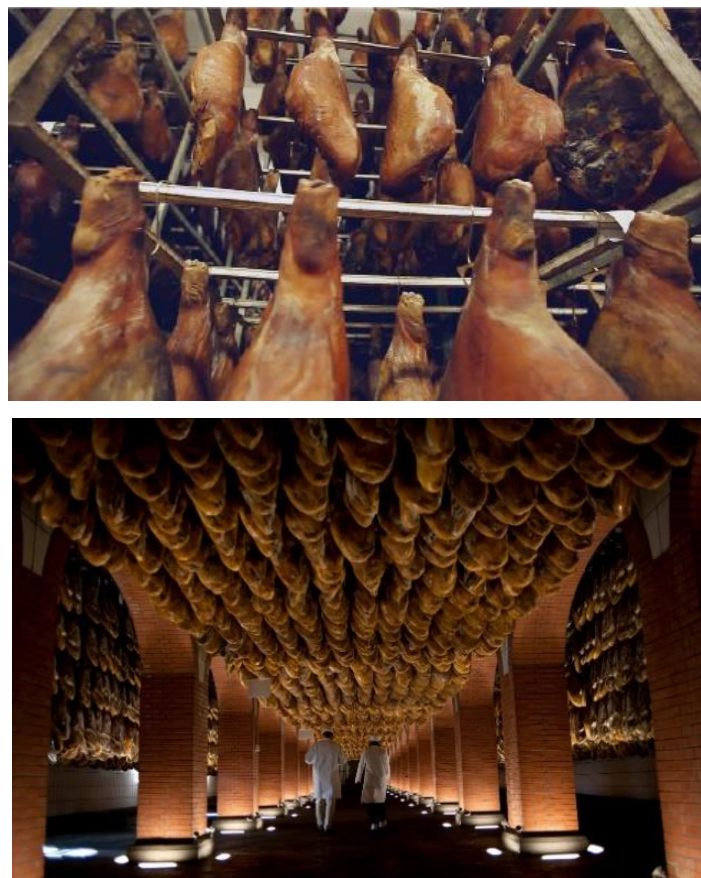
2.3.5. Zrenje

Zrenje je završna faza proizvodnje pršuta tijekom koje se odvijaju procesi najznačajniji za razvitak specifičnih senzorskih svojstava pršuta, posebice u vidu formiranja tipične teksture i arome pršuta. Tijekom zrenja dolazi do intenzivnog odvijanja proteolitičkih i lipolitičkih procesa pod utjecajem endogenih enzima.

Zrenje se odvija u specijaliziranim komorama s kontroliranim strujanjem zraka, temperaturom (oko 15 °C) i RH oko 65 % (Parolari, 1996; Toldrá, 2012). Kvaliteta pršuta kontrolira se olfaktornim testom (*engl.* „sniffing test“), koji se provodi umetanjem male sonde u određeno područje pršuta, a zatim se u izuzetom uzorku mirisanjem otkrivaju karakteristike arome i eventualne mane pršuta (Toldrá, 2012). Duljina provođenja faze zrenja ovisi o karakteristikama buta kao što su pH, težina buta i udio intramuskularne masti. Može trajati od otprilike šest mjeseci do dvije godine, a ponekad i dulje (Toldrá, 2002). Na ovim prostorima zrenje se provodi najčešće u trajanju od godine dana (Dalmatinski pršut, Istarski pršut, Kraški pršut i dr.), dok neke vrste pršuta vrhunske kvalitete (Iberijski, Parma, Bayonne i dr.) prolaze i dulji proces zrenja (dvije godine ili više) (Pugliese i sur., 2015; Kovačević, 2017; Rueda i sur., 2020).

Produljenjem vremena zrenja omogućava se veći stupanj enzimске razgradnje, što pridonosi okusu i aromi i posljedično većoj kvaliteti pršuta (Petrova i sur., 2015a). Produljeno zrenje provodi se u podrumima pri nešto višim temperaturama i višim vrijednostima vlažnosti zraka (prosječno 18-20 °C i RH od 75-82 %) (Parolari, 1996; Toldrá, 2002). Pršuti se često premazuju slojem masti i začina kako bi se površina zaštitila od isušivanja (Kovačević, 2017). Tijekom produljenog zrenja dolazi do dodatnog isušivanja mišića buta, distribucije soli i

proteolitičkih i lipolitičkih promjena što dovodi do nastanka većeg broja hlapljivih spojeva arome i dodatnog omekšavanja teksture (Toldrá, 2002; Arnau Arboix, 2014). Zbog intenzivnijih proteolitičkih procesa u BF, u tom mišiću izraženije su promjene u parametrima teksture i količini hlapljivih spojeva arome (Toldrá i sur., 1997; Pugliese i sur., 2015). S tehnološkog aspekta produljeno zrenje predstavlja zahtjevan i skup proces. U slučaju nekontroliranog provođenja produljenog zrenja može doći do pretjerane proteolize te različitih mana u teksturi i izgledu pršuta (Arnau i sur., 1997). Pravilnim provođenjem procesa produljenog zrenja postižu se specifična senzorska svojstva i proizvod vrhunske kvalitete (Cilla i sur., 2005).



Slika 12. Zrenje Dalmatinskog pršuta (Anonymous, 2014) (gore) i zrenje Iberijskog pršuta u podrumima vrhunskog brenda „Cinco Jotas“ (Jabugo, pokrajina Huelva, Španjolska) (dolje) (Minder, 2015)

2.3.6. Finalni proizvod

Prosječni kemijski sastav mediteranskih vrsta pršuta iznosi 37-50 % vode, 9-20 % masti, 24-43 % proteina, 6-10 % pepela i 4-9 % soli, a_w od 0,85-0,91 i pH od 5,8-6 (Ventanas i sur., 2007; Benedini i sur., 2012; Marušić i sur., 2014; Martínez-Onandi i sur., 2019).

Pršuti se plasiraju na tržište u komadu (često pršuti visoke kvalitete), otkošteni ili već narezani i upakirani spremni za konzumaciju (Toldrá, 2012). Pakiranja već narezanog pršuta su zbog svoje praktičnosti sve traženija opcija kod potrošača, stoga se danas raznim metodama i ambalažnim materijalima nastoji produljiti svježina narezanog pršuta. Glavne metode pakiranja pršuta su vakuum i kontrolirana, odnosno modificirana atmosfera (MAP) (Ščetar i sur., 2010).

Pakiranjem u vakuumu uklanja se zrak iz prostora pakiranja (fleksibilna ambalaža nepropusna na kisik), čime se stvaraju nepovoljni uvjeti za rast mikroorganizama (anaerobni ili mikroaerofilni uvjeti). Smanjenjem volumena pakiranja ujedno se pridonosi uštedi prostora i energije tijekom skladištenja i distribucije (Ščetar i sur., 2010). Pakiranje u MAP temelji se na promjeni sastava plinova u pakiranju čime se osigurava mikrobiološka stabilnost, izvorna kvaliteta i očuvanje senzorskih svojstava (Vujković i sur., 2007). Kao prednosti pakiranja pršuta u MAP-u nad vakuumom navode se bolji izgled pršuta i lakše odvajanje pojedinačnih kriški pršuta radi manjeg sljepljivanja (Andrés i sur., 2006). Pri pakiranju mesnih proizvoda u MAP najviše se koriste mješavine ugljikova dioksida (CO_2) i dušika (N_2) u raznim omjerima, npr. N_2/CO_2 : 70/30 i 80/20 (Parra i sur., 2010; Latorre i sur., 2012). CO_2 se koristi zbog svog bakteriostatskog učinka, dok N_2 sprječava kolaps pakiranja te zamjenjuje zaostali sadržaj plina u zračnom prostoru pakiranja (Parra i sur., 2010). Istraživanjem parametara kvalitete narezanog Dalmatinskog pršuta pakiranog u PA/PE materijal tijekom šest mjeseci skladištenja (pri 4°C) utvrđena je značajno bolja očuvanost kvalitete pršuta pakiranog u MAP u odnosu na vakuum pakiranje. Pakiranje u MAP pokazalo se boljim vidu očuvanja senzorskih karakteristika i stabilnosti na oksidaciju masti, dok značajnije razlike između MAP i vakuuma nisu utvrđene jedino u parametru oksidacije proteina (Kurek i sur., 2021).

2.3.6.1. Utjecaj faze dimljenja na kvalitetu pršuta

Dimljenje je jedna od najstarijih metoda konzerviranja koja se naširoko primjenjuje u procesu proizvodnje tradicionalnih suhomesnatih proizvoda (Šimko, 2005; Martuscelli i sur., 2009; Petričević i sur., 2018). U današnje vrijeme, dimljenje se uglavnom primjenjuje u svrhu postizanja karakteristične boje, okusa i arome mesnih proizvoda. Zbog specifičnih senzorskih svojstava, dimljeni mesni proizvodi kod potrošača su često bolje prihvaćeni od nedimljenih (Pham i sur., 2008). Dim koji je nastao sagorijevanjem drveta sastoji se od približno 400 identificiranih organskih spojeva, uglavnom fenola, aldehida i ketona, karboksilnih kiselina, alifatskih i aromatskih ugljikovodika, alkohola i estera (Sikorski i Sinkiewicz, 2014).

Konzervirajuće djelovanje dimljenja posljedica je prisutnosti spojeva koji imaju bakteriocidni i fungicidni (formaldehidi, ugljikovodici, octena i mravlja kiselina, alkoholi i dr.) te antioksidativni (fenoli) efekt. Tijekom dimljenja ujedno dolazi do prosušivanja proizvoda zbog strujanja zraka i dima (Martuscelli i sur., 2009; Kovačević, 2017).

Karakteristična zlatno-smeđa boja dimljenog pršuta posljedica je adsorpcije karbonila iz dima na površinu buta, koji potom stupaju u reakciju s amino skupinama proteina mesa i sudjeluju u reakcijama sličnima Maillardovim reakcijama. Aroma dimljenog mesa uglavnom dolazi od formalaldehida, laktone i više od 20 različitih fenola (posebno gvajakol, 4-metilgvajakol i siringol) (Feiner, 2006). U istraživanju aromatskih profila hrvatskih dimljenih i nedimljenih pršuta, određen je veći udio fenola, aromatskih ugljikovodika i kiselina u dimljenima (Petričević i sur., 2018). U Dalmatinskom pršutu određena je prisutnost gvajakola, fenola, o- i m-krezola, 2,5- i 2,6-ksilenola i 2,6-dimetoksifenola koji nisu određeni u drugim vrstama mediteranskih pršuta (Jerković i sur., 2007).

Tijekom dimljenja mesnih proizvoda nastaju uvjeti koji pogoduju stvaranju kemijskih kontaminanata, među kojima su policiklički aromatski ugljikovodici (PAH). Zbog kancerogenih i mutagenih svojstava njihova prisutnost u hrani predstavlja rizik za ljudsko zdravlje (posebno benaz(a)piren) (Yebara-Pimentel i sur., 2015). Dostupna istraživanja dimljenih pršuta (Poljanec i sur., 2019) i drugih dimljenih mesnih proizvoda (Škaljac i sur., 2018; Bogdanović i sur., 2019) utvrdila su kako se PAH spojevi adsorbiraju na površinu proizvoda, odnosno na kožu i potkožno masno tkivo koji djeluju kao barijera i sprječavaju difuziju PAH-ova u unutrašnjost proizvoda. Budući da se u proizvodnji pršuta primjenjuje postupak hladnog dimljenja u kontroliranim tehnološkim uvjetima, pršut ne predstavlja izvor PAH-ova koji bi predstavljali značajan rizik po zdravlje potrošača (Bogdanović i sur., 2019, Poljanec i sur., 2019).

2.4. Fizikalno-kemijske promjene tijekom proizvodnje pršuta

Tijekom tehnološkog procesa proizvodnje dolazi do značajnih promjena fizikalno-kemijskih svojstava pršuta koje su primarno posljedica povećanja koncentracije soli i redukcije vode u mišićju buta (Toldrá, 2002). Dimljenje i zrenje imaju najvažniji utjecaj na senzorska svojstva, no generalno ne pridonose značajnijoj redukciji udjela vode i promjeni osnovnog kemijskog sastava (Kovačević, 2017).

pH vrijednost se smatra jednim od najvažnijih fizikalnih parametara pršuta jer uvjetuje enzimsku aktivnost i tijek biokemijskih procesa u pršutu (Toldrá i sur., 1997; Petrova i sur., 2015a). Također, utječe na kapacitet zadržavanja vode u mišićima buta, što je važno za dinamiku dehidracije i difuzije soli u mišiće (Čandek-Potokar i sur., 2012). pH pršuta se tijekom proizvodnje blago povećava s početnih 5,6-5,8 do konačnih 6,1. Najveće promjene vrijednosti pH odvijaju se nakon soljenja i pri početku faze zrenja, dok tijekom produljenog zrenja ne dolazi do značajnijih promjena pH (Toldrá, 2002; Bermúdez i sur., 2018).

A_w vrijednost mesa je funkcija: (i) masenog udjela vode, (ii) vrste i količine tvari otopljenih u vodi i (iii) načina vezanja vode u mesu (Kovačević, 2017). A_w pršuta pozitivno korelira s masenim udjelom vode te negativno sa udjelom soli (Bermudez i sur., 2014a; Harkouss i sur., 2015). A_w vrijednosti mišićja buta kontinuirano padaju tijekom cijelog procesa proizvodnje kao posljedica difuzije NaCl i dehidracije buta (Bermudez i sur., 2014a; Harkouss i sur., 2014), s početnih 0,98-0,99 do konačnih 0,85-0,90, ovisno o duljini procesa i mišiću u kojem se vrijednosti mjere (Bermúdez i sur., 2014a, Harkouss i sur., 2018). Pad a_w vrijednosti pod kontroliranim temperaturnim uvjetima utječe na enzimsku aktivnost u mišićima, na mikrobiološku stabilnost i na formiranje organoleptičkih značajki pršuta (Toldrá, 2002).

Tijekom cijelog tehnološkog procesa dolazi do redukcije masenog udjela vode s početnih 65 - 75% na prosječno 40 - 55%, a najznačajnija dehidracija postiže se nakon faze sušenja (Kovačević, 2017). U Dalmatinskom pršutu nakon faze sušenja s dimljenjem dolazi do redukcije vode od prosječno 21-22 % (Kos i sur., 2014, navedeno u: Kovačević, 2017). Stupanj dehidracije ovisi o brojnim faktorima: (i) udjelu masnog tkiva u butu (više masti-manji kalo), (ii) masi buta (teži butovi-manji kalo) (Karloyi, 2002, navedeno u: Kovačević, 2017), (iii) dobi, spolu i pasmini svinje, (iv) tehnologiji proizvodnje (prešanje, dimljenje i produljeno zrenje pridonose većem kalu) (v) patološkim promjenama uzrokovanim stresom (pršut proizveden od PSE mesa ima veći kalo). Na stupanj dehidracije također utječe način obrade buta jer se

kod nekih vrsta pršuta potpuno uklanja koža i potkožno masno tkivo (npr. Istarski pršut) čime se povećava evaporacijska površina) (Kovačević, 2017).

Kemijske promjene tijekom proizvodnje uglavnom su povezane s gubitkom vode i penetracijom soli kroz but, što dovodi do povećanja udjela proteina (s početnih 16-21 % do 30-35 %) i masti (s početnih 4-7 % do 10-20 %) (Kovačević, 2017). Ostale promjene povezane su s produktima proteolitičkih i lipolitičkih reakcija i nakupljanjem njihovih produkata te oksidacijskim promjenama (Toldrá, 2002).

2.5. Biokemijske promjene tijekom proizvodnje pršuta

2.5.1. Proteoliza

Proteoliza predstavlja jedan od najvažnijih biokemijskih procesa koji se odvijaju tijekom proizvodnje pršuta. Brojna istraživanja proteolitičkih promjena tijekom proizvodnje pršuta istaknula su njihov značajan utjecaj na kvalitetu konačnog proizvoda (Harkouss i sur., 2012, 2015; Fabbro i sur., 2016, , Mora i sur., 2017). Proteolitičke reakcije u pršutu odvijaju se primarno djelovanjem endogenih enzima prisutnih u mišićnom tkivu, budući da se u pršutu nalazi zanemariv broj mikroorganizama koji bi mogli hidrolizirati proteine, prvenstveno zbog uvjeta koji ograničavaju njihov rast (nizak a_w i visok udio NaCl-a) (Toldrá, 2002).

2.5.1.1. Karakteristike najznačajnijih proteolitičkih enzima u proizvodnji pršuta

Mišićno tkivo sadrži velik broj različitih enzima koji se klasificiraju prema djelovanju i lokaciji (Toldrá, 2002; Petrova i sur., 2015a). Prema djelovanju, enzimi se dijele na proteaze (poznate i kao endopeptidaze) (koje cijepaju proteine na veće peptide) te egzopeptidaze (koje cijepaju veće peptide na one manje te na aminokiseline). Endopeptidaze djeluju na način da hidroliziraju unutarnje peptidne veze mišićnih proteina, dok egzopeptidaze cijepaju peptidne lance (di- i tri- peptidilpeptidaza (DPP i TPP)) ili aminokiseline s N- terminalnih (aminopeptidaze) ili C-terminalnih (karboksipeptidaze) krajeva proteinske okosnice. Proteolitički enzimi locirani su većinom u lizosomima (katepsini, većina DPP i TPP i aminopeptidaza) i citosolu (kalpaini i kaspaze) mišićnih stanica (Toldrá, 2002; Petrova i sur., 2015a).

Kalpaini I i II su neutralne endopeptidaze, a glavna uloga im je razgradnja velikog broja miofibrilarnih proteina do polipeptida (uz iznimku miozina, aktina, α -aktinina i troponina C) (Toldrá, 2012). Kalpain I ima slabu stabilnost *postmortem*, dok je aktivnost kalpaina II

limitirana na prva dva tjedna proizvodnje jer se porastom koncentracije NaCl-a tijekom soljenja ubrzo deaktivira (Córdoba i sur., 1994; Toldrá, 2014). Učinak kaspaza u razgradnji proteina još uvijek nije u potpunosti istražen, no poznato je kako su aktivni samo par dana *postmortem* te se smatra kako nemaju značajniju aktivnost u proteolitičkoj razgradnji (Toldrá, 2002; Xiong, 2018).

Glavni lizosomalni proteolitički enzimi su endopeptidaze katepsini B, D, H i L. Katepsini B, H i L su cisteinske proteaze optimalne aktivnosti pri pH 6,0, dok je katepsin D aspartatna kisela proteaza optimalno aktivna pri pH 3,0-5,0. Katepsini B i L smatraju se najvažnijim proteolitičkim enzimima budući da su stabilni i aktivni tijekom cijelog procesa proizvodnje, dok je aktivnost katepsina D limitirana na prvih 5-6 mjeseci. Katepsin H ima sposobnost hidrolize miozina, iako većinski pokazuje svojstva aminopeptidaza. Glavni supstrati katepsina B su aktin i miozin, a katepsina D i L titin, MHC, aktin, tropomiozin i troponin T i I. Aktivnost katepsina regulirana je endogenim inhibitorima cistatinima (Toldrá, 2002; Petrova i sur., 2015a).

Glavne egzopeptidaze DPP i TPP u kasnijim fazama proteolize nastavljaju razgradnju proteina do tri- i di-peptida. Aminopeptidaze razgrađuju peptide do slobodnih aminokiselina i aktivne su pri neutralnim ili bazičnim pH vrijednostima (Toldrá, 2002; Petrova i sur., 2015a). Glavne aminopeptidaze pronađene u pršutu su arginil aminopeptidaza (RAP), alanil aminopeptidaza (AAP) i metionin aminopeptidaza (MAP). U skeletnim mišićima prisutne su i leucil- i piroglutamil aminopeptidaza, no njihova aktivnost je zanemariva budući da je pH u pršutu daleko od optimalnog pH potrebnog za njihovu aktivnost (Toldrá, 2002). AAP i MAP imaju široku specifičnost te su sposobne hidrolizirati široki spektar aminokiselina, dok RAP ima sposobnost hidrolize samo bazičnih aminokiselina (poput arginina, lizina i histidina). Iako su sve aminopeptidaze osjetljive na porast koncentracije soli, AAP i RAP su stabilne tijekom cijelog procesa proizvodnje pršuta (Toldrá i sur., 2000a).

2.5.1.2. Proces proteolize tijekom proizvodnje pršuta

Nakon smrti životinje dolazi do koncentriranja mliječne kiseline i pada pH vrijednosti što rezultira razaranjem intracelularnih membrana, miofibrilarnih struktura i lizosoma te oslobađanja proteolitičkih enzima koji prelaze u mišićno tkivo (Kovačević, 2001; Toldrá, 2014). Količina proteolitičkih enzima u mesu ovisi pretežito o pasmini, odnosno genetici i dobi svinja (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). Njihov udio i aktivnost mijenja se kroz faze

proizvodnje pršuta, od svježeg mesa do finalnog proizvoda, zbog promjena uvjeta koji vladaju u butu (prvenstveno porasta udjela soli, dehidracije i promjene pH) (Petrova i sur., 2015a).

Proces proteolize u mišićima započinje oslobađanjem Ca^{2+} iona iz sarkoplazmatskog retikuluma i aktivacijom kalpaina kojima pogoduju uvjeti nižeg pH i nešto nižih koncentracija Ca^{2+} iona (Lana i Zolla, 2016). Njihova aktivnost usmjerena je na razgradnju proteina Z-diska (desmina, titina i nebulina) i regulatornih proteina. Porast pH mesa uz porast koncentracije soli uzrokuje inaktivaciju kalpaina već 10-14 dana *postmortem*, a hidrolizu miofibrilarnih proteina preuzimaju katepsini (uglavnom B i L) (Toldrá i Flores, 1998). Na djelovanje katepsina povoljno djeluje blagi porast pH (Toldrá i Flores, 2000) koji potom sudjeluju u razgradnji miofibrilarnih proteina (MHC, aktin, troponin, tropomiozin, M i C proteini i dr.). Na djelovanje katepsina povoljno djeluje i porast temperature tijekom sušenja i zrenja, no zbog dehidratacije i pada a_w vrijednosti te porasta koncentracije soli (iznad 4 %) dolazi do redukcije njihove aktivnosti kroz proces (Zhao i sur., 2005; Toldrá i sur., 2020). Ipak, katepsini B i L pokazuju određenu rezidualnu aktivnost (Zhou i sur., 2019), dok se katepsin D inaktivira već nakon 5 mjeseci (u SM), odnosno 10 mjeseci (u BF) (Toldrá i sur., 1993). U ovim procesima nastaju proteinski ostaci i polipeptidi srednje veličine, a njihova daljnja razgradnja rezultat je djelovanja različitih egzopeptidaza (DPP, TPP, aminopeptidaza, karboksipeptidaza). Kao produkti pritom nastaju kratkolančani peptidi i slobodne aminokiseline. Iz nastalih slobodnih aminokiselina daljnjim kemijskim modifikacijama poput Streckerove razgradnje (dekarboksilacija i deaminacija) mogu nastati brojni razgradni produkti, poput biogenih amina i raznih hlapivih spojeva arome (alkohola, aldehida, ketona, kiselina, estera i dr.) (Toldrá, 2014; Kovačević, 2017).

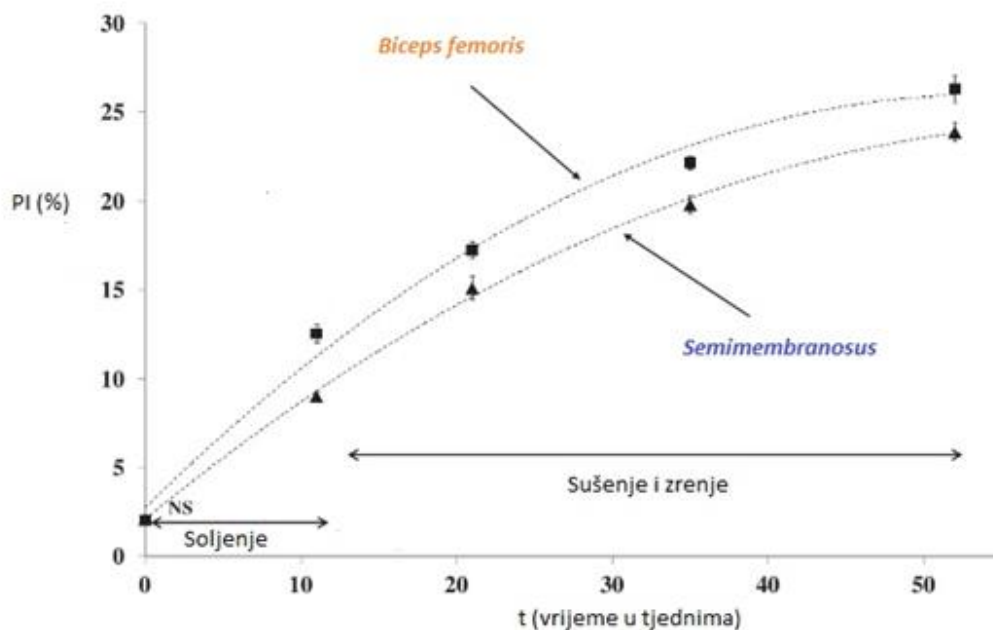
Nastali produkti proteolize izravno utječu na konzistenciju pršuta te sudjeluju u stvaranju karakteristične arome i okusa (Toldrá, 2014). Najvažnije proteolitičke promjene važne za formiranje vrhunskih senzorskih karakteristika pršuta odvijaju se pri produljenom procesu zrenju i niskim koncentracijama soli (Toldrá i Flores, 1998). Pojedine aminokiseline (uglavnom glutaminska kiselina, alanin, leucin, lizin, valin i asparaginska kiselina) nastaju u vrlo visokim koncentracijama (50-350 mg/100 g proizvoda) do kraja procesa (Toldrá, 2014). To je primarno posljedica djelovanja AAP koja je zbog svoje široke supstratne specifičnosti zaslužna za nastanak 83 % nastalih aminokiselina (Zhao i sur., 2005). Konačne koncentracije aminokiselina u pršutu primarno ovise o duljini procesa i vrsti pršuta (Toldrá, 2002). Utvrđeno je i kako sastojci mješavina za salamurenje (nitriti i askorbinska kiselina) te neki proteolitički produkti (pojedini peptidi i aminokiseline) mogu u određenoj mjeri djelovati inhibitorno na

aktivnost aminopeptidaza i tako utjecati na aminokiselinski profil pršuta (Toldrá i sur. 1993; Gianelli i sur., 2000).

Miofibrilarni proteini primarni su supstrati mišićnih enzima (López-Pedrouso i sur., 2018). Budući da oni čine većinu ukupnog sadržaja mišićnih proteina, njihova proteolitička razgradnja izravno utječe na teksturu mesa (Larrea i sur., 2006). Razgradnja miofibrilarnih i sarkoplazmatskih proteina tijekom proizvodnje pršuta opsežno je istraživana elektroforetskim tehnikama, posebice elektroforezom na poliakrilamidnom gelu (SDS-elektroforeza) (Théron i sur., 2011; Berardo i sur., 2015; Bermúdez i sur., 2015, López-Pedrouso i sur., 2018). Elektroforetskim profilima pršuta tijekom proizvodnje demonstrirana je intenzivna razgradnja miofibrilarnih proteina, posebno teškog lanca miozina (*engl.* Myosin Heavy Chain, MHC) i lakog lanca miozina 1 i 2 (*engl.* Myosin Light Chain 1 i 2, MLC1 i MLC2), troponina C i I, uz stvaranje novih proteinskih vrpca (150–45 kDa i 20–16 kDa) (Toldrá i sur., 1993; Larrea i sur., 2006).

Opseg i tijek proteolitičkih promjena u pršutu značajno varira ovisno o karakteristikama sirovine (poput genotipa i dobi svinja) te specifičnih preradbenih uvjeta (temperatura, duljina proizvodnje, vrijednosti a_w i pH i koncentracija soli) (Toldrá i sur., 1997; Harkouss i sur., 2015). Znanstvena istraživanja pokazala su kako se intenzitet proteolize povećava produljenjem vremena zrenja (Benedini i sur., 2012; Pugliese i sur., 2015), a na proteolitičku aktivnost pozitivno djeluju i blago povišena temperatura (Morales i sur., 2007; Harkouss i sur., 2014), vrijednosti pH koji odgovaraju blago kiselim uvjetima (García-Garrido i sur., 2000), više vrijednosti udjela vode i a_w (Serra i sur., 2005) i niže koncentracije NaCl-a (Benedini i sur., 2012).

Intenzitet proteolitičke aktivnosti također može varirati ovisno o anatomskom položaju mišića u butu tijekom proizvodnje. Zbog vanjskog položaja u butu tijekom obrade, mišić SM izložen je brzom dehidraciji i brzom difuziji NaCl-a tijekom početnih faza proizvodnje. Mišić BF se tijekom proizvodnje nalazi u unutarnjem dijelu buta te je slojem kože i potkožnog masnog tkiva zaštićen od brze dehidracije i difuzije NaCl-a. Ovi uvjeti omogućavaju intenzivniju proteolitičku aktivnost kroz proces u BF u odnosu na SM (Harkouss i sur., 2015). Međutim, preostala aktivnost enzima opada zajedno s prodiranjem soli u tkivo mišića BF u kasnijim fazama proizvodnje (Petrova i sur., 2015a).



Slika 13. Tijek proteolize u mišićima BF i SM tijekom proizvodnje Bayonne pršuta (prilagođeno prema Harkouss i sur., 2015)

Zbog utjecaja na slabiju difuziju soli u mišićno tkivo buta (difuziju soli podržava voda), prošaranost intramuskularnim masnim tkivom (mramoriranost) ograničava prodiranje NaCl-a u mišićno tkivo i na taj način neizravno doprinosi intenzivnijoj proteolizi (Toldrá, 2002).

Proteoliza ima brojne učinke na kvalitetu pršuta: (i) utječe na teksturu mesa (omekšavanje), (ii) povećava sočnost mesa hidratacijom proteina (posebno miozin), (iii) utječe na formiranje okusa (stvaranjem malih peptida i slobodnih aminokiselina) i mirisa (daljnjom razgradnjom slobodnih aminokiselina i njihovih razgradnih produkata – Mallardove reakcije i Streckerove razgradnje), (iv) dovodi do povećanja pH vrijednosti (nakupljanje slobodnih aminokiselina) (Toldrá, 2002). Intenzitet proteolize najčešće se mjeri indeksom proteolize (PI) koji je definiran kao omjer neproteinskog dušika i ukupnog dušika (Ruiz-Ramírez i sur., 2006; Harkouss i sur., 2015; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018). Preintenzivna proteoliza može dovesti do narušavanja kvalitete pršuta i brojnih mana pršuta poput nastanka gorkog i metalnog okusa (prekomjerno nakupljanje peptida i aminokiselina), nastanka bijelih kristala tirozina i pojave bijelog filma na kriškama narezanog pršuta (Toldrá i sur., 1990) te premekane („pastozne“) teksture (Toldrá i Flores, 1998; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018; Zhou i sur., 2021). Navedene mane uglavnom su posljedica genotipa svinja (određene pasmine imaju genetski povišene razine katepsina B u mišićima), postupcima prije klanja, dobi i prehrani svinja (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012, Pérez-Santaescolástica i sur., 2018).

Znanstvenim istraživanjima posljednjih godina identificiran je velik broj bioaktivnih peptida koji se generiraju kao produkti proteolize u pršutu. Bioaktivni peptidi su kratke sekvence aminokiselina (2-20 aminokiselina) koji su interesantni sa znanstvenog aspekta zbog različitih povoljnih fizioloških učinaka u organizmu (poput antioksidativnog, antihipertenzivnog, antimikrobnog djelovanja) (Gallego i sur., 2019). Na njihova svojstva utječu hidrolitički enzimi, uvjeti proizvodnje i njihova veličina koja određuju njihovu apsorpciju i bioraspoloživost u organizmu (Gallego i sur., 2019). Njihova kvantifikacija u pršutu još uvijek predstavlja izazov, a razlog tomu su mala veličina i niska koncentracija bioaktivnih peptida, kompleksnost pršuta kao matriksa i peptidne interferencije koji čine ekstrakciju i analizu bioaktivnih peptida u pršutu zahtjevnom (Mora i sur., 2017). Histidil-dipeptidi karnozin (β -alanil-L-histidin) i anserin (β -alanil-1-metil-histidin) najzastupljeniji su antioksidansi u mesu (Mora i sur., 2008; Xing i sur., 2019). Antioksidativna sposobnost ovih dipeptida uglavnom se pripisuje njihovoj sposobnosti da heliraju prooksidativne metale kao što su bakar, cink i kobalt i imaju sposobnost vezivanja slobodnih radikala i formiranja konjugata sa potencijalno toksičnim produktima lipidne oksidacije (Young i sur., 2013).

Razvoj proteomičkih tehnika omogućio je detaljno istraživanje proteolitičkih promjena i nastalih produkata u pršutu. Osim već spomenutih istraživanja razgradnje sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina tijekom raznih faza proizvodnje pršuta (Larrea i sur., 2006; Théron i sur., 2011; Bermúdez i sur., 2014b; Berardo i sur., 2015; López-Pedrouso i sur., 2018), danas su u fokusu identifikacija i kvantifikacija peptida (Gallego i sur., 2014, 2016a,b; Mora i sur., 2017), analiza proteinskog profila pršuta tijekom probave u *in vitro* modelima probavnog sustava (Jiang i sur., 2020; Wang i sur., 2021) i detaljna istraživanja mehanizama koji dovode do pretjerane adhezivnosti i gorčine pršuta tijekom zrenja (Zhou i sur., 2019).

2.5.2. Lipoliza

Kvaliteta pršuta također ovisi o udjelu i sastavu masti mišićnog i masnog tkiva buta te njihovima promjenama tijekom tehnološkog procesa proizvodnje (Gilles, 2009). Premda se tijekom proizvodnje pršuta odvija i lipoliza potkožnog i intermuskularnog masnog tkiva (Toldrá, 2002), s aspekta kvalitete pršuta i u kontekstu ove disertacije najvažnija je lipoliza intramuskularne masti. Ona podrazumijeva hidrolizu glavnih komponenata intramuskularne masti: (i) triacilglicerola (TAG) pomoću lipaza preko di- i monoacilglicerola do SMK i (ii) fosfolipida (PL) pomoću fosfolipaza izravno do SMK (Toldrá, 2012). Kao i u slučaju

proteolize, lipolizu provode endogeni enzimi, budući da je aktivnost lipaza mikrobnog porijekla zanemariva zbog malog broja mikroorganizama prisutnih u pršutu (Toldrá, 2002).

2.5.2.1. Karakteristike najznačajnijih lipolitičkih enzima u proizvodnji pršuta

Lizosomalni enzimi kisela lipaza i fosfolipaza A1 i A2 imaju primarnu ulogu u stvaranju dugolančanih SMK tijekom proizvodnje pršuta u pH području između 5,5-6,2 (Motilva i sur., 1993; Andres i sur., 2005b). Aktivnost lipolitičkih enzima ovisna je o koncentraciji soli i vrijednostima pH i a_w . Relativno su stabilni kroz cijeli proces jer uvjeti koji vladaju u mišićima buta tijekom proizvodnje pogoduju njihovoj aktivnosti (Motilva i sur., 1993; Toldrá, 2012).

Lizosomske kisele lipaze provode hidrolizu primarnih esterskih veza TAG, a u manjoj mjeri di- i monoacilglicerola na pozicijama sn-1 i sn-3 (Toldrá, 2002). Njihova aktivnost najintenzivnija je neposredno *post mortem* jer su optimalno aktivne u kiselijim uvjetima (pH 4,5-5,5). Budući da na njihovu aktivnost povoljno djeluje porast NaCl-a i pad a_w , aktivne su i tijekom cijelog procesa (Motilva i sur., 1992).

Neutralne lipaze locirane su u lizosomima i citoplazmi. Provode hidrolizu primarnih esterskih veza TAG, a najaktivnije su tijekom prva dva mjeseca proizvodnje. Porastom koncentracije NaCl i padom a_w dolazi do redukcije njihove aktivnosti (posebno nakon sušenja) no ipak zadržavaju slabiju aktivnost (10-20 % od početne) do kraja procesa (Motilva i sur., 1993).

Lizosomalne fosfolipaze A1 i A2 hidroliziraju l-acil estere (fosfolipaza A1), 2-acil estere (fosfolipaza A2) i sn-3-fosfogliceride na granici lipid/voda (Gilles, 2009) čime se oslobađaju dugolančane masne kiseline. Porastom koncentracije NaCl i padom a_w dolazi do redukcije njihove aktivnosti (Flores i sur., 2009; Jin i sur., 2010).

Kisele i neutralne esteraze prisutne u lizosomima i citosolu mišićnog tkiva imaju sposobnost hidrolize tri-, di- i monoacilglicerola čime nastaju male količine kratkolančanih masnih kiselina. Iako su stabilniji od kiselih i neutralnih lipaza, njihova aktivnost je ograničena zbog kratke dostupnosti supstrata zbog čega nemaju značajniju ulogu u lipolizi (Motilva i sur., 1992; Toldrá, 2002).

2.5.2.2. Proces lipolize intramuskularnog masnog tkiva tijekom proizvodnje pršuta

Primarni supstrati lipolize su PL (Motilva i sur., 1993; Buscailhon i sur., 1994a), iako kod nekih pasmina svinja s visokim sadržajem TAG (poput iberijske i korzikanske pasmine) iz TAG nastaje značajan udio SMK (30-50%) (Gandemer, 2002, navedeno u: Poljanec i sur., 2021a). Intenzitet lipolitičkih reakcija ovisi o duljini proizvodnje, količini dodane soli i uvjetima tijekom zrenja (Toldrá i Flores, 1998; Buscailhon i sur., 1994a; Gilles, 2009).

Lipoliza TAG odvija se u dva stupnja, prvi uključuje djelovanje kiselih lipaza i produkciju di- i monoacilglicerola, koji se potom također djelovanjem kiselih lipaza razgrađuju do SMK. PL se za razliku od TAG hidroliziraju direktno fosfolipazama do SMK (Toldrá, 2002; Gilles, 2009). Intenzivnom lipolizom PL (posebno tijekom prvih 5 mjeseci proizvodnje) nastaje značajna količina SMK (Toldrá, 1998).

Produkti lipolize (SMK) mogu izravno pridonijeti senzorskim svojstvima (okus i sočnost) ili su kao takve prekursori aromatičnih spojeva kroz daljnje oksidacijske reakcije (Toldrá, 2012). Udio SMK tijekom proizvodnje povećava se od oko 1-2 % do 8-20 % ukupnih masti u mišićima, ovisno o karakteristikama sirovine i tehnološkom procesu (Gilles, 2009). S druge strane, lipoliza intermuskularnog i potkožnog masnog tkiva najveći intenzitet prolazi tijekom početnih faza proizvodnje, uglavnom tijekom soljenja (Kovačević, 2017).

Porast udjela SMK u mišićima buta tijekom proizvodnje, posebno oleinske, linolne, stearinske i palmitinske kiseline, uglavnom se odvija do desetog mjeseca proizvodnje, uglavnom kao posljedica hidrolize fosfolipida (Martín i sur., 1999, navedeno u: Toldrá, 2002). Više koncentracije NaCl-a te niže vrijednosti pH i a_w pogoduju aktivnosti kiselih lipaza, što u početku rezultira višom koncentracijom SMK u mišiću SM nego u BF (Motilva i sur., 1993; Cava i sur., 1999). U istraživanju lipolitičkih procesa tijekom proizvodnje Iberijskog pršuta utvrđeno je kako koncentracija soli od 6 % aktivira kisele lipaze te promovira generaciju SMK iz TAG (Andres i sur., 2005b). Nakon desetog mjeseca općenito dolazi do pada udjela pojedinih SMK zbog njihove podložnosti oksidaciji (Motilva i sur., 1993; Buscailhon i sur., 1994a; Toldrá, 1998). U najvećim udjelima u gotovom pršutu prisutne su oleinska, linolna, stearinska i palmitinska kiselina. Razlog tomu je ne samo njihov veći sadržaj u početnoj frakciji lipida, već i zbog njihova veća otpornost na oksidaciju. S druge strane, kratkolančane SMK stvaraju se u vrlo malim količinama (Toldrá, 2002).

Profil SMK važan je s senzorskog i nutritivnog aspekta. Previsoke razine PUFA povećavaju mekoću pršuta i pridonose pretjerano masnom okusu (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). Omjeri PUFA/SFA i n-6/n-3 masnih kiselina glavni su parametri za procjenu nutritivne

kvalitete masti. Preporučene minimalne vrijednosti za omjer PUFA/SFA iznose 0,4, a za omjer n-6/n-3 maksimalno 4. Omjeri n-6/n-3 u pršutu su općenito vrlo visoki (oko 15-20), posebno oni proizvedeni od bijelih pasmina svinja, poput Parma i Serrano pršuta (Simopoulos, 2002; Jiménez-Colmenero i sur, 2010, navedeno u: Poljanec i sur., 2021a).

Lipoliza ima brojne učinke na kvalitetu pršuta: (i) stvaranje SMK koje izravno utječu senzorska svojstva, (ii) stvaranje višestruko nezasićenih SMK koji djeluju kao prekursori tvari arome i tvari okusa jer predstavljaju supstrate za daljnje oksidativne reakcije, (iii) doprinose teksturi razgradnjom TAG koji čine strukturu masnog tkiva i (iv) razvojem užeglog mirisa i žućkaste boje masti u slučaju intenzivne lipolize, odnosno oksidacije masti (Toldrá, 1998; Gandemer, 2002; Gilles, 2009).

2.5.3. Oksidacijske promjene tijekom proizvodnje pršuta

2.5.3.1. Oksidacija masti tijekom proizvodnje pršuta

SMK nastale u mišićima kao produkti lipolize u pršutu podložne su oksidaciji. Primarni supstrati oksidacije su SMK koje potječu od PL koji sadrže visoke udjele PUFA (45-55%), od kojih je trećina dugolančanih PUFA s četiri, pet i šest dvostrukih veza (Gilles, 2009).

Umjeren stupanj oksidacije masti ima pozitivan učinak na kvalitetu pršuta, prvenstveno na razvitak karakteristične arome (Harkouss i sur., 2015). Međutim, intenzivna oksidacija masti dovodi do narušavanja nutritivnih značajki (gubitka esencijalnih masnih kiselina i vitamina i pojava štetnih produkata) i negativno utječe na senzorske karakteristike proizvoda (promjene boje, teksture i pojava užeglog mirisa i okusa) (Purriños i sur., 2011; Domínguez i sur., 2019a). Iz tog razloga, oksidacija masti se smatra jednom od najvažnijih degradativnih promjena pri proizvodnji i skladištenju pršuta (Toldrá, 2002).

Lipidna oksidacija se odvija primarno mehanizmom kontinuiranih lančanih reakcija slobodnih radikala (autooksidacija) u više faza i predstavlja glavni mehanizam oksidacije lipida u mesu. Kao druga dva moguća mehanizma navode se fotooksidacija i enzimski katalizirana oksidacija peroksidazama i lipooksigenazama (Domínguez i sur., 2019a). Nezasićene SMK nastale tijekom lipolize reagiraju s molekularnim kisikom putem mehanizma slobodnih radikala što rezultira nastankom primarnih oksidacijskih produkata – hidroperoksida, a u manjoj mjeri diena (Guyon i sur., 2016). Hidroperoksidi samostalno ne pridonose mirisu i aromi pršuta, no zbog nestabilnosti se ubrzo razgrađuju čime nastaje velik broj sekundarnih spojeva, poput ugljikovodika, aldehida (pentanala, heksanala, 4-hidroksinonenala i

malondialdehida (MDA)), ketona, alkohola, estera i kiselina. Ovi produkti, ovisno u koncentraciji u kojoj su nastali i pragu detekcije mirisa (*engl.*, odor threshold), mogu utjecati pozitivno ili negativno na kvalitetu pršuta. Najznačajniji produkti oksidacije masti su aldehidi koji najviše doprinose aromi pršuta (Ross i Smith, 2006; Cheng, 2016, navedeno u: Domínguez i sur., 2019b).

Tijek oksidacije masti u pršutu pod snažnim utjecajem je prooksidativnog efekta soli (Jin i sur., 2012; Harkouss i sur., 2015; Li i sur., 2020a), ali i ostalih faktora, poput kisika, udjela PUFA, duljine pojedinih faza proizvodnje, pH i a_w , temperature te anatomske lokacije mišića u kojem se odvija (Gilles, 2009). Poznato je da NaCl, već u koncentracijama oko 4 % i povišena temperatura uvelike utječu na formiranje produkata oksidacije lipida (Jin i sur., 2012; Harkouss i sur., 2015). Oksidaciju masti također mogu inicirati i određene komponente prisutne u mesu, poput hem-proteina (hemoglobin i mioglobina) te prooksidansni enzimi (peroksidaze i lipooksigenaze). S druge strane, antioksidansi poput vitamina (α -tokoferol) (Ventanas i sur., 2006), antioksidativni peptidi (karnozin, anserin i glutation) i određeni enzimi (superoksid dismutaza, katalaza i glutation peroksidaza) (Domínguez i sur., 2019a), fenolne komponente dima (Bhuyan i sur., 2018; Gómez i sur., 2020) te nitriti (Kovačević, 2017) mogu u određenoj mjeri usporiti oksidaciju masti u mesnim proizvodima.

Najčešće korištene metode za određivanje stupnja oksidacije masti temelje se na mjerenju koncentracije primarnih (hidroperoksida i konjugiranih diena/triena) (Koutina i sur., 2012) ili sekundarnih (tvorba karbonila, aldehida, hlapivih spojeva, malondialdehida) produkata oksidacije (Ross i Smith, 2006; Shahidi, 2016; Domínguez i sur., 2019a). Mjerenje količine hidroperoksida (peroksidni broj) dugo je bila glavna metoda mjerenja primarnih oksidacijskih spojeva u mesu i mesnim proizvodima. Danas je poznato kako zbog nestabilnosti hidroperoksida dolazi do lažno niskih vrijednosti stupnja oksidacije jer je u naprednijim fazama oksidacije stupanj razgradnje hidroperoksida veći od stupnja njegova stvaranja. U tom smislu, mjerenje peroksidnog broja je učinkovito samo za mjerenja u početnim fazama oksidativnih procesa (Pastorelli i sur., 2003; Shahidi, 2016, navedeno u: Domínguez i sur., 2019a).

Test reaktivnih tvari tiobarbiturne kiseline (TBARS) danas je najčešće korištena metoda mjerenja stupnja oksidacije masti u mesu i mesnim proizvodima. Prednosti ove metode su jednostavnost izvođenja i dobra korelacija sa senzorski utvrđenim manama, odnosno kvarenjem mesa (Domínguez i sur., 2019a). Navedeni test razvijen je na temelju testa tiobarbiturne kiseline (TBA) koji se temelji na reakciji TBA s glavnim markerom oksidacije masti - MDA (Bruna i sur., 2001; Shahidi, 2016). Međutim, iako je MDA glavna reaktivna tvar koja reagira s TBA, poznato je da ta reakcija s nije specifična samo za MDA jer postoji više

aldehida i drugih spojeva (šećeri, kiseline, esteri, aminokiseline i produkti oksidacije proteina) koji također reagiraju s TBA (Irwin i Hedges, 2004). Posljedično, razvijena je metoda TBARs kako bi obuhvatila sve tvari koje reagiraju s TBA (Estévez i sur., 2009a, navedeno u: Domínguez i sur., 2019a).

U dosadašnjim istraživanjima oksidacije masti tijekom proizvodnje Bayonne (Harkouss i sur., 2015), Celta (Bermúdez i sur., 2014a) i Parma pršuta (Koutina i sur., 2012), utvrđeno je kako se najintenzivnija oksidacija masti događa u prvim fazama tehnološkog procesa. Pritom se intenzivnija oksidacija masti odvija u mišiću SM u odnosu na BF zbog intenzivnijeg prooksidativnog efekta viših koncentracija soli u SM (Li i sur., 2020a), ali i veće izloženost kisiku (Harkouss i sur., 2015; Zhou i sur., 2020a).

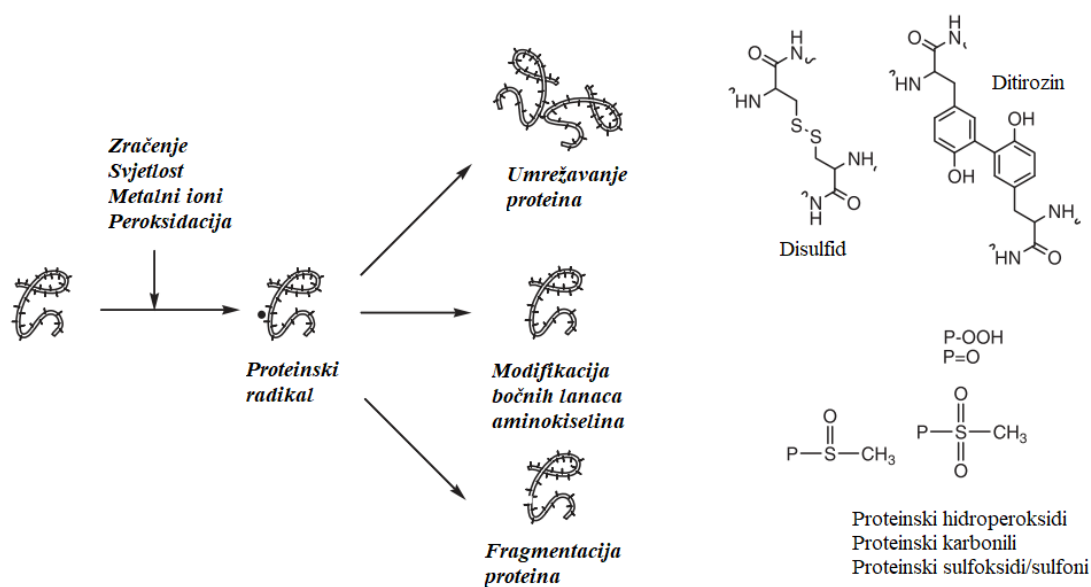
2.5.3.2. Oksidacija proteina tijekom proizvodnje pršuta

Proteini mesa zbog svoje su strukture također podložni oksidativnim reakcijama. Međutim, za razliku od oksidacije masti koja je zadnjih desetljeća opsežno proučavana, oksidacija proteina tek je odnedavno aktualna tema znanstvenih istraživanja u području analitike mesa i mesnih proizvoda (Xiong i Guo, 2021). Kompleksnost reakcija koje dovode do oksidacije proteina u mesu, velik broj nastalih produkata kao i velik broj faktora koji utječu na te reakcije razlog su nedovoljnoj istraženosti ovih procesa (Estévez, 2011; Domínguez i sur., 2021).

Unatoč složenosti tih reakcija, poznati su osnovni mehanizmi njihovog odvijanja. Smatra se da se da se oksidacija proteina odvija putem lančane reakcije slobodnih radikala (Lund i sur., 2011). Slobodni radikal može biti atom, atomska skupina ili molekula koja ima jedan ili više nesparenih elektrona, a može biti električki neutralna ili u obliku iona (Anonymous, 2021d). Mehanizam reakcija sličan je mehanizmu oksidacije lipida, no reakcije oksidacije proteina kompleksnije su i rezultiraju većim brojem mogućih produkata (Lund i sur., 2011; Gallego i sur., 2015). Oksidacija proteina u mesu uzrokovana je primarno reaktivnim spojevima kisika (*engl.*, reactive oxygen species, ROS), a u manjoj mjeri i reaktivnim vrstama dušika (dušikov oksid i peroksinitrit). ROS spojevi mogu biti radikalne ($\bullet\text{OH}$, $\text{O}_2\bullet^-$, $\text{RS}\bullet$ ili $\text{ROO}\bullet$) i neradikalne vrste kao što su H_2O_2 ili ROO (Lund i sur., 2011).

Prisutnost ROS-a u mesu posljedica je normalnog metabolizma u organizmu životinje, ali i egzogenih agenasa (UV svjetlo, zračenje i mnogi kemijski reagensi) (Zhang i sur., 2013). Nizom lančanih reakcija direktnim utjecajem ROS-a ili indirektno reakcijama sa sekundarnim produktima oksidativnog stresa dolazi do različitih promjena poput stvaranja karbonilnih spojeva, gubitka sulfidrilnih skupina, umrežavanja proteina, cijepanja proteinske okosnice i

modifikacije bočnih lanaca aminokiselina (slika 14) (Estévez, 2011; Lund i sur., 2011). Pritom nastaju brojni produkti, u najvećoj mjeri proteinski karbonili, koji dovode do narušavanja nutritivnih, senzorskih (boja i tekstura), tehnoloških i funkcionalnih (topivost, želatinizacija, WHC) svojstava mesa (Estévez, 2011; Koutina i sur., 2012; Soladoye i sur., 2017b; Gallego i sur., 2018a; Bao i Ertbjerg, 2019).



Slika 14. Najčešće promjene uzrokovane oksidacijom proteina (prilagođeno prema Lund i sur., 2011)

Oksidaciji proteina najpodložniji su miofibrilarni proteini, posebice miozin i troponin T (Li i sur., 2020a). Poznato je kako su određene aminokiseline, od kojih se pojedine nalaze u značajnom udjelu u pršutu, izrazito osjetljive na djelovanje ROS-a. Cistein i metionin navode se kao najosjetljivije na oksidacijske procese, no tirozin, fenilalanin, triptofan, histidin, prolin, arginin i lizin također su vrlo podložni oksidaciji (Lund i sur., 2011; Zhang i sur., 2013; Soladoye i sur., 2015).

Pretpostavlja se kako na oksidaciju proteina u mesu i mesnim proizvodima utječu brojni različiti unutarnji (kemijski sastav, podrijetlo, pasmina životinje, tipa mišića u kojem se odvija) i vanjski čimbenici (sol, duljina procesa zrenja, fermentacija, temperatura, uvjeti skladištenja itd.) (Domínguez i sur., 2021). Glavni inicijatori oksidacije proteina u mesu i mesnim proizvodima su mioglobin, metalni ioni, NaCl, sekundarni nusprodukti oksidacije lipida, kisik

u ambalaži s modificiranom atmosferom (MAP) i različiti kemijskih reagensi (Lund i sur., 2011; Wang i sur., 2011; Bao i Ertbjerg, 2019; Li i sur., 2020a).

S obzirom da je karbonilacija proteina prepoznata kao najistaknutija kemijska modifikacija oksidacije proteina (Estévez, 2011), kvantifikacija ukupne količine karbonila metodom s 2,4-dinitrofenilhidrazinom (DNPH) najčešće je korišten pristup za određivanje oksidacije proteina u brojnim mesnim proizvodima (Armenteros i sur., 2009; Estévez i sur., 2009b; Koutina i sur., 2012; Kurek i sur., 2021). Prednost ove metode i drugih metoda koje se temelje na analizi karbonilnih derivata jest da se karbonilacija događa u većini oksidiranih proteina, dok su druge metode, poput kvantifikacije tiolnih skupina, korisne samo za analizu uzoraka proteina sa značajnim udjelom aminokiselina koje sadrže sa sumporne skupine (npr. metionin ili cistein) (Xiong i Guo, 2021, navedeno u: Domínguez i sur., 2021).

Budući da su određene aminokiseline podložnije oksidaciji od drugih (Lund i sur., 2011), produkti njihove oksidacije smatraju se glavnim biomarkerima oksidacije proteina. Kao specifični biomarkeri oksidacije proteina u mesu služe α -amino adipinski semialdehid (AAS) iz lizina i γ -glutaminski semialdehid porijeklom iz arginina ili prolina (GGS) (Estévez i sur., 2009b) koji čine oko 60% ukupne količine karbonila nastalih oksidacijom proteina (Lund i sur., 2010; Estevez, 2011). Određivanje koncentracije AAS i GGS smatra se specifičnijom metodom za određivanje oksidacije proteina u mesu koja je uspješno primijenjena u brojnim mesnim proizvodima (Armenteros i sur., 2009; Fuentes i sur., 2010; Utrera i sur., 2011). S obzirom da zahtjeva vrlo skupu opremu i visoko kvalificirano osoblje (Utrera i sur., 2011), određivanje oksidacije proteina u mesu i mesnim proizvodima još uvijek se u većini znanstvenih istraživanja provodi DNPH metodom (Wang i sur., 2018; Gan i sur., 2019; Li i sur., 2019; Kurek i sur., 2021).

2.5.3.3. Međuovisnost procesa oksidacije masti i proteina

Poznato je kako su procesi oksidacije proteina usko povezani s oksidacijom lipida, a brojnim znanstvenim istraživanjima utvrđen je visok stupanj korelacije između ova dva procesa u mesu i mesnim proizvodima (Ventanas i sur., 2006; Armenteros i sur., 2009, Wang i sur., 2018). Osim što proteini mogu međusobno reagirati, uzrokujući oksidaciju zbog dušikovih ili sumpornih centara reaktivnih ostataka, proteini i njihovi ostaci reagiraju sa sekundarnim produktima lipidne oksidacije, posebno aldehidima koji nastaju u najvećoj mjeri (Guyon i sur., 2016; Domínguez i sur., 2019a; Li i sur., 2020a).

Utvrđeno je kako su peroksidni radikali nastali tijekom oksidacije lipida inicijatori oksidacije proteina (Lund i sur., 2011), dok aldehidi imaju sposobnost promjene redoks potencijala hem-proteina pojačavajući njihovu prooksidacijsku aktivnost (Chaijan, 2008). Primjenom peptodomičkih metoda u istraživanju oksidacije peptida tijekom proizvodnje španjolskog pršuta utvrđeno je kako sekundarni produkti oksidacije lipida poput MDA tvore stabilne adukte Schiffovih baza na N-krajevima peptida, koji pretežno uključuju ostatke histidina i lizina (Li i sur., 2020a). Također, istraživanja su utvrdila da hem-proteini (posebice mioglobin) u mesu iniciraju lipidnu oksidaciju (Wang i sur., 2018; Domínguez, 2021), što potvrđuje kako su ova dva procesa međuovisna i međusobno se pospješuju.

2.5.3.4. Međuovisnost procesa proteolize i oksidacije proteina

Prethodnim studijama koje su istraživale učinke oksidativnih procesa na proteolizu dobiveni su kontradiktorni rezultati o odnosu između procesa oksidacije proteina i proteolize.

Pojedini autori izvijestili su o negativnom učinku oksidacije proteina na proteolizu u mesnim proizvodima, budući da ona uzrokuje promjene u konformaciji proteina i inhibiciju aktivnosti enzima kalpaina (Huff-Lonergan i Lonergan, 2005; Bao i Ertbjerg, 2019) i katepsina (Berardo i sur., 2015), dovodeći do smanjene proteolize i tvrdoće mesa. Navedeno istraživanje u kobasicama tijekom zrenja (Berardo i sur., 2015) ukazuje na izrazitu podložnost najvažnijih proteolitičkih enzima (katepsina B i L) na oksidaciju, što može biti posljedica velikog broja osjetljivih cisteinskih ostataka u aktivnom mjestu tih enzima (Lund i sur., 2011; Soladoye i sur., 2015).

S druge strane, pojedina istraživanja su pokazala kako oksidacija proteina može promovirati proteolitičke procese, razmotavanjem njihove konformacije čime postaju podložniji proteazama (Davies, 2001). U studiji na goveđem mesu (Xue i sur., 2012), oksidacija je dovela do povećane proteolitičke podložnosti MHC-a i α -aktinina, dok nije zabilježen znatan utjecaj na aktin. U istraživanju odnosa ova dva procesa tijekom proizvodnje slanine s niskim sadržajem soli određen je visok stupanj pozitivne korelacije, što upućuje da se oni međusobno pospješuju (Gan i sur., 2019). Pojedini autori pretpostavljaju kako i proteolitički procesi u nekoj mjeri djeluju pozitivno na procese oksidacije proteina, budući da proteolizom nastaje veliki broj manjih peptida čiji bočni aminokiselinski ostaci postaju dostupniji ROS, odnosno podložniji oksidaciji (Estévez, 2011; Guo i sur., 2019).

Novija znanstvena istraživanja na ovu temu (Bao i Ertbjerg, 2019; Xiong i Guo, 2021; Domínguez, 2021) suglasna su u zaključku kako blaga oksidacija proteina promovira

proteolizu, dok intenzivna oksidacija ometa tijek proteolitičkih procesa u mesu i mesnim proizvodima. Ipak, iz dostupnih literaturnih podataka može se zaključiti kako je pri karakterizaciji odnosa između ova dva procesa u mesu i mesnim proizvodima nužno razmotriti različite čimbenike koji bi na njih utjecali, ne samo intenzitet oksidacijskih promjena, već vrstu proizvoda u kojima se one odvijaju, tehnološki postupak proizvodnje i karakteristike sirovine (pasma, *ante* i *post mortem* faktori).

2.6. Razvoj senzorskih karakteristika pršuta

2.6.1. Boja pršuta

Boja mesa i mesnih proizvoda ima važnu marketinšku ulogu i jedan je od najvažnijih senzorskih pokazatelja tržišne kvalitete mesa i mesnih proizvoda. Također, boja je važan pokazatelj raznih promjena koje se odvijaju prilikom proizvodnje. Na boju pršuta utječu brojni faktori tijekom proizvodnje koji uključuju razne kemijske, enzimske i promjene na ultrastrukturnoj razini (Bogdanović i sur., 2017). Općenito, boja mesa i mesnih proizvoda ovisi o udjelu vode i masti te koncentraciji hem-proteina (osobito mioglobina) (Toldrà, 2002; Suman i Joseph, 2014). Mioglobin koji ima ulogu reverzibilnog oksido-redukcijskog vezanja i transporta kisika u mišićnoj stanici je ključni nositelj crvene boje mesa. Na boju mesa utječu i brojni drugi faktori poput spola, dobi i načina uzgoja svinja, udjela tipa mišićnih vlakana (crvena ili bijela) i dr. (detaljnije u poglavlju 2.1.4.3.) (Toldrà, 2002).

Formiranje boje u pršutu u prvim fazama proizvodnje posljedica je difuzije soli u mišićje buta i povezano je s promjenama WHC, dok je tijekom zrenja posljedica dehidracije i povećanja koncentracije mioglobina, ali i promjena mioglobina (nastanak metmioglobina) (Pérez-Alvarez i Fernández-Lopez, 2011, navedeno u: Bogdanović i sur., 2017). Kod određenih vrsta pršuta u čijoj se proizvodnji koriste nitrati i/ili nitriti dolazi do formiranja nitrozilmioglobina (MbFe_2NO) i razvitka karakteristične ružičaste boje. Kod onih pršuta kod kojih nije dozvoljena njihova upotreba, već samo sol (Parma pršut, neki Iberijski, hrvatski pršuti) (Cava i sur., 2009; Koutina i sur., 2012; Petričević i sur., 2018), dolazi do nastanka cink-porfirin kompleksa koji doprinosi nastanku stabilne crvene boje (Bogdanović i sur., 2017). Karakteristična tamnija boja dimljenih pršuta posljedica je adhezije komponenata dima na površinu proizvoda (detaljnije u poglavlju 2.1.5.7.) (Marušić Radovčić i sur., 2016).

Praćenje promjena boje tijekom proizvodnje pršuta najčešće se provodi CIELAB metodom (Ventanas, i sur., 2005; Pérez-Palacios i sur., 2011; Bermúdez i sur., 2017, 2018). Prednosti

ove metode su objektivnost, brzina i praktičnost izvođenja te dobra korelacija sa senzorskim procjenama boje. CIELAB metoda temelji se na mjerenju svjetlosti reflektirane od površine hrane i koordinata boje: L^* (svjetlina), a^* (crvenost), b^* (žutina) i omjer a^*/b (García-Esteban i sur., 2003).

2.6.2. Tekstura pršuta

Tekstura je osjetilna percepcija koja proizlazi iz strukture hrane na molekularnoj, mikrostrukturnoj i makroskopskoj razini. Kao pojam opisuje sva mehanička/reološka svojstva (stupanj strukture) hrane, a također se direktno povezuje s vremenom potrebnome za obradu hrane u ustima (Chen, 2009).

Tekstura je sa stajališta kvalitete jedna od najvažnijih karakteristika pršuta, a direktno je povezana sa proteolizom koja se odvija tijekom proizvodnje. Uvjeti u mišićima buta poput pH, koncentracije soli i udjela vode ključni su faktori koji utječu na proteolitičku aktivnost, a posljedično i na razvoj teksture (Čandek-Potokar i sur., 2012). Također, ovisi i o brojnim *ante mortem* i *post mortem* faktorima (poglavlje 2.1.4.3.) i tehnološkim postupcima proizvodnje (Toldrá, 2002). Manji sadržaj NaCl-a, veća pH vrijednost i veći maseni udio vode pospješuju proteolizu i doprinose mekšoj teksturi pršuta proizvoda (Toldra, 2002; Kovačević, 2017). Ključnu ulogu u omekšavanju pršuta ima razgradnja glavnih strukturnih miofibrilarnih proteina (titina, nebulina, troponina T, MHC, α -aktinina), duljina i stupanj sušenja te sadržaj intramuskularne masti i vezivnog tkiva (Toldrá, 2014). Od teksturalnih karakteristika mesa, najvažnije su tvrdoća, žvakljivost, elastičnost i sočnost (Grujić i Vujadinović, 2014). Metode za procjenu teksture mesa općenito se dijele u tri kategorije: (i) senzorske metode, (ii) instrumentalne metode i (iii) indirektne (određivanje sadržaja kolagena, udjela suhe tvari itd.) (Saláková, 2012). S obzirom da su senzorske analize zahtjevne, dugotrajne i često skupe, razvijeni su empirijski mehanički testovi za instrumentalno mjerenje teksture koji koreliraju s senzorskom percepcijom teksture hrane (Chen i Opara, 2013).

Testovi koji se najčešće koriste za analizu mesa i mesnih proizvoda su Kramer test, Warner-Bratzler, analiza profila teksture (*engl.* Texture profile analysis, TPA) i test probijanja (Chen i Opara, 2013). TPA metoda danas se najčešće primjenjuje u analizi teksture pršuta, a primjena ovog testa posebice je korisna kod analize uzoraka koji nisu pogodni ili sigurni za procjenu od strane senzorskog panela (poput svježeg mesa, analize u početnim fazama proizvodnje pršuta ili pršuta s određenim senzorskim manama) (Andronikov i sur., 2013; Chen i Opara, 2013; Pugliese i sur., 2015; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018). TPA se zasniva na imitaciji procesa

žvakanja s dvostrukim ciklusom kompresije. Pritom se dobivaju profili teksture koji se definiraju kao krivulje koje nadziru i bilježe prostorne ili vremenske događaje tijekom mjerenja teksture uzorka hrane (Chen i Opara, 2013). Dobivenim profilima teksture mogu se procijeniti teksturalna svojstva pršuta poput: tvrdoće, elastičnosti, kohezivnosti, adhezivnosti, gumenosti i žvakljivosti.

2.6.3. Okus i aroma pršuta

Tijekom konzumacije hrane dolazi do kompleksnog doživljaja koji se u stranoj literaturi često definira engleskim izrazom „flavor“, koji obuhvaća okus (*engl.* taste), miris (*engl.* odour) i teksturu. Međutim, mnogi jezici (među kojima je i hrvatski) nemaju odgovarajući izraz za taj pojam. „Flavor“ je rezultat spojeva koji su podijeljeni u dvije kategorije: (i) onih odgovornih za okus te (ii) onih odgovornih za doživljaj mirisa, o kojima se uglavnom govori u kontekstu arome (Belitz i sur., 2008). Stoga se u literaturi uglavnom može pronaći podjela na komponente okusa i arome pršuta.

Okus pršuta je uglavnom povezan s nehlapljivim spojevima (dipeptidi i slobodne aminokiseline) koji se nakupljaju u pršutu u zadnjim fazama proizvodnje (tablica 3). Sol daje slani okus, no utječe i na stupanj proteolize, a time i na nastanak proteolitičkih produkata povezanih s posebnim deskriptorima okusa (Pérez-Santaescolástica i sur., 2018). Poznato je kako su određene aminokiseline u korelaciji s duljinom procesa sušenja (glutaminska kiselina, leucin, triptofan, lizin, triptofan), okusom zrelog pršuta (lizin, tirozin, asparaginska kiselina) (Careri i sur., 1993), kiselim (glutaminska i asparaginska kiselina, izoleucin, fenilalanin, histidin), slatkim (alanin, serin, prolin, treonin i glicin), slanim (glutamin) i gorkim okusom (valin, izoleucin i metionin) (Toldrá i sur., 2000a; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018). Sadržaj slobodnih aminokiselina usko je povezan s duljinom procesa zrenja. Međutim, previsok stupanj proteolize proteolitičkih produkata u visokoj je korelaciji s neugodnim gorkim i metalnim okusom (Careri i sur., 1993; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018). Slobodne aminokiseline također služe kao izvor hlapljivih spojeva arome tijekom zrenja (Martín i sur., 2001).

Tablica 3. Grupe nehlapivih spojeva okusa u pršutu (Toldrá, 2014)

<i>Grupe nehlapivih spojeva</i>	<i>Glavni spojevi</i>	<i>Doprinos okusu</i>
Peptidi	Mnogi tripeptidi i dipeptidi (posebno karnozin i anserin)	Visok
Slobodne aminokiseline	Lizin, glutaminska kiselina, leucin, alanin, arginin i dr.	Visok
Slobodne masne kiseline	Oleinska, linolna, palmitinska, linolenska, stearinska itd.	Nizak
Nukleozidi	Hipoksantin, ksantin	Nizak/srednji
Anorganske tvari	Natrij klorid (NaCl)	Visok

Razvoj arome pršuta je kompleksan proces i posljedica je brojnih biokemijskih reakcija (Toldrá i sur., 1997). Za aromu pršuta zaslužno je gotovo 200 hlapivih spojeva (Toldrá, 2012) koji se mogu podijeliti u nekoliko skupina organskih spojeva prema mehanizmu nastajanja (tablica 4), iako neki spojevi mogu nastati putem više mehanizama (Narváez-Rivas i sur., 2012; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018). Glavne skupine hlapivih spojeva koje se nalaze u pršutu i glavni procesi kojima nastaju navedeni su u tablici 4.

Tablica 4. Glavne grupe hlapivih spojeva arome u pršutu (Toldrá, 2012)

<i>Grupe hlapivih spojeva</i>	<i>Mehanizam nastajanja</i>	<i>Opis mirisa (deskriptor)</i>
Alifatski ugljikovodici	Autooksidacija masti	Zelena plijesan, alkanski, po krekerima
Alifatski aldehidi	Oksidacija masti	Zeleni, po masnome, opor
Razgranati aldehidi	Streckerova degradacija aminokiselina	Prženi kakao, po siru, po zelenome
Alkoholi	Oksidacija masti	Medicinski, alkoholni, zeleni, balzamični
Ketoni	Dekarboksilacija β -keto kiselina ili β -oksidacija masnih kiselina	Voćni, cvjetni, po maslacu
Esteri	Reakcija karboksilnih kiselina i alkohola	Voćni

Grupe hlapivih spojeva	Mehanizam nastajanja	Opis mirisa (deskriptor)
Spojevi s dušikom	Maillardove reakcije aminokiselina s ugljikohidratima	Orašasti, prženi lješnjak, mesni
Spojevi sa sumporom	Aminokiseline koje sadrže sumpor	Po luku, po kupusu, po trulome
Furani	Reakcija aminokiselina koje sadrže sumpor s furanima ili podrijetlom iz dima	Po karameli, po šunki, voćno, spaljena guma

Glavni aromatski spojevi pršuta potječu od oksidacije masnih kiselina, a za formiranje arome posebno su važni aldehidi (Carrapiso i sur., 2002, Pérez-Santaescolástica i sur., 2018). Unatoč velikom broju nastalih hlapivih spojeva arome, samo mali postotak hlapivih tvari značajnije pridonosi konačnoj aromi. Doprinos aromi svake od njih ponajprije ovisi o njihovoj koncentraciji i pragu detekcije mirisa (Toldrá, 2014) te interakcijama s drugim spojevima iz matriksa (Narváez-Rivas i sur., 2012). Primjerice, heksanal u niskim koncentracijama pridonosi ugodnoj aromi koja se opisuje kao „zelenom“ ili „po travi“, dok u višim koncentracijama daje neugodnu, užeglu aromu (García-González i sur., 2013, navedeno u: Bogdanović i sur., 2017). Karakterizacijom spojeva arome u Iberijskom pršutu određeno je 28 tvari koje u najvećoj mjeri pridonose aromi, uključujući 11 aldehida, sedam spojeva sa sumporom, pet ketona, dva spoja s dušikom te dva estera i dva alkohola. Među njima, aromi su najviše pojedinačno pridonijeli 2-metil-3-furantiol, 2-heptanon, 3-metilbutanal, metanol, heksanal, vodikov sulfid, 1-penten-3-on, 2-metilpropanal, etil 2-metilbutirat, i (E) -2-heksenal (Carrapiso i sur., 2002).

Iako ne postoji idealna tehnika za izolaciju hlapljivih spojeva iz hrane, pokazalo se da je analiza plinskom kromatografijom u kombinaciji s masenim spektrometrom (*engl.*, gas chromatography-single mass spectrometry technique, GC-MS) kojoj prethodi ekstrakcija na čvrstoj fazi (*engl.*, solid-phase microextraction, SPME) pouzdana metoda za analizu hlapivih spojeva u mesnim proizvodima (Domínguez i sur., 2019b). Tom metodom uspješno su karakterizirani hlapivi spojevi arome brojnih vrsta pršuta, poput Toscano, San Daniele i Parma (Giovanelli i sur., 2016, Sirtori i sur., 2020), Iberijskog (García-González i sur., 2013), Kraškog (Pugliese i sur., 2015), hrvatskih dimljenih i nedimljenih (Petričević i sur., 2018), Celta (Bermúdez i sur., 2015) i Jinhua (Zhou i sur., 2020a).

2.7. Nutritivna vrijednost pršuta

Unatoč važnosti crvenog mesa u ljudskoj evoluciji i njegovoj nutritivnoj vrijednosti u prehrani, konzumacija crvenog mesa dobiva sve veću negativnu pozornost u znanstvenoj zajednici te u široj javnosti i medijima (Popelka, 2017; Juárez i sur., 2021;). Posljednjih godina objavljene su brojne studije koje sugeriraju povezanost između konzumacije crvenog mesa i negativnih učinaka na zdravlje ljudi (posebice nekih vrsta raka), kao i sve veću zabrinutost oko negativnog utjecaja sektora stočarstva na klimatske promjene (Toldrá i sur., 2020; Juárez i sur., 2021). Međutim, sastojci mesnih proizvoda navedeni kao potencijalno kancerogeni su heterociklički aromatski amini (HAA), PAH i N-nitrozo spojevi (NOC) te interakcije između NOC, hem-željeza i HAA (IARC, 2015), koji se ne nalaze ili se nalaze u zanemarivim količinama u pršutu (Toldrá i sur., 2020).

Paralelno, sve više studija otkriva da potpuno izbacivanje crvenog mesa iz ljudske prehrane može dovesti do negativnih zdravstvenih učinaka, kao što su niža mineralna gustoća kostiju i veća stopa prijeloma kostiju (Juárez i sur., 2021). Konzumacija svinjskog mesa doprinosi unosu mnogih esencijalnih nutrijenata poput proteina, esencijalnih masnih kiselina te nekoliko vitamina (posebno B₁) i minerala (posebno željeza i cinka) (Kovačević, 2017).

Pršut je vrijedan izvor proteina koji sadrže dobre omjere esencijalnih aminokiselina koji pomažu pri apsorpciji minerala poput hem-željeza i elemenata u tragovima. Visoke koncentracije nekih aminokiselina koje nastaju kao produkti intenzivne proteolize imaju visoku biološku raspoloživost i pomažu pri oporavku organizma od mentalne (triptofan) i fizičke (taurin, lizin, valin, izoleucin) iscrpljenosti (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Pršut se smatra prirodnim izvorom željeza, cinka, fosfora, selen, tiamina, riboflavina, niacina i vitamina B₆ i B₁₂, budući da sadrži značajne količine (>15% RDA na 100 g) ovih mikronutrijenata (EC, 2011, navedeno u: Jiménez-Colmenero i sur., 2010).

Znanstvena istraživanja objavljena posljednjih godina utvrdila su kako je pršut vrlo dobar izvor bioaktivnih peptida te je velik broj njih i uspješno identificiran (Gallego i sur., 2014, 2016a,b, 2019; Xing i sur., 2019). Navedeni peptidi smatraju se bioaktivnima jer imaju posebne zdravstvene učinke za ljudski organizam poput antimikrobnih svojstava, snižavanja krvnog tlaka (ACE inhibitori porijeklom iz aktina i miozina), sposobnosti snižavanja kolesterola, hipoglikemijskih (DPP IV inhibitori), protuupalnih i antioksidativnih učinaka (karnozin, anserin, glutation (GSH)) i poboljšanje apsorpcije minerala (Marušić i sur., 2013a, Toldrá i sur., 2020). Rezultati studije nutritivnih komponenti u španjolskom pršutu tijekom 10 mjeseci proizvodnje (Marušić i sur., 2013a) pokazali su kako je pršut izvrstan izvor vrijednih

spojeva poput cistina, cisteina, karnozina, anserina, taurina, karnitina i koenzima Q10. *In vitro* procjena antioksidativnih aktivnosti provedena u toj studiji pokazala je kako najveću antioksidativnu aktivnost imaju glutation (GSH), kreatinin i karnozin, a antihipertenzivnu aktivnost cisten, GSH i karnozin (Marušić i sur., 2013a). Nekoliko *in vivo* kliničkih studija utvrdilo je antihipertenzivne i protuupalne učinke svakodnevne konzumacije pršuta (40-80 g/dan) (Escudero i sur., 2012; Martínez-Sánchez i sur., 2017; Montoro-García i sur., 2022, 2017). Međutim, važno je naglasiti kako pršuti mogu sadržavati vrlo visoke udjele soli (do 9 %) stoga se preporuča umjerenost u konzumaciji (Kovačević, 2017).

Zbog dobro izbalansiranog nutritivnog profila i sadržaja nekih bioaktivnih spojeva, pršut se može smatrati ne samo gastronomskim specijalitetom, već i nutritivno vrijednom namirnicom. Stoga je prikladan za konzumaciju u umjerenim količinama (čak 2-3 puta tjedno kod zdravih osoba) kao dio uravnotežene prehrane (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Pri interpretaciji rezultata raznih studija o štetnosti crvenog mesa važno je uzeti u obzir i porijeklo i kvalitetu sirovine te metode pripreme mesa, a također i stila života pojedinca i indeksa pretilosti, koji su često u korelaciji s učestalošću konzumacije crvenog mesa, a zasebno predstavljaju rizične faktore u razvoju raznih bolesti (Juárez i sur., 2021).

2.7. Sigurnosni aspekti u proizvodnji dimljenog pršuta

Pršut se mikrobiološkog aspekta smatra vrlo stabilnom i sigurnom namirnicom, budući da uvjeti u butu (niski a_w i visok sadržaj soli) ne predstavljaju povoljnu okolinu za rast i razmnožavanje mikroorganizama. Mišićno i masno tkivo buta tijekom cijelog proizvodnog procesa pršuta ostaju neoštećeni (osim u površinskom medijalnom dijelu - mjestu odvajanja buta od trupa) što čini butove zaštićene od vanjske mikrobne kontaminacije. Proizvodnja pršuta temelji se na „konzerviranju preprekama“ koja uključuje hlađenje butova do faze primarne obrade (+ 4 °C u središtu buta), soljenje/salamurenje (najkasnije 48 h *post mortem*), dimljenje, sušenje, zrenje i baktericidno djelovanje začina (ukoliko se primjenjuju). Kombinacija navedenih postupaka osigurava visoku mikrobiološku stabilnost proizvoda (Kovačević, 2017).

Od najvažnijih štetnika koji se mogu pojaviti u svježim butovima ili u pršutima u kasnijim fazama proizvodnje navode se insekti (pojedine vrste muha i kornjaša) i paučnjaci (grinje) te razvojni stadiji određenih parazita (posljedica parazitarnih bolesti svinja) (Karolyi, 2009).

Kemijske opasnosti u proizvodnji pršuta predstavljaju (i) kontaminanti prisutni u sirovini (dioksini, teški metali, poliklorirani bifenili, hormonski proizvodi, antibiotici) i (ii)

kontaminanti koji nastaju tijekom procesa prerade (PAH-ovi, biogeni amini, tvari iz ambalaže) (Pleadin i Kovačević, 2016). Kod nekih vrsta pršuta (npr. Istarskog koji se proizvodi bez kože i potkožnog masnog tkiva) poželjno je obrastanje površine buta plemenitim plijesnima koje imaju tehnološku ulogu i doprinose specifičnoj aromi i teksturi. Ipak, u nekontroliranim uvjetima površinu pršuta mogu spontano obrastati plijesni koje negativno utječu na senzoričku (bijele, smeđe i crne mrlje, ranketljivost, trulež), sudjelovati u procesima kvarenja i lučiti sekundarne toksične metabolite poput mikotoksina (Kovačević, 2017).

Ispitivanje kvalitete pršuta se, osim standardnim analitičkim i mikrobiološkim metodama, obavezno provodi senzorskom analizom. Senzorsko ocjenjivanje provodi se od strane treniranih senzorskih ocjenjivača (panelista) koji mjere, analiziraju i interpretiraju svojstva zapažena osjetilima vida, mirisa, okusa, dodira i sluha (Chen i Opara, 2013). Najčešće korištene metode su (i) test bodovanja (najčešće na natjecanjima proizvođača) ili (ii) test ukupne prihvatljivosti pomoću hedonističke skale ili kvantitativne deskriptivne analize (Chen i Opara, 2013; Kovačević, 2017). Senzorskom analizom moguće je utvrditi i određene senzorske mane pršuta, do kojih najčešće dolazi zbog pogrešaka u tehnologiji proizvodnje, posebno nedostatnog soljenja (osobito većih butova) ili neodgovarajućih mikroklimatskih i higijenskih uvjeta tijekom proizvodnje (Karolyi, 2009). Kao najčešće senzorske mane pršuta navode se: promjena boje (disokoloracija), greške u okusu (pretjerana slanost, gorki ili metalni okus), sluzavost, smrdljivo zrenje, gnjiljenje (putrefakcija), pljesnivost i kiselost (Karolyi, 2009; Kovačević, 2017).

U svrhu osiguranja kvalitete i sigurnosti proizvoda od izuzetne je važnosti provođenje svih zakonskih odredbi u području sigurnosti hrane, primjena veterinarsko-zdravstvenih standarda i slijeđenje načela HACCP sustava (Pleadin i Kovačević, 2016; Tomašević i Djekić, 2017).

2.8. Trendovi u proizvodnji pršuta

Inovacije u proizvodnji pršuta s ciljem poboljšanja senzorskih i nutritivnih značajki u skladu s svjetskim trendovima na tržištu hrane u današnje vrijeme su za proizvođače presudni za opstanak ili povećanje konkurentnost na tržištu (Vitale i sur., 2020). Promjene u suvremenom načinu života i trend konzumacije zdrave i uravnotežene prehrane utječu na prehrambene navike i sklonosti potrošača pri kupovini hrane. Okus, cijena i pristupačnost potrošačima više nisu jedini kriteriji na kojima baziraju svoj odabir, već danas pridaju važnost i nutritivnoj vrijednosti i sigurnosti proizvoda te pitanjima dobrobiti životinja i utjecaja na okoliš (Santeramo i sur., 2018; Juárez i sur., 2021).

Prije nekoliko desetljeća, fokus istraživanja u svrhu unaprjeđenja tehnološkog procesa proizvodnje pršuta bio je na razvoju metoda za skraćivanje pojedinih faza proizvodnje pršuta, ponajviše soljenja i sušenja (Bosse i sur., 2018). Neke od metoda bile su tehnike ubrzavanja difuzije soli kroz but (skidanje kože i potkožnog masnog tkiva buta, zamrzavanja butova prije prerade i „tambliranje“ butova u bubnjevima) (Motilva i sur., 1994; Arnau i sur., 2007; Flores i sur., 2009) ili metode ubranog sušenja narezanog pršuta (*engl.* „Quick-dry-slice-process“[®]). Iako su se navedene metode pokazale relativno uspješnima za ubrzavanje pojedine faze u proizvodnji, uglavnom su uzrokovali fizička oštećenja buta ili narušavanje senzorske kvalitete (Bosse i sur., 2018).

U skladu s trenutnim zahtjevima tržišta, najnovija znanstvena istraživanja usmjerena su na promjene udjela pojedinih komponenti u pršutu koje predstavljaju zdravstveni rizik za pojedine skupine potrošača, većinom na redukciju NaCl-a i nitrata te na optimizaciju profila masnih kiselina (Bosse i sur., 2018; Flores, 2018; Zhou i sur., 2020b; Juárez i sur., 2021). Strategije za redukciju NaCl temelje se na izravnom smanjenju udjela NaCl ili djelomičnoj zamjeni alternativnim solima (KCl, MgCl₂ i CaCl₂) (Ruusunen i Puolanne, 2005; Aliño i sur., 2010; Ripollés i sur., 2011; Armenteros i sur., 2012; Benedini i sur., 2012), redukciji nitrata (Safa i sur., 2017; Berardi i sur., 2021) ili redukciji NaCl u kombinaciji s tretmanom visokog tlaka (*engl.* High pressure treatment, HP) (Fulladosa i sur., 2009; Garcia-Gil i sur., 2014, Safa i sur., 2017). Nijedna od navedenih metoda za redukciju NaCl-a/nitrata nije se pokazala zadovoljavajućom, već su istraživanja rezultirala preintenzivnom proteolizom pršuta i značajnim senzorskim manama.

Kompanija Galloni S.p.A, najstariji proizvođač Parma pršuta, nedavno je razvila tehnologiju kojom je omogućena kontrola sadržaja soli bez dodataka alternativnih spojeva. Tehnologija se temelji na primjeni nedestruktivnog sustava za skeniranje s magnetskom

indukcijom (MIS) koji predviđa omjer udjela masti i nemasne mase svježeg buta i količinu soli koju šunke apsorbiraju tijekom soljenja. Primjenom matematičkih modela omogućena je procjena optimalnih količina soli i uvjeta soljenja za svaki pojedini but te postizanje točno određenog sadržaja soli u konačnom proizvodu. Time je razvijen inovativni proces proizvodnje Parma pršuta sa smanjenom količinom soli bez promjena tradicionalnog postupka proizvodnje (Anonymous, 2021e).

Optimizacija nutritivnog profila temelji se na strategijama uzgoja i hranidbe svinja i genetskim strategijama u svrhu modifikacije profila SMK u pršuta. Glavni cilj tih strategija je smanjivanje udjela SFA povećanjem udjela MUFA i PUFA, kao i povećanje udjela n-3 masnih kiselina i smanjivanje omjera n-3/n-6 (Jiménez-Colmenero i sur., 2010, Juárez i sur., 2021).

Strategije uzgoja i hranidbe baziraju se na selekciji određenih pasmina svinja za proizvodnju pršuta ili razvoja novih pasmina koje će nositi određene gene sa željenim osobinama. Poznato je kako određene čistokrvne pasmine svinja sadrže niže udjele SFA i više udjele PUFA u usporedbi s modernim komercijalnim pasminama, poput čistokrvnih južno-europskih pasmina (Pugliese i Sirtori, 2012) ili hrvatske crne slavonske svinje (Marušić i sur., 2019a), što je izravna posljedica ekstenzivnog ili silvo-pastoralnog načina uzgoja u kojima svinje samostalno pronalaze hranu bogatu PUFA (Lebret i sur., 2011) (poglavlje 2.1.4.3.). Strategije hranidbe usmjerene su na modifikaciju prehrane svinja, najčešće obogaćivanjem hrane dodacima poput kestena ili žira (Bermúdez i sur., 2012; Domínguez i sur., 2015) te prirodnim izvorima ili suplementima α -tokoferola, oleinske kiseline i linolenske (Ventanas i sur., 2007; Santos i sur., 2008). U današnje vrijeme otvara se mogućnost proizvodnje poljoprivrednih kultura koje bi genetskom modifikacijom sadržavale dugolančane n-3 masne kiseline ili korištenja transgenih životinja (nuklearnim prijenosom modificirane DNK na embrij) čime bi se povećala endogena proizvodnja određenih masnih kiselina, poput n-3 masnih kiselina (Juárez i sur., 2021).

Međutim, iako primjena metoda genetske modifikacije ima velik potencijal za modifikaciju sastava masnih kiselina u mesu životinja, nameću se brojna etička i sigurnosna pitanja, ali i pitanje percepcije potrošača o konzumaciji mesnih proizvoda iz sirovina dobivenih metodama genetske modifikacije (Juárez i sur., 2021).

Iz dostupnih rezultata znanstvenih istraživanja umjerenih na redukciju NaCl-a u pršutu može se zaključiti kako još uvijek nisu razvijene adekvatne metode za proizvodnju kvalitetnog pršuta s nižim sadržajem soli. Također, primjena alternativnih spojeva u proizvodnji pršuta vjerojatno bi zahtijevala određene izmjene izvornih receptura, što bi u slučaju zaštićenih pršuta (poput onih s oznakom ZOZP i ZOI), utjecalo na njihove jedinstvene karakteristike koje su

posljedica primjene tradicionalnih sirovina i načina proizvodnje i dio su kulturološkog identiteta određene regije ili kraja.

S obzirom na postojeće trendove, buduće strategije optimizacije sastava pršuta moraju biti usmjerene k primjeni visokokvalitetnih sirovina i razvoju inovativnih metoda koje će ići u korak sa zahtjevima modernog potrošača, no bez narušavanja izvorne kvalitete proizvoda.

3. MATERIJALI I METODE

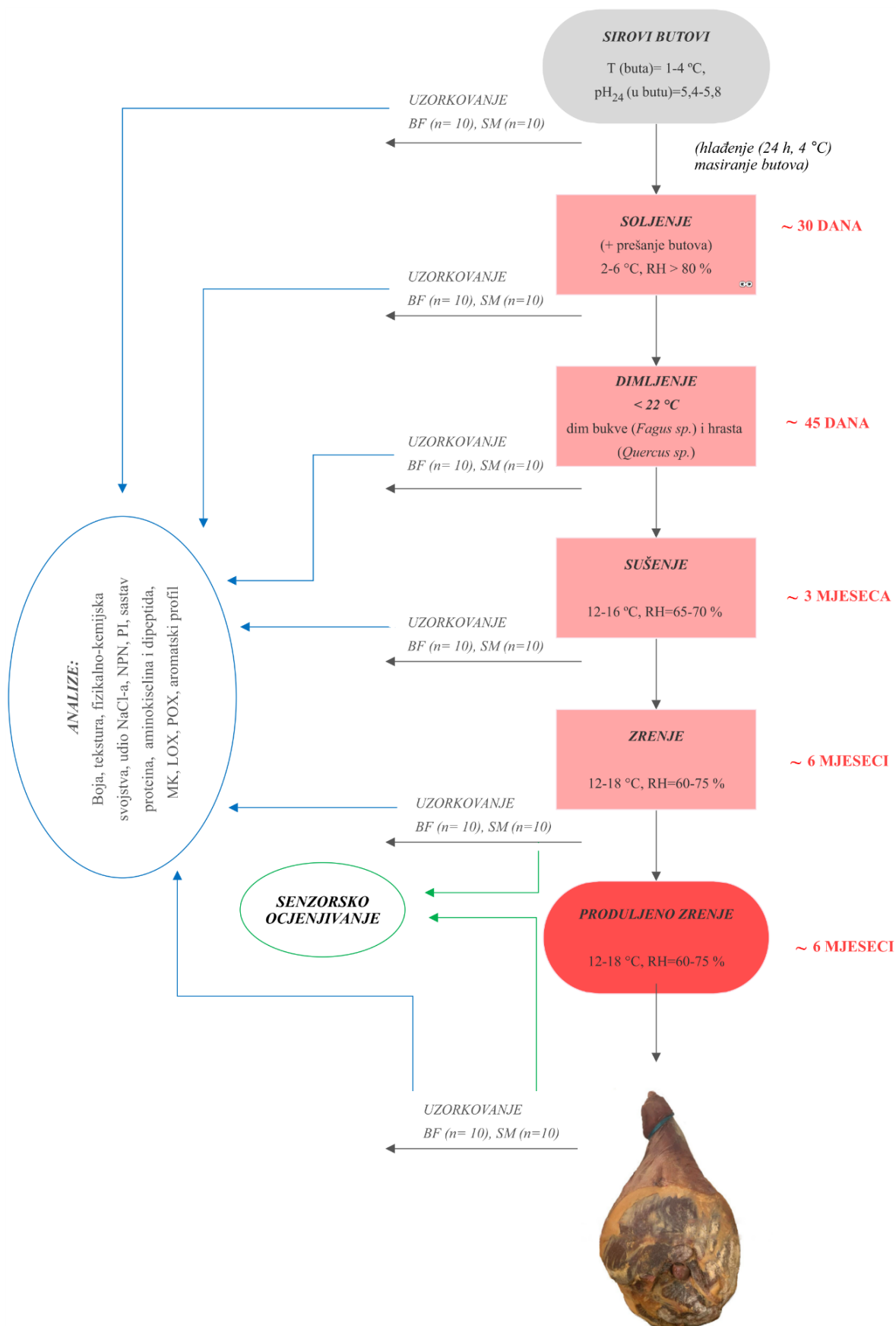
3.1. Materijali

3.1.1. Uzorci

Istraživanje je provedeno na svinjskim butovima ($n = 60$) dobivenima od tropasminskog križanca Duroc ♂ x ♀ (Yorkshire x Landrace). Svinje su uzgajane i tovljene pod istim uvjetima i s prosječnom masom pri klanju od 160 kg. Proizvodnja dimljenog pršuta provedena je u kontroliranim industrijskim uvjetima u mesnoj industriji Pivac (Vrgorac, Hrvatska) slijedeći proizvođačku specifikaciju za Dalmatinski pršut sa zaštićenom oznakom zemljopisnog porijekla (ZOZP) (Kos i sur., 2015).

3.1.2.1. Opis postupka proizvodnje dimljenog pršuta

Prikaz proizvodnje dimljenoga pršuta i plan istraživanja prikazan je shematski dijagramom toka (slika 15). Detaljniji opis postupka proizvodnje dimljenog pršuta dan je u nastavku.



Slika 15. Shematski prikaz proizvodnje dimljenog pršuta i plana istraživanja (vlastita izrada, SmartDraw Software, The Woodlands, TX, SAD)

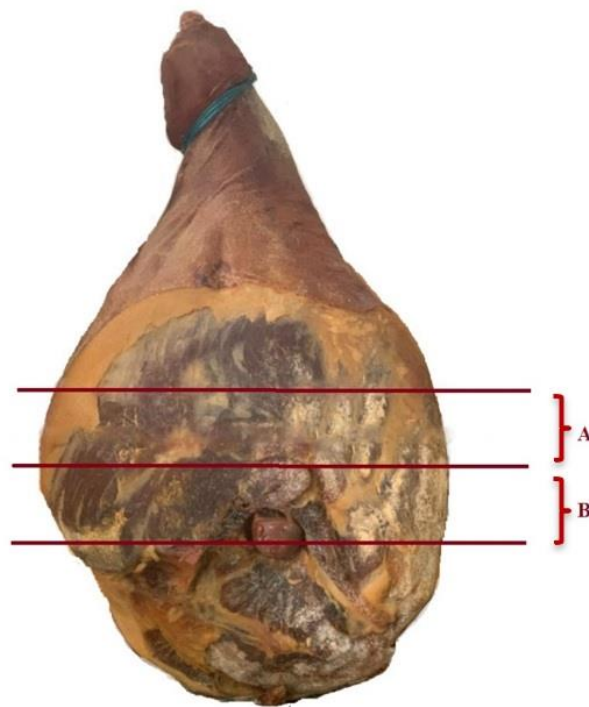
Nakon klanja svinja, od trupova su izdvojeni svježi butovi čiji fizikalno-kemijski i senzorski parametri zadovoljavaju odredbe propisane Specifikacijom (Kos i sur., 2015). Prosječna masa izdvojenih svježih butova iznosila je $12,00 \pm 0,55$ kg (tablica 5). Nakon hlađenja svježih butova (24 h pri 4 °C), provedena je masaža butova u svrhu istiskivanja zaostale krvi iz cijelog buta nakon čega je uslijedilo soljenje morskom soli pri temperaturi od 2–6 °C i RH > 80 %. Faza soljenja trajala je ukupno 30 dana te je uključivala: trljanje obrađenih butova suhom morskom soli i odležavanje 7-10 dana s medijalnom stranom okrenutom prema gore, ponovno soljenje i odležavanje butova idućih 7-10 dana s medijalnom stranom okrenutom prema dolje te postupka prešanja butova u trajanju 7-10 dana u svrhu postizanja njihovog pravilnog oblika. Soljeni, isprani i ocijeđeni butovi obješeni su na kuku od nehrđajućeg čelika iznad petne kvrge (*tuber calcanei*) i preneseni u komoru za dimljenje. Dimljenje je provedeno uporabom hladnog dima maksimalne temperature 22 °C dobivenog izgaranjem tvrdog drva ili piljevine bukve (*Fagus sp.*) i hrasta (*Quercus sp.*) u trajanju od 45 dana.

Zatim je uslijedila faza sušenja u komorama sa stabilnom mikroklimom i otvorima za izmjenu zraka pri temperaturi od 12–16 °C uz RH= 65-70% kroz otprilike 3 mjeseca. Nakon završetka sušenja butovi su premješteni na zrenje u zamračenu komoru sa stabilnom mikroklimom i otvorima za izmjenu zraka pri 12-18 °C i RH = 60-75 %. Faza zrenja provedena je u trajanju od 6 mjeseci (pršut starosti 12 mjeseci), nakon čega su pršuti podvrgnuti produljenom zrenju u trajanju od 6 mjeseci (pršut starosti 18 mjeseci). Završna masa butova iznosila je prosječno $7,29 \pm 0,40$ kg (tablica 5).

Tablica 5. Prosječna masa butova (srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija) u trenutku uzorkovanja nakon svake od šest faza proizvodnje dimljenoga pršuta

<i>Faza proizvodnje</i>	<i>Datum uzorkovanja</i>	<i>Brojevi markica na butu</i>	<i>Masa butova (kg)</i>
<i>Sirovi butovi</i>	07.11.2018.	1-10	12,00 $\pm$ 0,55
<i>Soljenje</i>	30.11.2018.	60C-69C	11,16 $\pm$ 0,52
<i>Dimljenje</i>	15.01.2019.	70C-79C	9,61 $\pm$ 0,46
<i>Sušenje</i>	28.03.2019.	80C-89C	8,81 $\pm$ 0,46
<i>Zrenje</i>	16.11.2019.	90C-99C	7,52 $\pm$ 0,41
<i>Produljeno zrenje</i>	21.05.2020.	20D-29D	7,29 $\pm$ 0,40

Po deset svinjskih butova izuzeto je iz proizvodnog pogona nakon svake od šest faza proizvodnog procesa (slika 15): (1) sirovi butovi, (2) nakon soljenja (nakon 24 dana proizvodnje), (3) nakon dimljenja (nakon 69 dana), (4) nakon sušenja (nakon 142 dana), (5) nakon zrenja (nakon 375 dana) i (6) nakon produljenog zrenja (nakon 562 dana). Uzorkovanje butova provedeno je rezanjem transversalno od bedara do glave bedrene kosti kako bi se dobili presjeci korišteni za analize (slika 16). Za potrebe analiza iz dobivenih presjeka su izdvojeni mišići BF (n=10) i SM (n=10) (ukupno 60 uzoraka svakog mišića) (slika 17), a potom vakuumirani, označeni i skladišteni na -18 °C do analiza. Prije analiza, uzorci su odmrznuti 24 h na 4 °C. Senzorska analiza pršuta starosti 12 i 18 mjeseci provedena je na uzorcima pršuta odmah nakon uzorkovanja. Svaki uzorak mišića (60 BF i 60 SM) analiziran je u triplikatu (osim ako je drugačije navedeno) te sukladno tome, vrijednosti prikazane u disertaciji predstavljaju srednje vrijednosti paralelnih mjerenja.



Slika 16. Rezanje svinjskog buta u svrhu dobivanja presjeka za senzorske (A) i fizikalno-kemijske analize (B) (prilagođena fotografija dimljenog pršuta proizvedenog u mesnoj industriji Pivac, foto: Radovčić Marušić, N.)



Slika 17. Presjek dimljenog pršuta nakon produljenog zrenja s mišićima: BF-*m. biceps femoris*; SM-*m. semimembranosus*, RF-*m. rectus femoris*; ST- *m. semitendinosus* (vlastita fotografija)

3.1.2. Uređaji

- Analitička vaga, ABT 220-4M (Kern & Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Aparatura za ekstrakciju masti po Soxhletu, SK6 SS (INKO d.o.o., Hrvatska)
- Autosampler TriPlus (ThermoScientific, Augustin, TX, SAD)
- Centrifuga, Rotina 380 R (Hettich LabTechnology, Tuttlingen, Njemačka)
- Digitalni pH metar, 7110 (WTW, Xylem Analytics, Weilheim, Njemačka)
- Električni grijač, EKA- 10LS (Končar, Zagreb, Hrvatska)
- Hladnjak sa zamrzivačem, GTS 42120 (Liebherr, Bischofshofen, Austrija)
- Homogenizator, Ultra Turrax T18 basic (IKA Werke GmbH & Co. KG, Baden-Württemberg, Njemačka)
- HPLC uređaj s diode array detektorom (254 nm), Agilent 1290 Series (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) Injector) (Agilent Technologies Santa Clara, CA, SAD)
- Kjeltex System 1002 (Foss, Höganäs, Švedska)
- Kolorimetar, Konica Minolta CM-700d (Minolta, Osaka, Japan)
- Mesoreznica, M-30 (Končar, Zagreb, Hrvatska)
- Mikrocentrifuga, MicroCL 21 Microcentrifuge (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, SAD)
- Mufolna peć, EDR 26 (Elektron Erma-Strmec, Stubičke toplice, Hrvatska)
- Plinski kromatograf (Agilent 6890 Network GC System) s masenim spektrofotometrom (Agilent 5973 Mass Selective Detector) i automatskim injektorom (7683B Series)

- Plinski kromatograf (Agilent Technologies 6890N Network GC System) s plamenoionizacijskim detektorom (FID) (Santa Clara, CA, SAD)
- Spektrofotometar, Specord 50 Plus (AnalytikJena, Jena, Germany)
- Sušionik, ST-01/02 (Instrumentaria Zagreb, Hrvatska)
- Tehnička vaga, PFB (Kern & Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Teksturometar, TA1 (Ametek Lloyd Instruments Ltd., Zapadni Sussex, Engleska)
- Termoblok s magnetnim miješanjem 18971 (Pierce React-Therm, Rockford, IL, SAD)
- Termoblok, Stuart SBH130D (Cole-Parmer Ltd., Stone, Engleska)
- Uređaj za mjerenje aktiviteta vode, Testo 650 (Testo Inc., NewYork, USA)
- Vertikalni sustav za elektroforezu OmniPAGE Mini CVS10D (Cleaver Scientific, Warwickshire, Engleska) s jedinicom za napajanje Enduro 300 V (Labnet International, Edison, NJ, SAD)
- Vibromješač („vorteks“), Hula Dancer Digital (IKA Werke GmbH & Co. KG, Baden-Württemberg, Njemačka)
- Vodena kupelj, Rotavapor R-250 (Büchi Labortechnik, Flawil, Švicarska)

3.1.3. Pribor

- Aluminijske zdjelice za sušenje 50 x 30 mm (IDL Diverse Artikel, Nidderau, Njemačka)
- Automatske pipete Eppendorf (Eppendorf, Hamburg, Njemačka)
- Eksikator (Brand, Wertheim am Main, Njemačka)
- Eppendorf tube (od 1,5 ml i 2 ml) (Eppendorf, Hamburg, Njemačka)
- Filter papir, Whatman (n° 54) (Whatman Ltd, Madstone, Engleska)
- HPLC kolona, Novapack C18 (300 x 3,9 cm) (Waters, Milford, MA, SAD)
- Kjeldahl kivete (Duran Life Sciences, Milville, NJ, SAD)
- Kolona DB-23 (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) (Agilent, Walnut Creek, CA, SAD)
- Kolona DB-5MS 30 m x 0,25 mm, debljine filma 0,25 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD)
- Kuglice za vrenje (Bohlender, Waltersberg, Njemačka)
- Kvarcne kivete za spektrofotometrijsko mjerenje (Hellma Analytics, Njemačka)
- Laboratorijske špatule za vaganje od nehrđajućeg čelika

- Laboratorijski stakleni pribor (čaše, štapići, lijevci, Erlenmeyerove tikvice, odmjerne tikvice, hladilo za Soxhlet aparat) (TLOS, Zagreb, Hrvatska)
- Lončići za spaljivanje (Ø 5 cm) (Haldenwanger, Waldkraiburg, Njemačka)
- Petrijeve zdjelice (Ø 10 cm) (Bochem, Weilburg, Njemačka)
- Plastične epruvete (10 mL) (Eppendorf, Hamburg, Njemačka)
- PTFE čepovi (Macherey-Nagel, Düren, Njemačka)
- Set magneta za miješanje (NeoLab, Heidelberg, Njemačka)
- SPME držač 57330-U (Supelco, Bellefonte, SAD)
- SPME vlakno presvučeno sa 2 cm 50/30 µm DVB/karboksen/PDMS (Supelco, Bellefonte, PA, SAD)
- Staklena vuna (Hecht, Söndheim, Njemačka)
- Staklene kivete za spektrofotometrijsko mjerenje (Yixing Zhicheng Material, Yixing, Kina)
- Staklene ploče za vertikalnu elektroforezu 10 x 10 cm (Cleaver Scientific, Warwickshire, Engleska)
- Stakleni vial (20 mL) (Headspace) (Restek, Bellefonte, PA, SAD)
- Tikvice s okruglim dnom (TLOS, Zagreb, Hrvatska)
- Tube za centrifugu (50 mL) Falcon (ThermoFisher, Waltham, MA, SAD)
- Tuljac za ekstrakciju masti po Soxhletu (Büchi Labortechnik, Flawil, Švicarska)
- Viale (1,5 mL) s N9 navojem i ravnim dnom (Macherey-Nagel, Düren, Njemačka)

3.1.4. Kemikalije

- 2,2,4-trimetilpentan (Izooktan), HPLC čistoća (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH), > 97 % (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- 2-tiobarbiturna kiselina (TBA), > 98 % (Acros Organics, Geel, Belgija)
- Acetonitril (ACN) (C₂H₃N), HPLC čistoća (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD)
- Akrilamid, HPLC čistoća (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD)
- Amonij persulfat (APS), čistoća za elektroforezu (99 %) (Fischer Scientific, Waltham, MA, SAD)
- Borna kiselina p.a. (H₃BO₃) (Kemika, Zagreb)
- Bromfenol plavo (Carlo Erba, Val del Reuil, Francuska)
- Butilirani hidroksitoluen (BHT), 99,8 % (Acros Organics, Geel, Belgija)

- Commasie blue R-250, čistoća za elektroforezu (99 %) (Fischer Scientific, Waltham, MA, SAD)
- Dikalijev fosfat p.a. (K_2HPO_4) (Gram-Mol, Zagreb, Croatia)
- Dinatrij difosfat ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$) p.a. (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Dinatrij hidrogenfosfat heptahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), > 99 % (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Dinatrijev hidrogenfosfat p.a. (Na_2HPO_4) (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Etanol 96 % (EtOH) (Gram-Mol, Zagreb, Croatia)
- Etil acetat ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) p.a. (Carlo Erba, Val del Reuil, Francuska)
- Etilen glikol-bis(2-aminoetileter) - N,N,N',N'-tetraoctena kiselina (EGTA), > 97 % (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Glicerol p.a. (Gram-Mol, Zagreb, Croatia)
- Glicin, ACS čistoća (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Gvanidin hidroklorid, > 98 % (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Kadmij diklorid hemipentahidrat ($\text{CdCl}_2 \cdot 2^{1/2} \text{H}_2\text{O}$) (Acros Organics, Geel, Belgija)
- Kalijev hidroksid (KOH) u ljuskama, p.a. (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Kalijev klorid p.a. (KCl) (Honeywell, Offenbach, Njemačka)
- Kalijev kromat p.a. (K_2CrO_4) (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Kit za određivanje koncentracije proteina: Bradford DC protein standard assay (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, SAD) koji se sastoji od reagensa A (alkalne otopine bakrovog tartarata) i reagensa B (razrijeđeni Folin reagens (natrijev 1,2-naftokinon-4-sulfonat))
- Kjeldahl tablete Kjeltabs Se/3,5 (3,5g K_2SO_4 + 3,5mg Se) (Foss, Hilleroed, Danska)
- Klorovodična kiselina (HCl) 37 % (Carlo Erba, Val del Reuil, Francuska)
- Kvarcni pijesak (Gram-Mol, Zagreb, Croatia)
- Ledena octena kiselina p.a. ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD)
- Magnezij klorid (MgCl_2) p.a. (Gram-Mol, Zagreb, Croatia)
- Medicinski benzin p.a. (Gram-mol, Zagreb, Hrvatska)
- Metanol p.a. (MeOH) (Carlo Erba, Val del Reuil, Francuska)
- Monokalijev fosfat p.a. (KH_2PO_4) (Gram-Mol, Zagreb, Croatia)
- N,N'-metilenbisakrilamid, čistoća za elektroforezu (99 %) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD)

- Natrij acetat p.a. ($C_2H_3NaO_2$) (Gram-Mol, Zagreb)
- Natrij dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4), > 99 % (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Natrij dodecil sulfat, SDS ($CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$), za elektroforezu (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Natrij hidrogensulfat monohidrat ($NaHSO_4 \times H_2O$) (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Natrij hidroksid (NaOH), peleti (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD)
- Natrij klorid (NaCl), ACS čistoće (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Ninhidrin p.a. ($C_9H_6O_4$) (Acros Organics, Geel, Belgija)
- Octena kiselina p.a. ($C_2H_4O_2$) (Carlo Erba, Val del Reuil, Francuska)
- Srebro nitrat p.a. ($AgNO_3$) (Gram-Mol, Zagreb, Croatia)
- Sumporna kiselina p.a. (H_2SO_4) (Carlo Erba, Val del Reuil, Francuska)
- Tehnički plin dušik 5,0, 99,9 % čistoće (Messer Croatia Plin, Zaprešić, Hrvatska)
- Tehnički plin helij 5,0, 99,9 % čistoće (Messer Croatia Plin, Zaprešić, Hrvatska)
- Tehnički plin kisik, 99,9 % čistoće (Messer Croatia Plin, Zaprešić, Hrvatska)
- Tehnički plin sintetski zrak 5,0 (Messer Croatia Plin, Zaprešić, Hrvatska)
- Tehnički plin vodik 5,0 > 99,9 % čistoća (Messer Croatia Plin, Zaprešić, Hrvatska)
- TEMED (N,N,N',N'-Tetrametil etilenediamin), za elektroforezu (99 %) (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Trietilamin, N,N-Dietiletanamin ($(C_2H_5)_3N$), HPLC čistoće (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- Triklorooktenu kiselina p.a. (TCA) (Acros Organics, Geel, Belgija)
- Tris baza, Tris(hidroksimetil)aminometan ($NH_2C(CH_2OH)_3$), ACS čistoća (Acros Organics, Geel, Belgija)
- Trizma® maleat (sol trometamin maleata) $\geq 99.5\%$ (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)
- β -merkaptotanol (C_2H_6OS), ACS čistoća (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka)

3.1.5. Standardi

- Albumin goveđeg seruma $\geq 98\%$ (engl. Bovine Serum Albumin, BSA) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD)
- 1,1,3,3-tetrametoxipropanol (TMP), 99 % (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)

- 4-metil-2-pentanol (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, Francuska)
- Fenilisotiocijanat (PITC) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD)
- L-Leucin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)
- Nor-Leucin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka).
- Proteinski standardi za SDS-PAGE: LMW-SDS Marker Kit (fosforilaza B (97 kDa), albumin (66 kDa), ovalbumin (45 kDa), karbonska anhidraza (30 kDa), tripsin inhibitor (20,1 kDa) i α -Laktalbumin (14,4 kDa)), GE Healthcare Life Sciences, Chalfont, Engleska)
- Smjesa alkana C8-C20 (RiMix) (SigmaAldrich, Steinheim, Njemačka)
- Standardi 21 individualne aminokiseline (br. LAA21) sastava: (Asn), glutamin (Gln), 4-hidroksiprolin (HO-pro), cistein (Cys), arginin (Arg), histidin (His), izoleucin (Ileu), leucin (Leu), lizin (Lys), metionin (Met), fenilalanin (Phe), tirozin (Tyr), treonin (Thr), valin (Val), alanin (Ala), asparaginska kiselina (Asp), glutaminska kiselina (Glu), glicin (Gly), prolin (Pro), serin (Ser) i triptofan (Trp) (SigmaAldrich, Steinheim, Njemačka)
- Standardna smjesa 37 masnih kiselina (F.A.M.E C4 – C24) (Supelco, Bellefonte, PA, SAD)

3.1.6. Računalni programi

- Enhanced ChemStation (Agilent Technologies Santa Clara, CA, SAD)
- ImageLab 6,1 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, SAD)
- NexygenPLUS Software (Ametek Lloyd Instruments Ltd., Zapadni Sussex, Engleska)
- NIST 2005 baza podataka (verzija 2,0) (NIST, Gaithersburg, MD, SAD)
- Paket Microsoft Office 365 (Redmond, WA, SAD)
- SPSS 17.0 (StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, SAD)

3.2. Metode rada

3.2.1. Instrumentalno određivanje boje

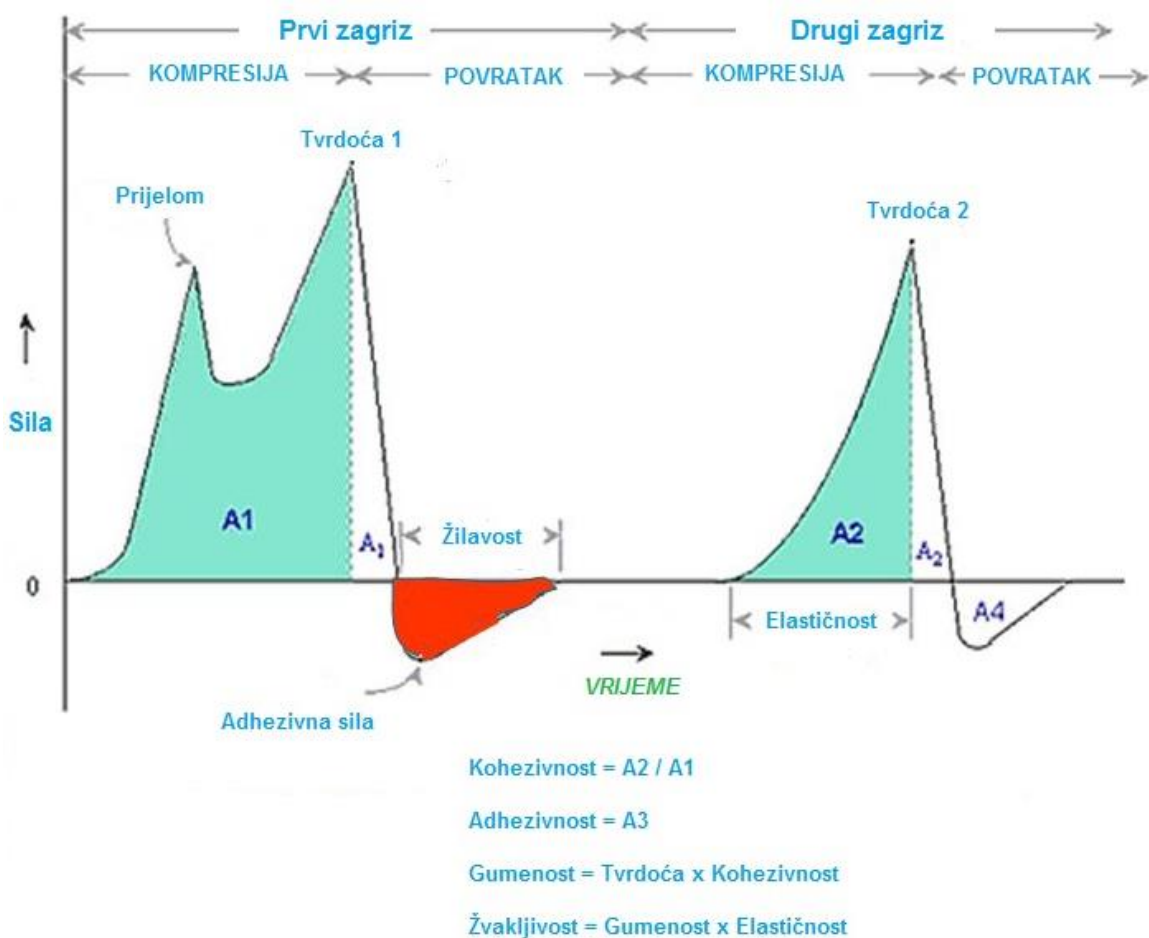
Instrumentalno određivanje boje mesa temelji se na mjerenju parametara trodimenzionalnog spektra boja, korištenjem uređaja koji radi na principu mjerenja stupnja reflektirane svjetlosti od mjerne površine. Referentna metoda mjerenja boje mesa koristi L^* , a^* , b^* spektar boja (Honikel, 1998) prema CIE sustavu (CIE, 1976). Parametar L^* predstavlja mjeru 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 (Honikel, 1998). Za određivanje boje pršuta korišten je spektrofotometar Konica Minolta CM-700d (Osaka, Japan) sa standardnim promatračem, izvorom svjetlosti D 65 10° s otvorom blende 8 mm i s otvorenim konusom. Izmjerene su L^* , a^* i b^* vrijednosti na površini uzoraka mišića, na način da su se pri mjerenju izbjegavale zone sa masnim tkivom kako bi dobivene vrijednosti boje prezentirale pravu boju mišićnog tkiva pršuta. Svaki uzorak mjeren je u 10 paralelnih mjerenja, a vrijednosti prikazane u radu predstavljaju srednje vrijednosti tih mjerenja.

3.2.2. Instrumentalno određivanje teksture

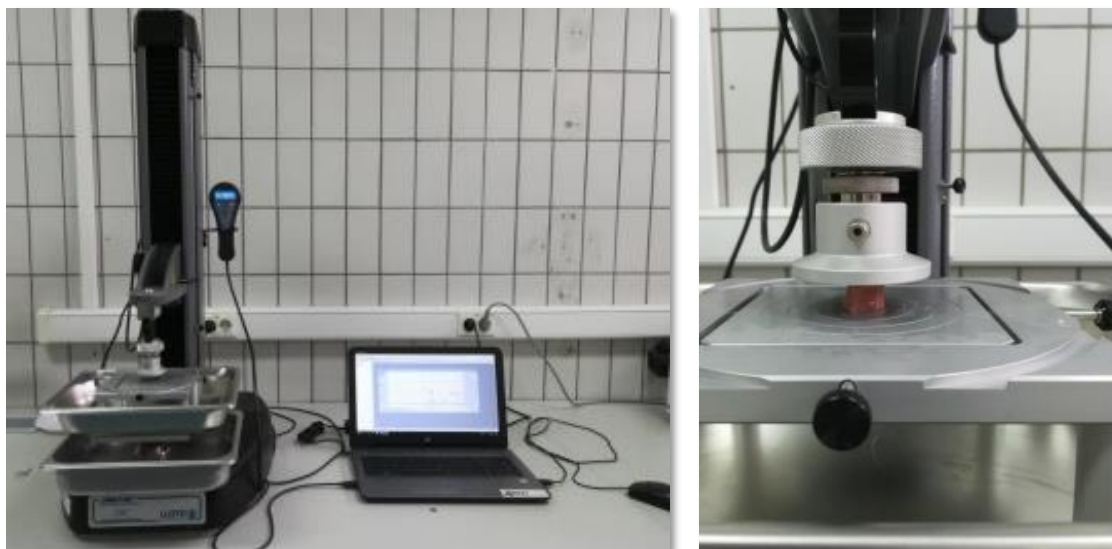
Tekstura je jedna od najvažnijih karakteristika mesa, a potrošači je često smatraju važnijom i od okusa i boje mesa (Harkouss i sur., 2015). Pouzdano i točno mjerenje teksture provodi se u svrhu postizanja željene teksturalne karakteristike proizvoda.

Analiza profila teksture (*engl.* Texture Profile Analysis, TPA) jedna je od najčešće korištenih metoda za procjenu teksturalnih karakteristika hrane. Zasniva se na imitaciji procesa žvakanja s dvostrukim ciklusom kompresije (“dva zagrizi”). Pritom se dobivaju profili teksture koji se definiraju kao krivulje koje nadziru i bilježe prostorne ili vremenske događaje tijekom mjerenja teksture uzorka hrane (slika 18). Dobivenim profilima teksture mogu se procijeniti teksturalna svojstva širokog spektra svježe i procesirane hrane (Chen i Opara, 2013).



Slika 18. Krivulje TPA profila (prilagođeno prema Anonymous, 2021)

TPA analiza uzoraka mišića pršuta provedena je na sobnoj temperaturi pomoću analizatora teksture TA1 opremljenog pritisnim klipom od 50 kg. Prije analize, uzorci su izrezani na $10 \times 10 \times 10$ mm i kondicionirani 2 h na 20 °C. Uzorak je dva puta komprimiran brzinom pritisnog klipa od 1 mm/s do 50% deformacije (razdoblje odmora između ciklusa od 5 s). Rezultati su obrađeni softwareom NexygenPLUS te su iz krivulja sila-udaljenost određeni sljedeći parametri: tvrdoća (N), adhezivna sila (N), kohezivnost, adhezivnost (Nmm), gumenost (N), elastičnost (mm), žvkljivost (Nmm), otpornost, prijelom (N) i žilavost (mm). Softwer NexygenPLUS povezan je s programima Microsoft Office paketa što omogućava direktno prebacivanje podataka analiza u programe paketa i njihovu brzu obradu.



Slika 19. Instrumentalno određivanje teksture pršuta teksturometrom TA1 (vlastita fotografija)

3.2.3. Određivanje udjela vode

Udio vode određen je gravimetrijskom metodom (ISO 1442, 1997). U niske aluminijske zdjelice stavljen je kvareni pijesak (oko 5 grama) i stakleni štapić te su zajedno stavljeni u sušionik na temperaturu od 103 °C na 30 minuta. Nakon toga, posudice su poklopljene u sušioniku, hlađene u eksikatoru do sobne temperature (30 min) te izvagane (m_0). U izvagane i osušene aluminijske posudice dodano je oko 3 g homogeniziranog uzorka i lagano pomiješano s kvarenim pijeskom pomoću staklenog štapića. Posudice su poklopljene i izvagane (m_1). Posudice s uzorkom su zatim otklopljene i stavljene u sušionik na 2,5 h na zadanu temperaturu, nakon čega su poklopljene i hlađene u eksikatoru (30 min) i vagane (m_2). Postupak je ponavlján sve dok se dva uzastopna mjerenja (nakon 1 sat sušenja) nisu razlikovala više od 0,1%.

Udio vode izračunat je prema formuli:

$$Udio\ vode\ (\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \quad [1]$$

gdje je:

m_0 - odvaga aluminijske posudice, pijeska i staklenog štapića (g)

m_1 -odvaga aluminijske posudice, uzorka, pijeska i staklenog štapića prije sušenja (g)

m_2 - odvaga aluminijske posudice, uzorka, pijeska i staklenog štapića nakon sušenja (g)

3.2.4. Određivanje udjela masti po Soxhletu

Određivanje udjela masti provedeno je metodom po Soxhletu (HRN ISO 1443, 1999). Soxhlet metoda je standardna metoda za određivanje masti u hrani, a temelji se na ekstrakciji slobodne masti pomoću pogodnog otapala te određivanje ekstrahirane masti gravimetrijskom metodom. Uzorci su izvagani u oprane, osušene i ohlađene petrijeve zdjelice. Izvagano je po 10 g homogeniziranog uzorka i 10 g kvarcnog pijeska te zajedno osušeno na 103-105 °C tijekom 3,5 h. Nakon sušenja i hlađenja, sadržaj zdjelica kvantitativno je prebačen u tuljce za ekstrakciju i zatvoren vatom. U tikvice s okruglim dnom (prethodno osušene i ohlađene) ubačene su dvije kuglice za vrenje, a potom su tikvice s kuglicama izvagane. Tuljac je postavljen u aparaturu za ekstrakciju te je dodano oko 150 mL benzina. Ekstrakcija je trajala 6 h na temperaturi od 150 °C do 200 °C pri čemu je ekstrakt skupljan u tikvicu. Nakon ekstrakcije se otapalo predestiliralo, ostatak je isparen na vodenoj kupelji, a tikvica je sušena u sušioniku na temperaturi od 100 – 102 °C, ohlađena u eksikatoru 30 minuta i izvagana na analitičkoj vagi. Tikvica je ponovno je sušena 30 minuta na temperaturi od 100 – 102 °C do konstantne mase.

Udio masti izračunat je prema formuli:

$$Količina\ masti\ (\%) = \frac{a \times 100}{b} \quad [2]$$

gdje je:

a - masa ekstrahirane masti (g)

b - masa ispitivanog uzorka (g)

3.2.5. Određivanje udjela proteina po Kjeldahlu

Udio proteina određen je metodom po Kjeldahlu (HRN ISO 1871, 1999) koja se temelji na razaranju uzorka sumpornom kiselinom uz prisustvo katalizatora, alkalizaciji dobivenog produkta i njegove destilacije. Oslobođeni amonijak se potom skuplja u otopinu borne kiseline koja se titrira otopinom kloridne kiseline kako bi se odredio sadržaj dušika i izračunao sadržaj sirovih proteina.

Odvagano je 1 g homogeniziranog uzorka u Kjeldahlovu kivetu, dodano je 15 mL koncentrirane sumporne kiseline i katalizator Kjeltabs Se/3,5. Uzorci su spaljivani na temperaturi od 400°C tijekom 40-60 minuta. Ohlađeni uzorci razrijeđeni su dodatkom 75 mL destilirane vode te postavljeni u aparat Tecator Kjeltac System 1002. Na postolje destilacijske jedinice postavljena je Erlenmeyerova tikvica u koju je dodano 25 mL 4 % borne kiseline te je podignuta u gornji položaj na način da je destilacijska cjevčica uronjena u otopinu. Uzorci su automatizirano destilirani uz dodatak 50 mL 40%-tne otopine NaOH. Destilat u Erlenmeyerovoj tikvici je bio zelene boje što ukazuje na prisutnost amonijaka. Destilat se titrao standardiziranom kloridnom kiselinom (0,2 mM) do prelaska boje u ružičastu. Iz podataka za utrošak kiseline potrebne za titraciju izračunat je postotak dušika i količina proteina u uzorcima.

Udio dušika (% N) i postotak proteina izračunati su prema sljedećim formulama:

$$\% N = \frac{[(U-S) \times N \times 1,4007]}{m} \quad [3]$$

$$\% \text{ proteina} = \% N \times F \quad [4]$$

Gdje je:

U- volumen HCl utrošen za titraciju uzorka (mL)

S- volumen HCl utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

N- molaritet kiseline

m- masa uzorka (g)

F- faktor za preračunavanje dušika u proteine (6,25)

3.2.6. Određivanje pepela

Ukupni sadržaj mineralnih tvari neke namirnice procjenjuje se prema količini pepela koji predstavlja anorganski ostatak koji zaostaje nakon spaljivanja organskog dijela namirnice. Sadržaj pepela određen je prema metodi za određivanje pepela u mesu i mesnim proizvodima (HRN ISO 5984, 2004). Neposredno prije upotrebe lončići za spaljivanje su žareni u mufolnoj peći na temperaturi od 550 °C do postojane mase (otprilike 15 min), zatim su hlađeni najmanje 1 sat u eksikatoru i vagani. Izvagano je 5 g uzorka ($\pm 0,01$ g) u pripremljeni lončić. Uzorak je u ravnomjernom sloju raspoređen po lončiću te je zagrijavan preko električnog grijača. Nakon toga uzorci su stavljeni u mufolnu peć prethodno zagrijanu na 550 °C i ostavljeni dok nije

dobiven bijeli ili blijedo zeleni pepeo. Po završetku spaljivanja lončići su stavljeni u eksikator na hlađenje (najmanje 1 h), a potom su izvagani. Udio popela je izračunat prema formuli:

$$\% \text{ pepela} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100 \quad [5]$$

m_1 -masa prazne posudice (g)

m_2 -masa posudice s uzorkom prije sušenja (g)

m_3 -masa posudice s pepelom (g)

3.2.7. Određivanje neproteinskog dušika

Priprema uzorka za određivanje neproteinskog dušika provedena je prema metodi opisanoj u (Monin i sur., 1997). Odvagano je $2,5 \pm 0,05$ g u Falcon tube, homogenizirano s 25 mL deionizirane vode i centrifugirano (3500 o/min tijekom 30 min). Zatim je u tube dodano 10 mL 20% trikloroctene kiseline, promiješano na vorteksu i ostavljeno 60 minuta na sobnoj temperaturi. Tube sa sadržajem su potom centrifugirane (3500 o/min tijekom 30 min). Iz tuba je uzeto 15 mL filtrata koristi za određivanje dušika prema metodi za ukupni dušik (HRN ISO 937, 1999). Filtrat se spaljivao 2 sata (polako pojačavajući); 15 min na 1; 30 min na 3; 30 min na 5 te ostatak vremena na 10. Filtrat je ohlađen, dodano je 80 mL redestilirane vode te destilirano sa 50 mL NaOH s 25 mL borne kiseline. Nakon destilacije titrirano je s 0,1 M HCl-om.

Maseni udio neproteinskog dušika (NPN) u uzorku računat je prema formuli:

$$w_n (\%) = \frac{1,4007 \times (V_s - V_b) \times c_s}{m} \quad [6]$$

Gdje je:

w_n - maseni udio dušika u uzorku (%)

V_s - volumen (mL), 0,1 N klorovodične kiseline potreban za određivanje

V_b - volumen (mL), 0,1 N klorovodične kiseline potreban za slijepu probu

c_s - koncentracija klorovodične kiseline, 0,1 N m -masa testnog dijela uzorka (g)

m - masa analiziranog uzorka (g)

3.2.8. Određivanje udjela NaCl-a

Određivanje udjela natrijevog klorida određeno je titracijskom metodom po Mohru (AOAC, 1984) koja se bazira na računanju masenog udjela natrijevog klorida u ispitivanom uzorku iz volumena otopine AgNO_3 utrošenog za titraciju uzorka. U čašu od 100 mL izvagano je oko 2 g (+/- 0,01 g) dobro usitnjenog i homogeniziranog uzorka, dodano 2-3 mL tople vode i miješano staklenim štapićem dok nije dobivena dobije homogena smjesa. Smjesa je kvantitativno prenesena u odmjernu tikvicu od 100 mL (uz ispiranje čašice vodom), tikvica je dopunjena destiliranom vodom do oznake, zatvorena čepom, dobro promiješana i stavljena u ključalu vodenu kupelj te držana 15 minuta od trena kad je zakipio sadržaj tikvice. Tikvica je bila poklopljena tijekom ključanja uz povremeno dizanje čepa. Otopina u tikvici je ohlađena, promiješana i filtrirana preko filter papira. Ispitana je pH vrijednost filtrata pH metrom (pH 7-10), a u slučaju da je filtrat reagirao kiselo neutraliziran je s otopinom NaOH. Od dobivenog filtrata otpipetirano je 25 mL filtrata u Erlenmeyerovu tikvicu, dodano 2-3 kapi indikatora - zasićene otopine K_2CrO_4 i titrirano 0,1 M otopinom AgNO_3 do prve promjene boje.

Udio NaCl se izračunat je prema formulama:

$$m_{100}(\text{NaCl}) = 4 \times c(\text{AgNO}_3) \times V_s(\text{AgNO}_3) \times M(\text{NaCl}) \quad [7]$$

$$\text{Udio NaCl (\%)} = \frac{m_{100}(\text{NaCl})}{m(\text{uzorka})} \times 100 \quad [8]$$

3.2.9. Određivanje a_w

Aktivitet vode (a_w) predstavlja omjer parcijalnog tlaka vodene pare namirnice i tlaka čiste vodene pare kod određene temperature. Određivanjem a_w vrijednosti procjenjuje se udio slobodne vode u hrani dostupan za odvijanje metabolizma prisutnih mikroorganizama (Mathlouthi, 2001). Vrijednost a_w u uzorcima je izmjerena instrumentom Testo 650 točnosti mjerenja $\pm 0.01 a_w$. Potrebna količina uzorka stavljena je u komoricu instrumenta vodeći računa da razlika sobne i temperature uzorka nije viša od 4°C. Rezultat je očitao direktno s ekrana instrumenta.

3.2.10. Određivanje pH

Suspenzija za određivanje pH je pripremljena miješanjem 2 g uzorka sa 18 mL destilirane vode u homogenizatoru Ultra Turrax tijekom 60 s. Mjerenju je prethodilo kalibriranje elektrode standardnim puferima pH 4,01 i 7,00 temperature 25 °C. pH uzoraka mjeren je u digitalnim pH metrom, a rezultati su očitani direktno s ekrana pH metra.

3.2.11. Određivanje indeksa proteolize iz omjera neproteinskog i proteinskog dušika

Indeks proteolize izračunat je kao omjer neproteinskog dušika (NPN) i ukupnog dušika (N) (opisano u poglavlju 3.2.5. i 3.2.7.) prema formuli:

$$\text{Indeks proteolize (NPN/N) (\%)} = \frac{\text{NPN}}{\text{N}} \times 100 \quad [9]$$

3.2.12. Određivanje indeksa proteolize metodom s Cd-ninhidrinom

Metoda za određivanje indeksa proteolize provedena na reakciji derivatizacije sa Cd-ninhidrinom prema modificiranoj metodi C opisanoj u Doi i sur. (1981). Tom metodom kvantificira se ukupan broj aminokiselina (izraženih na bazi leucina) prisutnih u različitim uzorcima pršuta (od svježeg buta do zrelog pršuta). Izvagano je 2 g uzorka u tube za centrifugu te dodano 20 mL hladnog 0,01 M HCl. Mješavina je homogenizirana na Ultraturaxu (3 puta po 20 sekundi) u ledu. Homogenizirani uzorci su centrifugirani (20 min, 7500 o/min, 4 °C), a potom je supernatant filtriran preko staklene vune. Dobiveni ekstrakt otopljen je sa 0,01 M HCl u različitim omjerima ovisno o starosti pršuta, odnosno vremenu proizvodnje:

Tablica 6. Razrjeđenja mesnog ekstrakta za analizu indeksa proteolize metodom sa Cd-ninhidrinom

<i>Sirovi pršut</i>	1/5	200 µL ekstrakta+ 800 µL 0,01 M HCl
<i>2 mjeseca</i>	1/10	100 µL ekstrakta + 900 µL 0,01 M HCl
<i>3,5 mjeseca</i>	1/20	50 µL ekstrakta + 950 µL 0,01 M HCl
<i>5 mjeseci</i>	1/50	200 µL ekstrakta + 10 mL 0,01 M HCl
<i>6,5 mjeseca</i>	1/50	200 µL ekstrakta + 10 mL 0,01 M HCl
<i>9 mjeseci</i>	1/100	100 µL ekstrakta + 9,9 mL 0,01 M HCl
<i>> 10 mjeseci</i>	1/100	100 µL ekstrakta + 9,9 mL 0,01 M HCl

400 μ L dobivene otopine (razrijeđenog ekstrakta) otpipetirano je u Eppendorff tube (od 1,5 mL) dodano je 800 μ L 96 %-tnog etanola te promiješano na vortexu. Ostavljeno je 30 min na sobnoj temperaturi da precipitiraju proteini te centrifugirano na (12,000 o/min, 5 min pri 4°C). 400 μ L supernatanta je promiješano sa 800 μ L reagensa Cd-Ninhidrin. Dobro je promiješano na vortexu te stavljeno u termoblok na 84 °C tijekom 5 min. Nakon toga Eppendorf tube su stavljene odmah u led na 15 min, a potom centrifugirane (12,000 o/min, 5 min, 4°C) u mikrocentrifugi. Slijedilo je očitavanje apsorbancije pri 490 nm. Za svako mjerenje izradila se odgovarajuća kalibracijska krivulja s otopinom leucina.

Pomoću dobivenih vrijednosti apsorbancije i kalibracijske krivulje izračunato je μ g/mL aminokiselina u svakoj otopini uzorka. Slijedila je korekcija sukladno napravljenim otopinama uzorka. Dobivena vrijednost pomnožena je sa:

x 10 (ekstrakcija)

x 3 (deproteinizacija)

x korišteni faktor razrjeđenja ekstrakta (5, 10, 20, 50 ili 100)

te podijeljena sa 1000 kako bi se dobio rezultat izražen kao mg aminokiselina u 1 g uzorka.

3.2.13. Određivanje sastava proteina pršuta

3.2.13.1. Ekstrakcija sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina

Ekstrakcija sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina za potrebe analize elektroforezom na SDS-poliakrilamidnom gelu provedena je prema postupku opisanome u Toldrá i sur. (1992) s manjim preinakama.

Odvagano je 2,5 g uzoraka mišića pršuta i homogenizirano na Ultraturraxu s 25 mL 0,03 M kalij fosfatnog pufera (pH=7,4) (0,26 M K_2HPO_4 , 0,06 M KH_2PO_4) tijekom 2 min na ledu. Homogenizirani uzorci potom su centrifugirani pri 7500 o/min tijekom 20 min na 4 °C. Supernatant dobiven centrifugiranjem koji je sadržavao frakciju sarkoplazmatskih proteina sakupljen je u označene Falcon tube. Preostali talog dobiven centrifugiranjem („pelet“) izvagan je i pomiješan (u omjeru 1:10) s KCl fosfatnim puferom (pH=7,5) (0,45 M KCl, 15,6 mM Na_2HPO_4 , 3,5 mM KH_2PO_4), vorteksiran 2 minute i vrlo kratko homogeniziran (nekoliko sekundi) na ledu. Potom je sadržaj u tubama centrifugiran (7500 o/min, 20 min na 4 °C), a dobiveni supernatant koji sadržavao je frakciju miofibrilarnih proteina sakupljen je u označene Falcon tube.

3.2.13.2. Određivanje koncentracije proteina metodom po Bradfordu

Određivanje koncentracije sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina obavezno prethodi elektroforezi na SDS-poliakrilamidnom gelu kako bi se u sve jažice poliakrilamidnog gela otpipetirala ista koncentracija proteina za analizu (2 mg/mL), a eventualno se prije injektiranja provelo njihovo koncentriranje ili razrjeđivanje u svrhu postizanja željene koncentracije.

Određivanje koncentracije sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina provedeno je brzom metodom po Bradfordu uz pomoć kita za analizu proteina Bradford DC protein standard assay (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, SAD) prema naputcima proizvođača. Test se temelji na reakciji proteina s alkalnom otopinom bakrenog tartarata i Folin reagensa koji dovodi do razvoja plavog obojenja koji se mjeri spektrofotometrijski pri 750 nm.

U svrhu konstrukcije baždarnih dijagrama paralelno su pripremljena razrjeđenja standarda proteina (BSA $\geq 98\%$) u koncentraciji 0,2-1,5 mg/mL u 0,03 M kalij fosfatnom puferu (pH=7,4) (u svrhu kvantifikacije sarkoplazmatskih proteina) te u KCl fosfatnom puferu (pH=7,5) (u svrhu kvantifikacije miofibrilarnih proteina). U plastične epruvete od 10 mL paralelno je opipetirano po 100 μ L uzoraka proteina te pripremljenih otopina BSA (0,2-1,5 mg/mL) u puferima korištenima za ekstrakciju sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina. Potom je u svaku epruvetu dodano po 500 μ L reaktanta A i 4 mL reaktanta B, promiješano na vorteksu 30 sekundi i ostavljeno 15-20 minuta na temperaturi okoline. Izmjerena je apsorbancija pri 750 nm, a koncentracija sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina izračunata je iz baždarnih krivulja.

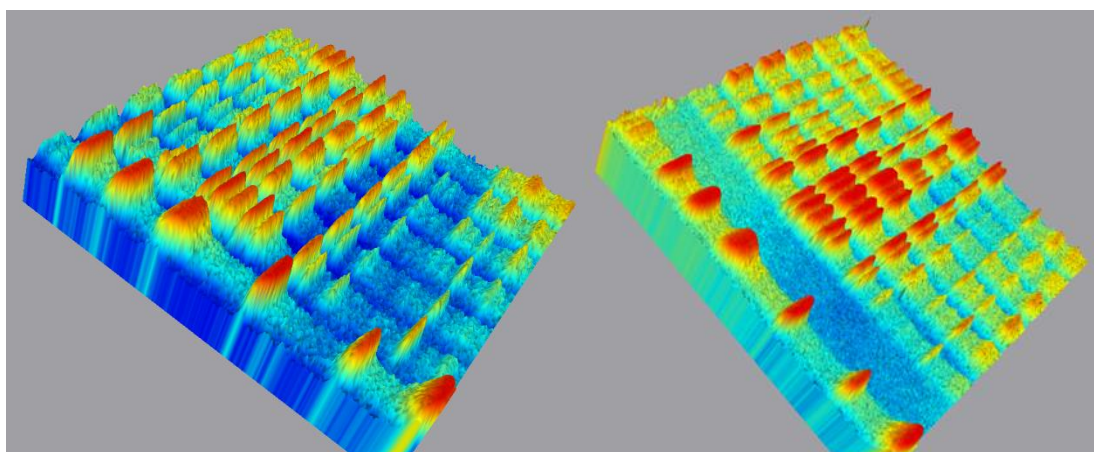
3.2.13.3. Elektroforeza na SDS-poliakrilamidnom gelu (SDS-PAGE)

Određivanje sastava proteina pršuta provedeno je elektroforezom na SDS-poliakrilamidnom gelu prema Laemmliju (1970). Od svakog istraživaniog mišića uzeto je po pet uzoraka te analizirano metodom SDS-PAGE u četiri paralelna mjerenja. Ekstrakti sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina (dobiveni prema postupku opisanome u poglavlju 3.2.13.1.) pomiješani su s Laemmli puferom za uzorke (0,063 M TRIS-HCl pH=6,8, 0,05% β -merkaptetoanol, 4% SDS, 10% glicerol, bromfenol plavo 0,01%), zagrijani u termobloku (2 min pri 96 °C), ohlađeni i centrifugirani u mikrocentrifugi pri 10 000 o/min tijekom 2 min.

U jažice je otpipetirano po 10 μ L proteinskih ekstrakata (2 mg/mL proteina). Elektroforeza je provedena u vertikalnom sustavu za elektroforezu s jedinicom za napajanje od 300 V. Elektroforetsko razdvajanje proteina provedeno je na poliakrilamidnoj ploči

sastavljenoj od 12 %-tnog gela za razdvajanje (12 % akrilamid, 0,36 % N,N'-metilenbisakrilamid, 0,1 % SDS, 0,06 % TEMED, 6 % APS u 1,5 M TRIS-HCl puferu pH=8,8) i 4 %-tnog gela za sabijanje (4 % akrilamid, 0,10 % N,N'-metilenbisakrilamid, 0,1 % SDS, 0,07 % TEMED, 6,7 % APS u 0,5 M TRIS-HCl puferu pH=6,8) u puferu za elektroforezu (25 mM TRIS, 198 mM glicin, 0.1% SDS). Elektroforeza je provedena pri konstantnoj struji od 180 V dok fronta boje nije došla do dna gela (otprilike 1,5 h). Gelovi su bojani na proteine tijekom 2 h u otopini za bojanje (0.1% Coomassie Blue R250, 30 % metanol i 20 % octena kiselina), a potom odbojani preko noći u otopini za odbojavanje (30% metanol, 10 % octena kiselina). Nakon odbojavanja, gelovi su obrađeni u softveru ImageLab 6,1 pomoću kojeg je izračunata molekulska masa (MW) i relativan intenzitet svakog pojedinog proteina. Identifikacija proteina provedena je određivanjem njihove MW (usporedbom prijedene udaljenosti na gelu svakog pojedinog proteina s prijedenom udaljenosti standardnih proteina poznate MW) (LMW-SDS Marker Kit). Imenovanje dobivenih proteinskih vrpca provedeno je temeljem usporedbe MW dobivenih vrpca s imenima i MW proteina iz literature (Bermúdez i sur, 2014b; Larrea i sur, 2006; Théron i sur, 2011).

Samo najistaknutije proteinske vrpce koje su se pojavljivale kroz svih šest faza proizvodnje pršuta kvantificirane su usporedbom njihovih relativnih intenziteta između različitih faza proizvodnje. Relativni intenzitet svake vrpce izračunat je uspoređivanjem intenziteta vrpce s intenzitetom vrpce od 97 kDa u stupcu standarda proteina poznatih MW.



Slika 20. Primjer 3D modela elektroforetograma sarkoplazmatskih proteina BF (lijevo) i SM (desno) dimljenog pršuta tijekom šest faza proizvodnje (vlastita izrada u programu ImageLab 6,1, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)

3.2.14. Određivanje sastava aminokiselina i dipeptida

Određivanje sastava aminokiselina i dipeptida provedeno je prema metodi Flores i sur. (1997) uz prethodnu derivatizaciju sa fenilizotiocijanatom (PITC) (Bidleymeyer i sur., 1987).

Uzorci mišića pršuta (5 g) homogenizirani su u 25 mL 0,01 M HCl-a na Ultraturax uređaju te centrifugirani (7300 o/min, 20 min) uz hlađenje. Supernatant je filtriran kroz staklenu vunu kako bi se odvojio eventualno zaostali masni materijal s površine supernatanta. 250 µL ekstrakta je pomiješano s 50 µL internog standarda nor-leucina (1 mM) i deproteinizirano dodatkom 750 µL acetonitrila. Sadržaj je ostavljen da odstoji 30 min, a potom je centrifugiran (7300 o/min, 10 min). Alikvot supernatanta s aminokiselinama volumena 100 µL je derivatiziran sa PICT (Bidleymeyer i sur., 1987). Supernatant (100 µL) je osušen, pomiješan s 15 mL sredstva za sušenje (metanol: natrij acetat 1M : trietilamin (TEA) = 2:2:1) i promiješan. Postupak je ponovljen još jednom. Zatim je dodano 15 µL derivatizacijskog reagensa (metanol: demineralizirana voda: TEA: PITC= 7:1:1:1), promiješano i ostavljeno na sobnoj temperaturi 20 min i nakon toga osušeno. Ostatak je otopljen u 300 µL reagensa (5 mM Na₂HPO₄ : ACN = 95:5) i centrifugirano (7300 o/min, 20 min).

Alikvot od 10 µL je injektiran u HPLC sustav. Kromatografska analiza provedena je na HPLC uređaju Agilent 1290 Series uz detekciju na diode array detektoru (254 nm). Fenil izotiokarbamil derivati aminokiselina su odijeljeni pomoću kolone Novapack C18 (300 x 3,9 cm) na 52 °C. Mobilna faza se sastojala od otapala (A): 0,07 M natrijev acetat podešen na pH 6,55 s ledenom octenom kiselinom koji je sadržavao 2,5% ACN i otapalo (B): ACN: voda: MeOH (45:40:15). Brzina protoka bila je 1 mL/min uz gradijent otapala prikazan u tablici 2. Analiza je provedena u triplicatu.

Tablica 7. Gradijent udjela otapala mobilnih faza za analizu amino kiselina

Vrijeme	%A	% B
0	100	0
13,5	97	3,0
16,5	96,1	3.1
19,0	96,5	3,5
21,0	95,5	4,5
40,0	67	33,0

Vrijeme	%A	% B
50,0	60	40,0
60,0	40	60
61,0	0	100

Za potrebe kvanifikacije pomoću kalibracijske krivulje pripremljene su otopine standarda 21 aminokiseline u koncentraciji 1 mM u 0,1 M HCl, a dipeptida u koncentraciji 10 mM. Radne otopine standarda pripremljene su pipetiranjem 50, 100, 300, 500 i 700 µL 1 mM otopine standarda u odmjernu tikvicu volumena 1 mL uz dodatak 50 µL internog standarda nor-leucina (1,31 mg/mL) i dopunjene do oznake s 0,01 M HCl-om. 300 µL svakog standarda (u triplicatu) je deprotonizirano s 750 µL ACN, derivatizirano po metodi Bidlingmeyer i sur. (1987) i analizirano prema iznad opisanom postupku.

3.2.15. Određivanje sastava masnih kiselina u pršutu

3.2.15.1. Priprema estera masnih kiselina

Analizi sastava masnih kiselina plinskom kromatografijom prethodilo je prevođenje masnih kiselina u njihove metilne estere. Mast je dobivena ekstrakcijom metodom po Soxhletu (HRN ISO 1443, 1999). Metilni esteri pripremljeni su iz ekstrahirane masti postupkom transesterifikacije s kalijevim hidroksidom (HRN EN ISO 12966-2, 2017).

Odvagano je $60 \text{ mg} \pm 10 \text{ mg}$ uzorka masti u staklenu epruvetu i dodano 4 mL izooktana. Nakon što se uzorak masti potpuno otopio, dodano je 200 µL 2 M metanolne otopine KOH (13,6 g KOH u 100 mL metanola) i snažno protreseno dva puta po 30 sekundi. Za neutralizaciju otopini dodano je 1 g $\text{NaHSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ i ponovno snažno protreseno. Nakon što su se kristali slegnuli preneseno je 500 µL dobivene otopine uzorka u vial volumena 1,5 mL, dodano 1 mL izooktana, zatvoreno i promućkano.

3.2.15.2. Analiza sastava masnih kiselina metodom plinske kromatografije

Sastav masnih kiselina je određivan metodom plinske kromatografije (GC) (HRN EN ISO 5508, 1999) na plinskom kromatografu Agilent Technologies 6890N Network GC opremljenim s plamenoionizacijskim detektorom (FID) uz korištenje kapilarne kolone DB-23 (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Za injektiranje uzoraka korišten je autosampler TriPlus (ThermoScientific, Augustin, TX, SAD).

GC uvjeti:

- Količina injektiranog uzorka: 1 μ L
- Temperatura kolone: programirana, 60°C do 220°C – 7 °C /min, zadržava se 17 min
- Plin nosioc / protok plina nosioca: Helij / 1,5 mL/ min
- Temperatura injektora: 250°C
- Način rada: Split, 1:30
- Temperatura detektora: 280 °C

Masne kiseline identificirane su usporedbom vremena zadržavanja metilnih estera pojedine masne kiseline s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese 37 masnih kiselina (F.A.M.E C4 – C24) poznatog sastava. Za obradu podataka korišten je program Enhanced ChemStation.

3.2.16. Određivanje stupnja oksidacije masti

Stupanj oksidacije masnih kiselina u uzorcima mišića određen metodom reaktivne tvari tiobarbiturne kiseline (*engl.*, Thiobarbituric acid reactive substance test, TBARS test) prema Bruna i sur. (2001) s manjim preinakama. Temelji se reakciji sekundarnog produkta oksidacije polinezasićenih masnih kiselina (MDA), s TBA pri čemu nastaje karakteristično ružičasto-crveno obojenje koje se mjeri spektrofotometrijski pri 532-538 nm. Stupanj oksidacije masti se definira kao TBA vrijednost i izražava se kao mg MDA/kg uzorka (Domínguez i sur., 2019a).

Odvagano je 5 g uzorka u Falcon tube i dodano 10 mg butiliranog hidroksitoluena (BHT) i 20 mL 5%-tne otopine trikloroetene kiseline (TCA). Smjesa je homogenizirana i potom centrifugirana (10 min, 12000 o/min pri 4 °C), a dobiveni supernatant profiltriran je preko filter papira Whatman (n° 54). 4 ml filtrata pomiješano je s 4 mL 0,02 M TBA te zagrijano na 100 °C u termobloku u trajanju od 1 h. Nakon navedene inkubacije, očitana je absorbancija pri 532 nm na spektrofotometru.

Koncentracija malondialdehida (MDA) u uzorcima izračunata je pomoću kalibracijske krivulje pripremljene u koncentracijskom području od 0,75-12,5 μ M 1,1,3,3-tetrametoxipropanola (TMP) u 5 %-tnoj otopini TCA, a rezultati izraženi kao mg MDA/kg uzorka mišića pršuta.

Račun je napravljen prema formuli:

$$\frac{mg\ MDA}{kg\ uzorka} = \mu M\ MDA \times M\ (MDA) \times V_E \quad [10]$$

$$\frac{mg\ MDA}{kg\ uzorka} = \mu M\ MDA \times 0,2888 \quad [11]$$

gdje je:

$\mu M\ MDA$ - $\mu mol\ MDA$ dobivenog mjerenjem apsorbcije u uzorku

$M\ (MDA)$ – faktor konverzije $\mu mol\ MDA/g$ u $mg\ MDA/kg = 72$ (prema molarnoj masi MDA ($72\ g/mol$))

V_E – volumen ekstrakta za kolorimetrijsku reakciju (u L) ($4\ mL = 0,004\ L$)

3.2.17. Određivanje oksidacije proteina

Određivanje oksidacije proteina provedeno je određivanjem ukupnih proteinskih karbonila DNPH metodom prema postupku opisanome u (Armenteros i sur., 2009).

Metoda se temelji na reakciji karbonila s DNPH čime nastaje derivat 2,4-dinitrofenilhidrazon, a količina nastalog hidrazina se mjeri spektrofotometrijski. Količina karbonila mjeri se pri $370\ nm$ i izražava kao nM karbonila/ mg proteina koristeći apsorbancijski koeficijent za hidrazin ($21,0\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) (Armenteros i sur., 2009). Koncentracija proteina računa se iz apsorbcije pri $280\ nm$ koristeći BSA kao standard.

Odvagano je po $1\ g$ uzorka mišića pršuta u Falcon tube, dodano $10\ ml$ pirofosfatnog pufera ($pH=7,4$) ($2\ mM\ Na_4P_2O_7$, $10\ mM\ Tris$ –Maleat, $100\ mM\ KCl$, $2\ mM\ MgCl_2$ and $2\ mM\ EGTA$) i homogenizirano $30\ s$ na Ultraturraxu. Uzeta su dva alikvota ($0,1\ mL$) i razdijeljena u Eppendorf tube od $2\ mL$, čime su dobivene dvije frakcije uzoraka: jedna za kvantifikaciju proteina, a druga za kvantifikaciju proteinskih karbonila. U tube je potom dodano po $1\ mL\ 10\ %\ TCA$ u svrhu precipitacije proteina i centrifugirano u mikrocentrifugi ($10\ 000\ o/min$, $5\ min$). Supernatanti dobiveni nakon centrifugiranja su bačeni. U jednu frakciju taloga („peleta“) dodano je $1\ mL\ 2\ M\ HCl$ -a (za kvantifikaciju proteina), a u drugu $1\ mL\ 0.2\ %\ (w/v)\ DNPH$ u $2\ M\ HCl$ -u (za kvantifikaciju karbonila) te ostavljeno $1\ h$ na sobnoj temperaturi u mraku uz miješanje svakih $15\ min$. Zatim je u sve tube dodano po $1\ mL$ of $10\ %\ TCA$, vorteksirano i centrifugirano ($10\ 000\ o/min$, $5\ min$). Supernatanti su odbačeni, a peleti tretirani s $1\ mL$ of

EtOH: EtAc (v/ v) (1:1), nakon čeg je uslijedilo centrifugiranje (10 000 o/min, 5 min) i odbacivanje supernatanta (ovaj korak je ponovljen dva puta). Peleti su zatim tretirani s 1,5 mL 20 mM natrij fosfatnog pufera s 6 M gvanidin hidrokloridom (pH=6,5) i centrifugirani (10 000 o/min, 5 min). Koncentracija proteina mjerena je spektrofotometrijski pri 280 nm, a izračunata pomoću baždarne krivulje konstruirane pomoću različitih koncentracija BSA (0,2–2 mg/mL) u 20 mM natrij fosfatnom puferu s 6 M gvanidin hidrokloridom (pH=6,5). Koncentracija karbonila određena je mjerenjem apsorbancije pri 370 nm, a rezultati su izraženi kao nmol karbonila po mg proteina.

Koncentracija karbonila izračunata je prema formuli:

$$A = \epsilon * M * l \quad [12]$$

gdje je:

A - apsorbancija pri 370 nm

l - debljina kivete korištene prilikom mjerenja apsorbancije (0,4 cm)

M - koncentracija karbonila

ϵ - koeficijent adsorpcije proteina hidrazona (21,0 mM/cm)

3.2.18. Analiza profila hlapivih spojeva arome pršuta

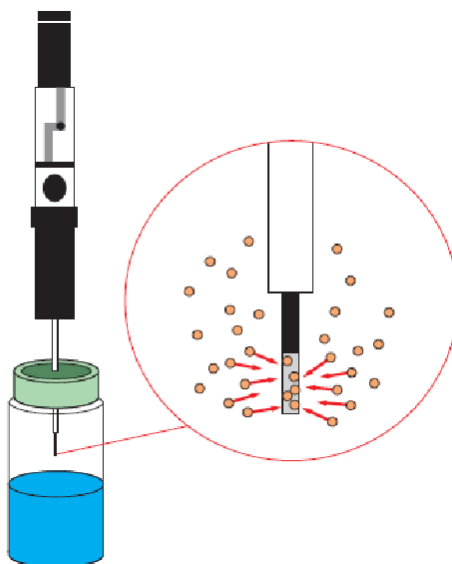
Analiza hlapivih spojeva arome pršuta provedena je metodom prema Marušić i sur., (2011). Analiza se sastojala od koraka izolacije hlapivih spojeva metodom mikroekstrakcije na čvrstoj fazi HS-SPME (*engl.*, headspace solid-phase micro extraction) te njihove identifikacije na plinskom kromatografu s masenom spektrometrijom (*engl.* gas-chromatography-mass spectrometry, GC/MS).

3.2.18.1. Priprema uzoraka i HS-SPME ekstrakcija

HS-SPME je tehnika ekstrakcije analita iz vršnih para u prostoru iznad uzorka (*engl.* headspace) bez upotrebe otapala primjenom silicijskog vlakna dimenzije 1 cm x 100 μ m presvučenog odgovarajućom stacionarnom fazom. Tijekom procesa mikroekstrakcije, analit migrira između ekstrakcijskog medija (vlakno) i matriksa uzorka (slika 21), odnosno dolazi do selektivne adsorpcije analita u aktivni sloj vlakna i direktne desorpcije u injektoru

kromatografa. Tijekom ekstrahiranja, uzorak se miješa i inkubira pri određenoj temperaturi kako bi se postigla maksimalna učinkovitost SPME metode (Schmidt i Podmore, 2015).

Odvagano je 5 g uzorka, usitnjeno i homogenizirano uz dodatak 25 mL zasićene otopine NaCl-a (35,9 g NaCl-a otopljeno u 100 mL destilirane vode). 10 mL homogeniziranog uzorka preneseno je u vial volumena 20 mL te je dodano 100 μ L 4-metil-2-pentanola koncentracije 1,2 mg/kg (interni standard). U vial s uzorkom i internim standardom dodan je magnetič za miješanje i zatvoreno PTEF čepom. Prije ekstrakcije, SPME vlakno presvučeno sa 2 cm 50/30 μ m DVB/karboksen/PDMS kondicionirano je 2 min pri 240 °C. Pripremljeni uzorak postavljen je u termoblok s miješanjem temperature 50 °C, umetnuto je SPME vlakno, a ekstrakcija je provedena 180 minuta pri 50 °C uz konstantno miješanje.



Slika 21. Princip HS-SPME ekstrakcije (Schmidt i Podmore, 2015)

3.2.18.2. Analiza profila hlapivih spojeva arome pršuta GC/MS metodom

Nakon ekstrakcije, SPME vlakno je direktno prebačeno u injektor plinskog kromatografa (6890N) uparenim s masenim spektrofotometrom (5973 Mass Selective Detector). Za analizu je korištena kapilarna kolona DB-5MS 30 m $\times$ 0,25 mm, debljine filma 0,25.

GC/MS uvjeti:

- Plin nosioc / protok plina nosioca: Helij / 1,0 mL/min
- Temperatura injektora: 230 °C
- Način rada (mode): Splitless

- Vrijeme desorpcije: 5 min
- Temperatura detektora: 250 °C
- Temperatura prijelazne linije (transfer line): 280 °C
- Temperaturni program: 40 °C, 10 min (izotermalni)
 - 200 °C, 5 °C/min
 - 250 °C, 20 °C/min
 - 250 °C, 5 min
- Energija elektrona za ionizaciju molekula uzoraka: 70 eV
- Parametri masenog spektrometra: brzina očitavanja od 1 očitavanje/s (scan/s) u opsegu razdvajanja mase i naboja (m/z) u rasponu od 30 – 550

3.2.18.3. Identifikacija hlapivih spojeva arome

Pod istim kromatografskim uvjetima analizirana je i smjesa n-alkana C8–C20 (RiMix) u svrhu računanja indeksa retencije (RI) detektiranih spojeva. Program Enhanced ChemStation korišten je za identifikaciju spojeva koristeći NIST 2005 bazu podataka (verzija 2,0) te usporedbom dobivenih retencijskih vremena s vrijednostima u literaturi (Adams, 2001 i in-house library). Kovats indeks (KI) je izračunat po metodi po Kovatsu (Kovats, 1965) i uspoređen sa vrijednostima u literaturi (Bermúdez i sur., 2015; Petričević i sur., 2018; Domínguez i sur., 2019b; Sirtori i sur., 2020). KI se koristi za pretvaranje vremena zadržavanja u konstante neovisne o sustavu, čime se uvelike olakšava identifikacija hlapivih spojeva.

3.2.19. Senzorska analiza pršuta starosti 12 i 18 mjeseci

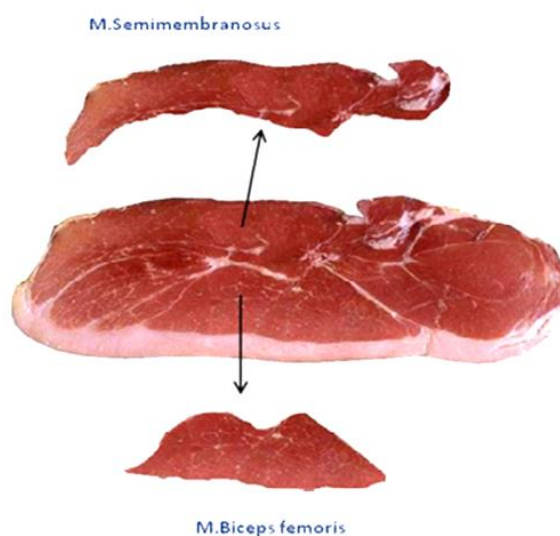
Senzorsko ocjenjivanje hrane obuhvaća sve metode za mjerenje, analizu i tumačenje reakcija ljudi na svojstva hrane i materijala percepcijom okusa, mirisa, dodira, vida i sluha. Senzorska analiza provodi se od strane senzorskog panela sastavljenog od treniranih ili netreniranih ocjenjivača, ovisno o vrsti testa i rezultata koje se žele dobiti (Chen i Opara, 2013).

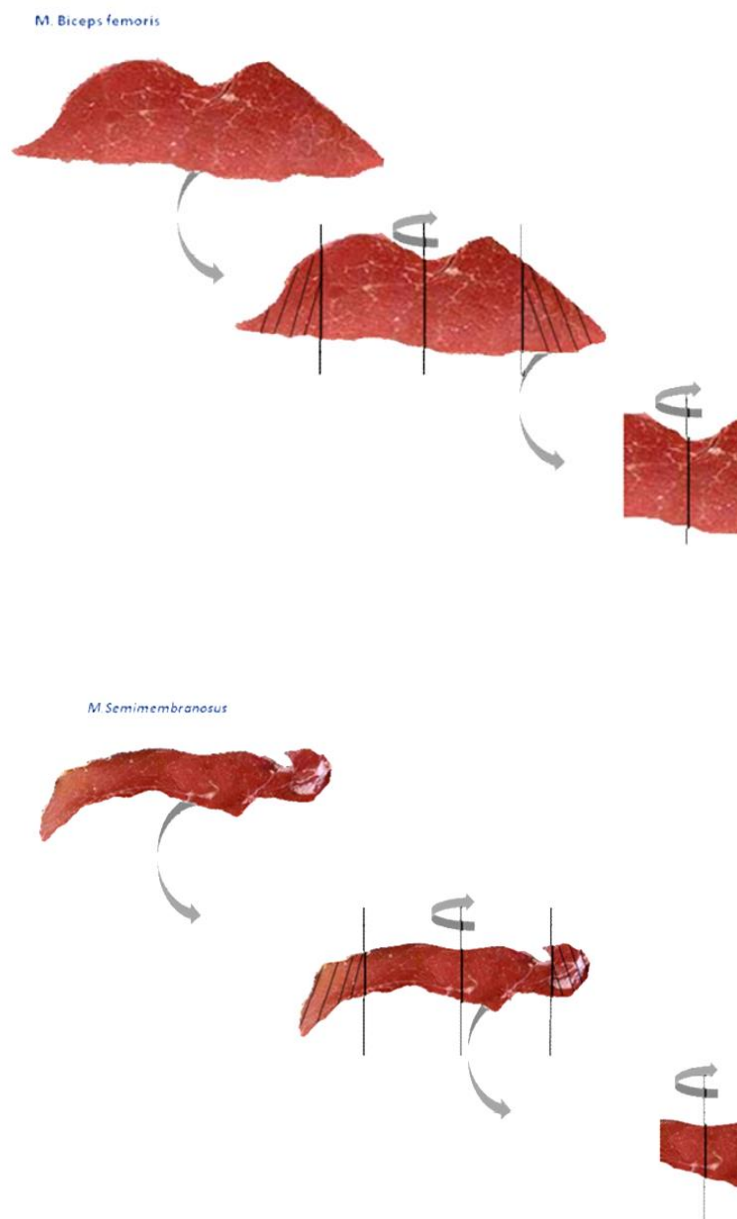
Kvantitativna deskriptivna analiza (*engl.* Quantitative descriptive analysis, QDA) predstavlja metodu senzorske analize prilikom koje članovi panela imaju zadatak utvrditi postoji li određeno pojedinačno svojstvo u ocjenjivanom namirnici/proizvodu te ukoliko postoji, koliki je njegov intenzitet. Intenzitet senzorskog svojstva iskazuje se primjenom različitih ljestvica (Lawless i Heyman, 2010).

U većini studija intenziteti analiziranih atributa se ocjenjuju pomoću skala, koje su najčešće kategorijske ili linijske. Kategorijske skale sastoje se od ljestvice intenziteta, pri čemu lijeva strana skale obično odgovara najnižem intenzitetu (vrijednost 0 ili 1), a desna najvišem intenzitetu atributa (vrijednost 5, 7, 9, 10, 15, 100 ili više) (Chen i Opara, 2013). Linijsko skaliranje je široko primijenjena tehnika za skaliranje intenziteta i uključuje izradu oznake ili crte na liniji određene duljine kako bi se naznačio intenzitet određenog atributa. Odgovor se bilježi kao udaljenost oznake s jednog kraja ljestvice, a kraj od kojeg se računa označavanje obično označava najniži intenzitet nekog svojstva (Lawless i Heyman, 2010).

Senzorska analiza pršuta starosti 12 i 18 mjeseci provedena je u prostorijama Hrvatskog veterinarskog instituta-podružnica Split (Poljička cesta 33, Split) od strane treniranog senzorskog panela (8 ocjenjivača) procjenom senzorskih svojstava pršuta koristeći nestrukturiranu linijsku skalu (Benedini i sur., 2012). Panelisti su odabrani prema postupku opisanome u Guerrero i sur. (2005), obučeni prema postupcima ISO standarda (ISO 8586-2, 2008, ISO 11132, 2012) (Petričević, 2018).

Svaki uzorak se sastojao od dva nareška 1,5 mm debljine, dobivenih pomoću električnog aparata za rezanje nekoliko minuta prije početka testiranja. Svi pršuti su ocijenjeni iz nareška izrezanog s istog anatomskog područja. Panel je bio upućen na procjenu BF i SM. Uzorak za teksturu je savijen po njegovoj poprečnoj osi (slika 20) te su procijenjena svojstva teksture (Guerrero i sur., 2005).





Slika 22. Odvajanje mišića BF i SM prije senzorne procjene i prethodna priprema mišića prije ocjene atributa teksture (Guerrero i sur., 2005)

Uzorci su kodirani troznamenkastom šifrom i prezentirani pri sobnoj temperaturi (20-22 °C). Panel je ocjenjivao cijelu krišku pršuta uključujući i 1 cm potkožnog masnog tkiva. Svako svojstvo je ocjenjivano na nestrukturiranoj linijskoj skali 0-10 cm intenziteta (0 = potpuni izostanak svojstva, 10 = maksimalna percepcija svojstva), na cijelom naresku pršuta uključujući 1 cm potkožnog masnog tkiva (Buscailhon i sur., 1994a; Petričević, 2018).

Panel sastavljen od devet članova proveo je 10 sjednica, ukupno 20 uzoraka (4 uzorka po sjednici, slučajnim odabirom uz 1 kontrolni uzorak). Ponovljivost ocjenjivanja provjerena je kontrolnim uzorkom u svakoj sjednici. Uzorci su kodirani su predstavljeni ocjenjivačima uzimajući u obzir balansiranje prvog reda i učinaka prijenosa (MacFie i sur., 1989, Petričević, 2018). Ocjenjen je: intenzitet mirisa, percepcija mirisa (po mesu, dimljenome, začinjenom, biljnom i biokemijskom (pljesnivo, vinsko, užeglo, trulo), intenzitet boje mišićnog i masnog tkiva, ujednačenost boje, percepcija izgleda (količina intramuskularne masti (mramoriranost), vlažnost površine, i pokrivenost kristalima tirozina), percepcija okusa (slano, slatko, umami, kiselo, gorko), tekstura (tvrdoću i topivost) (slika 21).

PERCEPCIJA MIRISA I OKUSA

0	BLAGO	SREDNJE	INTEZIVNO	100mm
---	-------	---------	-----------	-------

Intezitet mirisa

Podcrtati dominantne percepcije

Po mesu

(svježe meso-kiselo meso-sušeno meso-mast-ostalo)
Dimljen

(dimljeno-izgoreno: meso na roštilju, pepeo, ugljen, dim, zapaljena guma)
Začinjeno

(papar- češnjak-muškatni oraščić-klinčić-cimet-crvena papričica-ostalo)
Biljno

(svježe bilje-kuhano-suho bilje-mahovina)
Biokemijsko

(zemlja-pljesnjivo-fermentirano: sir, maslac, octena kiselina, vinsko-amonijak-užeglo-melasa: trulo jaje, luk- mesni bujon-crijeva-koža-metalan-ostalo)
PERCEPCIJA BOJE**Intezitet boje
mišićnog tkiva**

Ružičasta tamno crvena
**Intezitet boje
masnog tkiva**

Žuta Bijela
Ujednačenost boje

PERCEPCIJA IZGLEDA**Mramorirano**

Vlažnost površine

prisutnost intramuskularne masnoće
Kristali tirozina

razina vidljive vlažnosti (sjaja) na površini fete
<3 kristala iznad 10 kristala
PERCEPCIJA OKUSA**Slano**

Slatko

Umami (ukusno)

Kiselo

Gorko

PERCEPCIJA TEKSTURE**Tvrdoća**

Mekan Tvrd
Topivost

Razina topivosti tijekom žvakanja vrlo brza

Ime ocjenjivača: _____

Šifra uzorka: _____

Sjednica br. _____

Datum: _____

Napomene: _____

Slika 23. Ocjenjivački listić za pršut (Hrvatski veterinarski institut, 2015)

3.2.20. Statistička obrada podataka

Prije statističke obrade, rezultati dobiveni u istraživanjima su pripremljeni u programu Microsoft Office Excel 365. Izmjereni rezultati izraženi su kao srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška. Statistička obrada podataka provedena je primjenom programa SPSS Statistica 17.0 (StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, SAD). Svi testovi provedeni su pri razini statističke značajnosti od 0,05.

Prilikom obrade podataka korištene su metode:

- deskriptivne statistike
- jednosmjerna analiza varijance (one-way ANOVA) u kombinaciji s *post-hoc* Tukey Honest Significant Difference testom (Tukey HSD)
- Studentov t-test
- Pearsonov korelacijski test

Prije statističke obrade podataka proveden je Kolmogorov-Smirnovljev test (KS test) u svrhu testiranja normalnosti distribucije podataka. Budući da je KS testom utvrđena normalna distribucija podataka, zadovoljeni su uvjeti za provođenje parametrijske metode statističke analize (ANOVA testa).

U svrhu utvrđivanja značajnih razlika u analiziranim parametrima između faza proizvodnje, podaci su statistički analizirani one-way ANOVOM. U slučaju kad su rezultati ANOVA testa pokazali statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) između istraživanih grupa (faza proizvodnje) proveden je *post-hoc* Tukey HSD test. Studentov t-test ($p < 0,05$) proveden u svrhu ispitivanja razlika u analiziranim parametrima između istraživanih mišića u istoj fazi proizvodnje. Pearsonov korelacijski test ($p < 0,05$) proveden je u svrhu karakterizacije odnosa između proteolitičkih, lipolitičkih, oksidacijskih procesa i odabranih parametara senzorske kvalitete.

4. REZULTATI

Sukladno ciljevima disertacije, tijekom šest faza proizvodnje dimljenoga pršuta provedena su sljedeća istraživanja:

- a) Određivanje fizikalno-kemijskih parametara (instrumentalno određivanje boje i teksture, osnovni kemijski sastav, pH i a_w vrijednost)
- b) Određivanje proteolitičkih promjena (određivanje indeksa proteolize dvjema metodama, sastav proteina, aminokiselina i dipeptida)
- c) Određivanje sastava masnih kiselina
- d) Određivanje oksidacije masti i proteina
- e) Određivanje profila hlapivih spojeva arome
- f) Senzorska analiza pršuta nakon faze zrenja (12 mjeseci starosti) i produljenog zrenja (18 mjeseci starosti)
- g) Pearsonova analiza korelacije u svrhu određivanja međuovisnosti između fizikalno-kemijskih, proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena i odabranih parametara senzorske kvalitete

4.1. Fizikalno-kemijski parametri tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

U ovom poglavlju prikazani su rezultati određivanja fizikalno-kemijskih parametara tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (instrumentalno određivanje boje i teksture, osnovni kemijski sastav, pH i a_w vrijednosti). Rezultati su prikazani tablicama 8-10. Rezultati određivanja fizikalno-kemijskih parametara do faze zrenja (prvih pet faza proizvodnje) prikazani u ovom poglavlju objavljeni su u radu Marušić Radovčić i sur. (2021).

4.1.1. Rezultati instrumentalnog određivanja boje i teksture tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Tablica 8. Rezultati instrumentalnog određivanja boje tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

<i>Parametar određivanja boje</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
<i>L*</i>	BF	54,02 $\pm$ 0,48 ^c	51,55 $\pm$ 0,18 ^{a,1}	53,53 $\pm$ 0,27 ^{bc,1}	54,31 $\pm$ 0,47 ^{c,1}	52,06 $\pm$ 0,40 ^{ab,2}	51,71 $\pm$ 0,42 ^{a,2}
	SM	54,41 $\pm$ 0,75 ^c	48,21 $\pm$ 0,21 ^{ab,2}	49,98 $\pm$ 0,57 ^{b,2}	49,88 $\pm$ 0,41 ^{b,2}	47,83 $\pm$ 0,34 ^{a,1}	46,52 $\pm$ 0,15 ^{a,1}
<i>a*</i>	BF	2,96 $\pm$ 0,18 ^{b,2}	1,95 $\pm$ 0,11 ^a	1,88 $\pm$ 0,14 ^a	1,86 $\pm$ 0,16 ^{a,2}	2,98 $\pm$ 0,18 ^{b,2}	3,83 $\pm$ 0,07 ^{c,2}
	SM	1,77 $\pm$ 0,09 ^{ab,1}	1,84 $\pm$ 0,13 ^{ab}	1,76 $\pm$ 0,14 ^{ab}	1,38 $\pm$ 0,09 ^{a,1}	2,25 $\pm$ 0,28 ^{b,1}	2,01 $\pm$ 0,11 ^{ab,1}
<i>b*</i>	BF	8,30 $\pm$ 0,37 ^c	8,32 $\pm$ 0,19 ^c	3,74 $\pm$ 0,20 ^{a,1}	4,20 $\pm$ 0,09 ^{a,1}	5,28 $\pm$ 0,19 ^{b,2}	5,39 $\pm$ 0,17 ^{b,2}
	SM	8,20 $\pm$ 0,39 ^c	8,21 $\pm$ 0,14 ^c	3,26 $\pm$ 0,12 ^{a,2}	3,41 $\pm$ 0,08 ^{a,2}	4,47 $\pm$ 0,16 ^{b,1}	3,96 $\pm$ 0,11 ^{ab,1}

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*,
^{a-c} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje)

Tablica 9. Rezultati instrumentalnog određivanja teksture tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

<i>Parametar teksture</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
<i>Tvrdoća (N)</i>	BF	89,78 $\pm$ 3,50 ^b	93,81 $\pm$ 1,71 ^{bc}	105,30 $\pm$ 5,68 ^c	92,98 $\pm$ 1,74 ^{bc,1}	58,00 $\pm$ 3,09 ^{a,1}	66,37 $\pm$ 2,33 ^{a,1}
	SM	82,21 $\pm$ 2,25 ^a	98,24 $\pm$ 1,31 ^b	114,72 $\pm$ 5,15 ^c	121,04 $\pm$ 2,08 ^{c,2}	82,62 $\pm$ 2,05 ^{a,2}	115,63 $\pm$ 2,43 ^{c,2}
<i>Adhezivna sila (N)</i>	BF	-0,41 $\pm$ 0,02 ^d	-0,83 $\pm$ 0,02 ^{b,2}	-1,33 $\pm$ 0,06 ^{a,1}	-0,79 $\pm$ 0,04 ^b	-0,88 $\pm$ 0,02 ^{b,2}	-0,61 $\pm$ 0,02 ^{c,2}
	SM	-0,47 $\pm$ 0,05 ^c	-0,92 $\pm$ 0,04 ^{a,1}	-0,97 $\pm$ 0,01 ^{a,2}	-0,73 $\pm$ 0,01 ^b	-1,03 $\pm$ 0,04 ^{a,1}	-0,95 $\pm$ 0,04 ^{a,1}
<i>Adhezivnost (Nmm)</i>	BF	0,94 $\pm$ 0,07 ^c	0,83 $\pm$ 0,12 ^{c,2}	0,77 $\pm$ 0,04 ^{bc,2}	0,59 $\pm$ 0,06 ^{ab,2}	0,45 $\pm$ 0,04 ^{a,2}	0,50 $\pm$ 0,02 ^{ab,2}
	SM	0,89 $\pm$ 0,02 ^d	0,62 $\pm$ 0,04 ^{c,1}	0,58 $\pm$ 0,02 ^{c,1}	0,43 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,34 $\pm$ 0,02 ^{a,1}	0,41 $\pm$ 0,03 ^{ab,1}
<i>Kohezivnost</i>	BF	0,50 $\pm$ 0,02 ^{c,1}	0,49 $\pm$ 0,02 ^{bc}	0,46 $\pm$ 0,01 ^{bc,2}	0,43 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,38 $\pm$ 0,01 ^{a,2}	0,45 $\pm$ 0,01 ^{bc,2}
	SM	0,59 $\pm$ 0,02 ^{e,2}	0,53 $\pm$ 0,01 ^d	0,42 $\pm$ 0,01 ^{c,1}	0,40 $\pm$ 0,01 ^{bc}	0,33 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,38 $\pm$ 0,01 ^{b,1}
<i>Elastičnost (mm)</i>	BF	0,80 $\pm$ 0,08 ^b	0,85 $\pm$ 0,01 ^{b,2}	0,91 $\pm$ 0,02 ^{b,2}	0,56 $\pm$ 0,01 ^{a,2}	0,45 $\pm$ 0,01 ^{a,2}	0,48 $\pm$ 0,01 ^a
	SM	0,75 $\pm$ 0,01 ^c	0,81 $\pm$ 0,01 ^{d,1}	0,83 $\pm$ 0,01 ^{d,1}	0,41 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,40 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,51 $\pm$ 0,02 ^b
<i>Gumenost (N)</i>	BF	45,50 $\pm$ 1,43 ^c	47,48 $\pm$ 1,18 ^c	51,89 $\pm$ 0,49 ^{d,1}	43,85 $\pm$ 0,52 ^{c,1}	23,37 $\pm$ 0,99 ^{a,1}	34,92 $\pm$ 1,00 ^{b,1}
	SM	42,35 $\pm$ 1,24 ^a	50,41 $\pm$ 3,09 ^b	56,51 $\pm$ 2,02 ^{bc,2}	63,53 $\pm$ 0,76 ^{c,2}	40,19 $\pm$ 2,45 ^{a,2}	76,54 $\pm$ 0,61 ^{d,2}
<i>Žvkljivost (Nmm)</i>	BF	54,75 $\pm$ 1,73 ^c	61,43 $\pm$ 1,37 ^{d,1}	69,49 $\pm$ 1,18 ^{e,1}	59,61 $\pm$ 1,29 ^{cd,1}	29,87 $\pm$ 1,23 ^{a,1}	41,87 $\pm$ 1,05 ^{b,1}
	SM	58,21 $\pm$ 1,45 ^b	64,82 $\pm$ 0,31 ^{c,2}	72,82 $\pm$ 0,85 ^{d,2}	79,98 $\pm$ 1,00 ^{e,2}	52,69 $\pm$ 0,59 ^{a,2}	77,92 $\pm$ 0,81 ^{e,2}
<i>Prijelom (N)</i>	BF	62,57 $\pm$ 2,66 ^c	69,82 $\pm$ 2,63 ^c	78,69 $\pm$ 0,91 ^{d,1}	67,72 $\pm$ 1,32 ^{c,1}	33,71 $\pm$ 2,19 ^{a,1}	47,29 $\pm$ 1,17 ^{b,1}
	SM	66,37 $\pm$ 1,47 ^{ab}	73,77 $\pm$ 2,04 ^{bc}	82,30 $\pm$ 0,82 ^{cd,2}	91,80 $\pm$ 1,69 ^{e,2}	60,49 $\pm$ 2,96 ^{a,2}	88,74 $\pm$ 3,21 ^{de,2}

<i>Parametar teksture</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Otpornost	BF	0,40±0,02 ^{a,1}	0,42±0,02 ^{ab}	0,36±0,02 ^{a,1}	0,54±0,03 ^{c,2}	0,43±0,01 ^{ab}	0,50±0,02 ^{bc}
	SM	0,47±0,02 ^{ab,2}	0,47±0,02 ^{ab}	0,50±0,02 ^{b,2}	0,47±0,01 ^{ab,1}	0,40±0,02 ^a	0,51±0,02 ^b
Vlaknastost (mm)	BF	2,03±0,18 ^a	5,12±0,21 ^c	5,19±0,36 ^{c,2}	3,29±0,10 ^{b,2}	1,95±0,08 ^a	6,54±0,36 ^d
	SM	2,63±0,47 ^a	4,33±0,47 ^b	3,11±0,17 ^{ab,1}	2,51±0,10 ^{a,1}	1,78±0,10 ^a	6,74±0,28 ^c

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*,^{a-}

^e Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje)

4.1.2. Rezultati određivanja fizikalno-kemijskih parametara tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Tablica 10. Rezultati određivanja fizikalno-kemijskih parametara tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

Parametar	Mišić	Sirovi butovi	Soljenje	Dimljenje	Sušenje	Zrenje	Produljeno zrenje
Voda (%)	BF	74,82 $\pm$ 0,12 ^e	72,33 $\pm$ 0,37 ^{d,2}	68,93 $\pm$ 0,85 ^{c,2}	63,41 $\pm$ 0,55 ^{b,2}	56,78 $\pm$ 0,30 ^{a,2}	49,17 $\pm$ 0,66 ^{a,2}
	SM	74,42 $\pm$ 0,22 ^e	64,12 $\pm$ 0,36 ^{d,1}	63,79 $\pm$ 0,29 ^{c,1}	59,21 $\pm$ 0,53 ^{b,1}	42,54 $\pm$ 0,75 ^{a,1}	34,75 $\pm$ 0,88 ^{a,1}
Mast (% s.tv. *)	BF	5,54 $\pm$ 0,54 ^b	5,05 $\pm$ 0,19 ^{ab,1}	2,57 $\pm$ 0,18 ^{a,1}	5,38 $\pm$ 0,44 ^{b,1}	12,45 $\pm$ 0,45 ^{c,1}	15,70 $\pm$ 1,07 ^d
	SM	6,00 $\pm$ 0,44 ^a	5,72 $\pm$ 0,23 ^{a,2}	5,55 $\pm$ 0,25 ^{a,2}	11,02 $\pm$ 0,71 ^{b,2}	14,86 $\pm$ 0,35 ^{c,2}	17,21 $\pm$ 0,88 ^c
Proteini (% s.tv.)	BF	88,19 $\pm$ 0,91 ^a	87,11 $\pm$ 1,60 ^{a,2}	78,20 $\pm$ 0,82 ^a	70,35 $\pm$ 1,23 ^{a,1}	69,16 $\pm$ 1,22 ^{b,1}	47,33 $\pm$ 0,83 ^{a,1}
	SM	89,54 $\pm$ 1,12 ^a	75,96 $\pm$ 0,89 ^{bc,1}	79,82 $\pm$ 1,76 ^b	78,26 $\pm$ 0,92 ^{b,2}	74,72 $\pm$ 0,72 ^{c,2}	62,40 $\pm$ 1,74 ^{a,2}
Pepeo (% s.tv.)	BF	4,37 $\pm$ 0,11 ^a	8,24 $\pm$ 0,35 ^{b,1}	13,44 $\pm$ 0,32 ^{c,1}	17,68 $\pm$ 0,35 ^{d,1}	19,33 $\pm$ 0,48 ^{e,2}	20,61 $\pm$ 0,52 ^{e,2}
	SM	4,21 $\pm$ 0,08 ^d	18,97 $\pm$ 0,52 ^{b,2}	18,21 $\pm$ 0,35 ^{c,2}	18,36 $\pm$ 0,23 ^{bc,2}	12,91 $\pm$ 0,36 ^{a,1}	12,10 $\pm$ 0,60 ^{b,1}
NaCl (% s.tv.)	BF	0,20 $\pm$ 0,00 ^{a,2}	4,87 $\pm$ 0,44 ^{b,1}	12,47 $\pm$ 0,20 ^{c,1}	15,06 $\pm$ 0,32 ^{d,1}	17,55 $\pm$ 0,50 ^{c,2}	16,64 $\pm$ 0,25 ^{e,2}
	SM	0,18 $\pm$ 0,00 ^{a,1}	16,78 $\pm$ 0,61 ^{bc,2}	16,39 $\pm$ 0,27 ^{b,2}	16,29 $\pm$ 0,52 ^{c,2}	11,20 $\pm$ 0,35 ^{bc,1}	9,87 $\pm$ 0,48 ^{b,1}
a_w	BF	0,97 $\pm$ 0,00 ^c	0,97 $\pm$ 0,00 ^{c,2}	0,96 $\pm$ 0,00 ^{c,2}	0,93 $\pm$ 0,00 ^{b,2}	0,88 $\pm$ 0,00 ^{a,2}	0,81 $\pm$ 0,01 ^a
	SM	0,96 $\pm$ 0,00 ^b	0,90 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,93 $\pm$ 0,00 ^{ab,1}	0,91 $\pm$ 0,00 ^{a,1}	0,86 $\pm$ 0,00 ^{c,1}	0,80 $\pm$ 0,01 ^a
pH	BF	5,83 $\pm$ 0,05	5,74 $\pm$ 0,06	6,02 $\pm$ 0,31	5,65 $\pm$ 0,02	5,93 $\pm$ 0,03	5,99 $\pm$ 0,12
	SM	5,78 $\pm$ 0,10 ^b	5,74 $\pm$ 0,04 ^b	5,64 $\pm$ 0,04 ^{ab}	5,51 $\pm$ 0,07 ^a	5,99 $\pm$ 0,02 ^c	6,07 $\pm$ 0,07 ^d

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*,
^{a-e} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje (p<0,05; Tukey HSD test). ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; p<0,05) * % suhe tvari (% s.tv.)

4.2. Proteolitičke i lipolitičke promjene tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

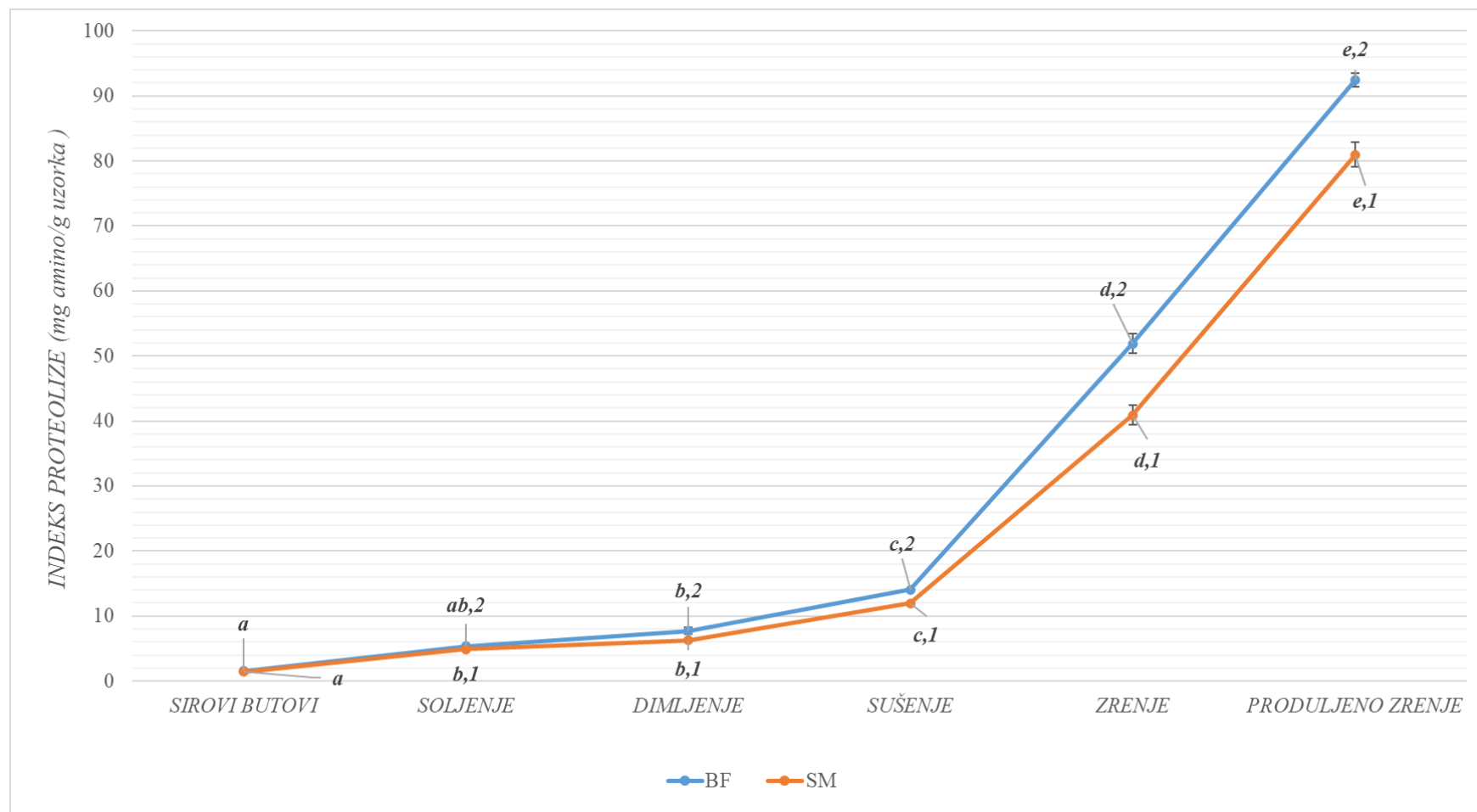
U ovom poglavlju prikazani su rezultati određivanja proteolitičkih promjena (određivanje indeksa proteolize: (i) standardnom metodom (NPN/N) i (ii) metodom s Cd-ninhidrinom, sastava proteina, aminokiselina i dipeptida) i lipolitičkih promjena (sastav masnih kiselina) tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. Rezultati su prikazani slikama 24-26 i tablicama 11-14. Rezultati određivanja proteolitičkih i lipolitičkih promjena do faze zrenja (prvih pet faza proizvodnje) prikazani u ovom poglavlju objavljeni su u radovima (Poljanec i sur., 2021a,b; Marušić Radovčić i sur., 2021).

4.2.1. Rezultati određivanja indeksa proteolize tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta



Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*,
^{a-e} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje)

Slika 24 . Rezultati određivanja indeksa proteolize (NPN/N) (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)



Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*,
^{a-e} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje)

Slika 25 . Rezultati određivanja indeksa proteolize metodom s Cd-ninhidrinom (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

4.2.2. Rezultati određivanja sastava proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

4.2.2.1. Profil sarkoplazmatskih proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Tablica 11. Relativni intenziteti sarkoplazmatskih proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

<i>Proteinska vrpca*</i>	<i>MW (kDa)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Vrpca 127,5 kDa	127,5	BF	0,06 $\pm$ 0,00 ^a	0,23 $\pm$ 0,00 ^{bc,2}	0,27 $\pm$ 0,02 ^{bc,1}	0,28 $\pm$ 0,06 ^{c,2}	0,13 $\pm$ 0,04 ^{ab,2}	0,03 $\pm$ 0,00 ^{a,2}
		SM	0,05 $\pm$ 0,01 ^a	0,12 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,35 $\pm$ 0,01 ^{c,2}	0,15 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,03 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,01 $\pm$ 0,00 ^{a,1}
Vrpca 114,6 kDa	114,6	BF	0,18 $\pm$ 0,00 ^{c,2}	0,13 $\pm$ 0,01 ^{c,2}	0,06 $\pm$ 0,01 ^b	0,03 $\pm$ 0,00 ^{ab}	0,01 $\pm$ 0,00 ^{ab}	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
		SM	0,07 $\pm$ 0,01 ^{c,1}	0,04 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,03 $\pm$ 0,01 ^b	0,03 $\pm$ 0,01 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
Vrpca 108,7 kDa	108,7	BF	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,10 $\pm$ 0,02 ^{b,2}	0,08 $\pm$ 0,02 ^{b,2}	0,18 $\pm$ 0,01 ^{c,2}	0,16 $\pm$ 0,01 ^{c,2}	0,05 $\pm$ 0,01 ^{ab,2}
		SM	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,05 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,05 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,10 $\pm$ 0,01 ^{c,1}	0,04 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,02 $\pm$ 0,00 ^{ab,1}
Fosforilaza B	97,0	BF	0,59 $\pm$ 0,00 ^{d,1}	0,25 $\pm$ 0,02 ^{bc}	0,24 $\pm$ 0,02 ^{bc,2}	0,28 $\pm$ 0,01 ^{c,2}	0,18 $\pm$ 0,01 ^{b,2}	0,08 $\pm$ 0,02 ^{a,1}
		SM	0,77 $\pm$ 0,03 ^{c,2}	0,25 $\pm$ 0,02 ^b	0,08 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,07 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,04 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,11 $\pm$ 0,02 ^{a,2}
Vrpca 93,4 kDa	93,4	BF	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,10 $\pm$ 0,01 ^b	0,12 $\pm$ 0,01 ^c
		SM	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,07 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01 ^b
Fosfofrukto kinaza	83,6	BF	0,05 $\pm$ 0,00 ^a	0,02 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,07 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,19 $\pm$ 0,01 ^{b,2}	0,06 $\pm$ 0,03 ^a	0,29 $\pm$ 0,02 ^{c,2}
		SM	0,01 $\pm$ 0,01 ^a	0,09 $\pm$ 0,03 ^{bc,2}	0,15 $\pm$ 0,02 ^{c,2}	0,10 $\pm$ 0,01 ^{bc,1}	0,06 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,12 $\pm$ 0,01 ^{bc,1}
Vrpca 75,3 kDa	75,3	BF	0,07 $\pm$ 0,00 ^b	0,05 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,03 $\pm$ 0,00 ^{a,1}	0,06 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,01 $\pm$ 0,01 ^a	0,25 $\pm$ 0,00 ^{c,1}

<i>Proteinska vrpca*</i>	<i>MW (kDa)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
		SM	0,03±0,01 ^a	0,03±0,01 ^a	0,08±0,00 ^{b,2}	0,04±0,01 ^a	0,02±0,01 ^a	0,10±0,02 ^{b,2}
<i>Vrpca 69,9 kDa</i>	69,9	BF	0,35±0,00 ^{d,2}	0,33±0,02 ^{cd,2}	0,13±0,03 ^b	0,05±0,01 ^{a,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,26±0,01 ^{c,2}
		SM	0,11±0,02 ^{abc,1}	0,13±0,01 ^{bc,1}	0,08±0,02 ^{ab}	0,19±0,03 ^{c,2}	0,04±0,01 ^{a,2}	0,12±0,01 ^{bc,1}
<i>Piruvat kinaza</i>	64,1	BF	0,73±0,00 ^{bc}	0,64±0,02 ^{b,1}	0,70±0,11 ^{bc}	0,86±0,02 ^c	0,37±0,03 ^{a,1}	0,24±0,02 ^{a,1}
		SM	0,72±0,04 ^{bc}	0,77±0,03 ^{bc,2}	0,77±0,08 ^{bc}	0,87±0,04 ^c	0,47±0,03 ^{a,2}	0,66±0,03 ^{ab,2}
<i>Fosfoglukoza izomeraza</i>	59,8	BF	0,49±0,01 ^c	0,37±0,10 ^{bc}	0,18±0,01 ^{ab,1}	0,16±0,01 ^{ab,1}	0,12±0,01 ^{ab}	0,00±0,00 ^a
		SM	0,56±0,01 ^e	0,45±0,01 ^d	0,26±0,02 ^{c,2}	0,28±0,01 ^{c,2}	0,11±0,00 ^b	0,05±0,01 ^a
<i>Enolaza</i>	46,0	BF	1,06±0,01 ^c	0,93±0,03 ^c	0,85±0,08 ^{bc}	0,86±0,03 ^{bc,2}	0,43±0,07 ^{b,2}	0,00±0,00 ^{a,1}
		SM	0,97±0,02 ^{cd}	0,85±0,04 ^c	1,01±0,07 ^d	0,23±0,02 ^{ab,1}	0,35±0,02 ^{b,1}	0,08±0,01 ^{a,2}
<i>Vrpca 45,0 kDa</i>	45,0	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,16±0,01 ^{ab,2}	0,26±0,10 ^{b,2}	0,34±0,01 ^{c,1}	0,73±0,05 ^d
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,54±0,03 ^{b,2}	0,71±0,03 ^c
<i>Fosfat kreatin kinaza</i>	43,0	BF	1,86±0,01 ^d	1,16±0,17 ^c	0,97±0,05 ^{bc}	0,58±0,03 ^{b,1}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	1,91±0,07 ^c	0,95±0,01 ^b	0,80±0,07 ^b	0,86±0,02 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
<i>Aldolaza</i>	41,7	BF	0,83±0,00 ^{b,1}	1,06±0,13 ^b	0,84±0,03 ^b	0,23±0,06 ^a	0,00±0,00 ^a	0,02±0,01 ^{a,2}
		SM	0,90±0,01 ^{c,2}	0,83±0,04 ^c	0,80±0,04 ^c	0,32±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}
<i>Vrpca 39,4 kDa</i>	39,4	BF	0,05±0,00 ^a	0,04±0,01 ^a	0,21±0,01 ^{ab,1}	0,23±0,05 ^{ab,1}	0,37±0,12 ^{bc,1}	0,57±0,01 ^{c,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,04±0,01 ^a	0,35±0,04 ^{b,2}	0,63±0,04 ^{c,2}	0,89±0,08 ^{d,2}	0,91±0,01 ^{d,2}

<i>Proteinska vrpca*</i>	<i>MW (kDa)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Gliceralehid fosfat dehidrogenaza	36,7	BF	1,05±0,02 ^b	0,09±0,02 ^a	0,13±0,05 ^{ab}	0,15±0,07 ^{ab}	0,16±0,01 ^{ab,2}	0,11±0,01 ^{a,1}
		SM	1,25±0,03 ^d	0,11±0,01 ^b	0,13±0,01 ^{bc}	0,20±0,03 ^c	0,03±0,01 ^{a,1}	0,19±0,01 ^{c,2}
Vrpca 34,9 kDa	34,9	BF	0,24±0,00 ^{bc,1}	0,36±0,04 ^c	0,35±0,01 ^{c,1}	0,20±0,02 ^{b,1}	0,18±0,01 ^{b,1}	0,07±0,01 ^{a,1}
		SM	0,48±0,03 ^{bc,2}	0,20±0,01 ^a	0,62±0,03 ^{cd,2}	0,76±0,04 ^{d,2}	0,58±0,06 ^{c,2}	0,34±0,02 ^{ab,2}
Fosfoglicerat mutaza	29,9	BF	0,72±0,1 ^{bc,1}	0,86±0,12 ^c	0,77±0,06 ^{bc}	0,68±0,09 ^{abc,1}	0,44±0,06 ^{ab,1}	0,31±0,02 ^{a,1}
		SM	1,19±0,06 ^{d,2}	0,99±0,05 ^c	0,90±0,05 ^c	0,91±0,04 ^{c,2}	0,67±0,03 ^{b,2}	0,44±0,03 ^{a,2}
Trioza fosfat izomeraza	28,1	BF	0,30±0,00 ^c	0,26±0,01 ^{bc,1}	0,15±0,01 ^{a,1}	0,17±0,01 ^{a,1}	0,19±0,01 ^{ab}	0,21±0,01 ^{ab,1}
		SM	0,31±0,02 ^{bc}	0,33±0,01 ^{cd,2}	0,27±0,02 ^{b,2}	0,34±0,01 ^{cd,2}	0,13±0,01 ^a	0,39±0,01 ^{d,2}
Vrpca 25,6 kDa	25,6	BF	0,10±0,00 ^{c,2}	0,08±0,01 ^{bc}	0,07±0,01 ^{bc}	0,06±0,01 ^{bc}	0,03±0,01 ^{ab}	0,00±0,00 ^a
		SM	0,05±0,01 ^{b,1}	0,05±0,01 ^b	0,06±0,01 ^b	0,07±0,01 ^b	0,01±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Vrpca 21,6 kDa	21,6	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,03±0,01 ^{b,1}	0,09±0,01 ^{cd,1}	0,06±0,01 ^{c,1}	0,13±0,01 ^{d,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,08±0,01 ^{b,2}	0,16±0,01 ^{c,2}	0,10±0,01 ^{c,2}	0,19±0,00 ^{b,2}
Vrpca 20,6 kDa	20,6	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,02±0,01 ^{ab}	0,06±0,02 ^{b,1}	0,03±0,00 ^{ab}	0,10±0,01 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,03±0,01 ^b	0,00±0,00 ^{a,1}	0,01±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}
Mioglobin	18,5	BF	0,36±0,00 ^{c,1}	0,32±0,01 ^c	0,09±0,00 ^{b,1}	0,04±0,01 ^{a,1}	0,01±0,00 ^a	0,01±0,00 ^a
		SM	0,41±0,02 ^{c,2}	0,35±0,04 ^c	0,11±0,00 ^{b,2}	0,17±0,01 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,01±0,00 ^a

<i>Proteinska vrpca*</i>	<i>MW (kDa)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Vrpca 15,3 kDa	15,3	BF	0,06±0,00 ^a	0,04±0,01 ^a	0,03±0,01 ^{a,1}	0,12±0,05 ^{b,1}	0,02±0,01 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}
		SM	0,05±0,01 ^a	0,04±0,01 ^a	0,13±0,00 ^{b,2}	0,29±0,01 ^{c,2}	0,04±0,01 ^a	0,04±0,01 ^{a,2}

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*, MW-molekulska masa u kDa, ^{a-e} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje (p<0,05; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; p<0,05) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje) * Imenovanje dobivenih proteinskih vrpca provedeno je temeljem usporedbe MW dobivenih vrpca s imenima i MW proteina iz literature (Larrea i sur, 2006; Théron i sur, 2011; Bermúdez i sur, 2014b).

4.2.2.2. Profil miofibrilarnih proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

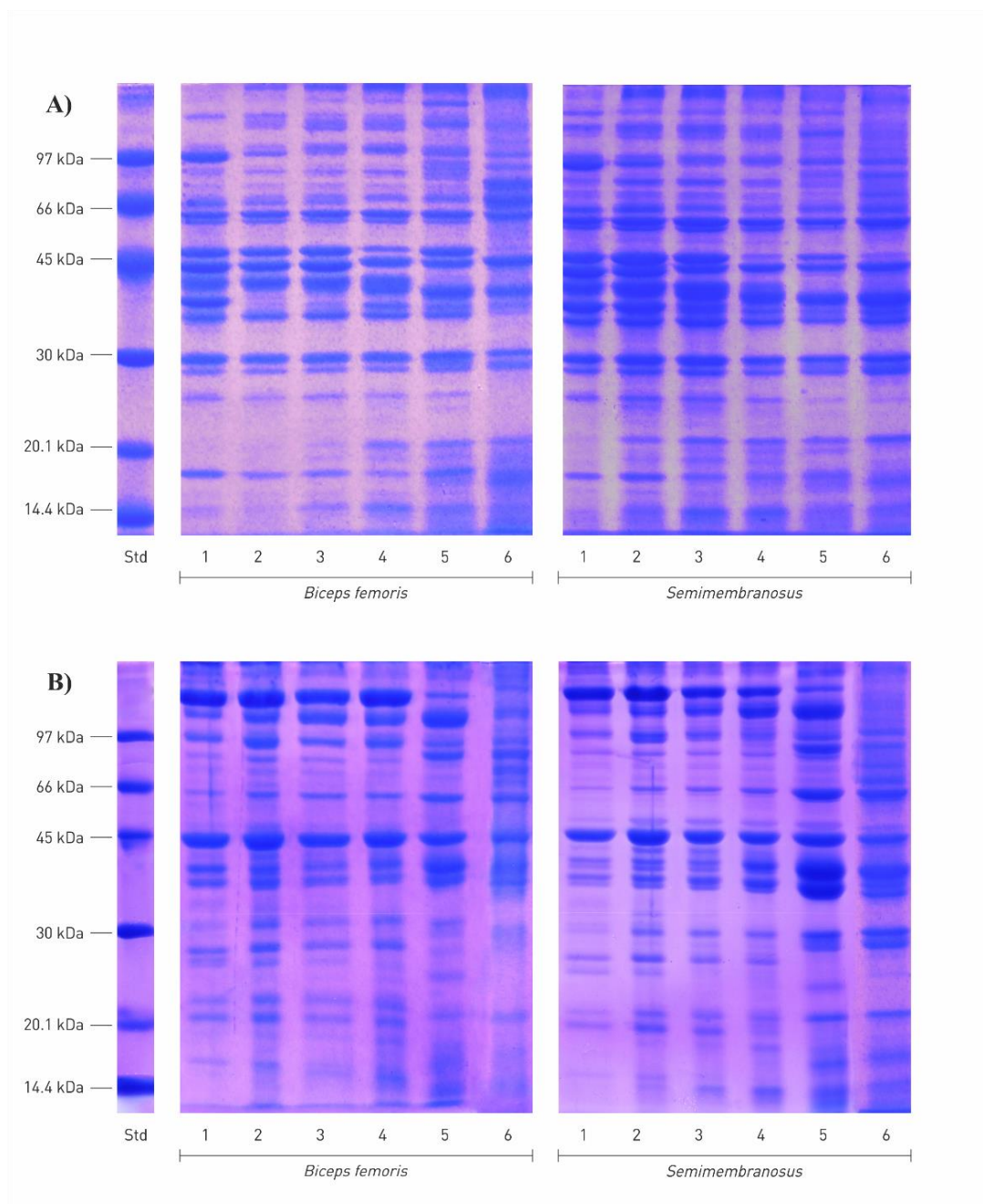
Tablica 12. Relativni intenziteti miofibrilarnih proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

<i>Proteinska vrpca*</i>	<i>MW (kDa)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Vrpca 130 kDa	130,0	BF	1,60 $\pm$ 0,04 ^{c,2}	1,73 $\pm$ 0,05 ^{c,2}	1,66 $\pm$ 0,01 ^{c,2}	1,89 $\pm$ 0,02 ^{d,2}	0,65 $\pm$ 0,04 ^{b,2}	0,10 $\pm$ 0,00 ^a
		SM	1,22 $\pm$ 0,01 ^{e,1}	1,51 $\pm$ 0,02 ^{f,1}	1,05 $\pm$ 0,02 ^{d,1}	0,66 $\pm$ 0,02 ^{c,1}	0,46 $\pm$ 0,04 ^{b,1}	0,11 $\pm$ 0,01 ^a
Teški meromiozin	113,0	BF	0,45 $\pm$ 0,01 ^{b,2}	0,32 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,35 $\pm$ 0,02 ^{ab,1}	0,76 $\pm$ 0,00 ^{c,2}	1,45 $\pm$ 0,10 ^{d,2}	0,22 $\pm$ 0,02 ^a
		SM	0,15 $\pm$ 0,02 ^{a,1}	0,33 $\pm$ 0,01 ^{bc}	0,44 $\pm$ 0,03 ^{c,2}	0,61 $\pm$ 0,04 ^{d,1}	1,18 $\pm$ 0,05 ^{e,1}	0,24 $\pm$ 0,02 ^{ab}
α-aktinin	96,7	BF	0,47 $\pm$ 0,03 ^{b,2}	0,67 $\pm$ 0,04 ^{c,2}	0,41 $\pm$ 0,02 ^{b,2}	0,46 $\pm$ 0,07 ^{b,2}	0,08 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,09 $\pm$ 0,00 ^{a,1}
		SM	0,11 $\pm$ 0,01 ^{b,1}	0,16 $\pm$ 0,01 ^{bc,1}	0,14 $\pm$ 0,01 ^{bc,1}	0,07 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,13 $\pm$ 0,01 ^{b,2}	0,19 $\pm$ 0,02 ^{c,2}
Vrpca 91,1 kDa	91,1	BF	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,41 $\pm$ 0,16 ^b	0,13 $\pm$ 0,00 ^{a,2}
		SM	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,52 $\pm$ 0,01 ^c	0,11 $\pm$ 0,01 ^{b,1}
Vrpca 88,9 kDa	88,9	BF	0,08 $\pm$ 0,00 ^a	0,06 $\pm$ 0,02 ^{a,1}	0,11 $\pm$ 0,04 ^a	0,07 $\pm$ 0,03 ^a	0,08 $\pm$ 0,00 ^a	0,53 $\pm$ 0,00 ^{b,2}
		SM	0,10 $\pm$ 0,01 ^a	0,11 $\pm$ 0,00 ^{a,2}	0,08 $\pm$ 0,01 ^a	0,07 $\pm$ 0,01 ^a	0,09 $\pm$ 0,01 ^a	0,41 $\pm$ 0,03 ^{b,1}
Vrpca 72,3 kDa	72,3	BF	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,05 $\pm$ 0,01 ^{a,1}	0,57 $\pm$ 0,02 ^{b,1}
		SM	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,09 $\pm$ 0,01 ^{a,2}	0,68 $\pm$ 0,01 ^{b,2}
Vrpca 65,8 kDa	65,8	BF	0,13 $\pm$ 0,00 ^a	0,18 $\pm$ 0,02 ^{ab,1}	0,22 $\pm$ 0,01 ^{ab,1}	0,28 $\pm$ 0,03 ^{b,1}	0,41 $\pm$ 0,04 ^{c,1}	0,63 $\pm$ 0,00 ^{d,2}
		SM	0,18 $\pm$ 0,03 ^a	0,22 $\pm$ 0,01 ^{a,2}	0,39 $\pm$ 0,01 ^{b,2}	0,37 $\pm$ 0,01 ^{b,2}	0,61 $\pm$ 0,03 ^{c,2}	0,46 $\pm$ 0,03 ^{b,1}
Aktin	43,2	BF	1,93 $\pm$ 0,04 ^{e,2}	1,69 $\pm$ 0,02 ^d	1,97 $\pm$ 0,07 ^{e,2}	1,31 $\pm$ 0,05 ^{c,1}	1,08 $\pm$ 0,02 ^{b,1}	0,88 $\pm$ 0,05 ^a

<i>Proteinska vrpca*</i>	<i>MW (kDa)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
		SM	1,53±0,02 ^{cd,1}	1,64±0,01 ^e	1,49±0,05 ^{c,1}	1,41±0,02 ^{de,2}	1,23±0,02 ^{b,2}	0,93±0,01 ^a
Vrpca 40,0 kDa	40,0	BF	0,37±0,01 ^{b,2}	0,28±0,00 ^{a,2}	0,46±0,02 ^{c,2}	0,93±0,02 ^{d,2}	1,24±0,03 ^{e,1}	0,28±0,00 ^a
		SM	0,12±0,01 ^{ab,1}	0,19±0,02 ^{b,1}	0,09±0,01 ^{a,1}	0,86±0,02 ^{d,1}	1,43±0,02 ^{e,2}	0,27±0,01 ^c
Tropomiozin	37,2	BF	0,32±0,02 ^{a,2}	0,38±0,11 ^{a,2}	0,43±0,06 ^{a,2}	0,96±0,09 ^b	1,09±0,14 ^{b,1}	0,21±0,00 ^{a,2}
		SM	0,21±0,01 ^{a,1}	0,28±0,01 ^{a,1}	0,24±0,01 ^{a,1}	0,87±0,10 ^b	1,51±0,02 ^{c,2}	0,14±0,01 ^{a,1}
Vrpca 31,8 kDa	31,8	BF	0,04±0,01 ^a	0,07±0,02 ^{ab,1}	0,08±0,02 ^{abc,1}	0,07±0,01 ^{ab,1}	0,11±0,00 ^{bc,1}	0,13±0,02 ^c
		SM	0,02±0,01 ^a	0,12±0,01 ^{b,2}	0,14±0,01 ^{b,2}	0,11±0,01 ^{b,2}	0,21±0,01 ^{c,2}	0,15±0,01 ^b
Vrpca 28,1 kDa	28,1	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,08±0,00 ^{b,1}	0,14±0,02 ^c
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,24±0,01 ^{c,2}	0,10±0,02 ^b
MLC 1	27,1	BF	0,48±0,01 ^{d,2}	0,43±0,01 ^{d,2}	0,22±0,10 ^c	0,18±0,01 ^{b,2}	0,01±0,01 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,26±0,03 ^{c,1}	0,32±0,02 ^{c,1}	0,28±0,03 ^c	0,12±0,01 ^{b,1}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Troponin I	25,4	BF	0,19±0,04 ^{b,2}	0,07±0,03 ^a	0,02±0,02 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,10±0,00 ^{c,1}	0,04±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Troponin C	21,8	BF	0,05±0,01 ^a	0,06±0,00 ^{ab,1}	0,06±0,00 ^{ab,1}	0,11±0,01 ^b	0,05±0,02 ^{a,1}	0,03±0,00 ^{a,1}
		SM	0,07±0,01 ^a	0,12±0,01 ^{b,2}	0,11±0,01 ^{b,2}	0,12±0,01 ^b	0,29±0,01 ^{c,2}	0,18±0,01 ^{b,2}
MLC 2	20,7	BF	0,34±0,01 ^{c,2}	0,41±0,02 ^{d,2}	0,22±0,01 ^{b,2}	0,18±0,01 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,19±0,01 ^{c,1}	0,28±0,02 ^{d,1}	0,13±0,02 ^{b,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,01±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a

<i>Proteinska vrpca*</i>	<i>MW (kDa)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Vrpca 17,4 kDa	17,4	BF	0,04±0,01 ^{b,2}	0,03±0,01 ^{ab,2}	0,01±0,01 ^a	0,02±0,01 ^{ab}	0,02±0,01 ^{ab}	0,00±0,00 ^a
		SM	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,01±0,00 ^a	0,03±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a
MLC 3	16,9	BF	0,01±0,01 ^a	0,03±0,01 ^b	0,01±0,00 ^{a,1}	0,03±0,01 ^{b,1}	0,01±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a
		SM	0,02±0,01 ^{abc}	0,01±0,01 ^{ab}	0,04±0,01 ^{bc,2}	0,07±0,01 ^{d,2}	0,04±0,00 ^{cd,2}	0,00±0,00 ^a

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*, MW-molekulska masa u kDa, ^{a-d} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje (p<0,05; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojeke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; p<0,05) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje) * Imenovanje dobivenih proteinskih vrpca provedeno je temeljem usporedbe MW dobivenih vrpca s imenima i MW proteina iz literature ((Larrea i sur, 2006; Théron i sur, 2011; Bermúdez i sur, 2014b).



Slika 26. Elektroforetogrami a) sarkoplazmatskih proteina i b) miofibrilarnih proteina BF i SM tijekom proizvodnje dimljenog pršuta. (1) sirovi but, (2) nakon soljenja, (3) nakon dimljenja, (4) nakon sušenja, (5) nakon zrenja, (6) nakon produljenog zrenja, Std- LMW standardi proteina

4.2.3. Rezultati određivanja sastava aminokiselina i dipeptida tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

U ovom poglavlju prikazani su rezultati određivanja sastava aminokiselina i dipeptida tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.

Tablica 13. Sastav aminokiselina i dipeptida tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

<i>Aminokiselina (mg/100 g s.tv.)*</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
<i>Asparaginska kiselina</i>	BF	16,70 $\pm$ 0,90 ^{a,1}	98,95 $\pm$ 4,55 ^{b,2}	245,01 $\pm$ 4,35 ^{d,2}	126,16 $\pm$ 6,87 ^{bc,2}	172,91 $\pm$ 17,76 ^{c,2}	387,91 $\pm$ 34,62 ^{e,2}
	SM	21,95 $\pm$ 1,44 ^{a,2}	63,08 $\pm$ 1,79 ^{b,1}	222,52 $\pm$ 3,99 ^{d,1}	88,90 $\pm$ 5,77 ^{bc,1}	110,40 $\pm$ 10,40 ^{c,1}	231,58 $\pm$ 16,31 ^{d,1}
<i>Glutaminska kiselina</i>	BF	46,45 $\pm$ 3,32 ^{a,2}	146,54 $\pm$ 3,94 ^{b,2}	124,77 $\pm$ 8,23 ^{b,1}	327,39 $\pm$ 19,63 ^c	649,60 $\pm$ 31,17 ^{d,2}	1045,57 $\pm$ 32,14 ^{e,2}
	SM	28,82 $\pm$ 1,45 ^{a,1}	105,90 $\pm$ 3,30 ^{b,1}	199,91 $\pm$ 4,15 ^{c,2}	332,15 $\pm$ 20,71 ^d	456,15 $\pm$ 31,97 ^{e,1}	602,77 $\pm$ 24,86 ^{f,1}
<i>Serin</i>	BF	4,36 $\pm$ 0,28 ^a	77,00 $\pm$ 3,79 ^{b,2}	155,03 $\pm$ 4,60 ^c	193,18 $\pm$ 11,16 ^d	252,55 $\pm$ 15,28 ^{e,2}	398,30 $\pm$ 27,13 ^{f,2}
	SM	4,33 $\pm$ 0,51 ^a	64,60 $\pm$ 3,68 ^{b,1}	140,47 $\pm$ 5,51 ^c	195,46 $\pm$ 10,80 ^d	173,17 $\pm$ 13,40 ^{cd,1}	234,57 $\pm$ 22,43 ^{e,1}
<i>Asparagin</i>	BF	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	31,63 $\pm$ 1,45 ^{b,2}	53,24 $\pm$ 1,43 ^c	63,58 $\pm$ 9,61 ^c	49,32 $\pm$ 9,22 ^{c,2}	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
	SM	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	22,13 $\pm$ 1,13 ^{b,1}	48,43 $\pm$ 2,10 ^c	61,89 $\pm$ 6,99 ^d	27,12 $\pm$ 5,44 ^{b,1}	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
<i>Glicin</i>	BF	38,07 $\pm$ 2,55 ^{a,1}	65,86 $\pm$ 2,06 ^{a,2}	158,66 $\pm$ 6,20 ^{b,2}	195,65 $\pm$ 5,73 ^c	289,57 $\pm$ 15,51 ^{d,2}	347,09 $\pm$ 18,68 ^{e,2}
	SM	60,02 $\pm$ 2,50 ^{a,2}	60,14 $\pm$ 1,69 ^{a,1}	123,80 $\pm$ 5,77 ^{b,1}	205,52 $\pm$ 7,90 ^c	182,63 $\pm$ 15,57 ^{c,1}	207,34 $\pm$ 9,45 ^{c,1}
<i>Glutamin</i>	BF	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	120,03 $\pm$ 3,24 ^{d,2}	131,30 $\pm$ 6,69 ^d	99,32 $\pm$ 8,21 ^c	32,97 $\pm$ 3,11 ^{b,2}	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
	SM	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	100,90 $\pm$ 5,12 ^{c,1}	127,13 $\pm$ 4,66 ^d	101,74 $\pm$ 8,69 ^c	21,19 $\pm$ 2,76 ^{b,1}	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
<i>β-alanin</i>	BF	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	15,87 $\pm$ 0,87 ^{c,2}	4,74 $\pm$ 0,35 ^{b,1}	24,27 $\pm$ 2,15 ^d	27,61 $\pm$ 2,04 ^{d,2}	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
	SM	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	13,11 $\pm$ 0,64 ^{b,1}	12,59 $\pm$ 0,90 ^{b,2}	27,35 $\pm$ 2,59 ^d	17,90 $\pm$ 1,59 ^{c,1}	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
<i>Taurin</i>	BF	104,35 $\pm$ 4,38 ^{c,2}	92,49 $\pm$ 3,26 ^{bc,2}	85,67 $\pm$ 1,39 ^{bc,2}	84,39 $\pm$ 4,73 ^b	100,11 $\pm$ 3,94 ^{c,2}	0,00 $\pm$ 0,00 ^a

	SM	65,21±2,45 ^{b,1}	65,72±3,48 ^{b,1}	77,08±3,60 ^{bc,1}	91,17±6,08 ^c	65,29±4,23 ^{b,1}	0,00±0,00 ^a
Histidin	BF	9,46±0,92 ^{a,1}	35,52±1,38 ^{b,2}	77,36±3,06 ^{c,2}	157,23±6,84 ^d	226,06±13,14 ^{e,2}	232,70±7,61 ^{e,2}
	SM	32,76±1,18 ^{a,2}	17,42±0,72 ^{a,1}	66,27±2,27 ^{b,1}	153,25±5,88 ^{cd}	170,14±12,34 ^{d,1}	149,83±6,16 ^{c,1}
Treonin	BF	5,16±0,28 ^{a,1}	39,56±2,16 ^{a,2}	155,84±5,31 ^{b,2}	123,97±18,18 ^b	136,99±8,53 ^{b,2}	386,60±19,22 ^{c,2}
	SM	13,38±0,59 ^{a,2}	20,30±1,63 ^{a,1}	107,34±5,83 ^{b,1}	113,52±14,34 ^b	92,16±8,41 ^{b,1}	239,36±15,09 ^{c,1}
Alanin	BF	78,05±4,23 ^{a,1}	98,81±3,66 ^{a,2}	276,60±9,41 ^{b,2}	300,99±13,25 ^b	528,13±27,22 ^{c,2}	703,32±17,45 ^{d,2}
	SM	102,38±1,47 ^{a,2}	87,67±3,65 ^{a,1}	201,75±8,93 ^{b,1}	324,78±12,68 ^c	342,07±24,72 ^{c,1}	400,88±12,64 ^{d,1}
Arginin	BF	119,19±7,23 ^{a,2}	132,99±4,35 ^{a,2}	511,25±10,98 ^d	230,56±23,51 ^b	364,36±32,81 ^c	445,55±25,45 ^{d,2}
	SM	159,73±5,50 ^{a,1}	110,20±3,60 ^{a,1}	483,69±13,38 ^d	249,21±13,49 ^b	293,99±27,26 ^{bc}	322,92±15,73 ^{c,1}
Prolin	BF	29,38±1,40 ^a	36,21±1,96 ^{a,2}	31,73±1,36 ^a	208,97±9,43 ^b	350,96±15,32 ^{c,2}	400,90±19,47 ^{d,2}
	SM	26,87±2,09 ^a	30,51±1,85 ^{a,1}	28,88±2,19 ^a	190,14±11,36 ^b	213,09±17,65 ^{bc,1}	224,94±12,92 ^{c,1}
Tirozin	BF	13,39±0,57 ^{a,2}	54,40±3,09 ^b	107,76±3,78 ^c	170,22±16,39 ^d	173,70±12,70 ^d	256,42±13,32 ^{e,2}
	SM	10,51±0,91 ^{a,1}	53,57±3,00 ^b	114,28±20,15 ^c	176,21±10,77 ^e	146,77±9,55 ^d	180,82±12,19 ^{e,1}
Valin	BF	29,11±1,57 ^{a,1}	94,28±4,23 ^{b,2}	182,18±6,91 ^{c,2}	249,86±12,14 ^d	355,06±17,25 ^{e,2}	526,84±19,82 ^{f,2}
	SM	38,08±1,89 ^{a,2}	57,42±2,87 ^{a,1}	145,05±6,65 ^{b,1}	237,91±12,05 ^c	254,68±17,50 ^{c,1}	331,26±17,57 ^{d,1}
Cistin	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,24±0,00 ^{b,2}
	SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,17±0,02 ^{b,1}
Metionin	BF	20,63±0,83 ^a	35,98±0,88 ^{a,2}	58,09±3,37 ^b	87,37±8,03 ^c	145,01±8,86 ^{d,2}	247,94±8,96 ^{e,2}
	SM	22,32±1,19 ^a	18,89±0,69 ^{a,1}	57,34±2,98 ^b	97,77±6,61 ^c	89,65±11,17 ^{c,1}	155,11±6,45 ^{d,1}
Izoleucin	BF	19,83±1,00 ^a	44,94±1,47 ^{b,2}	113,06±4,18 ^c	195,57±6,96 ^d	266,43±15,79 ^{e,2}	387,64±12,55 ^{f,2}

	SM	20,36±1,41 ^a	31,81±1,24 ^{a,1}	116,27±4,43 ^b	189,43±6,22 ^c	192,10±13,67 ^{c,1}	278,23±16,01 ^{d,1}
Leucin	BF	25,37±0,85 ^{a,1}	83,16±1,70 ^{b,2}	244,85±8,39 ^{c,2}	305,43±12,72 ^d	413,95±25,36 ^{e,2}	658,91±11,88 ^{f,2}
	SM	33,81±1,85 ^{a,2}	57,51±1,32 ^{a,1}	203,64±5,69 ^{b,1}	296,73±10,15 ^c	297,76±20,37 ^{c,1}	452,49±17,85 ^{d,1}
Fenilalanin	BF	19,21±1,45 ^a	61,44±1,69 ^{b,2}	115,31±4,69 ^{c,1}	179,50±7,70 ^d	219,23±15,70 ^{e,2}	366,10±9,41 ^{f,2}
	SM	21,09±1,22 ^a	36,09±1,38 ^{a,1}	139,37±5,04 ^{b,2}	180,78±7,44 ^c	175,90±12,49 ^{c,1}	253,26±7,71 ^{d,1}
Triptofan	BF	25,25±1,60 ^a	23,45±1,06 ^{a,2}	56,27±2,82 ^b	102,69±13,73 ^c	111,29±12,57 ^c	69,09±4,61 ^{b,2}
	SM	23,39±1,51 ^a	15,50±0,88 ^{a,1}	52,33±2,27 ^b	87,65±12,79 ^c	82,32±9,74 ^c	49,20±3,33 ^{b,1}
Ornitin	BF	3,43±0,28 ^{a,1}	3,98±0,25 ^{a,2}	0,00±0,00 ^a	0,88±0,58 ^a	0,81±0,54 ^a	491,53±12,64 ^{b,2}
	SM	4,81±0,47 ^{a,2}	2,34±0,18 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,97±0,65 ^a	0,60±0,40 ^a	329,05±10,00 ^{b,1}
Lizin	BF	28,17±1,50 ^a	112,26±2,82 ^{a,2}	348,91±10,35 ^{b,2}	900,05±27,18 ^c	1240,70±76,73 ^{e,2}	1042,11±16,97 ^{d,2}
	SM	29,31±1,36 ^a	45,71±1,44 ^{a,1}	278,66±9,71 ^{b,1}	946,84±22,98 ^d	922,86±44,21 ^{d,1}	621,45±28,86 ^{c,1}
Σ Aminokiseline	BF	635,58± 18,54 ^{a,1}	1502,74± 20,52 ^{b,2}	3237,61± 107,86 ^{c,2}	4327,22± 155,67 ^d	6107,31± 302,20 ^{e,2}	8394,78± 311,96 ^{f,2}
	SM	719,11± 12,34 ^{a,2}	1081,03± 16,68 ^{a,1}	2946,78± 51,49 ^{b,1}	4349,79± 125,42 ^c	4326,95± 260,92 ^{c,1}	5265,22± 255,55 ^{d,1}
Dipeptid (mg/100 g s. tv.)	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Karnozin	BF	828,34± 13,91 ^{c,1}	879,25± 13,55 ^{c,2}	605,01± 15,64 ^{b,1}	1393,03± 55,89 ^d	1577,23± 84,03 ^{c,2}	171,38± 6,39 ^{a,2}
	SM	953,40± 25,13 ^{c,2}	689,12± 10,75 ^{b,1}	678,53± 14,15 ^{b,2}	1549,04± 62,44 ^e	1294,13± 60,93 ^{d,1}	105,40± 4,28 ^{a,1}

Anserin	BF	44,27±1,08 ^{c,1}	41,60±1,31 ^{bc,2}	37,47±1,60 ^{bc}	33,55±3,00 ^b	59,26±5,04 ^{d,2}	20,40±1,44 ^{a,1}
	SM	51,79±1,69 ^{d,2}	30,38±1,32 ^{b,1}	36,67±1,34 ^{bc}	35,61±2,17 ^{bc}	42,52±6,1 ^{cd,1}	12,91±0,62 ^{a,2}
Σ Dipeptidi	BF	872,61±14,16 ^{c,1}	920,85±13,98 ^{c,2}	642,48±16,56 ^{b,1}	1426,58±54,45 ^d	1636,49±85,25 ^{e,2}	191,78±6,21 ^{a,2}
	SM	1005,19±25,40 ^{c,2}	719,50±11,30 ^{b,1}	715,20±13,97 ^{b,2}	1584,64±63,37 ^e	1336,65±60,81 ^{d,1}	118,31±4,70 ^{a,1}

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*,
^{a-f} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje). *mg/100 g suhe tvari (mg/100 g s.tv.)

4.2.4. Rezultati određivanja sastava masnih kiselina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Tablica 14. Sastav masnih kiselina (% od ukupne masti) tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

<i>Masna kiselina (%)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
C10:0	BF	0,14 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,19 $\pm$ 0,02 ^c	0,18 $\pm$ 0,01 ^{bc}	0,15 $\pm$ 0,00 ^{abc,1}	0,13 $\pm$ 0,00 ^a	0,13 $\pm$ 0,00 ^a
	SM	0,17 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,20 $\pm$ 0,02 ^b	0,20 $\pm$ 0,01 ^b	0,17 $\pm$ 0,01 ^{ab,2}	0,13 $\pm$ 0,00 ^a	0,13 $\pm$ 0,00 ^a
C12:0	BF	0,10 $\pm$ 0,00 ^{ab}	0,14 $\pm$ 0,02 ^c	0,13 $\pm$ 0,00 ^{bc}	0,08 $\pm$ 0,01 ^a	0,09 $\pm$ 0,00 ^{ab}	0,09 $\pm$ 0,00 ^{ab}
	SM	0,11 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,00	0,09 $\pm$ 0,00
C14:0	BF	1,37 $\pm$ 0,03 ^a	1,55 $\pm$ 0,06 ^b	1,81 $\pm$ 0,04 ^c	1,40 $\pm$ 0,02 ^{ab,1}	1,40 $\pm$ 0,02 ^{ab}	1,37 $\pm$ 0,02 ^a
	SM	1,52 $\pm$ 0,07 ^a	1,61 $\pm$ 0,04 ^{ab}	1,74 $\pm$ 0,03 ^b	1,59 $\pm$ 0,03 ^{ab,2}	1,41 $\pm$ 0,03 ^a	1,38 $\pm$ 0,02
C16:0	BF	24,56 $\pm$ 0,23	24,96 $\pm$ 0,43	24,80 $\pm$ 0,22	24,25 $\pm$ 0,21 ¹	24,89 $\pm$ 0,05	24,59 $\pm$ 0,13
	SM	24,94 $\pm$ 0,28 ^{ab}	24,60 $\pm$ 0,84 ^{bc}	25,04 $\pm$ 0,18 ^c	25,04 $\pm$ 0,26 ^{bc,2}	24,49 $\pm$ 0,33 ^a	24,67 $\pm$ 0,21 ^a
C16:1	BF	3,30 $\pm$ 0,16 ^{ab}	3,29 $\pm$ 0,08 ^{ab}	4,31 $\pm$ 0,11 ^c	3,79 $\pm$ 0,13 ^{bc}	3,12 $\pm$ 0,13 ^a	3,60 $\pm$ 0,15 ^{ab}
	SM	3,51 $\pm$ 0,16 ^{ab}	3,44 $\pm$ 0,09 ^{ab}	4,16 $\pm$ 0,11 ^c	3,91 $\pm$ 0,11 ^{bc}	3,28 $\pm$ 0,12 ^a	3,39 $\pm$ 0,12 ^a
C17:0	BF	0,21 $\pm$ 0,02 ^a	0,38 $\pm$ 0,06 ^b	0,24 $\pm$ 0,00 ^a	0,17 $\pm$ 0,01 ^a	0,25 $\pm$ 0,01 ^a	0,17 $\pm$ 0,00 ^{a,1}
	SM	0,21 $\pm$ 0,02 ^a	0,32 $\pm$ 0,03 ^b	0,24 $\pm$ 0,01 ^a	0,20 $\pm$ 0,01 ^a	0,25 $\pm$ 0,0 ^a	0,20 $\pm$ 0,00 ^{a,2}
C17:1	BF	0,22 $\pm$ 0,03 ^a	0,36 $\pm$ 0,05 ^b	0,23 $\pm$ 0,00 ^a	0,18 $\pm$ 0,02 ^a	0,20 $\pm$ 0,0 ^a	0,19 $\pm$ 0,0 ^a
	SM	0,21 $\pm$ 0,03 ^a	0,29 $\pm$ 0,02 ^b	0,23 $\pm$ 0,01 ^a	0,20 $\pm$ 0,01 ^a	0,20 $\pm$ 0,0 ^a	0,22 $\pm$ 0,0 ^a
C18:0	BF	12,51 $\pm$ 0,30 ^b	12,09 $\pm$ 0,1 ^{b,2}	10,49 $\pm$ 0,12 ^a	12,07 $\pm$ 0,34 ^b	12,14 $\pm$ 0,19 ^{ab}	11,77 $\pm$ 0,30 ^b
	SM	12,01 $\pm$ 0,35 ^b	11,50 $\pm$ 0,23 ^{ab,1}	10,71 $\pm$ 0,21 ^a	11,72 $\pm$ 0,29 ^{ab}	11,85 $\pm$ 0,13 ^b	11,70 $\pm$ 0,26 ^{ab}

<i>Masna kiselina (%)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
C18:1t	BF	0,29±0,02 ^{bc}	0,40±0,06 ^{c,2}	0,23±0,01 ^{ab,2}	0,22±0,01 ^{ab,2}	0,13±0,00 ^{a,1}	0,15±0,00 ^a
	SM	0,31±0,01 ^d	0,24±0,00 ^{c,1}	0,19±0,01 ^{bc,1}	0,09±0,03 ^{a,1}	0,14±0,00 ^{ab,2}	0,16±0,00 ^b
C18:1c	BF	47,87±0,34 ^{ab}	48,23±0,57 ^{ab,2}	47,88±0,04 ^{ab}	48,95±0,40 ^{ab,2}	46,87±0,51 ^a	48,11±0,35 ^b
	SM	46,80±0,67	46,20±0,39 ¹	47,02±0,28	47,01±0,57 ¹	46,48±0,56	47,12±0,35
C18:2t	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,11±0,01 ^b	0,13±0,01 ^b
	SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,11±0,00 ^b	0,12±0,00 ^c
C18:2n6	BF	7,28±0,35 ^{ab}	7,69±0,30 ^{ab,1}	7,31±0,18 ^{ab,1}	6,96±0,34 ^a	8,46±0,49 ^b	7,43±0,22 ^{ab,1}
	SM	7,51±0,52 ^a	8,91±0,38 ^{ab,2}	8,23±0,08 ^{ab,2}	7,85±0,39 ^{ab}	9,48±0,52 ^b	8,38±0,29 ^{ab,2}
C18:3n6	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,07±0,01 ^b	0,08±0,01 ^b
	SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,07±0,00 ^b	0,08±0,00 ^c
C18:3n3	BF	0,28±0,01 ^{ab}	0,21±0,04 ^{a,1}	0,28±0,01 ^{ab,1}	0,27±0,02 ^{ab}	0,35±0,02 ^{b,1}	0,36±0,05 ^b
	SM	0,33±0,04 ^a	0,33±0,01 ^{a,2}	0,32±0,00 ^{a,2}	0,31±0,03 ^a	0,40±0,03 ^{b,2}	0,41±0,06 ^b
C20:0	BF	0,20±0,01 ^b	0,20±0,00 ^{b,2}	0,14±0,01 ^{a,2}	0,13±0,03 ^{a,2}	0,19±0,01 ^b	0,20±0,01 ^b
	SM	0,16±0,02 ^b	0,14±0,02 ^{b,1}	0,03±0,02 ^{a,1}	0,04±0,02 ^{a,1}	0,18±0,01 ^b	0,19±0,01 ^b
C20:1	BF	0,71±0,02 ^{ab}	0,83±0,07 ^b	0,59±0,01 ^a	0,63±0,02 ^a	0,65±0,01 ^{a,1}	0,66±0,01 ^a
	SM	0,71±0,02 ^c	0,68±0,02 ^{bc}	0,57±0,01 ^a	0,61±0,03 ^{ab}	0,69±0,01 ^{c,2}	0,70±0,02 ^c
C20:2	BF	0,37±0,02 ^{ab}	0,36±0,03 ^{ab,1}	0,36±0,02 ^{ab}	0,32±0,02 ^a	0,40±0,01 ^b	0,35±0,01 ^{ab,1}

<i>Masna kiselina (%)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
	SM	0,40±0,02	0,44±0,02 ²	0,38±0,01	0,38±0,02	0,45±0,03	0,41±0,01 ²
<i>C20:3n6</i>	BF	0,10±0,02 ^b	0,10±0,03 ^b	0,12±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
	SM	0,06±0,02 ^{abc}	0,13±0,03 ^c	0,09±0,03 ^{bc}	0,02±0,02 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
<i>C20:4n6</i>	BF	0,49±0,06 ^{bc}	0,33±0,06 ^{ab,1}	0,60±0,08 ^c	0,42±0,02 ^{abc,1}	0,33±0,02 ^{ab}	0,22±0,01 ^a
	SM	0,42±0,04 ^a	0,59±0,03 ^{b,2}	0,73±0,03 ^c	0,76±0,08 ^{c,2}	0,33±0,01 ^{ab}	0,24±0,01 ^a
<i>C23:0</i>	BF	0,01±0,01 ^{a,1}	0,07±0,03 ^{a,1}	0,11±0,03 ^{ab,1}	0,00±0,00 ^a	0,21±0,03 ^{b,2}	0,40±0,05 ^c
	SM	0,20±0,07 ^{b,2}	0,23±0,05 ^{bc,2}	0,31±0,01 ^{bc,2}	0,00±0,00 ^a	0,14±0,01 ^{ab,1}	0,41±0,07 ^c
<i>SFA</i>	BF	39,09±0,44 ^{ab}	39,59±0,60 ^b	38,10±0,25 ^a	38,26±0,53 ^{ab}	39,28±0,16 ^{ab}	38,72±0,36 ^{ab}
	SM	39,32±0,33	38,73±0,32	38,10±0,33	38,87±0,48	38,53±0,43	38,77±0,26
<i>MUFA</i>	BF	52,39±0,40 ^{ab}	53,11±0,70 ^{b,2}	53,23±0,11 ^{b,2}	53,77±0,50 ^{b,2}	51,00±0,55 ^a	52,64±0,48 ^{ab}
	SM	51,54±0,69	50,87±0,40 ¹	52,16±0,38 ¹	51,41±0,66 ¹	50,63±0,57	51,59±0,36
<i>PUFA</i>	BF	8,52±0,43 ^{ab}	8,63±0,41 ^{ab,1}	8,67±0,31 ^{ab,1}	7,97±0,37 ^{a,1}	9,72±0,52 ^b	8,56±0,25 ^{ab}
	SM	8,71±0,60 ^a	10,40±0,43 ^{ab,2}	9,74±0,14 ^{ab,2}	9,32±0,49 ^{ab,2}	10,84±0,58 ^b	9,23±0,32 ^{ab}
<i>n-6</i>	BF	7,78±0,39 ^{ab}	7,95±0,34 ^{ab,1}	7,91±0,26 ^{ab,1}	7,38±0,33 ^{a,1}	8,85±0,49 ^b	7,73±0,22 ^{ab,1}
	SM	7,98±0,56 ^a	9,63±0,41 ^{ab,2}	9,05±0,13 ^{ab,2}	8,63±0,45 ^{ab,2}	9,88±0,02 ^b	8,70±0,30 ^{ab,2}
<i>n-3</i>	BF	0,28±0,01 ^{ab}	0,21±0,04 ^{a,1}	0,28±0,01 ^{ab,1}	0,27±0,02 ^{ab}	0,35±0,02 ^{b,1}	0,36±0,05 ^b
	SM	0,33±0,04 ^a	0,33±0,01 ^{ab,2}	0,32±0,00 ^{a,3}	0,31±0,03 ^a	0,40±0,03 ^{b,2}	0,41±0,06 ^b

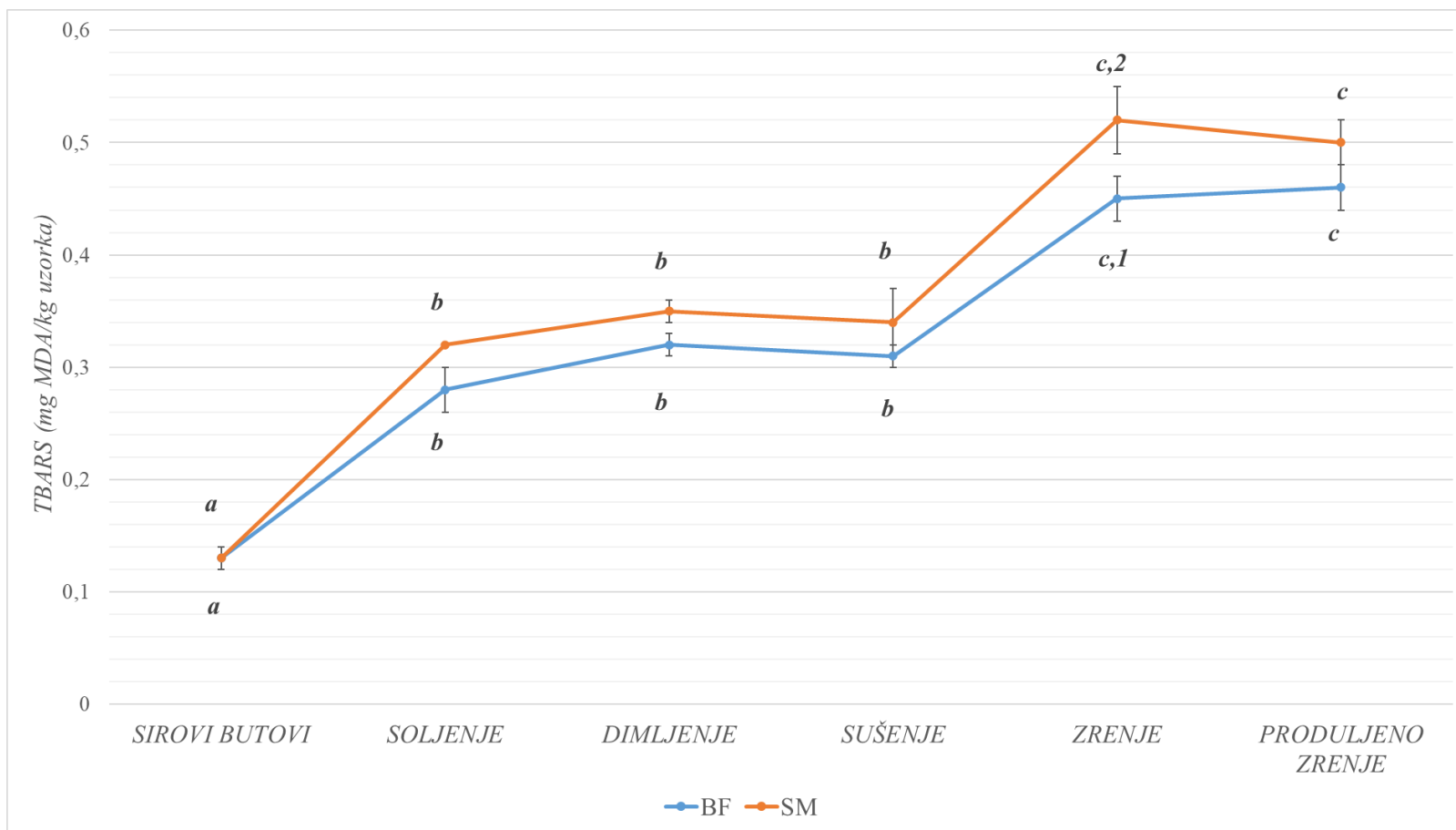
<i>Masna kiselina (%)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
<i>n-6/n-3</i>	BF	27,89±0,65	24,86±4,20	28,30±0,40	27,28±0,46	25,49±0,49 ²	24,54±2,02
	SM	25,33±1,51 ^{ab}	29,35±0,47 ^b	28,46±0,37 ^b	28,4±1,21 ^{ab}	24,70±0,19 ^{b,1}	23,58±1,97 ^a
<i>MUFA/ PUFA</i>	BF	6,31±0,36 ^{ab}	6,33±0,40 ^{ab,2}	6,21±0,23 ^{ab,2}	6,87±0,31 ^{b,2}	5,40±0,31 ^a	6,22±0,21 ^{ab}
	SM	6,14±0,37 ^b	4,97±0,22 ^{a,1}	5,37±0,11 ^{ab,1}	5,72±0,34 ^{ab,1}	4,81±0,30 ^a	5,66±0,22 ^{ab}
<i>PUFA/ SFA</i>	BF	0,22±0,01 ^b	0,22±0,01 ^{b,1}	0,23±0,01 ^{b,1}	0,21±0,01 ^b	0,25±0,01 ^b	0,15±0,01 ^{a,1}
	SM	0,22±0,01 ^a	0,27±0,01 ^{ab,2}	0,26±0,01 ^{ab,2}	0,24±0,01 ^{ab}	0,28±0,02 ^b	0,24±0,01 ^{ab,2}

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*, SFA (engl. Saturated Fatty Acids)- zasićene masne kiseline, MUFA (engl. Monounsaturated Fatty Acids)- mononezasićene masne kiseline, PUFA (engl. Polyunsaturated Fatty Acids)- polinezasićene masne kiseline, n-3 i n-6 omega-3 i omega-6 masne kiseline. ^{a-d} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje (p<0,05; Tukey HSD test) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; p<0,05)

4.3. Oksidacijske promjene tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

U ovom poglavlju prikazani su rezultati određivanja oksidacije masti i proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. Rezultati su prikazani slikama 27 i 28. Rezultati određivanja oksidacijskih promjena do faze zrenja (prvih pet faza proizvodnje) prikazani u ovom poglavlju objavljeni su u radovima Marušić Radovčić i sur. (2021) i Poljanec i sur. (2021a,b).

4.3.1. Rezultati određivanja oksidacije masti tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta



Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*. MDA-malondialdehid ^{a-c} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje)

Slika 27. Stupanj oksidacije masti (mg MDA/kg uzorka) tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

4.3.2. Rezultati određivanja oksidacije proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta



Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*.

^{a-c} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje)

Slika 28. Stupanj oksidacije proteina (nmol karbonila/mg proteina) tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

4.4. Rezultati određivanja profila hlapivih spojeva arome tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

U ovom poglavlju prikazani su rezultati određivanja profila hlapivih spojeva arome tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. Rezultati određivanja profila hlapivih spojeva arome do faze zrenja (prvih pet faza proizvodnje) prikazani u ovom poglavlju objavljeni su u radu Marušić Radovčić i sur. (2021).

Tablica 15. Profil hlapivih spojeva arome (% ukupne površine) u mišićima BF i SM dimljenoga pršuta tijekom šest faza proizvodnje (srednja vrijednost ± standardna pogreška)

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Aldehidi								
3-metilbutanal	645	BF	0,30±0,06 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,03±0,00 ^a	0,07±0,01 ^a	0,42±0,10 ^{bc,2}	0,54±0,03 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,04±0,02 ^{ab}	0,08±0,02 ^{ab}	0,13±0,01 ^{b,1}	0,24±0,04 ^{c,1}
2-metilbutanal	654	BF	0,96±0,20 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,07±0,01 ^a	0,14±0,02 ^a	0,30±0,08 ^{a,2}	0,30±0,05 ^{a,2}
		SM	0,20±0,12 ^{b,1}	0,04±0,03 ^a	0,05±0,00 ^a	0,09±0,05 ^a	0,10±0,01 ^{ab,1}	0,18±0,02 ^{b,1}
Butanal	657	BF	0,52±0,16 ^c	0,33±0,08 ^{bc}	0,19±0,02 ^{ab}	0,30±0,05 ^{abc}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,62±0,13 ^c	0,29±0,05 ^b	0,16±0,02 ^{ab}	0,24±0,02 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Pentanal	713	BF	1,88±0,35 ^{ab}	2,57±0,48 ^b	1,55±0,14 ^{ab}	1,49±0,10 ^{ab}	0,89±0,16 ^{a,2}	1,02±0,13 ^{a,2}
		SM	1,23±0,59 ^{ab}	1,98±0,22 ^c	1,08±0,21 ^{ab}	2,07±0,47 ^c	0,17±0,03 ^{a,1}	0,28±0,04 ^{a,1}
Heksanal	799	BF	44,27±3,18 ^b	54,44±2,49 ^c	44,30±3,06 ^b	39,22±2,53 ^{b,2}	10,90±0,45 ^{a,2}	5,30±0,97 ^a
		SM	48,58±3,16 ^c	55,53±1,18 ^c	41,37±1,40 ^b	7,26±0,67 ^{a,1}	1,62±0,07 ^{a,1}	3,25±0,64 ^a
Heptanal	903	BF	0,30±0,13 ^{a,2}	1,08±0,14 ^{ab}	1,87±0,22 ^{bc}	0,64±0,04 ^{a,1}	3,23±0,08 ^{d,2}	2,27±0,09 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^{a,1}	1,11±0,14 ^{bcd}	1,31±0,19 ^{cd}	1,52±0,27 ^{d,2}	0,49±0,06 ^{ab,2}	0,78±0,13 ^{bc,1}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Benzaldehid	965	BF	1,70±0,16 ^a	1,40±0,08 ^a	3,20±0,84 ^a	1,08±0,12 ^{a,1}	6,50±1,42 ^{b,2}	8,60±0,46 ^{b,2}
		SM	1,62±0,08 ^a	1,44±0,11 ^a	1,51±0,12 ^a	1,59±0,21 ^{a,2}	2,24±0,10 ^{b,1}	3,62±0,40 ^{c,1}
2,4-heptadienal	998	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,26±0,03 ^{b,1}	0,17±0,02 ^{b,1}	0,51±0,05 ^{cd,2}	0,74±0,02 ^{d,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,11±0,03 ^{a,2}	0,68±0,13 ^{c,2}	0,37±0,06 ^{b,2}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,22±0,01 ^{ab,1}
Oktanal	1003	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,98±0,31 ^b	5,24±0,72 ^{d,2}	4,80±0,19 ^{cd,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,59±0,14 ^b	1,53±0,11 ^{b,1}	2,15±0,12 ^{c,1}
Benzen- acetaldehid	1049	BF	1,04±0,42 ^{ab}	0,28±0,07 ^a	0,28±0,02 ^a	0,33±0,11 ^a	1,44±0,15 ^{b,1}	4,23±0,27 ^{c,1}
		SM	0,84±0,19 ^a	0,17±0,05 ^a	0,20±0,04 ^a	0,35±0,06 ^a	4,87±1,66 ^{b,2}	7,36±0,56 ^{c,2}
2-nonenal	1063	BF	0,21±0,10 ^a	0,61±0,06 ^{ab}	0,94±0,07 ^{bc,1}	0,49±0,06 ^{ab,1}	0,33±0,03 ^a	1,18±0,27 ^c
		SM	0,16±0,07 ^a	0,69±0,06 ^{ab}	1,63±0,30 ^{c,2}	0,88±0,08 ^{b,2}	0,31±0,02 ^a	0,70±0,06 ^{ab}
Nonanal	1105	BF	3,27±0,40 ^a	2,71±0,23 ^a	3,88±0,35 ^{ab}	3,40±0,43 ^{a,1}	5,31±0,35 ^{bc,2}	6,26±0,48 ^{c,2}
		SM	3,79±0,41 ^a	2,90±0,29 ^a	4,01±0,37 ^{ab}	5,54±0,67 ^{b,2}	3,23±0,14 ^{a,1}	4,46±0,24 ^{ab,1}
Dekanal	1207	BF	0,00±0,00 ^a	0,32±0,05 ^{bc,2}	0,27±0,03 ^{bc,1}	0,42±0,07 ^{c,1}	0,21±0,01 ^b	0,41±0,03 ^c
		SM	0,00±0,00 ^a	0,18±0,02 ^{ab,1}	0,61±0,12 ^{b,2}	0,65±0,04 ^{b,2}	0,22±0,01 ^{bc}	0,39±0,02 ^c
2,4-nonadienal	1213	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,01±0,02 ^{b,1}	0,00±0,00 ^a	0,30±0,03 ^{c,2}	0,40±0,03 ^{d,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,04±0,01 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,12±0,02 ^{c,1}	0,22±0,06 ^{d,1}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
2E-dekenal	1284	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,91±0,12 ^b	2,23±0,19 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,82±0,04 ^b	1,08±0,07 ^{c,1}
2,4-dekadienal	1318	BF	0,00±0,00 ^a	0,34±0,06 ^c	0,19±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,34±0,04 ^{c,1}	0,76±0,02 ^{d,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,24±0,04 ^a	0,21±0,03 ^a	0,00±0,00 ^a	1,94±0,18 ^{b,2}	0,25±0,02 ^{a,1}
Tetradekanal	1613	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,26±0,02 ^{b,2}	0,35±0,05 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,13±0,03 ^{ab,1}	0,21±0,09 ^{b,1}
Pentadekanal	1716	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,23±0,02 ^b	0,51±0,01 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,17±0,03 ^b	0,26±0,03 ^{c,1}
Heksadekanal	1818	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,73±0,07 ^{b,2}	1,08±0,08 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,49±0,08 ^{b,2}	0,78±0,02 ^{c,1}
9-oktadekanal	1998	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,24±0,03 ^b	0,43±0,03 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,17±0,02 ^b	0,32±0,02 ^{c,1}
Ukupni aldehidi		BF	54,44±3,32^{cd}	64,09±2,53^d	57,11±2,45^{cd}	49,72±2,66^{bc,2}	38,29±2,24^{a,2}	41,41±1,26^{ab,2}
		SM	58,04±3,35^c	64,68±1,43^d	52,90±1,32^c	22,22±0,89^{ab,1}	18,74±0,58^{a,1}	26,73±1,07^{b,1}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Alkoholi								
2-propen-1-ol	625	BF	0,89±0,21 ^{b,2}	0,27±0,05 ^a	0,13±0,02 ^{a,1}	1,08±0,23 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,41±0,05 ^{cd,1}	0,28±0,06 ^{bc}	0,24±0,03 ^{b,2}	0,48±0,05 ^{d,1}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
1-penten-3-ol	706	BF	0,00±0,00 ^a	0,24±0,04 ^c	0,13±0,03 ^{abc}	0,25±0,04 ^{c,1}	0,16±0,02 ^{bc,2}	0,09±0,03 ^{ab,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,20±0,05 ^b	0,12±0,02 ^b	0,74±0,00 ^{c,2}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^{a,1}
3-buten-1-ol	739	BF	1,65±0,24 ^{b,2}	0,10±0,05 ^{a,1}	0,10±0,02 ^a	0,22±0,04 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,74±0,14 ^{c,1}	0,30±0,05 ^{b,2}	0,08±0,03 ^{ab}	0,16±0,03 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
3-metil-1-butanol	742	BF	0,32±0,14 ^b	0,02±0,01 ^a	0,13±0,01 ^{ab,1}	0,35±0,05 ^b	0,00±0,00 ^a	0,19±0,08 ^{ab,2}
		SM	0,09±0,08 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	0,19±0,03 ^{b,2}	0,40±0,07 ^c	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}
1-pentanol	770	BF	0,00±0,00 ^{a,1}	3,40±0,34 ^{d,1}	2,76±0,12 ^{cd,2}	2,11±0,38 ^{bc,2}	1,48±0,34 ^{b,2}	1,70±0,14 ^{bc,2}
		SM	5,34±0,72 ^{b,2}	5,44±0,65 ^{b,2}	1,71±0,24 ^{a,1}	1,17±0,21 ^{a,1}	0,54±0,03 ^{a,1}	0,88±0,15 ^{a,1}
3-metil-2-buten-1-ol	778	BF	2,30±0,43 ^c	0,18±0,06 ^a	0,24±0,03 ^{ab}	0,26±0,04 ^{ab}	0,83±0,15 ^{ab,2}	0,97±0,13 ^{b,2}
		SM	2,15±0,29 ^b	0,27±0,10 ^a	0,32±0,05 ^a	0,20±0,04 ^a	0,14±0,01 ^{a,1}	0,35±0,02 ^{a,1}
2-furanmetanol	859	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,24±0,03 ^{a,1}	0,50±0,00 ^{a,1}	3,21±0,30 ^{c,2}	1,31±0,16 ^b
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,54±0,14 ^{ab,2}	2,30±0,63 ^{c,2}	1,46±0,12 ^{bc,1}	1,34±0,15 ^{bc}
1-heksanol	872	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,98±0,13 ^{c,2}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,42±0,05 ^{b,2}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,44±0,15 ^{b,1}	0,20±0,01 ^{ab,2}	0,20±0,04 ^{ab,1}
1-heptanol	979	BF	0,91±0,10 ^{ab,2}	0,45±0,03 ^a	0,67±0,04 ^{a,2}	0,49±0,08 ^a	1,33±0,21 ^{bc,2}	1,75±0,20 ^{c,2}
		SM	0,40±0,13 ^{ab,1}	0,44±0,04 ^{ab}	0,42±0,09 ^{ab,1}	0,44±0,06 ^{ab}	0,21±0,03 ^{a,1}	0,66±0,05 ^{b,1}
1-okten-3-ol	986	BF	4,19±0,36 ^{a,1}	8,88±0,81 ^b	8,73±0,43 ^{b,2}	5,19±0,39 ^{a,2}	5,31±0,59 ^{a,2}	5,81±0,45 ^{a,2}
		SM	5,40±0,33 ^{c,2}	7,18±0,37 ^c	6,86±0,35 ^{c,1}	2,51±0,21 ^{ab,1}	1,71±0,15 ^{a,1}	3,08±0,42 ^{b,1}
2-etillheksanol	1035	BF	1,15±0,28 ^b	0,31±0,03 ^{ab,2}	0,00±0,00 ^{a,1}	1,17±0,06 ^{b,2}	0,30±0,07 ^{ab,2}	2,53±0,55 ^{c,2}
		SM	0,72±0,30 ^{bc}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,16±0,01 ^{ab,2}	0,65±0,07 ^{bc,1}	0,14±0,01 ^{ab,1}	0,94±0,18 ^{c,1}
Benzilalkohol	1037	BF	0,95±0,27 ^b	0,30±0,07 ^a	0,30±0,03 ^a	0,35±0,05 ^a	0,55±0,03 ^{ab,2}	0,78±0,04 ^{ab,2}
		SM	1,05±0,47 ^b	0,17±0,02 ^a	0,46±0,07 ^{ab}	0,33±0,03 ^{ab}	0,24±0,01 ^{ab,1}	0,35±0,03 ^{ab,1}
3-okten-1-ol	1073	BF	0,00±0,00 ^a	0,84±0,10 ^c	0,92±0,05 ^{c,2}	0,45±0,03 ^{b,1}	0,74±0,14 ^{bc,2}	0,90±0,05 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,71±0,03 ^{bc}	0,66±0,09 ^{bc,1}	1,03±0,23 ^{c,2}	0,41±0,04 ^{b,1}	0,71±0,06 ^{bc,1}
1-oktanol	1076	BF	7,62±0,82 ^{c,2}	1,26±0,10 ^a	1,56±0,19 ^{a,1}	1,35±0,26 ^a	2,88±0,42 ^{ab,2}	3,45±0,40 ^b
		SM	4,94±0,26 ^{d,1}	1,42±0,11 ^{ab}	2,03±0,11 ^{bc,2}	1,42±0,09 ^{ab}	1,01±0,07 ^{a,1}	2,65±0,40 ^c
Feniletilalkohol	1113	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,12±0,01 ^a	0,11±0,01 ^a	0,96±0,12 ^{b,2}	1,37±0,80 ^{b,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,14±0,02 ^b	0,11±0,01 ^{ab}	0,38±0,06 ^{c,1}	0,11±0,02 ^{b,1}
1-undekanol	1174	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,09±0,02 ^{b,1}	0,07±0,00 ^{b,1}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a

<i>Hlapivi spoj</i> <i>(% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,18±0,02 ^{b,2}	0,19±0,03 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Ukupni alkoholi		BF	19,97±1,62 ^{bc}	16,25±0,98 ^{ab}	16,13±0,60 ^{ab,2}	14,91±0,53 ^{a,2}	17,75±0,90 ^{abc,2}	21,27±0,88 ^{c,2}
		SM	21,23±1,13 ^d	16,42±0,71 ^c	14,12±0,64 ^{bc,1}	12,56±0,72 ^{b,1}	6,46±0,10 ^{a,1}	11,27±0,59 ^{b,1}
Ketoni								
2-butanon	673	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,26±0,06 ^b	0,00±0,00 ^a	0,16±0,05 ^{b,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,87±0,15 ^{c,2}	0,28±0,07 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}
2-heptanon	893	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,31±0,04 ^{ab,2}	0,94±0,21 ^{c,2}	0,89±0,17 ^{bc,1}	1,03±0,23 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,14±0,04 ^{ab,2}	0,18±0,05 ^{b,1}	0,18±0,06 ^{b,1}	0,20±0,02 ^{b,2}	0,18±0,01 ^{b,1}
2-metil-2-ciklopenten-1-on	905	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,31±0,04 ^{b,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,43±0,08 ^{b,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,01±0,34 ^{b,2}	1,64±0,15 ^{b,2}	0,29±0,03 ^{a,2}	1,09±0,12 ^{ab,2}
3-metil-2-ciklopenten-1-on	970	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,92±0,09 ^{b,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,35±0,05 ^{b,1}
1-okten-3-on	984	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,29±0,02 ^{a,1}	0,41±0,07 ^{a,2}	1,48±0,46 ^{b,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,32±0,04 ^{a,2}	1,29±0,39 ^{b,2}	0,21±0,02 ^{a,1}	0,41±0,05 ^{a,1}
2,5-oktanedion	990	BF	4,56±0,48 ^b	6,67±0,62 ^{cd}	8,04±0,34 ^{d,2}	5,36±0,53 ^{bc}	1,27±0,13 ^{a,1}	1,76±0,15 ^{a,1}
		SM	5,58±0,53 ^{abc}	6,89±0,46 ^c	6,32±0,41 ^{bc,1}	4,38±0,86 ^{ab}	3,88±0,25 ^{a,2}	3,97±0,47 ^{a,2}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
3,5-dimetil- 2(5H)-furanon	1001	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,69±0,09 ^{b,2}	0,80±0,09 ^{b,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,46±0,02 ^{b,1}	0,42±0,02 ^{b,1}
3,4-dimetil-2- ciklopenten-1-on	1022	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,32±0,04 ^b	0,35±0,05 ^b
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,27±0,02 ^b	0,45±0,04 ^c
2,3-dimetil-2- ciklopenten-1-on	1040	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,65±0,07 ^{b,1}	1,96±0,17 ^{c,2}	2,36±0,24 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	2,64±0,44 ^{d,2}	2,43±0,38 ^{cd,2}	1,14±0,07 ^{b,1}	1,57±0,17 ^{bc,1}
3-okten-2-on	1044	BF	0,00±0,00 ^a	0,13±0,04 ^{ab}	0,15±0,01 ^{abc,1}	0,24±0,04 ^{bcd,2}	0,32±0,04 ^{cd}	0,40±0,09 ^{d,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,09±0,02 ^b	0,23±0,03 ^{cd,2}	0,15±0,02 ^{bc,1}	0,27±0,01 ^d	0,19±0,01 ^{c,1}
2-nonanon	1094	BF	0,22±0,07 ^b	0,18±0,02 ^{ab}	0,09±0,01 ^{ab,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	1,17±0,08 ^{d,2}	0,48±0,05 ^{c,2}
		SM	0,24±0,10 ^{ab}	0,14±0,03 ^a	1,27±0,27 ^{c,2}	0,74±0,11 ^{bc,2}	0,86±0,04 ^{c,1}	0,00±0,00 ^{a,1}
3-etil-2-hidroksi- 2-ciklopenten-1- on	1111	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,32±0,03 ^c	0,19±0,03 ^b
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,35±0,02 ^c	0,22±0,02 ^b
1-cikloheksil-1- propanon	1125	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,14±0,01 ^{b,1}	0,00±0,00 ^a
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,22±0,01 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a
Ukupni ketoni		BF	4,78±0,47^a	6,98±0,64^{ab}	8,59±0,37^{bc,1}	8,05±0,55^{b,1}	7,42±0,42^b	10,36±0,70^c
		SM	5,82±0,51^a	7,27±0,46^a	12,85±1,22^{c,2}	11,09±1,04^{bc,2}	8,08±0,13^{ab}	8,85±0,57^{ab}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Aromatski ugljikovodici								
Benzen	691	BF	0,45±0,28 ^a	0,14±0,01 ^a	0,13±0,01 ^a	2,33±0,12 ^b	0,28±0,04 ^{a,2}	0,25±0,04 ^a
		SM	0,10±0,07 ^a	0,21±0,04 ^a	0,10±0,02 ^a	2,55±0,63 ^b	0,10±0,00 ^{a,1}	0,18±0,06 ^a
1-metil-2-propil- cikloheksan	789	BF	0,00±0,00 ^a	0,36±0,05 ^b	0,10±0,02 ^{a,1}	0,34±0,08 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,00±0,00 ^a	0,33±0,06 ^b	0,38±0,08 ^{b,2}	0,48±0,10 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
1,4-dimetil- benzen (p-ksilene)	874	BF	0,00±0,00 ^a	0,63±0,03 ^{b,1}	1,25±0,16 ^{c,2}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,06±0,02 ^{a,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	1,27±0,26 ^{b,2}	0,57±0,07 ^{ab,1}	0,68±0,31 ^{ab,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}
Metoksi- feniloksim	918	BF	6,24±0,81 ^{b,2}	0,37±0,05 ^{a,2}	0,23±0,09 ^{a,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,73±0,08 ^{a,2}
		SM	0,67±0,32 ^{ab,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,71±0,18 ^{b,2}	0,45±0,19 ^{ab,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}
2,5-dimetilfuran	971	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,39±0,04 ^{b,1}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,10±0,12 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
1,3,5-trimetil- benzen	973	BF	1,07±0,19 ^c	0,16±0,02 ^a	0,19±0,02 ^a	0,82±0,01 ^{bc,2}	0,36±0,04 ^{ab,1}	1,01±0,28 ^{c,2}
		SM	0,72±0,15 ^b	0,21±0,04 ^a	0,32±0,06 ^a	0,31±0,04 ^{a,1}	0,47±0,01 ^{ab,2}	0,46±0,04 ^{ab,1}
2-metoksi-3- metilpirazin	1133	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,50±0,06 ^b
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,39±0,04 ^b
	1145	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,11±0,02 ^{b,2}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
1,2- dimetoksibenzen		SM	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹
1,4- dimetoksibenzen	1179	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,34±0,03 ^{b,2}	0,06±0,01 ^a
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,60±0,01 ^{c,2}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,10±0,02 ^b
2,3- dimetoksitoluen	1275	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,15±0,03 ^{b,1}	0,18±0,04 ^{b,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,48±0,10 ^{c,2}	1,04±0,18 ^{b,2}
1,2,3-trimetoksi- 5-metilbenzen	1406	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,41±0,06 ^{b,2}
Ukupni aromatski ugljikovodici		BF	7,76±0,77 ^{d,2}	1,67±0,10 ^{ab}	1,90±0,15 ^{ab}	3,89±0,20 ^{c,1}	1,13±0,07 ^{a,2}	2,91±0,20 ^{bc}
		SM	1,49±0,24 ^{a,1}	2,02±0,25 ^a	2,08±0,19 ^a	6,16±0,87 ^{b,2}	2,04±0,03 ^{a,1}	2,58±0,25 ^a
Esteri								
Metil ester butanoične kiseline	747	BF	1,49±0,21 ^c	0,32±0,07 ^{a,1}	0,38±0,06 ^{a,1}	0,94±0,11 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	1,20±0,18 ^b	1,02±0,32 ^{b,2}	1,01±0,19 ^{b,2}	0,24±0,03 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Etilheksanoat	1004	BF	3,15±0,81 ^{c,2}	1,20±0,07 ^{ab}	2,29±0,27 ^{bc,2}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,35±0,05 ^{a,2}	2,60±0,22 ^{bc,2}
		SM	1,16±0,21 ^{b,1}	1,38±0,12 ^b	1,62±0,16 ^{b,1}	0,43±0,13 ^{a,2}	0,12±0,04 ^{a,1}	0,52±0,06 ^{a,1}
Etiloktanoat	1199	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,26±0,02 ^{b,2}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
		SM	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹
Izoheksil heksanoat	1345	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,32±0,12 ^b	0,63±0,06 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,23±0,02 ^b	0,36±0,03 ^{c,1}
Butil benzoat	1346	BF	0,24±0,09 ^{b,2}	0,45±0,06 ^{bc}	0,39±0,05 ^{bc,2}	0,00±0,00 ^a	0,32±0,06 ^{bc,2}	0,53±0,03 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^{a,1}	0,46±0,08 ^c	0,22±0,03 ^{b,1}	0,00±0,00 ^a	0,13±0,02 ^{ab,1}	0,24±0,02 ^{b,1}
Butil butanoat	1375	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,26±0,03 ^{b,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,11±0,02 ^{b,1}
Ukupni esteri		BF	4,88±0,80^{d,2}	1,98±0,09^{ab,1}	3,06±0,32^{bc}	0,94±0,11^a	0,99±0,18^{a,2}	4,28±0,28^{cd,2}
		SM	2,35±0,33^{b,1}	2,87±0,25^{b,2}	2,86±0,10^b	0,66±0,13^a	0,47±0,01^{a,1}	1,23±0,06^{ab,1}
Alifatski ugljkovodici								
3,3,4-trimetil heptan	753	BF	0,53±0,14 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,56±0,26 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,31±0,06 ^{ab,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Heksan	757	BF	0,91±0,26 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,83±0,34 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
4-metil-2-penten	761	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,60±0,11 ^{b,2}
		SM	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
3,4-dimetil-2,4-heksadien	919	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,40±0,04 ^{b,2}
1-tridecen	952	BF	0,00±0,00 ^a	0,12±0,02 ^{b,2}	0,11±0,02 ^b	0,12±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,13±0,02 ^b	0,14±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
3-etil-2-metil-1,3-heksadien	1034	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,64±0,07 ^{b,2}	0,82±0,01 ^{c,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,09±0,01 ^{b,1}	0,26±0,03 ^{c,1}
Ukupni alifatski ugljikovodici		BF	1,44±0,37 ^b	0,12±0,02 ^{a,2}	0,11±0,02 ^a	0,12±0,03 ^{a,1}	0,64±0,07 ^{a,2}	1,41±0,11 ^{b,2}
		SM	1,39±0,45 ^b	0,00±0,00 ^{a,1}	0,13±0,02 ^a	0,45±0,07 ^{a,2}	0,09±0,01 ^{a,1}	0,66±0,06 ^{ab,1}
Fenoli								
2-metilfenol	1061	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	2,07±0,36 ^{b,1}	2,71±0,08 ^{c,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	4,58±0,26 ^{b,2}	6,05±0,23 ^{d,2}	5,32±0,24 ^{c,2}
4-metilfenol	1080	BF	0,00±0,00 ^a	0,64±0,11 ^{a,2}	0,87±0,17 ^a	0,83±0,09 ^{a,1}	5,13±0,54 ^{b,1}	5,81±0,19 ^{c,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,30±0,04 ^{a,1}	1,25±0,15 ^a	5,87±0,57 ^{b,2}	7,22±0,25 ^{c,2}	7,25±0,38 ^{c,2}
2-metoksifenol	1090	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,98±0,12 ^{ab,1}	2,08±0,09 ^{b,1}	9,32±0,85 ^c	10,21±0,30 ^{c,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	8,28±0,62 ^{b,2}	8,26±0,11 ^{b,2}	11,08±0,12 ^c	13,05±0,61 ^{d,2}
4-metoksifenol	1098	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,38±0,03 ^b	0,30±0,04 ^b

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,54±0,09 ^{b,2}	0,70±0,13 ^b	0,42±0,02 ^b	0,45±0,06 ^b
2-etilfenol	1140	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,18±0,02 ^{c,1}	0,12±0,02 ^{b,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,33±0,07 ^{b,2}	0,68±0,04 ^{c,2}	0,37±0,05 ^{b,2}
2,5-dimetilfenol (2,5-ksilenol)	1151	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,33±0,06 ^{b,1}	0,78±0,17 ^{c,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	2,85±0,20 ^{b,2}	2,20±0,23 ^{c,2}
2,6- dimetilfenol	1153	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹	0,00±0,00 ¹	0,00±0,00	0,00±0,00
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,26±0,05 ^{b,2}	1,17±0,10 ^{c,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
3-etilfenol	1169	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,43±0,07 ^{c,1}	0,24±0,03 ^{b,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,29±0,05 ^{b,2}	0,72±0,04 ^{d,2}	0,46±0,03 ^{c,2}
3,5-dimetilfenol	1172	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,12±0,01 ^{a,1}	0,48±0,04 ^{b,1}	0,49±0,07 ^{b,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,21±0,03 ^{a,2}	0,54±0,6 ^{b,2}	1,12±0,03 ^{c,2}	1,66±0,15 ^{d,2}
2-metoksi-4- metilfenol	1193	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,88±0,25 ^{b,1}	1,27±0,07 ^{c,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,43±0,49 ^{b,2}	0,25±0,03 ^{a,2}	2,25±0,16 ^{b,2}	4,25±0,49 ²
2,3,5-trimetilfenol	1201	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹	0,00±0,00 ¹
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,35±0,04 ^{b,2}	0,13±0,03 ^{ab,2}
2,4,5-trimetilfenol	1268	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹	0,00±0,00

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,40±0,04 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a
2,4,6-trimetilfenol	1273	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹	0,00±0,00 ¹
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,50±0,08 ^{b,2}	0,14±0,53 ^{a,2}
3,4- dimetoksifenol	1277	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,11±0,02 ^b	0,15±0,04 ^b
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,26±0,02 ^c	0,15±0,01 ^b
4-etil-2-metoksi- fenol (4-etilgvajakol)	1281	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,84±0,12 ^{b,2}	1,54±0,31 ^{c,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,66±0,14 ^{a,2}	2,65±0,27 ^{b,2}	6,57±0,04 ^{d,2}	5,25±0,47 ^{c,2}
4-metoksi-2,3,6- trimetilfenol	1326	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹	0,00±0,00
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,37±0,08 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a
2,6- dimetoksifenol	1353	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,09±0,24 ^{c,1}	0,57±0,08 ^{b,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,71±0,11 ^{b,2}	1,93±0,22 ^{b,2}
Eugenol	1360	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,18±0,04 ^{b,2}

<i>Hlapivi spoj (% ukupne površine)</i>	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
Ukupni fenoli		BF	0,00±0,00^a	0,64±0,11^{a,2}	1,92±0,24^{a,1}	3,03±0,14^{a,1}	23,22±1,97^{b,1}	24,35±0,70^{b,1}
		SM	0,00±0,00^a	0,30±0,04^{a,1}	12,82±1,43^{b,2}	24,65±0,91^{c,2}	52,27±0,37^{d,2}	42,78±1,52^{d,2}
Terpeni								
Mircen	994	BF	0,00±0,00 ^a	1,13±0,09 ^b	0,97±0,08 ^b	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
		SM	0,00±0,00 ^a	1,10±0,08 ^b	1,50±0,28 ^b	1,10±0,20 ^{b,2}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Limonen	1033	BF	0,00±0,00 ^a	0,40±0,07 ^{ab}	0,45±0,05 ^{ab}	0,28±0,04 ^{ab,1}	0,71±0,06 ^{b,2}	0,84±0,36 ^{b,2}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,30±0,07 ^{abc}	0,46±0,08 ^{bc}	0,90±0,16 ^{d,2}	0,53±0,05 ^{c,1}	0,12±0,01 ^{ab,1}
Linalool	1101	BF	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,12±0,02 ^{b,1}	0,12±0,03 ^{b,1}	0,00±0,00 ^{a,1}	0,00±0,00 ^{a,1}
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,00±0,16 ^{c,2}	0,54±0,16 ^{b,2}	0,47±0,02 ^{b,2}	0,41±0,04 ^{b,2}
Ukupno terpeni		BF	0,00±0,00^a	1,54±0,13^c	1,54±0,15^{c,1}	0,40±0,06^{ab,1}	0,71±0,06^{b,1}	0,84±0,36^{bc,2}
		SM	0,00±0,00^a	1,40±0,11^c	2,95±0,40^{d,2}	2,53±0,29^{d,2}	1,00±0,06^{bc,2}	0,54±0,03^{ab,1}
Kiseline								
Oktanoična kiselina	1177	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹
		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,38±0,03 ^{b,2}
4-hidroksi-3- metoksi	1450	BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹

<i>Hlapivi spoj</i> (% ukupne površine)	<i>RI</i>	<i>Mišić</i>	<i>Sirovi butovi</i>	<i>Soljenje</i>	<i>Dimljenje</i>	<i>Sušenje</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
benzoična kiselina (vanilinska kiselina)		SM	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,38±0,07 ^{b,2}
Ukupne kiseline		BF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00¹
		SM	0,00±0,00^a	0,00±0,00^a	0,00±0,00^a	0,00±0,00^a	0,00±0,00^a	0,75±0,07^{b,2}

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*, RI- retencijski indeks ^{a-d} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje ($p < 0,05$; Tukey HSD test) (razlike između faza proizvodnje) ¹⁻² različite brojke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; $p < 0,05$) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje). Identifikacija izdvojenih hlapivih spojeva provedena je primjenom plinskog kromatografa s masenim spektrometrom (MS).

4.5. Rezultati određivanja senzorskih karakteristika dimljenoga pršuta (pršut starosti 12 i 18 mjeseci)

U ovom poglavlju prikazani su rezultati određivanja senzorskih karakteristika dimljenoga pršuta nakon faza zrenja (12 mjeseci starosti) i produljenog zrenja (18 mjeseci starosti). U tablici 16 su prikazani rezultati senzorskih ocjena 18 svojstava dimljenoga pršuta.

Tablica 16. Senzorske karakteristike dimljenoga pršuta nakon faza zrenja i produljenog zrenja (srednja vrijednost $\pm$ standardna pogreška)

<i>Senzorsko svojstvo (cm)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
<i>Intenzitet mirisa</i>	<i>BF</i>	4,60 $\pm$ 0,10 ¹	4,59 $\pm$ 0,68 ¹
	<i>SM</i>	4,97 $\pm$ 0,12 ^{a,2}	5,46 $\pm$ 0,15 ^{b,2}
<i>Po mesu</i>	<i>BF</i>	4,04 $\pm$ 0,10 ¹	3,85 $\pm$ 0,57 ¹
	<i>SM</i>	4,59 $\pm$ 0,12 ²	4,95 $\pm$ 0,16 ²
<i>Dimljeno</i>	<i>BF</i>	3,26 $\pm$ 0,09 ¹	3,02 $\pm$ 0,44 ¹
	<i>SM</i>	4,24 $\pm$ 0,10 ²	4,46 $\pm$ 0,18 ²
<i>Začinjeno</i>	<i>BF</i>	0,02 $\pm$ 0,01	0,00 $\pm$ 0,00
	<i>SM</i>	0,02 $\pm$ 0,01	0,00 $\pm$ 0,00
<i>Biljno</i>	<i>BF</i>	0,03 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,00
	<i>SM</i>	0,06 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,00
<i>Biokemijsko</i>	<i>BF</i>	0,67 $\pm$ 0,08	0,48 $\pm$ 0,07
	<i>SM</i>	0,60 $\pm$ 0,08	0,42 $\pm$ 0,09
<i>Intenzitet boje mišićnog tkiva</i>	<i>BF</i>	4,56 $\pm$ 0,13 ^{a,1}	5,34 $\pm$ 0,79 ^{b,1}
	<i>SM</i>	5,54 $\pm$ 0,12 ^{a,2}	6,70 $\pm$ 0,14 ^{b,2}
<i>Intenzitet boje masnog tkiva</i>	<i>BF</i>	6,72 $\pm$ 0,13 ^b	5,45 $\pm$ 0,79 ^a
	<i>SM</i>	6,48 $\pm$ 0,09 ^b	5,34 $\pm$ 0,23 ^a
<i>Ujednačenost boje</i>	<i>BF</i>	6,03 $\pm$ 0,13 ^b	5,17 $\pm$ 0,76 ^a
	<i>SM</i>	5,74 $\pm$ 0,12 ^b	5,14 $\pm$ 0,23 ^a
<i>Mramorirano</i>	<i>BF</i>	3,50 $\pm$ 0,13 ²	3,77 $\pm$ 0,56

<i>Senzorsko svojstvo (cm)</i>	<i>Mišić</i>	<i>Zrenje</i>	<i>Produljeno zrenje</i>
	<i>SM</i>	1,86±0,06 ^{a,1}	3,28±0,19 ^b
<i>Vlažnost površine</i>	<i>BF</i>	3,42±0,10 ^{b,2}	2,93±0,43 ^{a,2}
	<i>SM</i>	3,05±0,13 ^{b,1}	2,15±0,10 ^{a,1}
<i>Kristali tirozina</i>	<i>BF</i>	0,00±0,00	0,00±0,00 ¹
	<i>SM</i>	0,03±0,02 ^a	0,24±0,11 ^{b,2}
<i>Slano</i>	<i>BF</i>	5,00±0,14 ^{b,2}	4,24±0,63 ^{a,2}
	<i>SM</i>	4,56±0,11 ^{b,1}	3,68±0,19 ^{a,1}
<i>Slatko</i>	<i>BF</i>	1,35±0,10	1,56±0,23
	<i>SM</i>	1,49±0,12	1,43±0,09
<i>Kiselo</i>	<i>BF</i>	1,02±0,11 ²	1,24±0,18
	<i>SM</i>	0,67±0,06 ^{a,1}	1,21±0,10 ^b
<i>Gorko</i>	<i>BF</i>	1,63±0,06 ^a	2,27±0,34 ^{b,1}
	<i>SM</i>	1,60±0,10 ^a	2,92±0,16 ^{b,2}
<i>Tvrdoća</i>	<i>BF</i>	3,25±0,08 ^{b,1}	2,89±0,43 ^{a,1}
	<i>SM</i>	4,74±0,09 ^{a,2}	6,81±0,11 ^{b,2}
<i>Topivost</i>	<i>BF</i>	5,47±0,09 ^{a,2}	6,11±0,90 ^{b,2}
	<i>SM</i>	4,35±0,08 ^{b,1}	2,60±0,12 ^{a,1}

Prikazane vrijednosti predstavljaju srednje vrijednosti rezultata svih analiziranih uzoraka mišića BF i SM (n=10) nakon svake faze proizvodnje. BF- *m. biceps femoris*, SM- *m. semimembranosus*. ^{a,b} Različita slova označavaju statistički značajnu razliku između faza proizvodnje (Studentov t-test; p<0,05) (razlike između faza proizvodnje) ^{1,2} različite brojeke označavaju statistički značajnu razliku između mišića u istoj fazi proizvodnje (Studentov t-test; p<0,05) (razlike između mišića u istoj fazi proizvodnje).

4.6. Rezultati određivanja međuovisnosti fizikalno-kemijskih, proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena i odabranih parametara senzorske kvalitete dimljenoga pršuta

Rezultati određivanja međuovisnosti između fizikalno-kemijskih, proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena i odabranih parametara senzorske kvalitete u BF i SM tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta određeni pomoću Pearsonove analize korelacije prikazani su tablicama 17 i 18.

Tablica 17. Pearsonova analiza korelacije između fizikalno-kemijskih, proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena i odabranih parametara senzorske kvalitete u mišiću BF

DNPH					
TBARS					
Σ dipeptidi					
Σ aminokiseline					
PI (Cd-ninh)					
PI (NPN/N)					
pH					
a _w					
NaCl					
Pepeo					
Proteini					
Mast					
Voda					
Vlaknastost					
Lom					
Otpornost					
Žvkljivost					
Elastičnost					
Gumenost					
Adhezivnost					
Kohezivnost					
Adhezivna sila					
Tvrdoća					
b				--	
a		--		0,138	0,291
L	--	- 0,288*	0,026	-0,130	0,321
	r	r	p	r	p
	L	a		b	

DNP ^H				
TBARS				
Σ dipeptidi				
Σ aminokiseline				
PI (Cd-ninh)				
PI (NPN/N)				
pH				
α _w				
NaCl				
Pepeo				
Proteini				
Mast				
Voda				
Vlaknastost				
Lom				
Opornost				
Žvakljivost				
Elastičnost				
Gumenost				
Adhezivnost				
Kohezivnost				--
Adhezivna sila			--	0,172
Tvrdoća	--		-,291*	0,024
b	0,029	0,824	,582**	0,000
a	-,556**	0,000	,486**	0,000
L	,390**	0,002	-0,021	0,872
	r	p	r	p
	Tvrdoća		Adhezivna sila	
				r
				Kohezivno

DNP _H						
TBARS						
Σ dipeptidi						
Σ aminokiseline						
PI (Cd-ninh)						
PI (NPN/N)						
pH						
α _w						
NaCl						
Pepeo						
Proteini						
Mast						
Voda						
Vlaknastost						
Lom						
Opornost						
Žvakljivost						
Elastičnost						--
Gumenost						,723**
Adhezivnost		--				,557**
Kohezivnost		,476**	0,000			,366**
Adhezivna sila	0,189	0,039	0,768	-0,220	0,091	-,287*
Tvrdoća	0,001	,364**	0,004	,809**	0,000	,569**
b	0,010	,337**	0,009	0,114	0,386	,266*
a	0,114	-0,220	0,091	-,507**	0,000	-,406**
L	0,817	0,072	0,585	,282*	0,029	0,131
	p	r	p	r	p	r
		Adhezivnost		Gumenost		Elastičnost

DNP _H						
TBARS						
Σ dipeptidi						
Σ aminokiseline						
PI (Cd-ninh)						
PI (NPN/N)						
pH						
a _w						
NaCl						
Pepeo						
Proteini						
Mast						
Voda						
Vlaknastost						
Lom						--
Opornost				--		-0,210
Žvakljivost		--		-0,220	0,091	,894**
Elastičnost		,687**	0,000	-,565**	0,000	,696**
Gumenost	0,000	,894**	0,000	-0,198	0,130	,876**
Adhezivnost	0,000	,450**	0,000	-,255*	0,050	,498**
Kohezivnost	0,004	,479**	0,000	-0,092	0,484	,465**
Adhezivna sila	0,026	-,345**	0,007	,272*	0,035	-,343**
Tvrdoća	0,000	,795**	0,000	-0,132	0,315	,824**
b	0,040	-0,025	0,850	-0,152	0,246	-0,004
a	0,001	-,620**	0,000	0,022	0,866	-,562**
L	0,319	,313*	0,015	0,069	0,600	,274*
	p	r	p	r	p	r
		Žvakljivost		Opornost		Lom

DNPH						
TBARS						
Σ dipeptidi						
Σ aminokiseline						
PI (Cd-ninh)						
PI (NPN/N)						
pH						
a _w						
NaCl						
Pepeo						
Proteini						
Mast						--
Voda						-820**
Vlaknastost		--			-288*	0,026
Lom		,268*	0,038		,635**	0,000
Opornost	0,108	0,050	0,707		-377**	0,003
Žvakljivost	0,000	,257*	0,048		,662**	0,000
Elastičnost	0,000	0,146	0,265		,744**	0,000
Gumenost	0,000	,279*	0,031		,682**	0,000
Adhezivnost	0,000	-0,067	0,613		,590**	0,000
Kohezivnost	0,000	0,176	0,179		,431**	0,001
Adhezivna sila	0,007	-0,217	0,095		-0,066	0,616
Tvrdoća	0,000	0,169	0,196		-658**	0,000
b	0,977	-0,159	0,225		,465**	0,000
a	0,000	0,062	0,638		-554**	0,000
L	0,034	-,338**	0,008		,318*	0,013
	p	r	p		r	p
		Vlaknastost			Voda	
						Mast

DNP ^H					
TBARS					
Σ dipeptidi					
Σ aminokiseline					
PI (Cd-ninh)					
PI (NPN/N)					
pH					
α _w					
NaCl					--
Pepeo				--	
Proteini		--		- 831**	0,000
Mast		- 731**	0,000	600**	0,000
Voda	0,000	943**	0,000	- 887**	0,000
Vlaknastost	0,373	- 414**	0,001	0,217	0,096
Lom	0,000	471**	0,000	- 479**	0,000
Opornost	0,017	- 399**	0,002	395**	0,002
Žvakljivost	0,000	493**	0,000	- 493**	0,000
Elastičnost	0,000	664**	0,000	- 683**	0,000
Gumenost	0,000	513**	0,000	- 576**	0,000
Adhezivnost	0,000	519**	0,000	- 660**	0,000
Kohezivnost	0,002	298*	0,021	- 530**	0,000
Adhezivna sila	0,003	-0,075	0,571	-0,233	0,074
Tvrdoća	0,000	509**	0,000	- 493**	0,000
b	0,699	483**	0,000	- 690**	0,000
a	0,000	- 540**	0,000	264*	0,041
L	0,003	257*	0,048	-0,197	0,132
	p	r	p	r	p
	Proteini		Pepeo		NaCl

DNP ^H						
TBARS						
Σ dipeptidi						
Σ aminokiseline						
PI (Cd-ninh)						
PI (NPN/N)						--
pH				--		0,085
a _w		--		-0,130	0,321	,799**
NaCl		-,707**	0,000	0,088	0,504	-,635**
Pepeo	0,000	-,793**	0,000	0,059	0,654	,669**
Proteini	0,000	,906**	0,000	-0,118	0,368	-,716**
Mast	0,000	-,842**	0,000	0,103	0,433	,717**
Voda	0,000	,945**	0,000	-0,170	0,195	,763**
Vlaknastost	0,146	-,259*	0,046	0,146	0,265	,257*
Lom	0,000	,704**	0,000	-0,050	0,703	-,634**
Opornost	0,015	-,338**	0,008	-0,002	0,986	,435**
Žvakljivost	0,001	,714**	0,000	-0,091	0,487	-,627**
Elastičnost	0,000	,735**	0,000	-0,078	0,555	-,613**
Gumenost	0,000	,697**	0,000	-0,095	0,471	-,639**
Adhezivnost	0,000	,560**	0,000	-0,130	0,324	-,492**
Kohezivnost	0,000	,409**	0,001	-0,180	0,169	-,344**
Adhezivna sila	0,004	-0,218	0,094	-0,115	0,383	0,151
Tvrdoća	0,001	-,694**	0,000	0,085	0,520	-,580**
b	0,000	,305*	0,018	-0,114	0,387	-0,223
a	0,226	-,678**	0,000	0,208	0,111	,471**
L	0,224	,344**	0,007	-0,059	0,655	-,350**
	p	r	p	r	p	r
		a _w		pH		PI

DNP _H					
TBARS					
Σ dipeptidi					--
Σ aminokiseline				--	-0,073
PI (Cd-ninh)		--		,829**	0,000
PI (NPN/N)		,744**	0,000	,744**	0,000
pH	0,518	0,206	0,114	0,142	0,280
a _w	0,000	,848**	0,000	,836**	0,000
NaCl	0,000	-,525**	0,000	-,894**	0,000
Pepeo	0,000	,610**	0,000	,853**	0,000
Proteini	0,000	-,820**	0,000	-,839**	0,000
Mast	0,000	,648**	0,000	,792**	0,000
Voda	0,000	,794**	0,000	,920**	0,000
Vlaknastost	0,047	,402**	0,001	0,121	0,358
Lom	0,000	-,501**	0,000	-,745**	0,000
Opornost	0,001	,305*	0,018	0,232	0,074
Žvakljivost	0,000	-,526**	0,000	-,744**	0,000
Elastičnost	0,000	-,545**	0,000	-,719**	0,000
Gumenost	0,000	-,528**	0,000	-,771**	0,000
Adhezivnost	0,000	-,410**	0,001	-,605**	0,000
Kohezivnost	0,007	-0,251	0,053	-,498**	0,000
Adhezivna sila	0,249	0,192	0,142	-0,036	0,786
Tvrdoća	0,000	-,532**	0,000	-,714**	0,000
b	0,086	-0,242	0,063	-,470**	0,000
a	0,000	,642**	0,000	,537**	0,000
L	0,006	-,315*	0,014	-,296*	0,022
	p	r	p	r	p
		PI (Cd-inhidrin)		Σ aminokiseline	
				r	p
				Σ dipeptidi	

DNPH			--	
TBARS		--	0,105	0,423
Σ dipeptidi		-,638**	0,000	,607**
Σ aminokiseline	0,495	,850**	0,000	,569**
PI (Cd-ninh)	0,002	,578**	0,000	,641**
PI (NPN/N)	0,000	,687**	0,000	0,229
pH	0,074	0,086	0,515	-0,106
a _w	0,000	-,744**	0,000	-0,131
NaCl	0,000	,851**	0,000	0,202
Pepeo	0,000	,830**	0,000	0,165
Proteini	0,000	-,722**	0,000	-0,128
Mast	0,000	,640**	0,000	-0,086
Voda	0,000	-,819**	0,000	-0,087
Vlaknastost	0,274	,313*	0,015	0,053
Lom	0,000	-,583**	0,000	-0,036
Opornost	0,443	0,139	0,290	-0,007
Žvakiljivost	0,000	-,528**	0,000	-0,011
Elastičnost	0,000	-,540**	0,000	-0,100
Gumenost	0,000	-,611**	0,000	-0,081
Adhezivnost	0,001	-,618**	0,000	-0,021
Kohezivnost	0,013	-,529**	0,000	-0,033
Adhezivna sila	0,345	-0,225	0,084	-0,121
Tvrdoća	0,000	-,562**	0,000	-0,081
b	0,525	-,480**	0,000	-0,161
a	0,000	,258*	0,047	0,048
L	0,000	-,380**	0,003	-0,107
	p	r	p	r
		TBARS		DNPH

** p < 0,01, * p < 0,05, Dvosmjerni test (engl., 2-tailed test), N=60

DNPH	Tumačenje koeficijenata korelacije: 0,00–0,10 (zanemariva korelacija), 0,10–0,39 (slaba korelacija), 0,40–0,69 (umjerena korelacija), 0,70–0,89 (jaka korelacija), 0,89–1,00 (vrlo jaka korelacija).
TBARS	
Σ dipeptidi	
Σ aminokiseline	
PI (Cd-ninh)	
PI (NPN/N)	
pH	
a _w	
NaCl	
Pepeo	
Proteini	
Mast	
Voda	
Vlaknastost	
Lom	
Opornost	
Žvakljivost	
Elastičnost	
Gumenost	
Adhezivnost	
Kohezivnost	
Adhezivna sila	
Tvrdoća	
b	
a	
L	

Tablica 18. Pearsonova analiza korelacije između fizikalno-kemijskih, proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena i odabranih parametara senzorske kvalitete u mišiću SM

DNPH					
TBARS					
Σdipeptidi					
Σ_aminokiseline					
PI (Cd-ninh)					
PI (NPN/N)					
pH					
aw					
NaCl					
Pepeo					
Proteini					
Mast					
Voda					
Vlaknastost					
Lom					
Otpornost					
Žvkljivost					
Elastičnost					
Gumenost					
Adhezivnost					
Kohezivnost					
Adhezivna sila					
Tvrdoća					
b				--	
a		--		0,099	0,450
L	--	-0,071	0,588	,403**	0,001
	r	r	p	r	p
	L	a		b	

DNP ^H						
TBARS						
Σdipeptidi						
Σ_aminokiseline						
P1 (Cd-ninh)						
P1 (NPN/N)						
pH						
aw						
NaCl						
Pepeo						
Proteini						
Mast						
Voda						
Vlaknastost						
L _{om}	--					
Opornost						
Žvakljivost						
Elastičnost						
Gumenost						
Adhezivnost						
Kohezivnost					--	
Adhezivna sila			--		,574**	0,000
Tvrdoća	--		-0,146	0,266	-,323*	0,012
b	-,559**	0,000	,390**	0,002	,753**	0,000
a	-,259*	0,046	-0,253	0,052	-0,182	0,165
L	-,279*	0,031	,632**	0,000	,559**	0,000
	r	p	r	p	r	p
	Tvrdoća		Adhezivna sila		Kohezivnost	

DNPH						
TBARS						
Σdipeptidi						
Σ_aminokiseline						
P1 (Cd-ninh)						
P1 (NPN/N)						
pH						
aw						
NaCl						
Pepeo						
Proteini						
Mast						
Voda						
Vlaknastost						
L.om						
Opornost						
Žvakljivost						
Elastičnost					--	
Gumenost			--		-0,204 0,117	
Adhezivnost	--		-3,328*	0,011	,682** 0,000	
Kohezivnost	,854**	0,000	-3,309*	0,016	,681** 0,000	
Adhezivna sila	,626**	0,000	-0,153	0,242	0,150 0,253	
Tvrdoća	-3,335**	0,009	,651**	0,000	-0,083 0,530	
b	,671**	0,000	-3,475**	0,000	,520** 0,000	
a	-0,163	0,213	-0,051	0,700	-0,046 0,725	
L	,726**	0,000	-3,351**	0,006	,361** 0,005	
	r	p	r	p	r	p
	Adhezivnost		Gumenost		Elastičnost	

DNP ^H						
TBARS						
Σdipeptidi						
Σ_aminokiseline						
PI (Cd-ninh)						
PI (NPN/N)						
pH						
aw						
NaCl						
Pepeo						
Proteini						
Mast						
Voda						
Vlaknastost						
Lom					--	
Opornost			--			0,185 0,158
Žvakljivost	--		,362**	0,004	,839**	0,000
Elastičnost	-0,091	0,490	0,243	0,061	-0,112	0,393
Gumenost	,803**	0,000	,318*	0,013	,707**	0,000
Adhezivnost	-0,253	0,051	0,109	0,406	-0,222	0,089
Kohezivnost	-0,201	0,123	0,133	0,309	-0,163	0,212
Adhezivna sila	-0,093	0,479	-0,017	0,896	-0,066	0,617
Tvrdoća	,806**	0,000	0,231	0,076	,711**	0,000
b	-,507**	0,000	-0,077	0,561	-,473**	0,000
a	-,305*	0,018	-0,067	0,611	-,376**	0,003
L	-0,243	0,061	-0,101	0,444	-0,229	0,079
	r	p	r	p	r	p
	Žvakljivost		Opornost		Lom	

DNP ^H						
TBARS						
Σdipeptidi						
Σ_aminokiseline						
P1 (Cd-ninh)						
P1 (NPN/N)						
pH						
aw						
NaCl						
Pepeo						
Proteini						
Mast				--		
Voda			--		-,835** 0,000	
Vlaknastost	--		-,395**	0,002	0,212 0,105	
L _{om}	,364**	0,004	-0,149	0,255	0,030 0,821	
Opornost	,321*	0,012	0,072	0,582	-0,131 0,320	
Žvakljivost	,401**	0,001	-0,160	0,222	0,078 0,554	
Elastičnost	0,067	0,609	,675**	0,000	-,786** 0,000	
Gumenost	,645**	0,000	,425**	0,001	,317* 0,014	
Adhezivnost	-0,065	0,622	,795**	0,000	-,674** 0,000	
Kohezivnost	0,018	0,894	,752**	0,000	-,648** 0,000	
Adhezivna sila	-0,153	0,243	,573**	0,000	-,329* 0,010	
Tvrdoća	,323*	0,012	-0,178	0,174	0,105 0,423	
b	-0,074	0,574	,526**	0,000	-,452** 0,000	
a	-0,031	0,815	-,265*	0,041	0,175 0,180	
L	-,377**	0,003	,734**	0,000	-,514** 0,000	
	r	p	r	p	r	p
	Vlaknastost		Voda		Mast	

DNP ^H					
TBARS					
Σdipeptidi					
Σ_aminokiseline					
PI (Cd-ninh)					
PI (NPN/N)					
pH					
aw					
NaCl				--	
Pepeo			--		,971** 0,000
Proteini	--		-,287* 0,026	-,352** 0,006	
Mast	-,660** 0,000	-0,075 0,571	-0,075 0,571	-0,024 0,857	
Voda	,799** 0,000	-0,081 0,538	-0,081 0,538	-0,148 0,258	
Vlaknastost	-,560** 0,000	0,016 0,905	0,016 0,905	0,034 0,795	
Lom	-,340** 0,008	,379** 0,003	,379** 0,003	,375** 0,003	
Opornost	-0,050 0,702	0,052 0,693	0,052 0,693	0,042 0,750	
Žvakljivost	-,370** 0,004	,456** 0,000	,456** 0,000	,438** 0,000	
Elastičnost	,392** 0,002	0,031 0,815	0,031 0,815	-0,024 0,856	
Gumenost	-,572** 0,000	,258* 0,046	,258* 0,046	,259* 0,045	
Adhezivnost	,641** 0,000	-,482** 0,000	-,482** 0,000	-,523** 0,000	
Kohezivnost	,547** 0,000	-,340** 0,008	-,340** 0,008	-,397** 0,002	
Adhezivna sila	,573** 0,000	-,545** 0,000	-,545** 0,000	-,585** 0,000	
Tvrdoća	-,409** 0,001	,528** 0,000	,528** 0,000	,546** 0,000	
b	,400** 0,002	-,380** 0,003	-,380** 0,003	-,430** 0,001	
a	-0,098 0,457	-0,131 0,319	-0,131 0,319	-0,123 0,349	
L	,720** 0,000	-,473** 0,000	-,473** 0,000	-,526** 0,000	
	r	p	r	p	
	Proteini		Pepeo		NaCl

DNPH						
TBARS						
Σdipeptidi						
Σ_aminokiseline						
PI (Cd-ninh)						
PI (NPN/N)					--	
pH			--		0,066	0,614
aw	--		,506**	0,000	,499**	0,000
NaCl	-0,717	0,019	-,276*	0,033	0,093	0,481
Pepeo	-0,118	0,369	-,296*	0,022	0,031	0,811
Proteini	,779**	0,000	-,441**	0,000	-,505**	0,000
Mast	-,696**	0,000	,337**	0,009	,653**	0,000
Voda	,902**	0,000	-,490**	0,000	,627**	0,000
Vlaknastost	-,577**	0,000	,283*	0,029	0,216	0,098
Lom	-0,170	0,193	-0,171	0,190	,279*	0,031
Opornost	-0,047	0,721	-0,024	0,853	-0,133	0,310
Žvakljivost	-0,183	0,162	-,269*	0,038	,277*	0,032
Elastičnost	,497**	0,000	-0,202	0,121	-,614**	0,000
Gumenost	-,481**	0,000	-0,022	0,866	,454**	0,000
Adhezivnost	,655**	0,000	-0,200	0,126	-,559**	0,000
Kohezivnost	,589**	0,000	-,262*	0,043	-,594**	0,000
Adhezivna sila	,512**	0,000	-0,141	0,283	-0,214	0,100
Tvrdoća	-0,166	0,205	-0,198	0,128	-,349**	0,006
b	,362**	0,004	-0,005	0,969	-,561**	0,000
a	-0,241	0,064	0,221	0,090	0,145	0,269
L	,751**	0,000	-,263*	0,043	-,352**	0,006
	r	p	r	p	r	p
	aw		pH		PI (NPN/N)	

DNP ^H						
TBARS						
Σdipeptidi						
Σ_aminokiseline			--		0,010	
PI (Cd-ninh)	--		,842**	0,000	,507** 0,000	
PI (NPN/N)	,543**	0,000	,610**	0,000	,520** 0,000	
pH	,580**	0,000	,573**	0,000	-0,122 0,353	
aw	,767**	0,000	,788**	0,000	,417** 0,001	
NaCl	-0,659	0,005	-0,067	0,610	-,259* 0,045	
Pepeo	-0,112	0,394	-0,136	0,299	-0,183 0,162	
Proteini	-,696**	0,000	-,641**	0,000	,370** 0,004	
Mast	,520**	0,000	,811**	0,000	-,490** 0,000	
Voda	,754**	0,000	,935**	0,000	,527** 0,000	
Vlaknastost	,596**	0,000	0,231	0,076	-0,019 0,888	
Lom	,287*	0,026	-0,080	0,544	-,264* 0,042	
Opornost	0,176	0,179	-0,163	0,215	0,066 0,615	
Žvakljivost	,312*	0,015	-0,101	0,442	-,314* 0,015	
Elastičnost	-,410**	0,001	-,677**	0,000	,484** 0,000	
Gumenost	,538**	0,000	0,201	0,124	-,366** 0,004	
Adhezivnost	-,472**	0,000	-,695**	0,000	,552** 0,000	
Kohezivnost	-,471**	0,000	-,739**	0,000	,742** 0,000	
Adhezivna sila	-,289*	0,025	-,494**	0,000	,346** 0,007	
Tvrdoća	0,226	0,083	-0,039	0,765	-,347** 0,007	
b	-,351**	0,006	-,459**	0,000	,816** 0,000	
a	0,209	0,109	,365**	0,004	-0,056 0,670	
L	-,496**	0,000	-,574**	0,000	,323* 0,012	
	r	p	r	p	r	p
	PI (Cd-ninhidin)		Σ aminokiseline		Σ dipeptidi	

DNPH			--	
TBARS	--		0,061	0,644
Σdipeptidi	-,552**	0,000	,612**	0,000
Σ_aminokiseline	,725**	0,000	,610**	0,000
PI (Cd-ninh)	,474**	0,000	,588**	0,000
PI (NPN/N)	,463**	0,000	,467**	0,004
pH	,357**	0,005	-0,065	0,624
aw	-,741**	0,000	-0,020	0,880
NaCl	,494**	0,002	-0,004	0,973
Pepeo	,322*	0,012	0,007	0,956
Proteini	-,658**	0,000	-0,064	0,625
Mast	,625**	0,000	0,117	0,372
Voda	-,790**	0,000	-0,083	0,527
Vlaknastost	0,242	0,062	0,017	0,897
Lom	0,043	0,743	0,029	0,827
Opornost	-0,070	0,596	-0,052	0,695
Žvakljivost	0,092	0,484	0,106	0,420
Elastičnost	-,503**	0,000	-0,089	0,499
Gumenost	,303*	0,018	0,184	0,159
Adhezivnost	-,743**	0,000	-0,129	0,328
Kohezivnost	-,737**	0,000	-0,175	0,182
Adhezivna sila	-,683**	0,000	-0,060	0,650
Tvrdoća	0,194	0,137	0,096	0,465
b	-,526**	0,000	-0,197	0,132
a	,351**	0,006	0,200	0,126
L	-,635**	0,000	0,033	0,803
	r	p	r	p
	TBARS		DNPH	

** p < 0,01, * p < 0,05, Dvosmjerni test (*engl.*, 2-tailed test), N=60
 Tumačenje koeficijena korelacije: 0,00–0,10 (zanemariva korelacija), 0,10–0,39 (slaba korelacija), 0,40–0,69 (umjerena korelacija), 0,70–0,89 (jaka korelacija), 0,89–1,00 (vrlo jaka korelacija).

5. RASPRAVA

5.1. Fizikalno-kemijski parametri tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

5.1.1. Boja i tekstura tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Za kvalitetu pršuta izrazito su važna svojstva poput boje i teksture jer osim što imaju važnu ulogu prilikom kod potrošača, mogu biti i važan pokazatelj brojnih promjena koje se odvijaju prilikom tehnološkog postupka proizvodnje. Boja pršuta proizvoda ovisi o udjelu vode i masti, koncentraciji mioglobina, ali i različitim vanjskim utjecajima (Tóldra, 2002; Kovačević, 2017).

Određivanje boje provedeno je instrumentalnim mjerenjem vrijednosti koordinata svjetline (L^*), spektra od zelene do crvene boje (a^*) te spektra od plave do žute boje (b^*). U tablici 8 prikazani su rezultati određivanja boje u mišićima BF i SM tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. Parametri L^* , a^* i b^* statistički su se značajno ($p < 0,05$) mijenjali kroz proces u oba mišića, a trend njihovih promjena tijekom 18 mjeseci proizvodnje u skladu je s onima određenima u istraživanjima Celta pršuta (Bermúdez i sur. 2014a; Bermúdez i sur., 2018). Pritom je tijekom proizvodnje došlo do značajnog ($p < 0,05$) pada parametra svjetline (L^*) u mišićima, od 54,02-51,71 u BF i 54,41-46,52 u SM. Parametar L^* je općenito u visokoj pozitivnoj korelaciji s udjelom vode (Bermúdez i sur., 2017). Smanjuje se kroz proizvodnju kao posljedica dehidracije (Andres i sur., 2005a) jer gubitak vode u mišićima dovodi do koncentriranja pigmenata boje i posljedično nižim vrijednostima L^* (Sanabria i sur., 2004). Također, utvrđeno je da L^* vrijednost pada porastom koncentracije soli koja pridonosi oksidaciji mioglobina i posljedično tamnjenju mišićnog tkiva pršuta (Li i sur., 2020a; Costa i sur., 2008). Iz rezultata je vidljivo kako je pad L^* bio izraženiji u SM, što je vjerojatno posljedica jače dehidracije, većih koncentracija soli i jače adhezije komponenata dima, s obzirom na vanjsku lokaciju tog mišića u butu tijekom proizvodnje. Ovisnost parametra L^* i udjela vode i a_w tijekom proizvodnje u SM određen u ovom istraživanju također je utvrđen visokim stupanjem pozitivne korelacije između tih parametara ($p < 0,01$; $r > + 0,70$) (tablica 18).

Vrijednosti a^* kojom se mjeri crvenost mesa blago su, no statistički značajno ($p < 0,05$) porasle tijekom proizvodnje u oba mišića, od 2,96 - 3,83 u BF i 1,77 - 2,01 u SM. Značajno veće ($p < 0,05$) vrijednosti određene su u BF tijekom proizvodnje, kao i u gotovom dimljenom pršutu. Izraženiji pad a^* u SM kroz proizvodnju vjerojatno je povezan s intenzivnijim sušenjem tog mišića budući da je utvrđena negativna korelacija ($p < 0,01$) a^* s udjelom vode i a_w (tablice 17 i 18), a povezan je sa stvaranjem smeđeg pigmenta metmioglobina koji nastaje oksidacijom mioglobina (Sanabria i sur., 2004).

Vrijednosti b^* statistički su značajno ($p < 0,05$) padale kroz proces, od 8,30-5,39 u BF i 8,20-3,96 u SM. Analizom korelacije utvrđena je pozitivna korelacija ($p < 0,01$) parametra b^* s udjelom vode i negativna s udjelom NaCl-a i oksidacije masti u oba mišića (tablice 17 i 18). Stoga se može zaključiti kako je izraženiji pad b^* određen u SM, a posebno nakon faze dimljenja, posljedica viših koncentracija soli i veće oksidacije masti u tom mišiću. Više vrijednosti L^* , a^* i b^* parametara u mišiću BF u usporedbi sa SM nakon 18 mjeseci proizvodnje izmjerene su i u istraživanjima na Celta (Bermúdez i sur., 2014a) i Iberijskom pršutu (Sanabria i sur., 2004; Cilla i sur., 2005). Istraživani mišići Iberijskog i Celta pršuta (Sanabria i sur., 2004; Bermúdez i sur., 2014a) imali su niže vrijednosti svjetline i više vrijednosti crvenosti od onih u ovom istraživanju. Navedene razlike mogu biti posljedica razlika u karakteristikama sirovine (genetsko porijeklo i način uzgoja svinja), ali i dodatka nitrita koji se uobičajeno primjenjuju pri proizvodnji tih vrsta pršuta (Sanabria i sur., 2004; Čandek-Potokar i Škrlep, 2012).

U tablici 9 prikazani su rezultati određivanja teksture u mišićima BF i SM tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. Instrumentalno mjerenje teksture provedeno je primjenom TPA analize. Rezultati su obrađeni sa softwareom NexygenPlus te su dobiveni sljedeći parametri: tvrdoća (N), adhezivna sila (N), kohezivnost, adhezivnost (Nmm), gumenost (N), elastičnost (mm), žvkljivost (Nmm), otpornost, prijelom (N) i vlaknastost (mm). Poznato je kako je formiranje teksture pršuta pod izravnim utjecajem proteolitičkih procesa koji se odvijaju u mišićima tijekom proizvodnje (Harkouss i sur., 2015), a intenzivna razgradnja glavnih strukturalnih miofibrilarnih proteina rezultira omekšavanjem mišićnog tkiva (Théron i sur., 2011; Bermúdez i sur., 2015; López-Pedrouso i sur., 2018). Prethodnim istraživanjima teksture pršuta utvrđeno je kako se tijekom faza soljenja i sušenja odvijaju najznačajnije promjene teksture zbog ove dvije faze čega predstavljaju najznačajnije faze za konačnu teksturu pršuta (Serra i sur., 2005; Harkouss i sur., 2015; López-Pedrouso i sur., 2018). Parametri teksture u mišićima statistički su se značajno ($p < 0,05$) mijenjali kroz proces.

Tvrdoća (N) je u oba mišića značajno ($p < 0,05$) porasla tijekom prve polovice proizvodnog procesa, što se može pripisati dodatku NaCl-a u fazi soljenja te gubitku vode, budući da difuzijom soli u mišićje buta, voda iz mišićja istovremeno izlazi van (fenomen osmotske dehidracije) (Petrova i sur., 2015a). Očekivano, izraženiji porast tvrdoće izmjeren je u SM, koji je zbog vanjske lokacije u butu tijekom proizvodnje izložen intenzivnijem prodiranju soli i dehidraciji. Analizom korelacije (tablice 17 i 18) utvrđena je pozitivna korelacija ($p < 0,01$, $r > +0,40$) između tvrdoće (N) i NaCl-a u oba mišića, kao i negativna

korelacija ($p < 0,01$, $r > -0,65$) s udjelom vode i a_w u BF. Jaka povezanost parametra tvrdoće s udjelom NaCl-a i vode utvrđena je i u istraživanjima na Serrano (Ruiz-Ramírez i sur., 2006), Kraškom (Andronikov i sur., 2013), Bayonne (Harkouss i sur., 2015), Celta (Bermúdez i sur., 2017) i kineskom (Zhou i sur., 2020a) pršutu. Nakon faze zrenja došlo je značajnog ($p < 0,05$) omekšavanja oba mišića, kao posljedica intenzivne proteolize u završnim fazama proizvodnje (slike 24 i 25). Utjecaj proteolitičkih procesa na tvrdoću dimljenog pršuta utvrđen je i negativnom korelacijom ($p < 0,01$) između parametra tvrdoće i indeksa proteolize i proteolitičkih produkata (aminokiselina i dipeptida) (tablice 17 i 18). Isti trend pada tvrdoće u mišićima BF i SM nakon zrenja utvrđen je i u drugim istraživanjima na Bayonne (Monin i sur., 1997) i španjolskim pršutima (Virgili i sur., 1995). Mišić SM imao je statistički značajno ($p < 0,05$) veću tvrdoću (N) na kraju proizvodnje, sukladno istraživanjima Iberijskog (Cilla i sur., 2005) i Kraškog (Andronikov i sur., 2013; Pugliese i sur., 2015) pršuta nakon produljenog zrenja.

Adhezivna sila (N) parametar je koji označava mjeru „ljepljivosti“ uzorka, odnosno silu koja je potrebna da se mjerna sonda teksturometra odlijepi s uzorka (Wee i sur., 2018). Tijekom proizvodnje dimljenog pršuta izmjeren je značajni pad ($p < 0,05$) vrijednosti adhezivne sile, uz konačne niže vrijednosti izmjerene u SM u odnosu na BF. S obzirom na povezanost ovog parametra s NaCl-om (tablice 17 i 18), može se pretpostaviti kako je izraženiji pad adhezivne sile u SM posljedica viših udjela NaCl-a tijekom proizvodnje. Dobivene vrijednosti u skladu su s onima izmjerenima na uzorcima BF i SM Dalmatinskog pršuta različitih proizvođača (Marušić Radovčić i sur., 2019b). U literaturi nisu dostupni detaljniji podaci o vrijednostima ovog parametra tijekom proizvodnje pršuta, no poznato je kako je mjerenje ovog parametra prikladnije za ispitivanja mekše hrane poput sirovog mesa (Wee i sur., 2018). Stoga se u sklopu ove disertacije provelo i istraživanje adhezivne sile (N), parametra koji je primjereniji za ispitivanje teksturalnih svojstava pršuta u raznim fazama proizvodnje.

Adhezivnost (Nmm) je parametar u jakoj korelaciji s udjelom soli (Harkouss i sur., 2015) i proteolitičkim procesima (López-Pedrouso i sur., 2018), što je također utvrđeno i u ovom istraživanju ($p < 0,01$) (tablice 17 i 18). Adhezivnost oba mišića se značajno ($p < 0,05$) smanjivala tijekom procesa, a isti trend odredili su Harkouss i sur. (2015) kroz proizvodnju Bayonne pršuta u mišićima BF i SM, no uz mnogo niže vrijednosti od onih određenih u ovom istraživanju. Pad adhezivnosti mišića povezan je sa sušenjem mesa i želatinizacijom proteina, što za posljedicu ima poboljšanu narezivost pršuta (Bozkurt i Bayram, 2006). Adhezivnost je na kraju procesa bila značajno veća ($p < 0,05$) u mišiću BF u odnosu na SM, sukladno rezultatima na španjolskim vrstama pršuta (Cilla i sur., 2005; Harkouss i sur., 2015). Niže

vrijednosti adhezivnosti u SM mogu se pripisati intenzivnijem gubitkom vode i izloženosti višim koncentracijama NaCl-a u početnim fazama procesa (tablica 10).

Elastičnost (mm) i kohezivnost su TPA parametri povezani s vrijednostima a_w i udjelom vode (Ruiz-Ramírez i sur., 2006) (tablice 17 i 18). Vrijednosti elastičnosti i kohezivnosti su značajno ($p < 0,05$) padale tijekom proizvodnje u oba mišića, vjerojatno kao posljedica postepenog gubitka vode (tablica 10). Značajno ($p < 0,05$) više vrijednosti ovih parametara tijekom proizvodnje u BF mogu se pripisati višim udjelima vode u tom mišiću, sukladno rezultatima prethodnih istraživanja (Cilla i sur., 2005; Andronikov i sur., 2013; Bermúdez i sur., 2017) kojima su utvrđene više vrijednosti kohezivnosti i elastičnosti u uzorcima mišića pršuta s višim udjelima vode. U drugim istraživanjima je također određen pad elastičnosti tijekom proizvodnje drugih vrsta pršuta i sličnih proizvoda (Lorenzo, 2014; Harkouss i sur., 2015), no za razliku od rezultata dobivenih u ovom istraživanju, autori nisu odredili pad kohezivnosti tijekom proizvodnje.

Parametri gumenosti (N), žvkljivosti (Nmm) i prijeloma (N) također su povezani s udjelom vode (Serra i sur., 2005; Andronikov i sur., 2013; Lorenzo, 2014) i NaCl u mišićima (tablica 17 i 18). Navedeni parametri značajno ($p < 0,05$) su se smanjivali u mišićima kroz proizvodnju do faze zrenja, prateći isti trend kao parametar tvrdoće (N), s kojim su ovi parametri u visokoj korelaciji ($p < 0,01$) (tablice 17 i 18). Nakon faze produljenog zrenja određen je značajan porast ovih parametara u mišićima, vjerojatno kao posljedica porasta tvrdoće, sukladno istraživanju Lorenza (2014) u kojem je također određen porast gumenosti i žvkljivosti s porastom tvrdoće u suhomesnatom proizvodu „Cecina“. U mišiću BF izmjerene su značajno niže ($p < 0,05$) vrijednosti ovih parametara tijekom proizvodnje i u gotovom pršutu nakon 18 mjeseci proizvodnje, sukladno istraživanjima na Kraškom (Andronikov i sur., 2013; Pugliese i sur., 2015) i Teruel (Cilla i sur., 2005) pršutu.

Otpornost je definirana kao sposobnost uzorka da vrati svoju izvornu visinu nakon kompresije mjernom sondom (Wee i sur., 2018). Vrijednosti ovog parametra značajno ($p < 0,05$) su se mijenjale kroz proces uz blagi konačan porast u zadnjoj fazi proizvodnje. Konačne vrijednosti otpornosti određene u ovom istraživanju niže su od onih na BF i SM Kraškog pršuta (Andronikov i sur., 2013) i raznih vrsta kineskih pršuta (Li i sur., 2020b).

Vlaknastost (mm) mišićnog tkiva očekivano je rasla tijekom procesa, vjerojatno kao posljedica gubitka vode u mišićima (tablica 10). Na kraju proizvodnje nisu određene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) između dva istraživana mišića. Vrijednosti vlaknastosti (mm) paralelno su rasle s porastom gumenosti (N) i žvkljivosti (Nmm) s kojima je ovaj parametar povezan (tablice 17 i 18).

5.1.2. Osnovni kemijski sastav, pH i a_w vrijednost tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Promjene u fizikalno-kemijskim parametrima zajedno s biokemijskim promjenama dovode do pretvorbe sirovog mišićja buta u pršut (Toldrá, 1998). Osim osnovnog kemijskog sastava, najvažniji parametri koji se prate tijekom proizvodnje su udio NaCl-a i vrijednosti pH i a_w , s obzirom da predstavljaju ključne faktore za odvijanje biokemijskih procesa i mikrobiološku stabilnost pršuta (Tóldra, 2002). U tablici 10 prikazani su rezultati određivanja fizikalno-kemijskih parametara u mišićima BF i SM tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.

Tijekom šest faza proizvodnje dimljenog pršuta, došlo je do statistički značajnih ($p < 0,05$) promjena u svim istraživanim fizikalno-kemijskim parametrima mišića BF i SM. Razlike u intenzitetu i tijeku navedenih promjena zabilježene u ovom istraživanju primarno su posljedica različite anatomske lokacije mišića u butu. Udio vode (% ukupne mase uzorka) postepeno se smanjivao ($p < 0,05$) kroz proizvodnju, od 74,82 % - 49,17 % u BF i 74,42 % - 34,75 % u SM. Tijekom cijelog procesa, kao i u gotovom pršutu nakon 18 mjeseci proizvodnje, određen je statistički značajno viši ($p < 0,05$) udio vode u mišiću BF. Navedeno je posljedica njegove unutarnje pozicije u butu tijekom proizvodnje, kao i prekrivenosti kožom i potkožnim masnim tkivom, zbog čega je zaštićen od brze dehidracije i prodiranju visokih koncentracija soli (Harkouss i sur., 2015). S druge strane, izloženost SM intenzivnijem sušenju i brzom prodiranju soli dovela je do intenzivnije dehidracije i značajnijeg ($p < 0,05$) gubitka vode. Najveći gubitak vode određen je nakon faza zrenja i produljenog zrenja u oba mišića, što je posljedica duljine provođenja tih faza (svaka po šest mjeseci), ali i mikroklimatskih uvjeta u komorama za zrenje (više temperature i niža RH) (Marušić Radovčić i sur., 2021). Konačni udjeli vode u istraživanim mišićima (34,75-49,17 %) udovoljavaju zahtjevima propisanim Specifikacijom za Dalmatinski pršut (40-55 % vode) (Kos i sur., 2015)

Udio intramuskularne masti (% s.tv) kretao se od 5,54 % - 15,70 % u BF i 6,00 % - 17,21 % u SM. U početnim fazama proizvodnje je određen značajni ($p < 0,05$) pad udjela masti u oba mišića, vjerojatno kao posljedica dodatka i distribucije NaCl-a u mišićima uslijed čega je došlo do pada udjela masti u ukupnom sadržaju suhe tvari (Bermúdez i sur., 2014a). U posljednjim fazama procesa (zrenje i produljeno zrenje) određen je značajni ($p < 0,05$) porast udjela masti, što je posljedica intenzivne dehidracije i porasta udjela suhe tvari u mišićima. Tijekom prvih pet faza proizvodnje u mišiću SM određeni su značajno viši ($p < 0,05$) udjeli masti u odnosu na BF, vjerojatno kao posljedica vanjske lokacije SM tijekom proizvodnje te većeg isušivanja i porasta udjela suhe tvari u tom mišiću. Dobiveni rezultati razlikuju se od

rezultata istraživanja Celta pršuta (Bermúdez i sur., 2014a) u kojem je određen veći udio masti u mišiću BF tijekom proizvodnje, no sukladni su onima Pugliese i sur. (2015.) na Kraškom pršutu starosti 12 i 16 mjeseci i Andronikova i sur. (2013) na Kraškom pršutu s niskim sadržajem soli u kojima je također određen veći udio masti u mišiću SM.

Udio proteina (% s.tv.) statistički je značajno ($p < 0,05$) padao tijekom proizvodnje, od 88,19 % - 47,33 % u BF i 89,54 % - 62,40 % u SM. Isti trend određen je i tijekom proizvodnje Celta pršuta (Bermúdez i sur., 2014a), a može se pretpostaviti da je posljedica apsorpcije i distribucije NaCl-a u mišićima i posljedično pada udjela proteina u ukupnom sadržaju suhe tvari. Mišić BF je do faze dimljenja sadržavao značajno više ($p < 0,05$) udjele proteina u odnosu na SM, zbog prisustva nižih ($p < 0,05$) koncentracija NaCl-a, dok je daljnja distribucija soli kroz but rezultirala višim koncentracijama NaCl-a i nižim udjelima proteina u BF u odnosu na SM u drugoj polovici procesa (Bermúdez i sur., 2014a). Niži udjeli proteina u BF u odnosu na SM određeni su i u Celta pršutu starosti 18 mjeseci (Bermúdez i sur., 2014a) i Kraškom pršutu nakon 12 mjeseci proizvodnje (Andronikov i sur., 2013).

Udio NaCl (% s.tv.) statistički se značajno ($p < 0,05$) povećavao tijekom proizvodnje, od 0,20 % - 16,64 % u BF i 0,18 % - 9,87 % u SM. U SM su nakon faze soljenja određene značajno ($p < 0,05$) više koncentracije NaCl-a u odnosu na BF, što je posljedica njegove vanjske lokacije u butu tijekom proizvodnje i izloženosti višim koncentracijama NaCl-a u prvim fazama proizvodnje (Bermúdez i sur., 2014a). Zbog postojanja koncentracijskog gradijenta, NaCl migrira prema vlažnijim dijelovima buta tijekom proizvodnje (Bermúdez i sur., 2018; Harkouss i sur., 2018). Navedeni fenomen također je zabilježen i u ovom istraživanju te su određene značajno ($p < 0,05$) više koncentracije NaCl-a u BF od onih u SM nakon faze zrenja i produljenog zrenja. Konačni udjeli NaCl-a u istraživanim mišićima (9,87-16,64 % s.tv., odnosno 6,37-7,72 % na ukupnu masu) udovoljavaju onima propisanim Specifikacijom za Dalmatinski pršut (4,5-7,5 % ukupne mase) (Kos i sur., 2015).

Udio pepela (% s.tv.) statistički se značajno ($p < 0,05$) povećavao tijekom proizvodnje, od 4,37 % - 20,61 % u BF i 4,21 % - 12,10 % u SM. Promjene udjela pepela pratile su trend promjena udjela NaCl-a u mišićima, budući da NaCl općenito čini 80 % ukupnog pepela u mišićima pršuta (Bermúdez i sur., 2018) zbog čega su ova dva parametra u vrlo jakoj korelaciji ($p < 0,01$; $r > + 0,96$) (tablice 17 i 18).

Osnovni kemijski sastav gotovog dimljenog pršuta nakon 18 mjeseci proizvodnje usporediv je s kemijskim sastavom mnogih drugih vrsta mediteranskih pršuta nakon produljenog zrenja, poput Celta (Bermúdez i sur., 2014a), Serrano (del Olmo i sur., 2013),

Parma (Benedini i sur., 2012) i dimljenog talijanskog pršuta „Prosciutto di Sauris“ (Martuscelli i sur., 2009).

Vrijednosti a_w istraživanih mišića tijekom proizvodnje progresivno su se smanjivale od 0,97 - 0,81 u BF i 0,96 - 0,80 u SM, sukladno redukciji udjela vode i porastu udjela NaCl u mišićima (Martuscelli i sur., 2017) s kojima je a_w u jakoj pozitivnoj ($p < 0,01$; $r > + 0,90$ s vodom) i jakoj negativnoj ($p < 0,01$; $r > - 0,70$ s NaCl) korelaciji (tablice 17 i 18). Isti trend pada a_w tijekom proizvodnje pršuta, kao i visoke stupnjeve korelacije a_w s udjelom vode i NaCl odredili su i drugi autori (Bermúdez i sur., 2014a; Bermúdez i sur., 2018). Pad a_w tijekom proizvodnje očekivano je bio veći ($p < 0,05$) u SM, što je posljedica intenzivnije dehidracije tog mišića, posebno tijekom faza sušenja i zrenja. Vrijednosti a_w u istraživanim mišićima gotovog dimljenog pršuta niže su od onih određenih u drugim vrstama pršuta nakon faze produljenog zrenja, poput „Prosciutto di Sauris“ (Martuscelli i sur., 2017), Celta (Bermúdez i sur., 2014a), Kraškog (Tomažin i sur., 2020) i Norveškog (Petrova i sur., 2016) pršuta. Navedene razlike vjerojatno su posljedica razlika u tehnološkom procesu proizvodnje, odnosno dodatka nešto viših koncentracija soli u fazi soljenja ili intenzivnijeg sušenja u kombinaciji s dimljenjem. Konačne vrijednosti a_w određene u istraživanim mišićima gotovog dimljenog pršuta (0,80-0,81) udovoljavaju zahtjevima Specifikacije ($a_w < 0,93$) (Kos i sur., 2015).

Vrijednosti pH u mišićima kretale su se od 5,83 - 5,99 u BF i 5,78 – 6,07 u SM. Tijekom šest faza proizvodnje dimljenog pršuta nisu određene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u pH vrijednostima između istraživanih mišića. Unatoč tome što je blagi porast pH vrijednosti određen u oba mišića, samo je u SM bio statistički značajan ($p < 0,05$). Blagi porast pH vrijednosti u BF i SM određen je i u drugim istraživanjima (Bermúdez i sur., 2014a; Bermúdez i sur., 2018), a posljedica je nakupljanja proteolitičkih produkata tijekom zrenja (slobodnih aminokiselina i malih količina amonijaka) (Ruiz-Ramírez i sur., 2006; Virgili i sur., 2007). Izmjerene pH vrijednosti u BF i SM gotovog dimljenog pršuta usporedive su onima izmjerenima na Celta (Bermúdez i sur., 2014a), Sauris (Martuscelli i sur., 2017) i Serrano (del Olmo i sur., 2013) pršutu.

5.2. Proteolitičke i lipolitičke promjene tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Proteoliza i lipoliza predstavljaju najvažnije biokemijske reakcije koje se odvijaju u mišićju buta tijekom proizvodnje pršuta. Tijek proteolitičkih i lipolitičkih reakcija pod utjecajem je brojnih faktora poput pH, udjela vode i soli, temperature te anatomske lokacije mišića u butu tijekom proizvodnje (Toldrá i sur., 1997; Ruiz-Ramírez i sur., 2006; Gilles, 2009; Harkouss i

sur., 2015). Intenzitet i tijek ovih reakcija, kao i profil i količina nastalih produkata imaju presudan učinak na konačnu kvalitetu pršuta (Toldrá i Flores, 1998).

Praćenje proteolitičkih promjena tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta provedeno je mjerenjem indeksa proteolize dvjema metodama (NPN/N i metodom s Cd-ninhidrinom), elektroforetskom analizom sastava proteina te analizom profila aminokiselina i dipeptida. Rezultati određivanja proteolitičkih promjena prikazani su slikama 24-26 i tablicama 11-13. Praćenje lipolitičkih promjena tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta provedeno je određivanjem sastava masnih kiselina, a rezultati su prikazani u tablici 14.

5.2.1. Indeks proteolize tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Proteolitičke reakcije utječu na formiranje specifičnih senzorskih svojstava pršuta, posebno na teksturu (omekšavanje), miris i aromu (Toldrá, 2002). Stupanj proteolize u mesu i mesnim proizvodima (indeks proteolize) najčešće se mjeri standardnom metodom koja se temelji na određivanju omjera neproteinskog dušika i ukupnog dušika (Ruiz-Ramírez i sur., 2006; Harkouss i sur., 2015; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018). Indeks proteolize u pojedinoj vrsti pršuta uvjetovan je karakteristikama sirovine i načinom proizvodnje, a prethodnim istraživanjima na talijanskim i španjolskim pršutima utvrđeno je kako se indeks proteolize u pršutima dobre kvalitete kreće od 22-36 % (Carreri i sur., 1993, López-Pedrouso i sur., 2018). Rezultati određivanja indeksa proteolize NPN/N prikazani su na slici 24.

Tijekom šest faza proizvodnje dimljenoga pršuta određen je statistički značajan porast ($p < 0,05$) indeksa proteolize, od 11,99 % - 25,79 % u BF i 12,00 % - 18,07 % u SM. U BF je zabilježen kontinuirani porast indeksa proteolize, uz iznimku nakon faze dimljenja, kada je u ovom mišiću određena stagnacija proteolitičke aktivnosti. Može se pretpostaviti kako je navedeno posljedica distribucije NaCl-a kroz but i prodiranja veće koncentracije NaCl-a u vlažnije dijelove buta (BF), budući da je analizom osnovnog kemijskog sastava (tablica 10) zabilježen statistički značajan ($p < 0,05$) porast koncentracije NaCl-a u tom mišiću. U SM je kroz proizvodnju određen slabiji intenzitet proteolitičke aktivnosti, posebno nakon faza soljenja, zrenja i produljenog zrenja ($p < 0,05$). To je posljedica već spomenute unutarnje lokacije mišića u butu, zbog koje ovaj mišić sadrži manje udjele vode i veće koncentracije NaCl-a (tablica 10) koja ima inhibitorni učinak na proteolitičku aktivnost (Harkouss i sur., 2015). Analizom korelacije (tablice 17 i 18) utvrđena je negativna korelacija indeksa proteolize određenog ovom metodom s NaCl ($p < 0,01$; $r > - 0,60$ u BF) i pozitivna s a_w ($p < 0,01$; $r > + 0,70$ u BF i $r > + 0,60$ u SM) i vodom ($p < 0,01$; $r > + 0,70$ u BF i $p < 0,01$; $r > + 0,60$ u SM).

Slabiji intenzitet proteolitičke aktivnosti u SM u odnosu na BF tijekom proizvodnje pršuta određen je i u drugim istraživanjima (Andronikov i sur., 2013; Bermúdez i sur., 2014a, Harkouss i sur., 2015). Najviše vrijednosti proteolitičkog indeksa određene su nakon faze produljenog zrenja u oba mišića, što je u skladu s rezultatima drugih autora (Benedini i sur., 2012; Pugliese i sur., 2015). Vrijednosti indeksa proteolize u mišićima BF i SM sukladni su onima određenima BF i SM Kraškog pršutu nakon produljenog zrenja (pršut starosti 16 mjeseci) (Pugliese i sur., 2015), dok su u BF Parma (Benedini i sur., 2012) i Toscano (Sirtori i sur., 2020) pršuta nakon 18 mjeseci proizvodnje određene niže vrijednosti od onih dobivenih u ovom istraživanju. Kako je i ranije navedeno, enzimska aktivnost u mišićima buta uvelike je uvjetovana i karakteristikama sirovine, posebno pasminom svinja te uvjetima pred i tijekom klanja, ali i određenim tehnološkim parametrima (uvjeti soljenja i sušenja) (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012), što dovodi do razlika u vrijednostima proteolitičkog indeksa u istraživanjima različitih vrsta pršuta.

Zbog određenih ograničenja standardne metode za određivanje proteolitičkog indeksa, posebno zbog dugotrajnosti analize i nespecifičnosti (Harkouss i sur., 2012), u posljednje vrijeme se u istraživanjima (Petrova i sur., 2016) primjenjuju i druge metode za određivanje proteolitičkog indeksa, poput metode temeljene na reakciji derivatizacije s Cd-ninhidrinom prema Doi i sur. (1981) kojom se mjeri ukupan broj aminokiselina u uzorku (mg aminokiselina/g uzorka, mg a.k./g uzorka). Rezultati određivanja indeksa proteolize metodom s Cd-ninhidrinom prikazani su na slici 25.

Metodom s Cd-ninhidrinom određen je porast indeksa proteolize tijekom proizvodnje od 1,53 - 92,47 mg a.k./g uzorka u BF i 1,44 - 80,96 mg a.k./g uzorka u SM. Kroz cijeli proces, u BF je određena statistički značajno ($p < 0,05$) veća proteolitička aktivnost u odnosu na SM. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima drugih istraživanja (Théron i sur., 2011b; Harkouss i sur., 2012; Bermúdez i sur., 2014a) i rezultatima mjerenja proteolitičkog indeksa standardnom metodom (slika 24). Veći stupanj proteolize u BF posljedica je povoljnijih uvjeta za aktivnost proteolitičkih enzima u tom mišiću (veći udio vode i niže koncentracije NaCl u početku procesa) (tablica 10). Analiza korelacije (tablice 17 i 18) također je pokazala jaku pozitivnu korelaciju indeksa proteolize određenog Cd-ninhidrin metodom s vodom i a_w ($p < 0,01$; $r > + 0,70$) i negativnu s NaCl-om ($p < 0,01$; $r > - 0,50$) u oba mišića. Intenzivan porast vrijednosti indeksa proteolize u oba mišića određen je nakon faza zrenja i produljenog zrenja, što je u skladu s rezultatima određivanja indeksa proteolize standardnom metodom, ali s rezultatima drugih istraživanja (Martuscelli i sur., 2009; Bermúdez i sur., 2018; López-Pedrouso i sur.,

2018) kojima je utvrđena intenzivna razgradnja miofibrilarnih proteina u završnim fazama proizvodnje pršuta. Analizom proteolitičkog indeksa dvjema metodama nije utvrđen značajniji efekt faze dimljenja ($< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) na tijek proteolize, što je u skladu istraživanjem Martuscelli i sur. (2009) o utjecaju dimljenja na proteolitičke procese tijekom proizvodnje dimljenog talijanskog pršuta.

Dvjema provedenim metodama za određivanje proteolitičkog indeksa tijekom proizvodnje dimljenog pršuta nisu utvrđena značajna odstupanja u rezultatima analiza, već su dobiveni usporedivi rezultati među kojima je utvrđena srednja do jaka korelacija ($r > +0,07$ u BF i $r > +0,50$ u SM) (tablice 17 i 18). Stoga se može zaključiti kako je metoda s Cd-ninhidrinom primjerena za praćenje proteolitičke aktivnosti, a ujedno predstavlja znatno praktičniji i brži način određivanja indeksa proteolize tijekom tehnološkog procesa proizvodnje pršuta.

5.2.2. Sastav proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

U svrhu detaljnijeg praćenja proteolitičkih promjena provedena je metoda SDS-PAGE kojom su dobiveni elektroforetogrami sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina tijekom šest faza proizvodnje pršuta. U analizu su uključene samo najznačajnije proteinske vrpce koje su se pojavljivale u svim ponavljanjima i kvantificirane su usporedbom relativnih intenziteta vrpca između različitih faza proizvodnje.

5.2.2.1. Profil sarkoplazmatskih proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Rezultati određivanja proteolitičkih promjena frakcije sarkoplazmatskih proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta prikazani su tablicom 11 i slikom 28 (a). Rezultati su izraženi kao intenziteti pojedine proteinske vrpce u odnosu na intenzitet vrpce od 97 kDa u stupcu standarda proteina poznatih MW (relativni intenzitet).

Elektroforetskom analizom utvrđeni su slični profili sarkoplazmatskih proteina u sirovim mišićima BF i SM, s najintenzivnijim sarkoplazmatskim proteinskim vrpcama fosfat kreatin kinaze (43 kDa), gliceraldehid fosfat dehidrogenaze (36,7 kDa) i fosfoglicerat mutaze (29,9 kDa) u oba mišića. Faza soljenja utjecala je na značajno ($p < 0,05$) smanjenje relativnog intenziteta pojedinih proteinskih vrpca, a najizraženije promjene nakon soljenja detektirane su kod fosforilaze B (97 kDa), fosfoglukozna izomeraze (59,8 kDa), fosfat kreatin kinaze (43 kDa) i gliceraldehid fosfat DH (36,7 kDa) u oba mišića.

Tijekom procesa proizvodnje većina sarkoplazmatskih proteinskih vrpce u BF imala je značajan ($p < 0,05$) pad relativnog intenziteta u drugoj polovici proizvodnje, u skladu s rezultatima drugih autora na španjolskim pršutima (Larrea i sur., 2006; Gallego i sur., 2016a). Najznačajnija promjene otkrivene su u padu intenziteta fosforilaze B (97,0 kDa), u području 64,1 - 41,7 kDa, gliceraldehid fosfat DH (36,7 kDa) i mioglobina (18,5 kDa), uz potpuno nestajanje pojedinih vrpce na kraju procesa, sukladno istraživanju na Teruel pršutu (Larrea i sur., 2006). S druge strane, proces proizvodnje dimljenog pršuta u trajanju od 18 mjeseci utjecao je na pojavu novih vrpce i porast ($p < 0,05$) intenziteta pojedinih vrpce sarkoplazmatskih proteina, posebno fosfofruktokinaze (83,6 kDa), enolaze (45 kDa) i vrpce 34,9 kDa, vjerojatno zbog hidrolize miofibrilarnih proteina i njihove pojave u sarkoplazmatskoj proteinskoj frakciji (Córdoba i sur., 1994; Bermúdez i sur., 2014b). Najintenzivnije promjene u smislu povećanja intenziteta ili pojave novih vrpce dogodile su se nakon faze produljenog zrenja, a isti trend zabilježen je u BF Celta pršuta nakon 18 mjeseci proizvodnje (Bermúdez i sur., 2014b).

Promjene u profilu sarkoplazmatskih proteina SM pratile su isti trend kao i one u BF. Međutim, soljenje je u mnogo većem opsegu i intenzitetu imalo utjecaj na sarkoplazmatsku frakciju mišića SM. Najizraženiji efekt soljenja u SM određen je na fosforilazi B (97,0 kDa), fosfoglukozu izomerazu (59,8 kDa), fosfat kreatin kinazi (43,0 kDa), vrpce 34,9 kDa i fosfoglicerat mutazu (29,9 kDa), a vjerojatno je posljedica značajno većih ($p < 0,05$) koncentracija NaCl-a u tom mišiću u početnim fazama proizvodnje (tablica 10). Iste promjene detektirane su i u SM Teruel pršuta (Larrea i sur., 2006). Za razliku od rezultata drugih studija na Iberijskom (Córdoba i sur., 1994) i Teruel (Larrea i sur., 2006) pršutu, u ovom istraživanju nije određen nagli pad intenziteta mioglobina nakon faze soljenja. Prema Córdoba i sur. (1994), nagli pad intenziteta mioglobina nakon soljenja posljedica je prisutnosti dušikovog oksida koji potječe iz nitrata i nitrita dodanih u fazi soljenja. Dušikov oksid čini mioglobin netopivim u vodenim puferima uobičajeno korištenima pri elektroforetskoj analizi sarkoplazmatskih proteina koji potom postaje nevidljiv ili slabo vidljiv na gelu. Dimljeni pršuti analizirani u ovom istraživanju proizvedeni su bez nitrata i nitrita, što objašnjava nestanak vrpce mioglobina u kasnijim fazama proizvodnje.

5.2.2.2. Profil miofibrilarnih proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Rezultati proteolitičkih promjena frakcije miofibrilarnih proteina prikazani su tablicom 12 i slikom 28 (b). Rezultati su izraženi kao intenziteti pojedine proteinske vrpce u odnosu na intenzitet vrpce od 97 kDa u stupcu standarda proteina poznatih MW (relativni intenzitet).

SDS-PAGE analizom utvrđeni su slični profili miofibrilarnih proteina u oba mišića, u kojima su kao najizraženije vrpce određene vrpca 130 kDa, aktin (43,2 kDa) i MLC1 (20,7 kDa). U istraživanim mišićima nisu detektirane vrpce desmina i troponina T, vjerojatno zbog njihove jake podložnosti proteolitičkim enzimima i vrlo brze razgradnje *post mortem* (Paerson i Young, 1989). Većina miofibrilarnih proteina imala statistički značajno veći ($p < 0,05$) intenzitet u sirovom BF u odnosu na SM, sukladno profilu miofibrilarnih proteina sirovih BF i SM Teruel pršuta (Larrea i sur., 2016). U miofibrilarnoj frakciji soljenje nije značajnije ($p > 0,05$) utjecalo na pad relativnog intenziteta većine miofibrilarnih proteina. Međutim, nakon faze sušenja određeno je značajno ($p < 0,05$) povećanje relativnog intenziteta pojedinih proteinskih vrpca, posebno 130 kDa i α -aktinina (96,7 kDa) u BF i teškog meromiozina (113,0 kDa), vrpce 40,0 kDa i tropomiozina (37,2 kDa) u oba mišića. Povećanje intenziteta pojedinih vrpca odredili su i Bermúdez i sur. (2014b) u BF i SM Celta pršuta nakon faza sušenja, što autori dovode u vezu s migracijom razgrađenih proteolitičkih produkata veće MW u područja gela koji razdvaja vrpce nižih MW, a time i do jačeg bojanja pojedinih vrpca u gelu. Većina miofibrilarnih proteinskih vrpca u oba mišića imala značajan ($p < 0,05$) pad relativnog intenziteta u drugoj polovici proizvodnje. Najintenzivnija proteolitička razgradnja zabilježena je nakon faze zrenja, posebno u BF, što je u skladu s većim stupnjem proteolitičke aktivnosti u tom mišiću (slike 24 i 25). Iako je određen porast ($p < 0,05$) intenziteta pojedinih vrpca nakon faze zrenja u oba mišića (područje 130-91,1 kDa i 65,8-37,2 kDa), većina miofibrilarnih proteina značajno ($p < 0,05$) se razgradila nakon produljenog zrenja. Produljeno zrenje posebno je utjecalo na razgradnju vrpce 130 kDa i α -aktinina (96,7 kDa) i potpuni nestanak vrpca manje MW (28,1 kDa-16,9 kDa). U istraživanju Parma i San Daniele pršuta starosti 6, 12 i 14 mjeseci (Luccia i sur., 2005), elektroforetskom analizom utvrđena je hidroliza većine miofibrilarnih proteina nakon 12 mjeseci starosti, istovjetno rezultatima ovog istraživanja. Isti trend određen je u BF i SM Celta pršuta između 12 i 18 mjeseci proizvodnje (Bermúdez i sur., 2014b) te se pripisuje intenzivnoj proteolitičkoj aktivnosti tijekom produljenog zrenja (slike 24 i 25).

Iako se donedavno smatralo da razgradnja miozina i aktina predstavlja jedan od glavnih proteolitičkih događaja, istraživanja talijanskih pršuta (Koutina i sur., 2012; Fabbro i sur., 2016) su utvrdila rezistentnost aktina na proteolizu tijekom proizvodnje. U ovom istraživanju određen je postepen i blag, no značajan ($p < 0,05$) pad relativnih intenziteta aktina (43,2 kDa) u oba mišića tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. Pritom je određena intenzivnija degradacija u BF, posebno nakon faze zrenja, sukladno rezultatima drugih istraživanja (Larrea i sur., 2006; Bermúdez i sur., 2014b) i većoj proteolitičkoj aktivnosti u tom mišiću (slike 24 i 25).

Istraživanjem frakcija sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina tijekom proizvodnje dimljenog pršuta nisu utvrđene veće promjene u sastavu proteina ili intenzitetu proteinskih vrpce nakon faze dimljenja, a smanjenje intenziteta pojedinih vrpce uočene nakon hladnog dimljenja ($< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) mogu se pripisati proteolitičkim procesima u mišićima. Ipak, može se pretpostaviti kako bi dimljenje pri temperaturama višima od temperatura hladnog dimljenja ($> 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) rezultiralo značajnijim promjenama proteina koje bi bile detektirane SDS-PAGE metodom (Poljanec i sur., 2021b).

5.2.3. Sastav aminokiselina i dipeptida tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Slobodne aminokiseline i dipeptidi koji nastaju tijekom intenzivne proteolize utječu na okus, služe kao izvor hlapljivih spojeva arome tijekom zrenja i doprinose nutritivnoj vrijednosti pršuta (esencijalne aminokiseline i dipeptidi) (Bermúdez i sur., 2014b; Toldrá i sur., 2020). U tablici 13 prikazani su rezultati određivanja sastava aminokiselina i dipeptida (mg/100 g s. tv.) u BF i SM tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.

Tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta određen je statistički značajan ($p < 0,05$) porast udjela ukupnih aminokiselina u oba mišića, od 635,58 – 8394,78 mg/ 100 g s.tv. u BF i 719,11 – 5265,22 mg/ 100 g s.tv u SM. U BF je određen postepen porast udjela ukupnih aminokiselina ($p < 0,05$) tijekom svih šest faza proizvodnje. U SM je određen porast ($p < 0,05$) udjela ukupnih aminokiselina do faze sušenja, koji su ostali nepromijenjeni ($p > 0,05$) do faze produljenog zrenja kada je određen porast ($p < 0,05$) udjela ukupnih aminokiselina. Sličan trend odredili su i drugi autori (Toldrá i sur., 2000a; Bermúdez i sur., 2014a). Navedeni autori su stagnaciju aktivnosti aminopeptidaza u mišićima pršuta naveli kao posljedicu nakupljanja određenih slobodnih aminokiselina koje imaju sposobnost povratne inhibicije na aminopeptidaze (inhibicija samim produktom tog enzima). Razgradnjom inhibitornih aminokiselina ili njihovom pretvorbom u tvari arome ponovno je omogućena njihova aktivnost čime se nastavlja produkcija aminokiselina (Toldrá i sur., 2000a). Na kraju proizvodnje određene su značajno ($p < 0,05$) više koncentracije svih pojedinih i ukupnih aminokiselina u mišiću BF, što se pripisuje intenzivnijoj proteolizi u mišiću BF (slike 24 i 25). Viši udjele ukupnih aminokiselina u BF u odnosu na SM određeni su i u Celta pršutu na kraju proizvodnje (Bermúdez i sur., 2014b) pršutu.

U mišićima sirovog buta u najvišim udjelima određeni su arginin, alanin i taurin, što je u skladu sa sastavom sirovog buta za proizvodnju talijanskog pršuta „Prosciutto di Sauris“ (Martuscelli i sur., 2009). BF i SM gotovog dimljenog pršuta u najvišim udjelima su sadržavali

glutaminsku kiseline, lizin, alanin i leucin, sukladno rezultatima Salazar i sur. (2020) za pršut starosti 18 mjeseci proizveden od španjolske autohtone pasmine svinja Chato muricano i talijanski pršut starosti 19 mjeseci (Virgili i sur., 2007). Navedene aminokiseline općenito su najzastupljenije u pršutu jer se tijekom proizvodnje nakupljaju kao posljedica intenzivne aktivnosti alanil-aminopeptidaza širokog raspona specifičnosti za brojne supstrate (Toldrá i sur., 2000a), a čija je rezidualna aktivnost detektirana u pršutu čak i nakon 8 mjeseci proizvodnje (Mora i sur., 2011). Konačan udio i profil aminokiselina u pršutu važan je za formiranje konačnog okusa pršuta, a ovisi o karakteristikama sirovine, koncentraciji dodane soli i postupku proizvodnje, a posebno je povezan s duljinom sušenja (Toldrá i sur., 2000b; Pérez-Santaescolástica i sur., 2018).

Ukupni udio aminokiselina u mišićima nakon produljenog zrenja usporediv je s udjelom ukupnih aminokiselina u mišićima BF i SM Celta pršuta nakon 18 mjeseci proizvodnje (Bermúdez i sur., 2014b) i niži oni u BF Iberijskog pršuta starosti 15 mjeseci (Rueda i sur., 2020). Nakon faze produljenog zrenja određen je porast udjela većine analiziranih slobodnih aminokiselina u odnosu na fazu zrenja (pršut starosti 12 mjeseci). Isti trend predređen je i na BF Iberijskog pršuta (Rueda i sur., 2020), talijanskog pršuta nakon 19 mjeseci proizvodnje (Virgili i sur., 2007) i Serrano pršuta nakon 15 mjeseci proizvodnje (del Olmo i sur., 2013). Također, faza produljenog zrenja utjecala je na promjenu aminokiselinskog profila u mišićima te nakon ove faze nije određena prisutnost asparagina, glutamina, β -alanina i taurina, dok je prvi put određena prisutnost cistina.

Karnozin (β -alanil-L-histidin) i anserin (β -alanil-1-metil-histidin) su antioksidativni histidil dipeptidi i općenito najzastupljeniji antioksidansi u mesu. U pršutu se mogu naći u visokim koncentracijama, posebice u mišićima glikolitičkog tipa (poput BF i SM) u kojima koncentracije ovih dipeptida mogu doseći do 300 mg/100 g pršuta (karnozin) i 18 mg/100 g pršuta (anserin) (Mora i sur., 2008; Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Dipeptidi se općenito smatraju otpornima na djelovanje proteaza, zbog čega se očekuje da njihove koncentracije ostaju konstantne (Toldrá, 2006). Međutim, udjeli karnozina i anserina značajno ($p < 0,05$) su varirali u oba mišića tijekom šest faza proizvodnje dimljenoga pršuta.

Udjeli karnozina u BF statistički su se značajno ($p < 0,05$) povećavali do faze zrenja nakon koje su određene maksimalne koncentracije karnozina (828,34-1577,23 mg/100 g s.tv.). Nakon faze produljenog zrenja određen je značajan pad ($p < 0,05$) karnozina (171,38 mg/100 g s.tv.). U SM je određen statistički značajan ($p < 0,05$) pad udjela karnozina od sirovog pršuta do faze dimljenja (953,40-678,53 mg/100 g s.tv.). Nakon izrazitog porasta ($p < 0,05$) nakon

sušenja, do kraja proizvodnje je zabilježen značajan pad ($p < 0,05$) udjela karnozina (1549,04 – 105,40 mg/ 100 g s.tv.).

Udjeli anserina u BF također su se značajno smanjivali ($p < 0,05$) tijekom proizvodnje (44,27-20,40 mg/100 g s.tv.), a najviše koncentracije ovog dipeptida određene su nakon faze zrenja. Koncentracije anserina u SM bile su najviše u sirovom mišiću, a određen je značajan pad ($p < 0,05$) kroz proizvodnju (51,79-12,91 mg/100 g s.tv.). Značajan pad koncentracije karnozina i anserina odredili su Li i sur. (2020) u BF između 12 i 18 mjeseca proizvodnje španjolskog pršuta. Pad udjela karnozina određen je i nakon produljenog zrenja u BF Iberijskog pršuta (Pérez- Palacios i sur., 2010). Toldrá i sur. (2000) odredili su pad koncentracija karnozina u BF nakon 100 dana i konstantne koncentracije anserina tijekom 12 mjeseci proizvodnje španjolskog pršuta. Virgili i sur. (1999) odredili su različite koncentracije dipeptida u raznim vrstama francuskih, talijanskih i španjolskih pršuta, iz čega se može se zaključiti kako razine karnozina i anserina općenito ovise o karakteristikama sirovine, ali i vrsti pršuta koji se proizvodi (Poljanec i sur., 2021a).

Udio ukupnih dipeptida u istraživanim mišićima tijekom proizvodnje se statistički značajno ($p < 0,05$) smanjivao od 872,61-191,78 mg/100 g s.tv u BF do 1005,19-118,31 mg/100 g s.tv u SM. U gotovom dimljenom pršutu određeni su statistički značajno ($p < 0,05$) veći udjeli u BF, vjerojatno kao posljedica veće proteolitičke aktivnosti u tom mišiću (slike 24 i 25). Konačne vrijednosti karnozina i anserina određene u ovom istraživanju niže su od onih određenih u BF Iberijskog pršuta (979,31 mg/100 g s.tv. karnozina i 65,75 mg/ 100 g s.tv.) (Pérez-Palacios i sur., 2010), vjerojatno zbog intenzivnije proteolitičke aktivnosti u dimljenom pršutu analiziranom u ovom istraživanju. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti kako faza dimljenja ($< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) nije značajnije utjecala na nastanak slobodnih aminokiselina i dipeptida tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.

5.2.4. Sastav masnih kiselina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Brojne značajke kvalitete pršuta uvelike ovise o mastima prisutnima u mišićnom i masnom tkivu buta, kao i o njihovima promjenama tijekom tehnološkog procesa proizvodnje. Produkti lipolize (SMK) mogu direktno utjecati na senzorska svojstva pršuta ili su kao takve prekursori za različite hlapive spojeve arome jer podliježu oksidaciji (Čandek-Potokar i Škrlep, 2012). U tablici 14 prikazan je sastav masnih kiselina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.

Sastav masnih kiselina u sirovim mišićima buta nije se statistički značajno razlikovao ($p > 0,05$) u pogledu većine masnih kiselina, uz iznimku trikozanoične kiseline (C23:0) čiji je

statistički značajno veći udio ($p < 0,05$) određen u mišiću SM. Najzastupljenije masne kiseline u oba mišića sirovog buta bile su oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), linolna (C18:2cn6) i miristinska (C14:0). Profil masnih kiselina sirovih mišića u skladu je sa sastavom masnih kiselina određenima i u drugim istraživanjima (Yang i sur., 2005; Larrea i sur., 2007; Ripollés i sur., 2011). U istraživanju Flores i sur. (2009), sirovi but Iberijske svinje u najvećem udjelu je sadržavao linolnu (C18:2n6), palmitinsku (C16:0), oleinsku (C18:1) i arahidonsku (C20:4n6), što je vjerojatno posljedica razlike u genetskom porijeklu te načinu prehrane i uzgoja Iberijske svinje koji imaju izravan utjecaj na profil masnih kiselina (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Profil masnih kiselina statistički se značajno ($p < 0,05$) mijenjao kroz proizvodni proces. Unatoč povećanju udjela većina MK u prvim mjesecima proizvodnog procesa, konačni udjeli većine MK bili su bliski onima u sirovim mišićima, vjerojatno zbog procesa oksidacije masnih kiselina koji je nastupio u kasnijim fazama proizvodnje (Toldrá, 2006). Sličan trend zabilježen je i pri proizvodnji Xuanwei (Yang i sur., 2005) i Teruel (Larrea i sur., 2007) pršuta. Tijekom proizvodnje, određeno je značajno ($p < 0,05$) povećanje udjela linoelaidinske (C18:2t) i linolenske (C18:3n3) masne kiseline, i smanjenje ($p < 0,05$) eikozatrienske (C20:3n6) i arahidonske (C20:4n6) kiseline. Drugi autori također su zabilježili promjene udjela MK tijekom proizvodnje pršuta (Larrea i sur., 2007; Flores i sur., 2009) i srodnih suhomesnatih proizvoda (Lorenzo i sur., 2008; Lorenzo i sur., 2013).

Općenito, najveći porast udjela masnih kiselina u ovom istraživanju zabilježen je nakon faza soljenja i dimljenja, u skladu s rezultatima istraživanja na Iberijskom pršutu (Flores i sur., 2009) koji su pokazali kako glavni lipolitički enzimi ostaju stabilni i 2-3 mjeseca nakon faze soljenja. Antequera i sur. (1992) pratili su tijek lipolize tijekom proizvodnje Iberijskog pršuta i odredili najintenzivniju lipolizu tijekom soljenja i sušenja. Udjeli većine MK nisu se značajno ($p > 0,05$) razlikovali između faze zrenja (pršut starosti 12 mjeseci) i produljenog zrenja (pršut starosti 18 mjeseci), u skladu s literaturnim podacima kako se najintenzivnija lipoliza odvija u prvih pet mjeseci proizvodnje (sol i sniženi aktivitet vode u kiselom okruženju potiču aktivnost lipaza), a nakon čega usporava (Motilva i sur., 1993; Buscailhon i sur., 1994a; Toldrá, 1998; Gandemer, 2002). U istraživanju profila masnih kiselina u Kraškom pršutu starosti 12 i 16 mjeseca, Pugliese i sur. (2015) također nisu odredili značajnu razliku u sastavu masnih kiselina između dva vremena zrenja.

U gotovom dimljenom pršutu nakon 18 mjeseci proizvodnje u najvećem udjelu određene su oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), linolna (C18:2cn6) i miristinska (C14:0). Najveća zastupljenost navedenih masnih kiselina rezultat je njihove najveće početne koncentracije u svježem butu te njihove otpornosti na oksidaciju (Kovačević,

2017). U mišićima BF i SM Kraškog pršuta nakon produljenog zrenja također su u najvećem udjelu pronađene oleinska (C18:1), palmitinska (C16:0) i linolna (C18:2) kiselina (Pugliese i sur., 2015). U raznim vrstama španjolskih pršuta proizvedenih od bijelih i crnih pasmina svinja, oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0) i stearinska (C18:0) su također određene kao najzastupljenije (Ruiz-Carrascal i sur., 2000; Timón i sur., 2001; Fernández i sur., 2007; Larrea i sur., 2007; Bermúdez i sur., 2012). U navedenim istraživanjima su određeni značajno viši udjeli oleinske (C18:1c) kiseline u španjolskim pršutima u usporedbi s onima određenima u ovom istraživanju. Visoki udjeli oleinske kiseline u španjolskim pršutima posljedica su prehrane Iberijskih svinja bazirane na žirevima bogatima oleinskom kiselinom (Ruiz-Carrascal i sur., 2000). Profil masnih kiselina dobiven u ovom istraživanju u skladu je s rezultatima profilom masnih kiselina Istarskog i Dalmatinskog pršuta (Karolyi, 2006; Marušić i sur., 2013b; Pleadin i sur., 2015). Na kraju proizvodnje su određeni slični profili masnih kiselina između BF i SM, a razlikovali su se samo u udjelu pojedinih MK. U istraživanju Pugliese i sur. (2015), SM je sadržavao značajno više udjele većine MK u odnosu na BF. Prema Antequeri i sur., (1992) veći sadržaj MK u SM je posljedica nižih pH vrijednosti, a time i veće aktivnosti kiselih mišićnih lipaza i lipolitičkih *Micrococcaceae* i kvasaca u tom mišiću.

Općenito, proizvodi od svinjskog mesa sadrže veći udio SFA te niži udio MUFA i PUFA. Masti bijelih pasmina svinja sastavljene su od 35-40 % SFA, 45–50% MUFA i 10–15% PUFA. Mesni proizvodi proizvedeni od Iberijske pasmine sadrže više udjele MUFA (54-58 %), niži udio SFA (30–35%) i PUFA (8–12%), zbog, kako je ranije navedeno, načina prehrane i uzgoja svinja (Jiménez-Colmenero i sur., 2010; Marušić i sur., 2019b).

U mišiću BF tijekom proizvodnje udjeli SFA kretali su se između 38,10-39,59 %, MUFA između 51,00-53,77 % i PUFA između 7,97-9,72 %. U mišiću SM, izmjereni su udjeli SFA od 38,10-39,32%, MUFA 50,63-51,59 % i PUFA 8,71-10,84 %. Dobiveni rezultati u skladu su s literaturnim podacima o sastavu masnih kiselina bijelih pasmina svinja (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Udio SFA i MUFA bio relativno stabilan u oba mišića kroz proces, posebice u SM, dok su se u mišiću BF blago, no statistički značajno ($p < 0,05$) mijenjali kroz proces. Najviši udjeli PUFA u mišićima određeni su nakon zrenja (pršut starosti 12 mjeseci), dok se nakon produljenog zrenja njihov udio smanjio ($p < 0,05$), vjerojatno kao posljedica oksidacije (Buscailhon i sur., 1994a). Sličan trend u udjelima SFA, MUFA i PUFA zabilježili su Larrea i sur. (2007) pri proizvodnji Teruel pršuta. Konačan sastav masnih kiselina u pogledu udjela SFA, MUFA i PUFA u skladu je sa sastavom Dalmatinskih i Istarskih pršuta (Marušić i sur., 2013b), pršuta križanca bijelih pasmina svinja Durok x (Jorkšir x Landras) (Marušić i sur., 2019a) i Teruel pršuta (Fernández i sur., 2007; Larrea i sur., 2007). S druge strane, pršut

proizveden od pasmine Crne slavonske svinje Celta (Bermúdez i sur., 2012), Bayonne, Parma i Serrano pršut (Gilles, 2009) sadržavali su niži udio SFA i viši udio PUFA (Marušić i sur., 2019b). Omjeri MUFA/PUFA u istraživanim mišićima statistički su se značajno ($p < 0,05$) mijenjali tijekom proizvodnje, no na kraju procesa nisu zabilježene značajne razlike ($p > 0,05$) u MUFA/PUFA između dva mišića. Vrijednosti MUFA/PUFA u pršutu nakon 18 mjeseci proizvodnje u BF i SM veće su od onih izmjerenih na Istarskim i Dalmatinskim pršutima (Marušić i sur., 2013b; Pleadin i sur. 2015) te niže od onih izmjerenih na pršutima od tropasminskog križanca i Crne slavonske svinje (Marušić i sur., 2019a).

Omjeri PUFA/SFA i $n-6/n-3$ predstavljaju glavne parametre za procjenu nutritivne kvalitete masti, a preporučene vrijednosti iznose $PUFA/SFA > 0,4$ i $n-6/n-3 < 4$ (Simopoulos, 2002; Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Najviši omjeri PUFA/SFA određeni su kod pršuta proizvedenih od bijelih pasmina svinja, poput Parma i Serrano pršuta (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Omjeri PUFA/SFA u mišiću BF nisu se statistički značajno mijenjali ($p > 0,05$) do faze produljenog zrenja. U mišiću SM vrijednosti PUFA/SFA statistički su se značajno mijenjale ($p < 0,05$) kroz proces, uz najviše vrijednosti izmjerene nakon faze zrenja (pršut starosti 12 mjeseci). Konačni omjeri PUFA/SFA ispod su preporučenih vrijednosti (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Dobiveni rezultati su usporedivi s rezultatima Pleadin i sur. (2015) koji su utvrdili vrijednosti PUFA/SFA Istarskog (0,21) i Dalmatinskog (0,17) pršuta, dok su u Serrano (0,30) i Iberijskom (0,19-0,38) određene više vrijednosti (Fernández, 2007; Jiménez-Colmenero i sur., 2010). U gotovom dimljenom pršutu, SM je sadržavao značajno više ($p < 0,05$) udjele $n-6$ masnih kiselina, dok se udjeli $n-3$ nisu razlikovali ($p > 0,05$) između mišića. Omjeri $n-6/n-3$ u konačnom proizvodu (24,54 u BF i 23,58 u SM) nisu u skladu s navedenim preporučenom vrijednostima (Jiménez-Colmenero i sur., 2010). Dobivene vrijednosti usporedive su s onima određenima u pršuta proizvedenom od svinje bijelog tropasminskog križanca (Marušić i sur., 2019a) te više od onih izmjerenih na BF Dalmatinskog i Istarskog pršuta (Marušić i sur., 2013b) i raznih vrsta španjolskih pršuta (Fernández i sur., 2007; Bermúdez i sur., 2012). Pleadin i sur. (2015) su istraživali sezonske varijacije u sastavu masnih kiselina Istarskog i Dalmatinskog pršuta tijekom trogodišnjeg razdoblja te su utvrdili kako udjeli SFA, MUFA, $n-6$ i $n-3$, kao i njihovi omjeri, mogu značajno varirati ovisno o sezoni proizvodnje. Konačan sastav masnih kiselina u dimljenom pršutu nakon 18 mjeseci proizvodnje predstavlja sastav masnih kiselina tipičan za proizvode od svinjskog mesa.

5.3. Oksidacijske promjene tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Tijekom procesa produljenog zrenja odvijaju se oksidacijski procesi na mastima i proteinima koji utječu na senzorske i nutritivne karakteristike pršuta (Estévez, 2011, Koutina i sur., 2012). Rezultati određivanja oksidacije masti i proteina tijekom šest faza proizvodnje dimljenoga pršuta prikazani su slikama 27 i 28.

5.3.1. Oksidacija masti tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

SMK nastale tijekom lipolize u pršutu podložne su oksidaciji, a primarni produkti oksidacije lipida su nestabilni hidroperoksidi koji se razgrađuju nizom složenih reakcija u sekundarne oksidacijske produkte (aldehide, ketone, estere i mnoge druge). Stupanj oksidacije masti ovisi o nekoliko faktora poput vrijednosti pH i a_w , koncentraciji NaCl-a, temperaturi i anatomskej lokaciji mišića tijekom proizvodnje (Gilles, 2009, Harkouss i sur., 2015, Petrova i sur., 2015a).

Stupanj oksidacije masti određen TBARS testom (mg MDA/ kg uzorka) statistički je značajno ($p < 0,05$) rastao u oba mišića tijekom proizvodnje, od 0,13-0,46 mg MDA/kg u BF i 0,13-0,50 mg MDA/kg u SM. Vrijednosti stupnja oksidacije masti u mišićima nisu se značajnije mijenjale sve do faze zrenja (12 mjeseci proizvodnje), kada je određen značajan ($p < 0,05$) porast te maksimalne vrijednosti oksidacije masti. U nedimljenom Celta pršutu (Bermúdez i sur., 2014b) određen je značajan ($p < 0,05$) porast stupnja oksidacije masti već u četvrtom mjesecu proizvodnje. Budući da je u ovom istraživanju intenzivniji porast oksidacije masti određen mnogo kasnije, može se pretpostaviti kako je faza dimljenja usporila oksidacijske promjene na mastima (antioksidativni efekt dima). Dobiveni rezultati su u skladu s rezultatima drugih istraživanja kojima je utvrđeno kako se najintenzivnija oksidacija masti odvija u prvim fazama tehnološkog procesa proizvodnje pršuta, dok se u fazama zrenja i produljenog zrenja formiranje oksidacijskih produkata stabilizira zbog njihove razgradnje u hlapive tvari arome ili reakcija s aminokiselinama čime nastaju Shiffove baze (Koutina i sur., 2012; Harkouss i sur., 2015; Li i sur., 2020a).

Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) između istraživanih mišića u stupnju oksidacije masti utvrđene su samo nakon faze zrenja u SM, što se može pripisati prooksidativnom učinku NaCl-a koji se u ovom mišiću nalazi u većim koncentracijama u prvim fazama tehnološkog procesa, a istovremeno je radi vanjske pozicije izloženiji vanjskim utjecajima, posebice kisiku. Analizom Pearsonove korelacije (tablice 17 i 18) utvrđena je pozitivna korelacija između oksidacije masti (TBARS) i NaCl-a u BF ($p < 0,01$; $r = + 0,851$) i SM ($p < 0,01$; $r = + 0,494$). Prooksidativni efekt NaCl-a utvrđen je i u istraživanjima stupnja oksidacije masti tijekom

proizvodnje drugih vrsta pršuta (Jin i sur., 2012; Bermúdez i sur., 2014b, Harkouss i sur., 2015, 2017).

U BF i SM gotovog dimljenog pršuta nisu određene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u stupnju oksidacije masti. Bermúdez i sur. (2014a) su također su odredili jednake razine MDA u BF i SM Celta pršuta nakon faze produljenog zrenja, no uz znatno više vrijednosti od onih određenih u ovom istraživanju. Dobivene vrijednosti TBARS testa dobivene u ovom istraživanju niže su od onih određenih u BF španjolskog pršuta (Li i sur., 2020) te više od onih dobivenih na Iberijskom (Cilla i sur., 2005) pršutu nakon 18 mjeseci proizvodnje.

5.3.2. Oksidacija proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Znanstvena literatura na temu oksidacije proteina tijekom cijelog tehnološkog procesa proizvodnje pršuta prilično je oskudna (Koutina i sur., 2012; Li i sur., 2020a). Većina znanstvenih radova na temu oksidacije proteina u području analitike mesa i mesnih proizvoda uglavnom je istraživala utjecaj zamrzavanja, hlađenja i mljevenja na oksidaciju proteina u svježem mesu (Soladoye i sur., 2015, 2017) ili određivanjem stupnja oksidacije proteina u gotovim pršutima i drugim suhomesnatim proizvodima (Armenteros i sur., 2009). Rezultati određivanja oksidacije proteina (nmol karbonila / mg proteina) određeni DNPH metodom tijekom šest faza proizvodnje dimljenoga pršuta prikazani su na slici 28.

Udio karbonila u BF i SM tijekom proizvodnje dimljenog pršuta nije se statistički značajno ($p > 0,05$) mijenjao tijekom sve do faze zrenja, kada je u oba mišića određen statistički značajan ($p < 0,05$) porast, od početnih 10,22 – 26,36 nmol karbonila / mg proteina u BF i 9,88 – 15,88 u SM nmol karbonila / mg proteina. Sličan trend uočen je za BF i SM Parma pršuta u kojima se stvaranje karbonila nije značajno povećalo do faze zrenja (Koutina i sur., 2012). Nakon faze produljenog zrenja određen je statistički značajan ($p < 0,05$) pad udjela ukupnih karbonila, do konačnih 19,18 nmol karbonila / mg proteina u BF i 15,88 nmol karbonila / mg proteina u SM. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima istraživanja Li i sur. (2020) koji su pratili razinu ukupnih karbonila od 9-24 mjeseca proizvodnje španjolskog pršuta i odredili maksimalne razine karbonila u 12 mjesecu proizvodnje, dok između 15, 18, 24 mjeseca nije bilo značajnih razlika ($p < 0,05$). Koutina i sur. (2012) odredili su stabilizaciju razina karbonila već nakon 13 mjeseci proizvodnje Parma pršuta, što autori pripisuju oksidaciji karbonila do karboksilnih kiselina ili njihovoj dimerizaciji. Dobivene vrijednosti u gotovom dimljenom pršutu znatno su više od onih dobivenih u istraživanjima španjolskog pršuta (~8 nmol karbonila/mg proteina) (Armenteros i sur., 2009) i Parma pršuta nakon 13 mjeseci

proizvodnje (~3 nmol karbonila/mg proteina) (Koutina i sur., 2012), no usporedive su s onima određenima u BF španjolskog pršuta nakon 18 mjeseci proizvodnje (~16 nmol karbonila /mg proteina) (Li i sur., 2020a). Razine karbonila u mesu i mesnim proizvodima općenito se kreću od 0,5-20 nmol/mg proteina, a opseg oksidacije proteina često ovisi i o porijeklu sirovine (pasmini životinje i uvjetima uzgoja), duljini i uvjetima proizvodnje i skladištenja proizvoda (Estévez, 2011). Niže razine karbonila u španjolskim i talijanskim vrstama pršuta iz navedenih istraživanja također mogu biti posljedica dodatka nitrata i nitrita u fazi soljenja koji imaju antioksidativni efekt (Gallego i sur., 2018a). Također, navedene razlike mogu se pripisati dodatku viših koncentracija NaCl-a tijekom proizvodnje istraživanog pršuta, koji ima prooksidativni učinak na mišićne proteine (Wang i sur., 2011). Nadalje, utvrđeno je (Gallego i sur., 2018b) kako se pomoću oksidiranih peptida porijeklom iz specifičnih proteina mogu identificirati i razlikovati mišići pršuta u različitim fazama proizvodnje. Oksidirani peptidi koji potječu od proteolize MHC proteina najznačajniji su za karakterizaciju pršuta tijekom završnih faza proizvodnje i dugog procesa zrenja. To upućuje kako su brzina i intenzitet oksidacije proteina osim gore navedenih faktora, također u određenoj mjeri pod utjecajem proteolitičkih procesa tijekom proizvodnje pršuta (Poljanec i sur., 2021b).

Između dva istraživana mišića utvrđena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u udjelu ukupnih karbonila samo nakon faze produljenog zrenja. Unatoč tome što je zbog SM izloženiji kisiku i većim koncentracijama NaCl-a koji je prooksidans (Soladoye i sur., 2015), u gotovom dimljenom pršutu određeni su značajno viši ($p < 0,05$) udjeli ukupnih karbonila u BF u odnosu na SM. Suprotno rezultatima ove studije, Koutina i sur. (2012) odredili su intenzivniji stupanj oksidacije proteina u SM tijekom 13 mjeseci proizvodnje Parma pršuta. Veći udio karbonila u SM (1,57 nmol/mg proteina) nego u BF (0,94 nmol / mg proteina) određen je i tijekom faze soljenja Xuanwei pršuta u trajanju od 90 dana (Wang i sur., 2011). Međutim, mora se uzeti u obzir da pršuti iz spomenutih studija (Wang i sur., 2011; Koutina i sur., 2012) nisu prošli proces produljenog zrenja tijekom kojeg se odvija snažna proteolitička aktivnost (slike 24 i 25) za koju se pretpostavlja da ima promovirajući efekt na procese oksidacije proteina (Bao i Ertbjerg, 2019; Gan i sur., 2019). Stoga se može pretpostaviti da je veći intenzitet oksidacije proteina u BF posljedica veće proteolitičke aktivnosti u BF, a temelj za ovu pretpostavku pružaju i utvrđeni koeficijenti korelacije (tablice 17 i 18) koju upućuju na srednju do jaku pozitivnu korelaciju između proteolize i oksidacije proteina ($p < 0,01$; $r = (+) 0,47 - (+) 0,64$). Također, značajno niži ($p < 0,05$) udjeli ukupnih karbonila u mišiću SM, koji je tijekom proizvodnje izloženiji komponentama dima, sugeriraju kako hladno dimljenje ($< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) provedeno u

kontroliranim industrijskim uvjetima može u određenoj mjeri djelovati antioksidativno, odnosno protektivno na procese oksidacije proteina.

5.3.3. Međuovisnost proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih promjena tijekom proizvodnje dimljenog pršuta

Brojna istraživanja utvrdila su kako proteini i proteinski ostaci reagiraju sa sekundarnim produktima lipidne oksidacije (primarno aldehidima) istaknuvši visok stupanj pozitivne korelacije između procesa oksidacije masti i proteina u mesu i mesnim proizvodima (Armenteros i sur., 2009; Fuentes i sur., 2010; Wang i sur., 2018; Zareian i sur., 2019). Međutim, Pearsonovom analizom korelacije u ovom istraživanju nije utvrđena značajna ($p > 0,05$) povezanost između ova dva procesa tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. Važno je uzeti u obzir kako su sva navedena istraživanja u kojima je utvrđena snažna korelacija ($p < 0,05$, $r > + 0,90$) između oksidacije masti i proteina provedena na svježem mesu bez dodatka soli ili drugih sastojaka (Wang i sur., 2018; Zareian i sur., 2019) ili na gotovim pršutima (Armenteros i sur., 2009; Fuentes i sur., 2010), dok u literaturi nisu dostupne studije o povezanosti ova dva procesa tijekom cijelog tehnološkog procesa proizvodnje pršuta ili sličnih suhomesnatih proizvoda. Dostupna istraživanja određivala su povezanost specifičnih produkata oksidacije masti (heksanala) i oksidacije proteina (AAS i GGS), dok DNPH i TBARS metode nisu dovoljno specifične (Irwin i Hedges, 2004; Estévez, 2011) da bi se njihovim rezultatima mogla preciznije utvrditi njihova povezanost. Također, na oksidacijske procese utječe i koncentracija dodane soli tijekom proizvodnje, kao i proteolitički procesi, uz pretpostavku određenog protektivnog efekta komponenti dima primijenjenog u ovom istraživanju.

Kao što je spomenuto u teorijskom dijelu, u dostupnim literaturnim podacima o odnosu proteolize i oksidacije proteina prikazani su proturječni rezultati. Provedena je Pearsonova analiza korelacije (tablice 17 i 18) u svrhu utvrđivanja povezanosti ova dva procesa tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta, kojom je utvrđeno kako su oksidacija proteina i proteoliza statistički značajno povezane ($p < 0,01$) srednjom do jakom korelacijom ($r = (+) 0,47 - (+) 0,64$). U BF je utvrđena umjerena pozitivna korelacija između oksidacije proteina (DNPH) i indeksa proteolize određenim metodom s Cd-ninhidrinom ($p < 0,01$, $r = + 0,641$), kao i umjerena pozitivna korelacija između procesa oksidacije proteina (DNPH) i nastanka proteolitičkih produkata, aminokiselina ($p < 0,01$, $r = + 0,569$) i dipeptida ($p < 0,01$, $r = + 0,607$).

U SM je utvrđena umjerena pozitivna korelacija između oksidacije proteina (DNPH) i indeksa proteolize određenim omjerom neproteinskog i ukupnog dušika ($p < 0,01$, $r = + 0,467$) i metodom s Cd-ninhidrinom ($p < 0,01$, $r = + 0,588$), kao i umjerena pozitivna korelacija između procesa oksidacije proteina (DNPH) i aminokiselina ($p < 0,01$, $r = + 0,610$) i dipeptida ($p < 0,01$, $r = + 0,612$).

Može se pretpostaviti kako je oksidacija proteina dovela do razmatanja proteinske konformacije, čineći proteine osjetljivijim na interakcije s proteazama tijekom proizvodnje dimljenog pršuta, odnosno da je proteoliza intenzivirala produkciju karbonila razgradnjom proteina na manje fragmente koji su potom postali podložniji oksidacijskim procesima (Estévez, 2011, Poljanec i sur., 2021b). Također, iz dobivenih rezultata (slike 24, 25 i 28) može se zaključiti kako su se ova dva procesa odvijala simultano, posebice tijekom faze zrenja. Rezultati upućuju na interakciju oksidacije proteina i proteolize tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta i sukladni su zaključcima prethodnih istraživanja kako umjeren stupanj oksidacije proteina promovira proteolitičke procese (Bao i Ertbjerg, 2019).

5.4. Profil hlapivih spojeva arome tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta

Okus i aroma pršuta najznačajnije su karakteristike pršuta koje utječu na prihvatljivost kod potrošača (Domínguez i sur., 2019b). Aroma pršuta posljedica je nastanka hlapivih komponenti koje su rezultat biokemijskih procesa (lipolize, proteolize, Streckerove razgradnje i Maillardovih reakcija) tijekom proizvodnje, dok produljenjem faze zrenja specifična senzorska svojstva postaju izraženija (Toldrá, 1998; Pugliese i sur., 2015). Najznačajnije hlapive komponente arome pršuta su aldehidi, alkoholi, ketoni, karboksilne kiseline i ugljikovodici (Petričević i sur., 2018). U tablici 15 prikazani su rezultati određivanja profila hlapivih spojeva arome tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.

Istraživanjem aromatskog profila u mišićima BF i SM dimljenoga pršuta tijekom šest faza proizvodnje određeno je ukupno 95 spojeva: u sirovom pršutu određen je 31 spoj, nakon soljenja 40 spojeva, nakon dimljenja 58 spojeva, nakon sušenja 60 spojeva, nakon zrenja 72 (pršut starosti 12 mjeseci), a nakon produljenog zrenja (pršut starosti 18 mjeseci) 79 spojeva. Tijekom cijelog procesa, najzastupljeniji spojevi bili su aldehidi (20), a u značajnoj mjeri određeni su i spojevi iz skupine fenola (18) i alkohola (16). U nešto manjim koncentracijama određeni su ketoni (13), aromatski (11) i alifatski (6) ugljikovodici, esteri (6), terpeni (3) i kiseline (2). Tijekom 18 mjeseci proizvodnje, koncentracije individualnih aromatskih spojeva

značajno ($p < 0,05$) su se mijenjale kroz proces. Aromatski profili istraživanih mišića također su se međusobno značajno razlikovali ($p < 0,05$), ponajviše u drugoj polovici proizvodnog procesa.

Aldehidi imaju značajan utjecaj na aromu pršuta zbog niskog praga osjetljivosti, iako njihov utjecaj na aromu ovisi i o njihovoj kemijskoj strukturi (Gandemer, 2002). U ovom istraživanju aldehidi su bili najzastupljeniji spojevi u dimljenom pršutu, sukladno rezultatima istraživanja Jinhua (Huang i sur., 2014) i Toscano (Pugliese i sur., 2010) pršutu tijekom proizvodnje, Kraškom pršutu nakon 16 mjeseci proizvodnje (Pugliese i sur., 2015) i raznim mediteranskim vrstama pršuta (Sabio i sur., 1998). Najviši udjeli aldehida određeni su u oba mišića nakon soljenja, nakon čega se njihovi udjeli značajno ($p < 0,05$) smanjuju (od 64,09 % u BF i 64,68 % u SM do 41,41 % u BF i 26,73 % u SM). Smanjenje udjela aldehida vjerojatno je posljedica porasta udjela fenola, osobito u mišiću SM (Petričević i sur., 2018). Pad udjela aldehida tijekom proizvodnje određen je i u BF i SM Celta pršuta (Bermúdez i sur., 2015) i španjolskog suhomesnatog proizvoda „lacon“ (Lorenzo i sur., 2014). Aldehidi se dijele na zasićene (poput pentanala, heksanala, heptanala, oktanala) i nezasićene (poput 2-pentenala, 2-heksenala, 2-heptanala, 2-oktenala i 2-nonenala) koji potječu od autooksidacije nezasićenih masnih kiselina te na razgranate lančane (poput 2-metilpropanala and 3-metilbutanala) i aromatske (benzaldehyd) koji potječu od proteolitičkih reakcija ili razgradnje aminokiselina (Pastorelli i sur., 2003). Od linearnih aldehida kao najzastupljeniji tijekom proizvodnje određen je heksanal, dok je u gotovom pršutu starosti 18 mjeseci najzastupljeniji bio nonanal. Heksanal se smatra dobrim indikatorom lipidne oksidacije, koji u manjim koncentracijama pridonosi poželjnoj aromi pršuta, a u višim koncentracijama je nosioc arome užglosti (Pham i sur., 2008). Općenito, udjeli heksanala viši su u početnim fazama proizvodnje nego u zrelijem pršutu (Pugliese i sur., 2015). Sukladno rezultatima ovog istraživanja, Bermudez i sur. (2014a) su odredili značajan pad heksanala nakon produljenog zrenja, vjerojatno kao posljedica razgradnje u karboksilne kiseline ili druge spojeve arome. Razgranati i aromatski aldehidi imaju nizak prag osjetljivosti i česti su nosioci arome zrelog pršuta (Petričević i sur., 2018). Udjeli 3-metilbutanala, 2-metilbutanala, benzenaldehida i benzenacetaldehida značajno ($p < 0,05$) su rasli su kroz proces, a najviše razine određene su nakon faze produljenog zrenja. 2-metilbutanal povezan je s aromom po siru i orašastim plodovima, a 3-metilbutanal s aromom po voću i žiru (Sirtori i sur., 2020) U gotovom pršutu starosti 18 mjeseci, benzaldehid i benzenacetaldehyd su određeni u najvišim udjelima. Benzaldehid je nosioc aromatskih nota gorkog badema, a benzenacetaldehyd arome po žiru i arome užglosti. Visoke razine benzaldehida općenito su povezane s duljim procesom zrenja te se mogu pronaći u visokim udjelima u španjolskim vrstama pršuta starosti 2-3 godine (Petričević i sur., 2018). Većina

nezasićenih aldehida detektirana je tek nakon faze zrenja, a njihovi udjeli porasli su nakon dodatnih 6 mjeseci proizvodnje. Od nezasićenih aldehida u najvećem udjelu je određen 2E-decenal, nosioc arome po gljivama i zemlji (Andres i sur., 2002).

Fenoli imaju nizak prag osjetljivosti i nosioci su karakterističnog okusa i arome dimljenih mesnih proizvoda (Marušić Radovčić i sur., 2016). Njihovo prisustvo karakteristično je za dimljene pršute te su u visokim koncentracijama određeni u Dalmatinskom i Drniškom pršutu (Petričević i sur., 2018). Općenito, spojevi iz skupine fenola koji u najvećoj mjeri pridonose aromi dimljenog pršuta su eugenol, 2,6-dimetoksifenol, 4-etilgvajakol, 2-metilfenol, 3-metilfenol i 4-metilfenol koji su također detektirani u ovom istraživanju. Drugi autori odredili su značajan utjecaj gvajakola, 4-metil gvajakola i fenola na aromu dimljenog pršuta, no njihova prisutnost nije detektirana u ovom istraživanju (Marušić i sur., 2016). Različit profil fenolnih komponenti može biti posljedica razlika u vrstama drveta i biljaka koji se koriste za dimljenje (Petričević i sur., 2018). Značajan porast udjela fenola određen je u drugoj polovici proizvodnje, nakon faze dimljenja. Mišić SM je zbog svoje vanjske lokacije u butu u direktnom kontaktu s dimom tijekom dimljenja i posljedično značajno veće ($p < 0,05$) udjele ukupnih fenola tijekom cijele proizvodnje. Koncentracije ukupnih fenola u istraživanim mišićima rastle su tijekom proizvodnog procesa do faze zrenja, kada su u mišićima određene maksimalne razine fenola (23,22% u BF i 52,27 % u SM). Dodatnih 6 mjeseci zrenja utjecalo je na pad udjela fenola u mišiću SM (52,27 %-42,78 %). Najzastupljeniji fenoli određeni u ovom istraživanju su 2-metoksifenol, 4-metilfenol i 2-metilfenol. Ovi spojevi su u visokim udjelima pronađeni i u drugim istraživanjima na Dalmatinskom (Marušić i sur., 2016; Petričević i sur., 2018) i Drniškom (Petričević i sur., 2018) pršutu.

Alkoholi su hlapive komponente arome koje uglavnom potječu od reakcija oksidacije masti, no mogu nastati i kao produkti redukcije aldehida i metilketona ili Streckerovom razgradnjom aminokiselina, a uglavnom nose drvene i biljne aromatske note te aromu „po masnome“ (Bermúdez i sur., 2015). Tijekom 12 mjeseci proizvodnje, u SM je određeno značajno ($p < 0,05$) smanjenje udjela ukupnih alkohola (21, 23 % - 6,46 %) što se može pripisati porastu udjela fenolnih komponenti (Petričević i sur., 2018). Produljeno zrenje utjecalo je na značajan ($p < 0,05$) porast udjela ukupnih alkohola u oba mišića, u skladu sa rezultatima Pugliese i sur. (2015) u BF i SM Kraškog pršuta nakon faze produljenog zrenja. Najzastupljeniji spojevi iz skupine alkohola kroz proizvodnju su bili 1-okten-3-ol, 1-oktanol i 1-pentanol. 1-okten-3-ol određen je kao najzastupljeniji i u Dalmatinskom (Marušić i sur., 2016), Toscano (Sirtori i sur., 2020) i Kraškom (Pugliese i sur., 2015) pršutu. 1-okten-3-ol je produkt razgradnje linolenske kiseline, a nosioc je arome “po gljivama” uz nizak prag

osjetljivosti za razliku od mnogih drugih spojeva arome iz ove skupine. 1-pentanol nosioc je arome po gorivu, voću i balzamične arome, dok 1-octanol nosi orašaste note, kao i note “po masnome” i “zagorenome”.

Ketoni su hlapivi spojevi arome koji potječu od autooksidacije masti ili od metaboličkih reakcija mikroorganizama, a nosioci su arome po kuhanome mesu i plavim pljesnivim sirevima. S obzirom da dim ima antimikrobni efekt, dimljeni pršuti obično imaju manji udio ketona od nedimljenih (Petričević i sur., 2018). Udio ketona u BF značajno ($p < 0,05$) se povećavao kroz proizvodnju (4,78-10,36 %), a najviši udjeli određeni su nakon faze produljenog zrenja. U SM je određeno povećanje do faze dimljenja (5,82-12,85 %). Na kraju proizvodnje, nisu određene značajne razlike ($p < 0,05$) u udjelu ukupnih ketona između dva mišića. U istraživanju Bermudez i sur. (2015), udio ketona u BF i SM Celta pršuta značajno je rastao do faze zrenja (12 mjeseci) uz značajni pad nakon produljenog zrenja. Pugliese i sur. (2015) odredili su značajan porast udjela ukupnih ketona nakon faze produljenog zrenja Kraškog pršuta. Najzastupljeniji ketoni određeni u ovom istraživanju su 2,5-oktanedion, 2,3-dimetil-2-ciklopenten-1-on i 1-okten-3-on. U Dalmatinskom, Krčkom i Istarskom 2,5-oktanedion je također određen kao najzastupljeniji keton (Petričević i sur., 2018). U ovom istraživanju su određena tri spoja iz skupine 2-ketona (2-butanon, 2-heptanon i 2-nonanon), koji su prepoznati kao nosioci specifične arome po tropskom voću, orašastim plodovima i tostiranome (Bermudez i sur., 2014a),

Aromatski ugljikovodici potječu od reakcija oksidacije masti, dimljenja, mikrobiološke aktivnosti ili iz stočne hrane (Huang i sur., 2014; Petričević i sur., 2018). Razine aromatskih ugljikovodika u mišićima blago su, no značajno ($p < 0,05$), varirale kroz proizvodni proces. Najznačajnije razlike između dva mišića određene su nakon faze sušenja, kada su u SM određene statistički značajno ($p < 0,05$) veći udjeli aromatskih ugljikovodika. Više razine ovih spojeva u SM vjerojatno su posljedica direktnog kontakta ovog mišića s dimom u fazi dimljenja, budući da su Petričević i sur. (2018) odredili značajno više udjele ovih spojeva u dimljenim u odnosu na nedimljene pršute. Benzen i 1,3,5-trimetilbenzen bili su najzastupljeniji pripadnici ove skupine spojeva tijekom cijelog procesa proizvodnje.

Alifatski ugljikovodici ne pridonose značajno aromi pršuta, s obzirom da imaju visok prag osjetljivosti te su u pršutima često prisutni u niskim koncentracijama (Pugliese i sur., 2015). Maksimalne koncentracije alifatskih ugljikovodika određene su u sirovom pršutu te su se značajno su se smanjivale ($p < 0,05$) tijekom proizvodnje. Suprotno rezultatima ovog istraživanja, Bermudez i sur. (2015) odredili su značajan porast razina alifatskih ugljikovodika

kroz cijeli proces proizvodnje Celta pršuta, uz najviše vrijednosti određene nakon produljenog zrenja.

Esteri nastaju enzimskom esterifikacijom masnih kiselina i alkohola tijekom proizvodnje pršuta, uglavnom aktivnošću bakterija mliječne kiseline ili *Micrococcacea* (Bermudez i sur., 2015). Kratkolančani esteri nosioci su voćne arome, dok dugolančani esteri nose masne aromatske note (Petričević i sur., 2018). Udio ukupnih estera u oba mišića značajno se smanjivao do faze produljenog zrenja, nakon koje je utvrđen njihov porast ($p < 0,05$). Značajno ($p < 0,05$) više razine estera određene su u BF, sukladno rezultatima Bermudez i sur. (2015) u BF i SM Celta pršuta kroz 18 mjeseci proizvodnje. U ovom istraživanju je određeno šest spojeva iz skupine estera, od kojih su dva (etil oktanoat i butil butanoat) detektirana tek nakon faze produljenog zrenja. Etil heksanoat je bio najzastupljeniji ester tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. U istraživanom dimljenom pršutu nisu određene visoke koncentracije estera, čime se razlikuje od drugih mediteranskih pršuta poput Toscano (Pugliese i sur., 2010), Celta (Bermudez i sur., 2015) i Parma pršutu (Bolzoni, 1996) u kojima esteri čine glavnu skupinu spojeva arome.

Terpeni su spojevi koji u pršutu uglavnom potječu od začina dodanih tijekom proizvodnje, posebice papra (Petričević i sur., 2018). U sirovom pršutu nije određena prisutnost terpena, a najviši ($p < 0,05$) udjeli određeni su nakon faze dimljenja u oba mišića, uz pad u kasnijim fazama proizvodnje. U ovom istraživanju određena su samo tri spoja iz skupine terpena (mircen, limonen i linalool). Najzastupljeniji terpen određen u istraživanom pršutu je limonen koji potječe od prehrane svinja (Pugliese i sur., 2015). Petričević i sur. (2018) odredili su visoke udjele terpena u Istarskom (9,44 %) i Krčkom (4,88 %) pršutu čija je proizvodnja karakteristična po dodatku raznih začina u fazi soljenja.

Kiseline potječu od hidrolize triglicerida ili fosfolipida tijekom proizvodnje pršuta (Li i sur., 2020b). Od svih skupina aromatskih spojeva u istraživanom pršutu, kiseline su bile najmanje zastupljene. Iz skupine kiselina određena su samo dva spoja (oktanoična i 4-hidroksi-3-metoksibenzoična kiselina) u SM nakon faze produljenog zrenja. Niske razine kiselina određene su i tijekom proizvodnje suhomesnatog proizvoda „lacon“ (Lorenzo i sur., 2014), dok su u drugim vrstama pršuta poput Jinhua (Huan i sur., 2005), Celta (Bermúdez i sur., 2015) i Toscano (Pugliese i sur., 2010) određeni znatno viši udjeli spojeva ove skupine.

5.5. Senzorske karakteristika dimljenoga pršuta (pršut starosti 12 i 18 mjeseci)

Senzorske i funkcionalne karakteristike proizvoda usko su povezane s kvalitetom sirovine i tehnološkim procesom proizvodnje (Virgili i Parolari, 1991). Brojne biokemijske reakcije koje se odvijaju tijekom procesa zrenja i produljenog zrenja dovode do značajnih promjena u sastavu i u senzorskim svojstvima pršuta (Cilla i sur., 2005). Senzorska analiza pršuta starosti 12 i 18 mjeseci provedena je od strane treniranog senzorskog panela (8 ocjenjivača) procjenom senzorskih svojstava pršuta koristeći nestrukturiranu linijsku skalu (Benedini i sur., 2012). U tablici 16 su prikazani rezultati senzorskih ocjena 18 svojstava istraživanih mišića dimljenoga pršuta.

Senzorskom analizom mišića BF i SM pršuta nakon faze zrenja (starosti 12 mjeseci, u daljem tekstu: BF5 i SM5) utvrđene su statistički značajne ($p < 0,05$) razlike u intenzitetu mirisa, mirisa po mesu i mirisa po dimljenome pri čemu su navedeni deskriptori bili intenzivniji ($p < 0,05$) u SM5. Može se pretpostaviti kako je jači intenzitet deskriptora mirisa u SM5 posljedica veće izloženosti ovog mišića dimu tijekom faze dimljenja. Mišić SM5 također je imao veći ($p < 0,05$) intenzitet boje mišićnog tkiva, što se pripisuje adheziji komponenata dima na njegovu površinu (Petričević i sur., 2018; Marušić Radovčić i sur., 2021). Dobiveni rezultati sukladni su provedenom instrumentalnom analizom boje (tablica 8) kojom je određena manja ($p < 0,05$) svjetlina (L^*) tog mišića nakon faze zrenja. U BF5 je određena je veća ($p < 0,05$) vlažnost površine i topivost te manja ($p < 0,05$) tvrdoća što se povezuje s višim udjelima vode u tom mišiću nakon zrenja (tablica 10). U BF5 je određena veća ($p < 0,05$) mramoriranost i kiselost. Veći ($p < 0,05$) intenzitet slanog okusa u BF5 povezuje se s višim udjelima soli (tablica 10) nakon faze zrenja.

Senzorskom analizom mišića BF i SM pršuta nakon faze produljenog zrenja (starosti 18 mjeseci, u daljem tekstu: BF6 i SM6) utvrđene su slične razlike ($p > 0,05$) između mišića u kao i u prethodnoj fazi. U SM6 je utvrđen ($p < 0,05$) veći intenzitet mirisa, mirisa po mesu i dimljenome te intenzitet boje mišićnog tkiva. Također, u SM6 je utvrđena veća ($p < 0,06$) gorčina i tvrdoća te prisutnost kristala tirozina. BF6 je imao veću ($p < 0,05$) topivost i vlažnost te slaniji okus. Rezultati senzorske analize BF6 i SM6 sukladni su rezultatima instrumentalne analize boje te osnovnog kemijskog sastava.

Okusi po začinjenome i biljnome nisu utvrđeni budući da se u proizvodnji Dalmatinskog pršuta ne dodaju začini. Senzorska svojstva biokemijskih mirisa (melasa, izgorjeno, zemlje, pljesnivo, octena kiselina, trulo jaje) određena su u samo nekoliko uzoraka

istraživanih mišića i to u vrlo niskom intenzitetu, a prisustvo bijelih kristala tirozina određeno je u samo nekoliko uzoraka SM6.

U provedenom istraživanju utvrđena je značajna ($p < 0,05$) razlikovnost pojedinih senzorskih svojstava pršuta u ovisnosti o stupnju zrenja (12 i 18 mjeseci starosti). Između BF pršuta različitog vremena zrenja utvrđena je značajna razlikovnost ($p < 0,05$) u deskriptorima boje (boja mišićnog tkiva, boji masnog tkiva, ujednačenost boje) izgleda (mramoriranost i vlažnost površine), okusa (slano i gorko) i teksture (tvrdoća i topljivost). Intenzitet mirisa, miris po dimu i mramoriranost imali su ujednačen ($p > 0,05$) intenzitet u BF5 i BF6. Razlike u pojedinim senzorskim svojstvima mišića BF različitog vremena zrenja posljedica su dodatnog prosušivanja (intenzivnija boja, manja vlažnost površine i veća tvrdoća), distribucije soli kroz mišićje buta (manja slanost), intenzivnije oksidacije masti (manji intenzitet boje masnog tkiva i manja ujednačenost boje), nakupljanja proteolitičkih produkata (povećana gorčina porijeklom iz aminokiselina) i omekšavanja kao posljedica proteolize (povećana topivost) i u skladu su s provedenim analizama fizikalno-kemijskih parametara (tablice 8 i 9), indeksa proteolize (slike 24 i 25) i aminokiselinskog profila (tablica 13) i oksidacije masti (slika 27).

U SM dimljenog pršuta različitog vremena zrenja utvrđena je značajna razlikovnost ($p < 0,05$) u intenzitetu mirisa, boje (boja mišićnog tkiva, boji masnog tkiva, ujednačenost boje), izgleda (mramoriranost, vlažnost površine i prisutnost kristala tirozina), okusa (slano, kiselo i gorko) i teksture (tvrdoća i topljivost). Intenzitet mirisa po mesu, po dimu, biokemijsko i slatki okus imali su ujednačen ($p > 0,05$) intenzitet u SM5 i SM6. Razlike ($p < 0,05$) u pojedinim senzorskim svojstvima mišića SM različitog vremena zrenja posljedica su dodatnog prosušivanja (intenzivnija boja mišićnog tkiva, veća mramoriranost, manja vlažnost površine i topivost), distribucije soli kroz mišićje buta (manja slanost, manja ujednačenost boje), nakupljanja proteolitičkih produkata (veća gorčina i prisutnost kristala tirozina) i oksidacije masti (intenzivniji miris, manji intenzitet boje masnog tkiva, manja ujednačenost boje i veća kiselost) i u skladu su s provedenim analizama fizikalno-kemijskih parametara (tablice 8 i 9), indeksa proteolize (slike 24 i 25), aminokiselinskog profila (tablica 13) i oksidacije masti (slika 27).

Mišić SM nedimljenih pršuta ima općenito veću prihvaćenost kod potrošača u odnosu na BF, što je prema Bermúdez i sur. (2014b) posljedica razlika u omjerima specifičnih aminokiselina te različitih udjela vode i soli. U istraživanju senzorskih karakteristika Serrano pršuta različitog vremena zrenja (Cilla i sur., 2005), autori nisu odredili značajne ($p > 0,05$) razlike u boji, ujednačenosti boje i mramoriranosti BF i SM pršuta 12 i 8 mjeseci starosti. Međutim, Serrano pršut se ne proizvodi uz primjenu dimljenja koje bi uzrokovalo razlike u

intenzitetu boje između mišića, već uz dodatak nitrata i nitrita koji daju karakterističnu crvenu boju koja ostaje stabilna i ujednačena tijekom proizvodnje (Tóldra, 2002). U istom istraživanju, pršut starosti 18 mjeseci imao je veći intenzitet arome, slanog okusa i tvrdoće od pršuta starosti 12 mjeseci, istovjetno rezultatima ovog istraživanja.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju prikazanih rezultata i provedene rasprave, izvedeni su sljedeći zaključci:

1. Istraživani fizikalno-kemijski parametri statistički su se značajno ($p < 0,05$) mijenjali u mišićima BF i SM tijekom tehnološkog procesa proizvodnje dimljenoga pršuta. Na kraju proizvodnje u mišiću BF su određene statistički značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti parametra svjetline (L^*), crvenosti (a^*) i žutine (b^*), adhezivne sile (N), adhezivnosti (Nmm), kohezivnosti, vode (%), pepela (% s.tv.) i NaCl-a (%). U SM su određene statistički značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti tvrdoće (N), gumenosti (N), žvackljivosti (Nmm) i prijeloma te viši udjeli proteina (% s.tv.).
2. Analizom indeksa proteolize dvjema metodama utvrđen je statistički značajan porast ($p < 0,05$) indeksa proteolize u oba mišića tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta, a pritom je određen intenzivniji stupanj proteolitičke aktivnosti u BF u odnosu na SM. Metoda mjerenja indeksa proteolize s Cd-ninhidrinom tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta predstavlja praktičniji i brži pristup od određivanja indeksa proteolize standardnom metodom.
3. SDS-PAGE analizom sarkoplazmatskih proteina BF i SM tijekom proizvodnje utvrđen je statistički značajan ($p < 0,05$) pad relativnog intenziteta većine sarkoplazmatskih proteinskih vrpce, s najizraženijim padom fosforilaze B (97,0 kDa), vrpce u području 64,1 - 41,7 kDa, gliceraldehid fosfat DH (36,7 kDa) i mioglobina (18,5 kDa). Faza soljenja je u mnogo većem opsegu i intenzitetu utjecala na sarkoplazmatske proteine SM.
4. SDS-PAGE analizom miofibrilarnih proteina istraživanih mišića tijekom proizvodnje utvrđen je značajan ($p < 0,05$) pad relativnog intenziteta većine miofibrilarnih proteinskih vrpce. Najizraženiji pad relativnog intenziteta određen je za vrpce 130 kDa, α -aktinin (96,7 kDa) i vrpce u području 28,1 kDa-16,9 kDa. Razgradnja miofibrilarnih proteina tijekom proizvodnje odvijala se u mnogo većem opsegu i intenzitetu u mišiću BF.
5. Najznačajnije promjene profila sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina BF i SM utvrđene su nakon faze produljenog zrenja. Pritom je detektirana intenzivna razgradnja većine miofibrilarnih proteina te potpuni nestanak vrpce proteina manjih MW (28,1 kDa-16,9 kDa).
6. Određen je statistički značajan ($p < 0,05$) porast udjela ukupnih aminokiselina te pad udjela dipeptida u oba mišića tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta. U BF i SM gotovog dimljenog pršuta u najvišim su udjelima određene glutaminska kiselina, lizin, alanin i

leucin. U gotovom dimljenom pršutu mišić BF sadržavao je značajno ($p < 0,05$) više udjele svih ukupnih aminokiselina i dipeptida u odnosu na SM.

7. Profili masnih kiselina u BF i SM dimljenoga pršuta statistički su se značajno ($p < 0,05$) mijenjali kroz proizvodni proces. Udjeli većine MK u gotovom dimljenom pršutu bili su usporedivi s onima određenima u sirovom butu. U gotovom dimljenom pršutu u najvećem su udjelu određene oleinska (C18:1c), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), linolna (C18:2cn6) i miristinska (C14:0) kiselina. BF i SM gotovog dimljenog pršuta sadržavali su 38,72-38,77 % SFA, 51,59-52,64 % MUFA i 8,56-9,23 % PUFA, što predstavlja sastav masnih kiselina tipičan za proizvode od svinjskog mesa.
8. Stupanj oksidacije masti određen TBARS testom statistički je značajno ($p < 0,05$) rastao u oba mišića tijekom proizvodnje. Porast stupnja oksidacije masti u oba mišića određen je do faze zrenja, dok je nakon faze produljenog zrenja određena stabilizacija formiranja oksidacijskih produkata. U BF i SM gotovog dimljenog pršuta nisu određene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u stupnju oksidacije masti. Dobiveni rezultati upućuju kako je antioksidativni efekt dima u određenoj mjeri usporio oksidaciju masti u istraživanom pršutu.
9. Stupanj oksidacije proteina u BF i SM određen DNPH testom nije se statistički značajno ($p > 0,05$) mijenjao tijekom proizvodnje sve do faze zrenja, nakon koje je određena maksimalna razina ukupnih karbonila istraživanog dimljenog pršuta. U gotovom dimljenom pršutu određeni su značajno viši ($p < 0,05$) udjeli ukupnih karbonila u BF u odnosu SM, iz čega se može zaključiti kako proteolitički procesi intenziviraju nastanak proteinskih karbonila, ali i kako hladno dimljenje ($< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) može u određenoj mjeri djelovati protektivno na procese oksidacije proteina.
10. Rezultati Pearsonove analize korelacije nisu pokazali značajnu ($p > 0,05$) povezanost procesa oksidacije masti i oksidacije proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.
11. Rezultati istraživanja međuovisnosti procesa proteolize i oksidacije proteina sugeriraju njihovu međusobnu interakciju. Proces proteolize i oksidacije proteina tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta odvijali su se simultano i međusobno se promovirali.
12. Istraživanjem profila hlapivih spojeva arome u mišićima BF i SM dimljenoga pršuta tijekom šest faza proizvodnje određeno je ukupno 95 spojeva, od kojih su u najvećim koncentracijama određeni aldehidi, fenoli i alkoholi. Udjeli hlapivih spojeva arome

statistički su se značajno ($p < 0,05$) mijenjali tijekom proizvodnje. Anatomska lokacija mišića u butu tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta utjecala je na konačan aromatski profil mišića te su u BF određeni značajno viši ($p < 0,05$) udjeli većine hlapivih spojeva arome, kao posljedica intenzivnijeg stvaranja proteolitičkih produkata zaslužnih za formiranje konačne arome dimljenoga pršuta.

13. Kvantitativnom deskriptivnom senzorskom analizom dimljenoga pršuta nakon faze zrenja (pršut starosti 12 mjeseci) i produljenog zrenja (pršut starosti 18 mjeseci) utvrđena je značajna razlikovnost ($p < 0,05$) između BF i SM u određenim senzorskim deskriptorima. Nepoželjna senzorska svojstva poput biokemijskih mirisa (melasa, izgoreno, zemlje, pljesnivo, octena kiselina, trulo jaje) nisu detektirana niti u jednom uzorku.
14. Nakon faze zrenja, u SM5 je određen značajno veći ($p < 0,05$) intenzitet pojedinih deskriptora mirisa (intenzitet mirisa, miris po mesu i miris po dimljenome), intenzitet boje mišićnog tkiva i tvrdoća u SM5, dok je veći intenzitet ($p < 0,05$) mramoriranosti, vlažnosti površine, slanosti i kiselosti i topivosti u BF5.
15. Nakon faze produljenog zrenja, u SM6 je određen značajno veći ($p < 0,05$) intenzitet pojedinih deskriptora mirisa (intenzitetu mirisa, mirisa po mesu i mirisa po dimljenome), intenzitetu boje mišićnog tkiva, prisutnosti kristala tirozina, gorčini i tvrdoći, dok je veći intenzitet ($p < 0,05$) vlažnosti površine, slanosti i topivosti u BF6.
16. Dobiveni rezultati deskriptivne senzorske analize u korelaciji su s rezultatima analitičkih metoda provedenih u svrhu praćenja proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih procesa tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta.
17. Produljenje procesa zrenja u trajanju od 6 mjeseci dovelo je do dodatnog isušivanja mišića buta, distribucije soli i intenzivne proteolize. Posljedično, došlo je do promjena fizikalno-kemijskih karakteristika i porasta intenziteta pojedinih senzorskih svojstava, ponajviše boje mišićnog tkiva, promjene konzistencije mišića (omekšavanje u BF i otvrdnjavanje u SM) te porasta udjela većine aromatskih spojeva.
18. Razlike u opsegu i tijeku fizikalno-kemijskih promjena, proteolitičkih, lipolitičkih i oksidacijskih procesa i senzorskih profila istraživanih mišića tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta prvenstveno su posljedica različite anatomske lokacije mišića u butu tijekom proizvodnje.

19. Faza hladnog dimljenja ($< 22\text{ }^{\circ}\text{C}$) u proizvodnji pršuta utjecala je na prvenstveno na formiranje specifičnih senzorskih svojstava: karakteristične boje i mirisa dimljenog pršuta i promjene aromatskog profila (porast ukupnih fenola), uz izraženiji efekt u mišiću SM. Značajniji utjecaj dimljenja na fizikalno-kemijske parametre i tijek proteolitičkih i lipolitičkih procesa nije određen. Može se pretpostaviti kako su antioksidativne komponente dima u određenoj mjeri usporile oksidacijske procese, ponajviše u mišiću SM.
20. Rezultati ove disertacije pružaju uvid o tijeku biokemijskih procesa i njihovih interakcija te doprinose razumijevanju utjecaja tehnološke faze dimljenja na kompleksne biokemijske procese koji se odvijaju u pršutu tijekom procesa proizvodnje.
21. U okviru ove disertacije po prvi puta je istražen utjecaj produljenog zrenja na fizikalno-kemijske, biokemijske i senzorske promjene dimljenog pršuta.
22. Dobivena saznanja pružaju temelj za usmjeravanje procesa proizvodnje dimljenog pršuta u svrhu standardizacije kvalitete i boljeg pozicioniranja proizvoda na tržištu.

7. LITERATURA

- Adams, R. P. (2001) *Identification of essential oil components by GCMS*, 3. izd., Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois.
- Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., Barat, J. M. (2010) Physicochemical changes in dry-cured hams salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. *Meat Sci.* **86**(2), 331–336.
- Andrés, A. I., Adamsen, C. E., Møller, J. K. S., Ruiz, J., Skibsted, L. H. (2006) High-pressure treatment of dry-cured Iberian ham. Effect on colour and oxidative stability during chill storage packed in modified atmosphere. *Eur. Food Res. Technol.* **222**(5–6), 486–491.
- Andrés, A. I., Cava, R., Ruiz, J. (2002) Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. *J. Chrom. A*, **963**(1-2), 83-88.
- Andrés, A. I., Cava, R., Martin, D., Ventanas, J., Ruiz, J. (2005a) Lipolysis in dry-cured ham: Influence of salt content and processing conditions. *Food Chem.* **90**(4), 523–533.
- Andres, A. I., Ventanas, S., Ventanas, J., Cava, R., Ruiz, J. (2005b) Physicochemical changes throughout the ripening of dry cured hams with different salt content and processing conditions. *Eur. Food Res. Technol.* **221**(1–2), 30–35. doi:10.1007/s00217-004-1115-y
- Andronikov, D., Gašperlin, L., Polak, T. , Žlender, B. (2013) Texture and quality parameters of slovenian dry-cured ham kraški pršut according to mass and salt levels. *Food Technol. Biotechnol.* **51**(1), 112–122.
- Anonymous (2014) Faze proizvodnje pršuta, <http://www.prsut-vostane.hr/hr/faze_proizvodnje_prsuta.html>. Pristupljeno 12. ožujka 2022.
- Anonymous (2016) Istarski pršut, <<https://pisinium.hr/istarski-prsut/>>. Pristupljeno 16. prosinca 2021.
- Anonymous (2018) Dalmatinski pršut Pivac, <<https://www.pivac.hr/hr/brands/dalmatinski-prsut-pivac> >. Pristupljeno 16. prosinca 2021.
- Anonymous (2021a) eAmbrosia - the EU geographical indications register, <<https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/geographical-indications-register/>>. Pristupljeno 13. veljače 2021.
- Anonymous (2021b) What is F-D? Force object Deformation." <<https://slideplayer.com/slide/4884346/>>. Pristupljeno 10. studenog 2021.

- Anonymous (2021c) Quality schemes explained, <https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained_en>. Pristupljeno 13. veljače 2021.
- Anonymous (2021e) Parma Ham between tradition and innovation: salt control and reduction in pork processing <https://ec.europa.eu/info/funding-tenders/opportunities/portal/screen/opportunities/horizon-results-platform/13987;resultId=13987>>. Pristupljeno 26. ožujka 2022.
- Anonymous (2021d) Radikal, <<https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=51459>>. Pristupljeno 16. ožujka 2022.
- Antequera, T., López-Bote, C. J., Córdoba, J. J., García, C., Asensio, M. A., Ventanas, J., Díaz, I. (1992) Lipid oxidative changes in the processing of Iberian pig hams. *Food Chem.*, **45**(2), 105–110.
- AOAC (1984) Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, SAD.
- Aristoy, M. C., Toldrá, F. (1998) Concentration of free amino acids and dipeptides in porcine skeletal muscles with different oxidative patterns. *Meat Sci.* **50**(3), 327–332.
- Armenteros, M., Aristoy, M. C., Barat, J. M., Toldrá, F. (2012) Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts. *Meat Sci.* **90**(2), 361–367.
- 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**(1), 104–112. Elsevier Ltd.
- Arnau Arboix, J. (2014) Dry-Cured Ham. *Encyclopedia of Meat Sciences* (Dikeman, D., Devine C., ured.), 2.izd., Academic Press, San Diego, str. 87-91.
- Arnau, J., Guerrero, L., Gou, P. (1997) Effects of temperature during the last month of ageing and of salting time on dry-cured ham aged for six months. *J. Sci. Food Agric.* **74**(2), 193–198.
- Arnau, J., Serra, X., Comaposada, J., Gou, P., Garriga, M. (2007) Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. *Meat Sci.* **77**, 81–89.
- Astruc, T. (2014a) Carcass, composition, muscle structure, and contraction. U: *Encyclopedia of Meat Sciences* (Dikeman, D., Devine C., ured.), 2.izd., Academic Press, San Diego, str. 148–166.

- Astruc, T. (2014b) Muscle fiber types and meat quality. U: *Encyclopedia of Meat Sciences* (Dikeman, D., Devine C., ured.), 2.izd., Academic Press, San Diego, str. 442-448.
- Bao, Y., Ertbjerg, P. (2019) Effects of protein oxidation on the texture and water-holding of meat: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **59**(22), 3564–3578.
- Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2008) Aroma Compounds. U: *Food Chemistry*, 4.izd., Springer, Berlin, str. 340-402.
- Benedini, R., Parolari, G., Toscani, T., Virgili, R. (2012) Sensory and texture properties of Italian typical dry-cured hams as related to maturation time and salt content. *Meat Sci.* **90**(2), 431–437.
- Berardi, G., Albenzio, M., Marino, R., D'Amore, T., Taranto, A. Di, Vita, V., Iammarino, M. (2021) Different use of nitrite and nitrate in meats: A survey on typical and commercial Italian products as a contribution to risk assessment. *LWT-Food. Sci. Technol.* **150**, 112004.
- Berardo, A., Claeyes, E., Vossen, E., Leroy, F., Smet, S. De. (2015) Protein oxidation affects proteolysis in a meat model system. *Meat Sci.* **106**, 78–84.
- Bermúdez, R., Domínguez, R., Pateiro, M., Franco, D., Carballo, J., Lorenzo, J. M. (2018) Physicochemical changes of semimembranosus muscle during the processing of dry-cured ham from Celta pig. Effect of crossbreeding with Duroc and Landrace genotypes. *Anim. Prod. Sci.* **58**(10), 1958–1965.
- Bermúdez, R., Franco, D., Carballo, J., Lorenzo, J. M. (2015) Influence of type of muscle on volatile compounds throughout the manufacture of Celta dry-cured ham. *Food Sci Technol Int*, **21**(8), 581–592.
- Bermúdez, R., Franco, D., Carballo, J., Lorenzo, J. M. (2017) Sensory properties and physico-chemical changes in the biceps femoris muscle during processing of dry-cured ham from Celta pigs. Effects of cross-breeding with Duroc and Landrace pigs. *Ital. J. Food Sci.* **29**(1), 123–137.
- Bermúdez, R., Franco, I., Franco, D., Carballo, J., Lorenzo, J. M. (2012) Influence of inclusion of chestnut in the finishing diet on fatty acid profile of dry-cured ham from Celta pig breed. *Meat Sci.*, **92**(4), 394–399.
- Bermúdez, Roberto, Domínguez, R., Pateiro, M., Franco, D., Carballo, J. , Lorenzo, J. M. (2018) Physicochemical changes of semimembranosus muscle during the processing of dry-cured ham from Celta pig. Effect of crossbreeding with Duroc and Landrace genotypes. *Anim. Prod. Sci.* **58**(10), 1958–1965.
- Bermúdez, Roberto, Franco, D., Carballo, J. , Lorenzo, J. M. (2014a) Physicochemical

changes during manufacture and final sensory characteristics of dry-cured Celta ham. Effect of muscle type. *Food Control* **43**, 263–269.

- Bermúdez, Roberto, Franco, D., Carballo, J., Sentandreu, M. Á., Lorenzo, J. M. (2014b) Influence of muscle type on the evolution of free amino acids and sarcoplasmic and myofibrillar proteins through the manufacturing process of Celta dry-cured ham. *Food Res. Int.* **56**, 226–235.
- Bermúdez, Roberto, Franco, D., Carballo, J., Sentandreu, M. Á., Lorenzo, J. M. (2014b) Influence of muscle type on the evolution of free amino acids and sarcoplasmic and myofibrillar proteins through the manufacturing process of Celta dry-cured ham. *Food Res. Int.* **56**, 226–235.
- Bhuyan, D., Das, A., Laskar, S. K., Bora, D. P., Tamuli, S., Hazarika, M. (2018) Effect of different smoking methods on the quality of pork sausages. *Vet. World.* **11**(12), 1712–1719.
- Bidlingmeyer, B. A., Cohen, S. A., Tarvin, T. L. Frost, B. (1987) A new, rapid, high-sensitivity analysis of amino acids in food type samples. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **70**(2), 241–247.
- Bogdanović, T. (2017) Chemical and Sensorial Properties of Fermented Meat Products. U: *Fermented Meat Products - Health Aspects*, (Zdolec, N., ured.), CRC Press, Boca Raton, str. 359-388.
- Bogdanović, T., Pleadin, J., Petričević, S., Listeš, E., Sokolić, D., Marković, K., Ozogul, F., Šimat, V. (2019) The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and meat products of Croatia and dietary exposure. *J. Food Compos. Anal.* **75**, 49–60.
- Bolzoni, L., Barbieri, G., Virgili, R. (1996) Changes in volatile compounds of Parma ham during maturation. *Meat Sci.*, **43**(3-4), 301-310.
- Bonneau, M., Lebret, B. (2010) Production systems and influence on eating quality of pork. *Meat Sci.* **84**(2), 293–300.
- Bosse (née Danz), R., Müller, A., Gibis, M., Weiss, A., Schmidt, H., Weiss, J. (2018) Recent advances in cured raw ham manufacture. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **58**(4), 610–630.
- Božac, R., Uremović, M., Šišović, D., Toić, U. (2008) Istarski pršut- oznaka izvornosti, Specifikacija, Udruga proizvođača istarskog pršuta, Pazin.
- Braden, K. W. (2013) Converting muscle to meat: the physiology of rigor. U: *The Science of Meat quality* (Kerth, C. R., ured.), John Wiley & Sons, West Sussex, str. 79-94.
- Bruna, J. M., Ordóñez, J. A., Fernández, M., Herranz, B., La Hoz, L. De. (2001) Microbial and physico-chemical changes during the ripening of dry fermented sausages superficially

inoculated with or having added an intracellular cell-free extract of *Penicillium aurantiogriseum*. *Meat Sci.* **59**(1), 87–96.

- Buscailhon, S., Gandemer, G., Monin, G. (1994a) Time-related changes in intramuscular lipids of French dry-cured ham. *Meat Sci.* **37**(2), 245–255.
- Buscailhon, S., Monin, G., Cornet, M., Bousset, J. (1994b) Time-related changes in nitrogen fractions and free amino acids of lean tissue of french dry-cured ham. *Meat Sci.* **37**(3), 449–456.
- Čandek-Potokar, M., Monin, G., Žlender, B. (2002) Pork quality, processing, and sensory characteristics of dry-cured hams as influenced by Duroc crossing and sex. *J. Anim. Sci.* **80**(4), 988–996.
- Čandek-Potokar, M., Škrlep, M. (2012) Factors in pig production that impact the quality of dry-cured ham: A review. *Animal* **6**(2), 327–338.
- Careri M., Mangia A., Barbieri, G., Bolzoni L., Virgili, R., Parolari, G. (1993) Sensory Property Relationships to Chemical Data of Italian- type Dry-cured Ham. . *J. Food Sci.* **58**(5), 968-972.
- Carrapiso, A. I., Ventanas, J., García, C. (2002) Characterization of the most odor-active compounds of Iberian ham headspace. *J. Agric. Food Chem.* **50**(7), 1996–2000.
- Cava, R., Ladero, L., González, S., Carrasco, A., Ramírez, M. R. (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. Technol.* **10**(1), 76–81.
- Cava, R., Ruiz, J., Ventanas, J. , Antequera, T. (1999) Oxidative and lipolytic changes during ripening of Iberian hams as affected by feeding regime: Extensive feeding and alpha-tocopheryl acetate supplementation. *Meat Sci.* **52**(2), 165–172.
- Cerjak, M., Haas, R., Brunner, F., Tomić, M. (2014) What motivates consumers to buy traditional food products? Evidence from Croatia and Austria using word association and laddering interviews. *Br. Food J.* **116**(11), 1726–1747.
- Chaijan, M. (2008) Review: Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **30**(1), 47–53.
- Chen, J. (2009) Food oral processing: A review. *Food Hydrocoll.* **23**(1), 1–25.
- Chen, J., Opara, U. L. (2013) Texture measurement approaches in fresh and processed foods - A review. *Food Res. Int.* **51**(2), 823–835.
- Cheng, J. H. (2016). Lipid oxidation in meat. *J. Nutr. Food Sci.*, **6**, 1-3.
- Choi, Y. S., Lee, J. K., Jung, J. T., Jung, Y. C., Jung, J. H., Jung, M. O., Choi, Y., Jin, S.K.,

- Choi, J.S. (2016) Comparison of meat quality and fatty acid composition of *Longissimus* muscles from purebred pigs and three-way crossbred LYD pigs. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* **36**(5), 689–696.
- Cilla, I., Martínez, L., Beltrán, J. A. , Roncalés, P. (2005) Factors affecting acceptability of dry-cured ham throughout extended maturation under „bodega“ conditions. *Meat Sci.* **69**(4), 789–795.
 - Commission Internationale de l'Éclairage (CIE) (1976). Colorimetry. Publication n°15, CIE Central Bureau, Beč, Austrija.
 - Córdoba, J. J., Antequera, T., Ventanas, J., López-Bote, C., García, C., Asensio, M. A. (1994) Hydrolysis and loss of extractability of proteins during ripening of iberian ham. *Meat Sci.* **37**(2), 217–227.
 - Costa, M. D. R., Bergamin Filho, W., Silveira, E. T. F. , Felício, P. E. De. (2008) Colour and texture profiles of boneless restructured dry-cured hams compared to traditional hams. *Sci. Agric.* **65**(2), 169–173.
 - Davies, K. J. A. (2001) Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. *Biochimie* **83**(3–4), 301–310.
 - Díaz-Caro, C., García-Torres, S., Elghannam, A., Tejerina, D., Mesias, F. J., Ortiz, A. (2019) Is production system a relevant attribute in consumers' food preferences? The case of Iberian dry-cured ham in Spain. *Meat Sci.* **158**, 107908.
 - Doi, E., Shibata, D., Matoba, T. (1981) Modified colorimetric ninhydrin methods for peptidase assay. *Anal. Biochem.* **118**(1), 173–184.
 - Domínguez R., Pateiro M., Munekata P.E.S, Zhang W., Garcia-Oliveira P., Carpena M., Prieto M.A., Bohrer B., Lorenzo J.M. (2021) Protein Oxidation in Muscle Foods: A Comprehensive Review, *Antioxidants*. **11**(1), 60.
 - Domínguez, R., Martínez, S., Gómez, M., Carballo, J. , Franco, I. (2015) Fatty acids, retinol and cholesterol composition in various fatty tissues of Celta pig breed: Effect of the use of chestnuts in the finishing diet. *J. Food Compos. Anal.* **37**, 104–111.
 - Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., Lorenzo, J. M. (2019a) A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants* **8**(10), 1–31.
 - Domínguez, R., Purriños, L., Pérez-Santaescolástica, C., Pateiro, M., Barba, F. J., Tomasevic, I., Campagnol, P. C. B., Lorenzo, J.M. (2019b) Characterization of Volatile Compounds of Dry-Cured Meat Products Using HS-SPME-GC/MS Technique. *Food Anal.*

Methods **12**(6), 1263–1284.

- Duić, M. (2020) Domaća proizvodnja pršuta raste, no još ne zadovoljava potražnju, <<https://www.poslovni.hr/hrvatska/domaca-proizvodnja-prsuta-raste-no-jos-ne-zadovoljava-potraznju-4251007>>. Pristupljeno 11. prosinca 2021.
- EC (2011) Commission Regulation 1169/2011 of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers. *OJ L* 304/11. EC- European Commission, Bruxelles, <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32011R1169>>. Pristupljeno 25. ožujka 2022.
- Escudero, E., Aristoy, M. C., Nishimura, H., Arihara, K., Toldrá, F. (2012) Antihypertensive effect and antioxidant activity of peptide fractions extracted from Spanish dry-cured ham. *Meat Sci.* **91**(3), 306–311.
- Estévez, M. (2011) Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Sci.* **89**(3), 259–279.
- Estévez, M., Morcuente, D., Ventanas, S. (2009a) Determination of oxidation. U: *Handbook of Muscle Foods Analysis* (Nollet, L. M. L., Toldrá, F., ured.); CRC Press, Boca Raton, str. 221–240.
- Estévez, M., Ollilainen, V., Heinonen, M. (2009b) Analysis of protein oxidation markers α -Aminoadipic and γ -Glutamic semialdehydes in food proteins using liquid chromatography (LC)-Electrospray ionization (ESI)-Multistage tandem mass spectrometry (MS). *J. Agric. Food Chem.* **57**(9), 3901–3910.
- Fabbro, A., Bencivenni, M., Piasentier, E., Sforza, S., Stecchini, M. L., Lippe, G. (2016) Proteolytic resistance of actin but not of myosin heavy chain during processing of Italian PDO (protected designation of origin) dry-cured hams. *Eur. Food Res. Technol.* **242**(6), 881–889.
- Feiner, G. (2006) *Meat products handbook: Practical science and technology*, CRC Press, Boca Raton.
- Fernández, M., Ordóñez, J. A., Cambero, I., Santos, C., Pin, C., Hoz, L. de la. (2007) Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chem.*, **101**(1), 107–112.
- Flores, M. (2018) Understanding the implications of current health trends on the aroma of wet and dry-cured meat products. *Meat Sci.* **144**, 53–61.
- Flores, M., Aristoy, M. C., Antequera, T., Barat, J. M. , Toldrá, F. (2009) Effect of prefreezing hams on endogenous enzyme activity during the processing of Iberian dry-

cured hams. *Meat Sci.* **82**(2), 241–246.

- Flores, M., Aristoy, M. C., Spanier, A. M., Toldrá, F. (1997) Non-volatile components effects on quality of „Serrano“ dry-cured ham as related to processing time. *J. Food Sci.* **62**(6), 1235–1239.
- Franco, D., Vazquez, J. A., Lorenzo, J. M. (2014) Growth performance, carcass and meat quality of the Celta pig crossbred with Duroc and Landrace genotypes. *Meat Sci.* **96**(1), 195–202.
- Fuentes, V., Ventanas, J., Morcuende, D., Estévez, M. , Ventanas, S. (2010) Lipid and protein oxidation and sensory properties of vacuum-packaged dry-cured ham subjected to high hydrostatic pressure. *Meat Sci.* **85**(3), 506–514.
- Fuentes, V., Ventanas, S., Ventanas, J. , Estévez, M. (2014) The genetic background affects composition, oxidative stability and quality traits of Iberian dry-cured hams: Purebred Iberian versus reciprocal Iberian×Duroc crossbred pigs. *Meat Sci.* **96**(2), 737–743.
- Fulladosa, E., Serra, X., Gou, P., Arnau, J. (2009) Effects of potassium lactate and high pressure on transglutaminase restructured dry-cured hams with reduced salt content. *Meat Sci.* **82**(2), 213–218.
- Gaćina, N. (2017) Specifičnosti autohtonih hrvatskih pršuta. *Zbornik radova Veleučilišta u Šibeniku*, Šibenik, str. 57–62.
- Gallego, M., Aristoy, M. C., Toldrá, F. (2014) Dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Meat Sci.* **96**(2), 757–761.
- Gallego, M., Mora, L. , Toldrá, F. (2016b) Peptidomics as a tool for quality control in dry-cured ham processing. *J. Proteomics.* **147**, 98–107.
- Gallego, M., Mora, L., Aristoy, M.C., Toldrá, F. (2015) Evidence of peptide oxidation from major myofibrillar proteins in dry-cured ham. *Food Chem.* **187**, 230–235.
- Gallego, M., Mora, L., Concepción Aristoy, M., Toldrá, F. (2016a) The use of label-free mass spectrometry for relative quantification of sarcoplasmic proteins during the processing of dry-cured ham. *Food Chem.* **196**, 437–444.
- Gallego, M., Mora, L., Toldrá, F. (2018a) Differences in peptide oxidation between muscles in 12 months Spanish dry-cured ham. *Food Res. Int.* **109**, 343–349.
- Gallego, M., Mora, L., Toldrá, F. (2018b) Evolution of oxidised peptides during the processing of 9 months Spanish dry-cured ham. *Food Chem.* **239**, 823–830.
- Gallego, M., Mora, L., Toldrá, F. (2019) The relevance of dipeptides and tripeptides in the bioactivity and taste of dry-cured ham. *Food Prod. Process. Nutr.* **1**(1), 1–14.

- Gan, X., Li, H., Wang, Z., Emara, A. M., Zhang, D., He, Z. (2019) Does protein oxidation affect proteolysis in low sodium Chinese traditional bacon processing? *Meat Sci.* **150**, 14–22.
- Gandemer, G. (2002) Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Sci.* **62**(3), 309–321.
- García-Esteban, M., Ansorena, D., Gimeno, O., Astiasarán, I. (2003) Optimization of instrumental colour analysis in dry-cured ham. *Meat Sci.* **63**(3), 287–292.
- García-Garrido, J. A., Quiles-Zafra, R., Tapiador, J., Luque De Castro, M. D. (2000) Activity of Cathepsin B, D, H and L in Spanish dry-cured ham of normal and defective texture. *Meat Sci.* **56**(1), 1–6.
- Garcia-Gil, N., Santos-Garcés, E., Fulladosa, E., Laverse, J., Nobile, M. A. Del, Gou, P. (2014) High pressure induces changes in texture and microstructure of muscles in dry-cured hams. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **22**, 63–69.
- García-González, D. L., Aparicio, R., Aparicio-Ruiz, R. (2013) Volatile and amino acid profiling of dry cured hams from different swine breeds and processing methods. *Molecules* **18**(4), 3927–3947.
- García-Gudiño, J., Blanco-Penedo, I., Gispert, M., Brun, A., Perea, J. , Font-i-Furnols, M. (2021) Understanding consumers' perceptions towards Iberian pig production and animal welfare. *Meat Sci.* **172**, 108317.
- Garrido, R., Domínguez, R., Lorenzo, J. M., Franco, I., Carballo, J. (2012) Effect of the length of salting time on the proteolytic changes in dry-cured lacón during ripening and on the sensory characteristics of the final product. *Food Control* **25**(2), 789–796.
- Gilles, G. (2009) Dry cured ham quality as related to lipid quality of raw material and lipid changes during processing: A review. *Grasas Aceites* **60**(3), 297–307.
- Giovanelli, G., Buratti, S., Laureati, M., Pagliarini, E. (2016) Evolution of physicochemical, morphological and aromatic characteristics of Italian PDO dry-cured hams during processing. *Eur. Food Res. Technol.* **242**(7), 1117–1127.
- Gómez, I., Janardhanan, R., Ibañez, F. C. , Beriain, M. J. (2020) The effects of processing and preservation technologies on meat quality: Sensory and nutritional aspects. *Foods* **9**(10), 1–30.
- Grujić, R. D., Vujadinović, D. P, Tomović, V. M. T. (2014) Heat treatment influence on rheological properties of pork meat. *J. Hyg. Eng. Des.* **6**, 63–68.

- Guerrero, L., Guardia, M. D., Arnau, J. (2005). Propuesta metodológica de análisis sensorial en jamón curado: Criterios a considerar y sistemas de validación. *Proceedings 3er Congreso Mundial del Jamón, CONGRESO MUNDIAL DEL JAMÓN*, Teruel, str. 187-196.
- Guo, X., Lu, S., Wang, Y., Dong, J., Ji, H., Wang, Q. (2019) Correlations among flavor compounds, lipid oxidation indices, and endogenous enzyme activity during the processing of Xinjiang dry-cured mutton ham. *J. Food Process. Preserv.* **43**(11), 1–15.
- Guyon, C., Meynier, A., Lamballerie, M. (2016) Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. *Trends Food Sci. Technol.* **50**, 131–143.
- 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., Chevarin, C., Daudin, J. D., Sicard, J., Mirade, P. S. (2018) Development of a multi-physical finite element-based model that predicts water and salt transfers, proteolysis and water activity during the salting and post-salting stages of the dry-cured ham process. *J. Food Eng.* **218**, 69–79.
- Harkouss, R., Mirade, P. S., Gatellier, P. (2012) Development of a rapid, specific and efficient procedure for the determination of proteolytic activity in dry-cured ham: Definition of a new proteolysis index. *Meat Sci.* **92**(2), 84–88.
- 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**(4), 447–457.
- Honikel, K.O. (2014) Glycolysis. U: *Encyclopedia of Meat Sciences* (Dikeman, D., Devine C., ured.), 2.izd., Academic Press, San Diego, str. 353-375.
- HRN EN ISO 12966-2:2017, Životinjske i biljne masti i ulja - Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom (osnovna referentna metoda)
- HRN ISO 1442:1997, Meso i mesni proizvodi - Određivanje udjela vode (osnovna referentna metoda)
- HRN ISO 1443:1999, Meso i mesni proizvodi - Određivanje ukupne količine masti (osnovna referentna metoda)

- HRN ISO 1871:1999, Poljoprivredni prehrambeni proizvodi - Općenite upute za određivanje dušika Kjeldahlovom metodom
- HRN ISO 5984:2004, Meso i mesni proizvodi - Određivanje pepela (osnovna referentna metoda)
- Huan, Y., Zhou, G., Zhao, G., Xu, X., Peng, Z. (2005) Changes in flavor compounds of dry-cured Chinese Jinhua ham during processing. *Meat Sci.*, **71**(2), 291–299.
- Huang, Y., Li, H., Huang, T., Li, F., Sun, J. (2014) Lipolysis and lipid oxidation during processing of Chinese traditional smoke-cured bacon. *Food Chem*, **149**, 31–39.
- Huff-Lonergan, E., Lonergan, S. M. (2005) Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* **71**(1), 194–204.
- IARC (2015) Monographs evaluate consumption of red meat and processed meat. IARC-e International Agency for Research on Cancer, Lyon <https://www.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/07/pr240_E.pdf>. Pristupljeno 26. ožujka 2022.
- Irwin, J.W., Hedges, N. (2004) Measuring lipid oxidation. U: *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food* (Steele, R., ured.), Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Cambridge, str. 289-316.
- ISO 11132:2012, Sensory Analysis-Methodology - Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel.
- ISO 8586:2012, Sensory analysis - General guidance for the selection, training and monitoring of assessors, Part 1: Selected assessors.
- Jaramaz, D. (2020) <<https://www.facebook.com/pixsell.hr/photos/pcb.3661510420579685/3661508117246582>>. Pristupljeno 12. ožujka 2022.
- Jerković, I., Mastelić, J., Tartaglia, S. (2007) A study of volatile flavour substances in Dalmatian traditional smoked ham: Impact of dry-curing and frying. *Food Chem.* **104**(3), 1030–1039.
- Jiang, S., Xia, D., Zhang, D., Chen, G., Liu, Y. (2020) Analysis of protein profiles and peptides during in vitro gastrointestinal digestion of four Chinese dry-cured hams. *LWT-Food. Sci. Technol.* **120**, 108881.
- Jiménez-Colmenero, F., Ventanas, J., Toldrá, F. (2010) Nutritional composition of dry-cured ham and its role in a healthy diet. *Meat Sci.* **84**(4), 585–593.
- Jin, G., He, L., Zhang, J., Yu, X., Wang, J., Huang, F. (2012) Effects of temperature and NaCl percentage on lipid oxidation in pork muscle and exploration of the controlling

method using response surface methodology (RSM). *Food Chem.* **131**(3), 817–825.

- Jin, G., Zhang, J., Yu, X., Zhang, Y., Lei, Y., Wang, J. (2010) Lipolysis and lipid oxidation in bacon during curing and drying-ripening. *Food Chem.* **123**(2), 465–471.
- Juárez, M., Lam, S., Bohrer, B. M., Dugan, M. E. R., Vahmani, P., Aalhus, J., Juárez, A., López-Campos, O., Prieto, N., Segura, J. (2021) Enhancing the nutritional value of red meat through genetic and feeding strategies. *Foods* **10**(4), 1–18.
- Karoly, D. (2009) Najčešći problemi u proizvodnji pršuta. *Meso* **9**(2), 134–143.
- Karolyi, D. (2002) Kvarenje pršuta. *Meso*, **4**(17), 9-11.
- Karolyi, D. (2004) Promjene u kvaliteti mesa svinje. *Meso* **6**(5), 18–20.
- Karolyi, D. (2006) Chemical properties and quality of Istrian dry-cured ham. *MESO*, **8**(4), 224–228.
- Karolyi, D. (2021) Proizvodnja svinjskog mesa od nekastriranih muških svinja i imunokastrata. *Meso* **23**(9), 497–505.
- Karolyi, D., Guarina, D. (2015) Drniški pršut- Oznaka zemljopisnog podrijetla, Specifikacija proizvoda, Udruga proizvođača drniškog pršuta, Drniš.
- Karolyi, D., Luković, Z., Salajpal, K., Đikić, M. (2010) Black Slavonian pig—a breed for extensive husbandry: A review. *Acta Agrar. Kaposvariensis* **14**(2), 221–227.
- Keeton, J. T., Ellerbeck, S. M., Núñez de González, M. T. (2014). Chemical composition. U: *Encyclopedia of Meat Sciences* (Dikeman, D., Devine C., ured.), 2.izd., Academic Press, San Diego, str. 235-243.
- Kos, I., Kaić, A., Širić, I., Luković, Z., Škorput, D., Matić, A. (2014.) Utjecaj genotipa i spola svinja na proizvodni kalo i osnovni kemijski sastav dalmatinskog pršuta. *Zbornik radova 49. hrvatskog i 9. međunarodnog simpozija poljoprivrede. XLIX. HRVATSKI I IX. MEĐUNARODNI SIMPOZIJ AGRONOMA*, Dubrovnik, str. 590-594.
- Kos, I., Mandir, A., Toić, U. (2015) Dalmatinski pršut-Oznaka zemljopisnog podrijetla, Specifikacija, Udruga dalmatinski pršut, Trilj.
- Koutina, G., Jongberg, S. , Skibsted, L. H. (2012) Protein and lipid oxidation in Parma ham during production. *J. Agric. Food Chem.* **60**(38), 9737–9745.
- Kovačević, D. (2001) Kemija i tehnologija mesa i ribe, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek.
- Kovačević, D. (2017) Kemija i tehnologija šunki i pršuta, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek.
- Kovats, E. S. (1965) Gas chromatographic characterization of organic substance in the

retention index system. U: Advances in chromatography (Giddings, J. C., Keller, R. A., ed.), Marcel Dekker Inc, New York, str. 229–247.

- Krvavica, M., Đugum, J. (2006) Dry-cured ham production in the world and in Croatia. *Meso* **8**(6), 355–365.
- Kurek, M., Poljanec, I., Marušić Radovčić, N., Galić, K., Medić, H. (2021) Quality parameters and shelf-life of smoked Dalmatian dry-cured ham packed in bio-based and plastic bilayer pouches. *J. Stored Prod. Res.* **94**, 101889.
- Laemilli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lana, A., Zolla, L. (2016) Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. *J. Proteomics* **147**, 85–97.
- Larrea, V., Hernando, I., Quiles, A., Lluch, M. A. , Pérez-Munuera, I. (2006) Changes in proteins during Teruel dry-cured ham processing. *Meat Sci.* **74**(3), 586–593.
- Larrea, V., Pérez-Munuera, I., Hernando, I., Quiles, A., Lluch, M. A. (2007) Chemical and structural changes in lipids during the ripening of Teruel dry-cured ham. *Food Chem.*, **102**(2), 494–503.
- Latorre, M. A., Pinna, A., Montanari, A., Virgili, R. (2012) Effect of packaging material on volatile organic compounds (VOCs) of sliced and MAP packaged typical Italian and Spanish dry-cured hams. *Options Méditerranéennes. Séries A. Mediterr. Semin.* **101**, 345–348.
- Lawless, H.T., Heymann, H. (2010) Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices, Springer-Verlag, New York.
- Lebret, B., Prunier, A., Bonhomme, N., Foury, A., Mormède, P., Dourmad, J. Y. (2011) Physiological traits and meat quality of pigs as affected by genotype and housing system. *Meat Sci.* **88**(1), 14–22.
- Li, B., Xu, Y., Li, J., Niu, S., Wang, C., Zhang, N., Yang, M., Zhou, K., Chena, S., Li, H., Liua, S., Yin, S., Yang, Y. (2019) Effect of oxidized lipids stored under different temperatures on muscle protein oxidation in Sichuan-style sausages during ripening. *Meat Sci.* **147**, 144–154.
- Li, C., Mora, L., Gallego, M., Aristoy, M. C., Toldrá, F. (2020a) Evaluation of main post-translational modifications occurring in naturally generated peptides during the ripening of Spanish dry-cured ham. *Food Chem.* **332**, 127388.

- Li, F., Feng, X., Zhang, D., Li, C., Xu, X., Zhou, G., Liu, Y. (2020b) Physical properties, compositions and volatile profiles of Chinese dry-cured hams from different regions. *J. Food Meas. Char.*, **14**(1), 492–504.
- López-Pedrouso, M., Pérez-Santaescolástica, C., Franco, D., Fulladosa, E., Carballo, J., Zapata, C., Lorenzo, J. M. (2018) Comparative proteomic profiling of myofibrillar proteins in dry-cured ham with different proteolysis indices and adhesiveness. *Food Chem.* **244**, 238–245.
- Lorenzo, J. M. (2014) Changes on physico-chemical, textural, lipolysis and volatile compounds during the manufacture of dry-cured foal „cecina“. *Meat Sci.*
- Lorenzo, J. M., Bermúdez, R., Franco, D. (2013) Lipolysis, proteolysis and physico-chemical modifications during ripening of dry-cured duck breast. *Europ. Food Res. Techn.*, **236**(3), 405–417.
- Lorenzo, J. M., García Fontán, M. C., Franco, I., Carballo, J. (2008) Proteolytic and lipolytic modifications during the manufacture of dry-cured lacón, a Spanish traditional meat product: Effect of some additives. *Food Chem.*, **110**(1), 137–149.
- Luccia, A. Di, Picariello, G., Cacace, G., Scaloni, A., Faccia, M., Liuzzi, V., Alviti, G., i ostali. (2005) Proteomic analysis of water soluble and myofibrillar protein changes occurring in dry-cured hams. *Meat Sci.* **69**(3), 479–491.
- Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., Estévez, M. (2011) Protein oxidation in muscle foods: A review. *Mol. Nutr. Food Res.* **55**(1), 83–95.
- MacFie, H. J., Bratchell, N., Greenhof, K., Vallis, L. V. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *J. Sens. Stud.* **4**(2), 129–148.
- Martín, L., Antequera, T., Ventanas, J., Benítez-Donoso, R., Córdoba, J. J. (2001) Free amino acids and other non-volatile compounds formed during processing of Iberian ham. *Meat Sci.* **59**(4), 363–368.
- Martín, L., Córdoba, J. J., Ventanas, J., Antequera, T. (1999) Changes in intramuscular lipids during ripening of Iberian dry-cured ham. *Meat Sci.* **51**(2), 129–134.
- Martinaud, A., Mercier, Y., Marinova, P., Tassy, C., Gatellier, P., Renerre, M. (1997) Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems. *J. Agr. Food Chem.*, **45**(7), 2481–2487.
- Martínez-Onandi, N., Sánchez, C., Nuñez, M. , Picon, A. (2019) Microbiota of Iberian dry-cured ham as influenced by chemical composition, high pressure processing and prolonged

refrigerated storage. *Food Microbiol.* **80**, 62–69.

- Martínez-Sánchez, S. M., Minguela, A., Prieto-Merino, D., Zafrilla-Rentero, M. P., Abellán-Alemán, J., Montoro-García, S. (2017) The effect of regular intake of dry-cured ham rich in bioactive peptides on inflammation, platelet and monocyte activation markers in humans. *Nutrients* **9**(4), 1–11.
- Martuscelli, M., Pittia, P., Casamassima, L. M., Manetta, A. C., Lupieri, L., Neri, L. (2009) Effect of intensity of smoking treatment on the free amino acids and biogenic amines occurrence in dry cured ham. *Food Chem.* **116**(4), 955–962.
- Martuscelli, M., Lupieri, L., Sacchetti, G., Mastrocola, D., Pittia, P. (2017) Prediction of the salt content from water activity analysis in dry-cured ham. *J. Food Eng.* **200**, 29–39.
- Marušić Radovčić, N., Mikulić, A., Turk, M., Medić, H. (2019b) Differentiation of Bicep femoris and Semimembranosus muscles of smoked dry-cured ham by quality parameters. *Hrvat. časopis za prehrambenu Tehnol. Biotehnol. i Nutr.* **14**(1–2), 4–9.
- Marušić Radovčić, N., Poljanec, I., Petričević, S., Mora, L., Medić, H. (2021) Influence of Muscle Type on Physicochemical Parameters, Lipolysis, Proteolysis, and Volatile Compounds throughout the Processing of Smoked Dry-Cured Ham. *Foods* **10**(6).
- Marušić Radovčić, N., Poljanec, I., Vidinski, P., Novina, K., Medić, H. (2019a) Influence of different pig genotype on aroma, colour and fatty acid composition of smoked dry-cured ham. *Meso*, **21**(6.), 548-561.
- Marušić Radovčić, N., Vidaček, S., Janči, T., Medić, H. (2016) Characterization of volatile compounds, physico-chemical and sensory characteristics of smoked dry-cured ham. *J. Food Sci. Technol.*, **53**(11), 4093–4105.
- Marušić, N., Aristoy, M. C., Toldrá, F. (2013a) Nutritional pork meat compounds as affected by ham dry-curing. *Meat Sci.* **93**(1), 53–60.
- Marušić, N., Petrović, M., Vidaček, S., Petrak, T., Medić, H. (2011) Characterization of traditional Istrian dry-cured ham by means of physical and chemical analyses and volatile compounds. *Meat Sci.* **88**(4), 786–790.
- Marušić, N., Vidaček, S., Janči, Petrak, T., Medić, H., Petrović, M. (2013b) Fat content and fatty acid composition in Istrian and Dalmatian dry-cured ham. *Meso*, **15**(4), 307–313.
- Marušić, N., Vidaček, S., Janči, T., Petrak, T., Medić, H. (2014) Determination of volatile compounds and quality parameters of traditional Istrian dry-cured ham. *Meat Sci.* **96**(4), 1409–1416.
- Mathlouthi, M. (2001) Water content, water activity, water structure and the stability of

foodstuffs. *Food Control* **12**(7), 409–417.

- Mesić, Ž., Božić, M., Cerjak, M. (2017) Utjecaj zemljopisnih oznaka na konkurentnost tradicijskih poljoprivredno-prehrambenih proizvoda. *J. Cent. Eur. Agric.* **18**(1), 1–14.
- Minder, R. (2015) Spain's Prized Ibérico Hams Can't Cure Fast Enough for China, <<https://www.nytimes.com/2015/12/02/world/europe/spains-prized-iberico-hams-cant-cure-fast-enough-for-china.html>> Pristupljeno 12. ožujka 2022.
- Ministarstvo poljoprivrede RH (2021) Hrvatski zaštićeni poljoprivredni i prehrambeni proizvodi, Zagreb <https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/hrana/zoi-zozp-zts/Katalog_zasticenih_proizvoda_2021_web.pdf>. Pristupljeno 16. prosinca 2021.
- Monin, G., Marinova, P., Talmant, A., Martin, J. F., Cornet, M., Lanore, D., Grasso, F. (1997) Chemical and structural changes in dry-cured hams (Bayonne hams) during processing and effects of the dehairing technique. *Meat Sci.* **47**(1–2), 29–47.
- Montoro-García, S., Velasco-Soria, Á., Mora, L., Carazo-Díaz, C., Prieto-Merino, D., Avellaneda, A., Miranzo, D., Casas-Pina, T., Toldrá, F., Abellán-Alemán, J. (2022) Beneficial Impact of Pork Dry-Cured Ham Consumption on Blood Pressure and Cardiometabolic Markers in Individuals with Cardiovascular Risk. *Nutrients* **14**(2).
- Montoro-García, S., Zafrilla-Rentero, M. P., Celdrán-de Haro, F. M., Piñero-de Armas, J. J., Toldrá, F., Tejada-Portero, L., Abellan-Aleman, J. (2017) Effects of dry-cured ham rich in bioactive peptides on cardiovascular health: A randomized controlled trial. *J. Funct. Foods*, **38**, 160-167.
- Mora, L., Gallego, M., Reig, M., Toldrá, F. (2017) Challenges in the quantitation of naturally generated bioactive peptides in processed meats. *Trends Food Sci. Technol.*, **69**, 306-314.
- Mora, L., Sentandreu, M. Á., Toldrá, F. (2008) Contents of creatine, creatinine and carnosine in porcine muscles of different metabolic types. *Meat Sci.* **79**(4), 709–715.
- Mora, L., Sentandreu, M. A., Toldrá, F. (2011) Intense degradation of myosin light chain isoforms in Spanish dry-cured ham. *J. Agric. Food Chem.* **59**(8), 3884–3892.
- 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**(4), 662–669.
- Motilva, M. J., Toldrá, F., Flores, J. (1992) Assay of lipase and esterase activities in fresh pork meat and dry-cured ham. *Z. Lebensm. Unters. For.* **195**(5), 446–450.
- Motilva, M. J., Toldrá, F., Nieto, P., Flores, J. (1993) Muscle lipolysis phenomena in the

- processing of dry-cured ham. *Food Chem.* **48**(2), 121–125.
- Motilva, M.J., Toldrá, F., Nadal, M.I., Flores, J. (1994) Pre-freezing hams affects lipolysis during dry-curing. *J. Food Sci.* **59**(2), 303–305.
 - Narváez-Rivas, M., Gallardo, E., León-Camacho, M. (2012) Analysis of volatile compounds from Iberian hams: A review. *Grasas Aceites* **63**(4), 432–454.
 - NPPC (2000) Pork composition and quality assessment procedures. NPPC-National Pork Producers Council, Des Monica
 - Olmo, A. del, Calzada, J., Gaya, P., Nuñez, M. (2013) Proteolysis, texture, and sensory characteristics of serrano hams from duroc and large white pigs during Dry-Curing. *J. Food Sci.* **78**(3).
 - Parolari, G. (1996) Achievements, needs and perspectives in dry-cured ham technology: the example of Parma ham. *Food Sci. Technol. Int.*, **2**(2), 69-78.
 - Parra, V., Viguera, J., Sánchez, J., Peinado, J., Espárrago, F., Gutierrez, J. I., Andrés, A. I. (2010) Modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period chilled storage of dry-cured Iberian ham. *Meat Sci.* **84**(4), 760–768.
 - Parreño, M., Cussó, R., Gil, M., Sárraga, C. (1994) Development of cathepsin B, L and H activities and cystatin-like activity during two different manufacturing processes for Spanish dry-cured ham. *Food Chem.* **49**(1), 15–21.
 - Pastorelli, G., Magni, S., Rossi, R., Pagliarini, E., Baldini, P., Dirinck, P., Corino, C. (2003) Influence of dietary fat, on fatty acid composition and sensory properties of dry-cured Parma ham. *Meat Sci.*, **65**(1), 571–580.
 - Pearson, A.M., Young, R.B. (1989) *Muscle and Meat Biochemistry*, Academic Press, San Diego, str. 1-33.
 - Pérez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J. (2011) Color measurement on muscle-based foods. U: *Sensory analysis of foods of animal origin*, (Nollet, M.L., Toldrá, F., ured.), CRC Press, Boca Raton, str. 3-19.
 - Pérez-Palacios, T., Ruiz, J., Martín, D., Barat, J. M., Antequera, T. (2011) Pre-cure freezing effect on physicochemical, texture and sensory characteristics of Iberian ham. *Food Sci. Technol. Int.* **17**(2), 127–133.
 - Pérez-Santaescolástica, C., Carballo, J., Fulladosa, E., Garcia-Perez, J. V., Benedito, 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.

- Petričević, S. (2018) Karakterizacija dalmatinskoga, drniškoga, istarskoga i krčkoga pršuta. Doktorska disertacija. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, Hrvatska.
- Petričević, S., Marušić Radovčić, N., Lukić, K., Listeš, 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.
- Petrova, I., Aasen, I. M., Rustad, T., Eikevik, T. M. (2015a) Manufacture of dry-cured ham: A review. Part 1. Biochemical changes during the technological process. *Eur. Food Res. Technol.* **241**(5), 587–599.
- Petrova, I., Bantle, M. , Eikevik, T. M. (2015b) Manufacture of dry-cured ham: A review. Part 2. Drying kinetics, modeling and equipment. *Eur. Food Res. Technol.* **241**(4), 447–458.
- Petrova, I., Tolstorebrov, I., Mora, L., Toldrá, F. , Eikevik, T. M. (2016) Evolution of proteolytic and physico-chemical characteristics of Norwegian dry-cured ham during its processing. *Meat Sci.* **121**, 243–249.
- Pham, A. J., Schilling, M. W., Mikel, W. B., Williams, J. B., Martin, J. M. , Coggins, P. C. (2008) Relationships between sensory descriptors, consumer acceptability and volatile flavor compounds of American dry-cured ham. *Meat Sci.* **80**(3), 728–737.
- Pleadin, J., Kovačević, D. (2016) Kemijske opasnosti u mesu i mesnim proizvodima u prehrambenom lancu od farme do potrošača. *Meso*, **18**(5), 436–443.
- Pleadin, J., Vahčić, P., Raspović, I., Malenica Staver, D., Krešić, P., Bogdanović, T., Kovačević, D. (2015) Sezonske varijacije u sastavu masnih kiselina Istarskog i Dalmatinskog pršuta. *MESO*, **17**(5), 428-434.
- Poljanec, I., Marušić Radovčić, N., Karolyi, D., Petričević, S., Bogdanović, T., Listeš, E., Medić, H. (2019) Polycyclic aromatic hydrocarbons in four different types of Croatian dry-cured hams. *Meso* **21**(5), 458–468.
- Poljanec, I., Marušić Radovčić, N., Katavić, J., Medić, H. (2021a) Utjecaj tehnološkog procesa proizvodnje na udio masti, sastav masnih kiselina i stupanj oksidacije masti u dimljenom pršutu. *MESO*, **23**(4), 310-321.
- Poljanec, I., Marušić Radovčić, N., Petričević, S., Karolyi, D., Listeš, E. , Medić, H. (2021b) Proteolysis and protein oxidation throughout the smoked dry-cured ham process. *Food Chem.* **362**(February).

- Popelka, P. (2017) Fermented Meats Composition—Health and Nutrition Aspects. U: *Fermented Meat Products - Health Aspects*, (Zdolec, N., ured.), CRC Press, Boca Raton, str. 389-416.
- Pravilnik o mesu i mesnim proizvodima (2018) *Narodne novine* **62**, Zagreb
- Pugliese, C., Sirtori, F. (2012) Quality of meat and meat products produced from southern European pig breeds. *Meat Sci.* **90**(3), 511–518.
- Pugliese, C., Sirtori, F., Calamai, L. , Franci, O. (2010) The evolution of volatile compounds profile of „Toscano“ dry-cured ham during ripening as revealed by SPME-GC-MS approach. *J. Mass Spectrom.* **45**(9), 1056–1064.
- 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.
- Purriños, L., Bermúdez, R., Franco, D., Carballo, J., Lorenzo, J. M. (2011) Development of Volatile Compounds during the Manufacture of Dry-Cured „Lacón“, a Spanish Traditional Meat Product. *J. Food Sci.* **76**(1).
- Ripollés, S., Campagnol, P. C. B., Armenteros, M., Aristoy, M. C. , Toldrá, F. (2011) Influence of partial replacement of NaCl with KCl, CaCl₂ and MgCl₂ on lipolysis and lipid oxidation in dry-cured ham. *Meat Sci.* **89**(1), 58–64.
- Ross, C. F., Smith, D. M. (2006). Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **5**(1), 18-25.
- Rueda, Á. A., Jurado, J. M., Pablos, F. de , León-Camacho, M. (2020) Differentiation between ripening stages of Iberian dry-cured ham according to the free amino acids content. *Foods* **9**(1).
- Ruiz-Carrascal, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. I., García, C. (2000) Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Res. Int.* **33**(2), 91–95.
- Ruiz-Ramírez, J., Arnau, J., Serra, X. , Gou, P. (2006) Effect of pH₂₄, NaCl content and proteolysis index on the relationship between water content and texture parameters in biceps femoris and semimembranosus muscles in dry-cured ham. *Meat Sci.* **72**(2), 185–194.
- Ruusunen, M., Puolanne, E. (2005) Reducing sodium intake from meat products. *Meat Sci.* **70**(3), 531–541.

- Sabio, E., Vidal-Aragón, M. C., Bernalte, M. J., Gata, J. L. (1998) Volatile compounds present in six types of dry-cured ham from south European countries. *Food Chem*, **61**(4), 493-503.
- Safa, H., Portanguen, S., Mirade, P.-S. (2017) Reducing the Levels of Sodium, Saturated Animal Fat, and Nitrite in Dry-Cured Pork Meat Products: A Major Challenge. *Food Nutr. Sci.* **8**(4), 419–443.
- Saláková, A. (2012) Instrumental measurement of texture and color of meat and meat products. *Maso Int.*, **2**, 107-114.
- Salazar, E., M^a Cayuela, J., Abellán, A., Bueno-Gavilá, E. , Tejada, L. (2020) Fatty acids and free amino acids changes during processing of a mediterranean native pig breed dry-cured ham. *Foods* **9**(9).
- Sanabria, C., Martín-Alvarez, P. J. , Carrascosa, A. V. (2004) Colour and moisture changes during the manufacture of Iberian dry-cured ham caused by some biotic and abiotic factors. *Food Sci. Technol. Int.* **10**(4), 269–275.
- Santeramo, F. G., Carlucci, D., Devitiis, B. De, Seccia, A., Stasi, A., Viscecchia, R., Nardone, G. (2018) Emerging trends in European food, diets and food industry. *Food Res. Int.* **104**, 39–47.
- Santos, C., Hoz, L., Cambero, M. I., Cabeza, M. C., Ordóñez, J. A. (2008) Enrichment of dry-cured ham with α -linolenic acid and α -tocopherol by the use of linseed oil and α -tocopheryl acetate in pig diets. *Meat Sci.* **80**(3), 668–674.
- Ščetar, M., Kurek, M., Galić, K. (2010) Trends in meat and meat products packaging – a review. *Croat. J. Food Sci. Technol.* **2**(1), 32–48.
- Schmidt, K., Podmore, I. (2015) Solid Phase Microextraction (SPME) Method Development in Analysis of Volatile Organic Compounds (VOCS) as Potential Biomarkers of Cancer. *J. Mol. Biomark. Diagn.* **06**(06), 1-11.
- Schober, P., Boer, C., Schwarte, L. A. (2018) Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesth. Analg.*, **126**(5), 1763-1768.
- Serra, X., Ruiz-Ramírez, J., Arnau, J. , Gou, P. (2005) Texture parameters of dry-cured ham m. biceps femoris samples dried at different levels as a function of water activity and water content. *Meat Sci.* **69**(2), 249–254.
- Shahidi, F. (2016) Oxidative stability and shelf life of meat and meat products. U: *Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats* (Hu, M., Jacobsen, C., ured.), AOCS Press, Urbana, IL, str. 373-389.

- Šimko, P. (2005) Factors affecting elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat foods and liquid smoke flavorings. *Mol. Nutr. Food Res.* **49**(7), 637–647.
- Simopoulos, A. P. (2002) The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* **56**(8), 365–379.
- Sirtori, F., Dimauro, C., Bozzi, R., Aquilani, C., Franci, O., Calamai, L., Pezzati, A., Pugliese, C. (2020) Evolution of volatile compounds and physical, chemical and sensory characteristics of Toscano PDO ham from fresh to dry-cured product. *Eur. Food Res. Technol.* **246**(3), 409–424.
- Škaljac, S., Jokanović, M., Tomović, V., Ivić, M., Tasić, T., Ikonić, P., Šojić, B. (2018) Influence of smoking in traditional and industrial conditions on colour and content of polycyclic aromatic hydrocarbons in dry fermented sausage “Petrovská klobása”. *LWT - Food Sci. Technol.* **87**, 158–162.
- Smith, S.B., Smith, D.R. (2014) Adipose Tissue. *Encyclopedia of Meat Sciences* (Dikeman, D., Devine C., ured.), 2.izd., Academic Press, San Diego, str. 222-234.
- Soladoye, O. P., Juárez, M. L., Aalhus, J. L., Shand, P., Estévez, M. (2015) Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **14**(2), 106–122.
- Soladoye, O. P., Shand, P., Dugan, M. E. R., Gariépy, C., Aalhus, J. L., Estévez, M., Juárez, M. (2017) Influence of cooking methods and storage time on lipid and protein oxidation and heterocyclic aromatic amines production in bacon. *Food Res. Int.* **99**, 660–669.
- Suman, S.P., Joseph, P. (2014) Color and Pigment. *Encyclopedia of Meat Sciences* (Dikeman, D., Devine C., ured.), 2.izd., Academic Press, San Diego, str. 244-251.
- Théron, L., Sayd, T., Pinguet, J., Chambon, C., Robert, N., Santé-Lhoutellier, V. (2011) Proteomic analysis of semimembranosus and biceps femoris muscles from Bayonne dry-cured ham. *Meat Sci.* **88**(1), 82–90.
- Timón, M. L., Ventanas, J., Carrapiso, A. I., Jurado, A., García, C. (2001) Subcutaneous and intermuscular fat characterisation of dry-cured Iberian hams. *Meat Sci.* **58**(1), 85–91.
- Toldrá, F. (2012) Dry-cured ham. U: *Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology* (Hui, Y. H., Evranuz, E. Ö, ured.), CRC Press, Boca Ranton, FL.
- Toldrá, F. (1998) Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Sci.* **49**(1), 101-110.
- Toldrá, F. (2002) *Dry-cured meat products*, Food and Nutrition Press, Trumbull.
- Toldrá, F. (2006) The role of muscle enzymes in dry-cured meat products with different

drying conditions. *Trends Food Sci. Technol.* **17**(4), 164–168.

- Toldrá, F., Aristoy, M. C., Flores, M. (2000a) Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham. *Food Res. Int.* **33**(3–4), 181–185.
- Toldrá, F., Flores, J., Voyle, C. A. (1990) Study of the White Film Developed on the Cut Surface of Vacuum-packed Dry-cured Ham Slices. *J. Food Sci.* **55**(4), 1189–1191.
- Toldrá, F., Flores, M. (1998) The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **38**(4), 331–352.
- Toldrá, F., Flores, M. (2000b) The use of muscle enzymes as predictors of pork meat quality. *Food Chem.* **69**(4), 387–395.
- Toldrá, F., Flores, M., Sanz, Y. (1997) Dry-cured ham flavour: Enzymatic generation and process influence. *Food Chem.* **59**(4), 523–530.
- Toldrá, F., Gallego, M., Reig, M., Aristoy, M. C., Mora, L. (2020) Bioactive peptides generated in the processing of dry-cured ham. *Food Chem.* **321**, 126689.
- Toldrá, F., Miralles, M. C., Flores, J. (1992) Protein extractability in dry-cured ham. *Food Chem.* **44**(5), 391–394.
- Toldrá, F., Rico, E., Flores, J. (1993) Cathepsin B, D, H and L activities in the processing of dry-cured ham. *J. Sci. Food Agric.* **62**(2), 157–161.
- Tomašević, I., Djekić, I. (2017) HACCP in Fermented Meat Production. U: *Fermented Meat Products - Health Aspects*, (Zdolec, N., ured.), CRC Press, Boca Raton, str. 512-534.
- Tomažin, U., Škrlep, M., Prevolnik Povše, M., Batorek Lukač, N., Karolyi, D., Červek, M., Čandek-Potokar, M. (2020) The effect of salting time and sex on chemical and textural properties of dry cured ham. *Meat Sci.* **161**, 107990.
- Utrera, M., Morcuende, D., Rodríguez-Carpena, J. G., Estévez, M. (2011) Fluorescent HPLC for the detection of specific protein oxidation carbonyls - α -aminoadipic and γ -glutamic semialdehydes - in meat systems. *Meat Sci.* **89**(4), 500–506.
- 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**(2),
- Ventanas, Sonia, Estevez, M., Tejeda, J. F., Ruiz, J. (2006) Protein and lipid oxidation in Longissimus dorsi and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Sci.* **72**(4), 647–655.

- Virgili, R., Parolari, G., Schivazappa, C., Bordini, C. S., Borri, M. (1995) Sensory and Texture Quality of Dry-Cured Ham as Affected by Endogenous Cathepsin B Activity and Muscle Composition. *J. Food Sci.* **60**(6), 1183–1186.
- Virgili, R., Parolari, G., Soresi Bordini, C., Schivazappa, C., Cornet, M. , Monin, G. (1999) Free amino acids and dipeptides in dry-cured ham. *J. Muscle Foods* **10**(2), 119–130.
- Virgili, R., Saccani, G., Gabba, L., Tanzi, E , Soresi Bordini, C. (2007) Changes of free amino acids and biogenic amines during extended ageing of Italian dry-cured ham. *LWT - Food Sci. Technol.* **40**(5), 871–878.
- Vitale, M., Kallas, Z., Rivera-Toapanta, E., Karolyi, D., Cerjak, M., Lebret, B., Lenoir, H. (2020) Consumers' expectations and liking of traditional and innovative pork products from European autochthonous pig breeds. *Meat Sci.* **168**, 108179.
- Vujković, I., Galić, K., Vereš, M. (2007) *Ambalaža za pakiranje namirnica*, Tectus, Zagreb.
- Wang, W., Li, Y., Zhou, X., Li, C., Liu, Y. (2021) Changes in the extent and products of *in vitro* protein digestion during the ripening periods of Chinese dry-cured hams. *Meat Sci.* **171**, 108290.
- Wang, Z., He, Z., Gan, X., Li, H. (2018) Interrelationship among ferrous myoglobin, lipid and protein oxidations in rabbit meat during refrigerated and superchilled storage. *Meat Sci.*, 146, 131-139.
- Wang, Z., Xu, Y., Zhang, J., Li, X., Lin, Z., Ma, C. (2011) Proteolysis, protein oxidation and protease activity in dry-cured Xuanwei ham during the salting stages. *Int. J. Food Sci. Technol.* **46**(7), 1370–1377.
- Wee, M. S. M., Goh, A. T., Stieger, M. , Forde, C. G. (2018) Correlation of instrumental texture properties from textural profile analysis (TPA) with eating behaviours and macronutrient composition for a wide range of solid foods. *Food Funct.* **9**(10), 5301–5312.
- Xing, L., Liu, R., Cao, S., Zhang, W., Guanghong, Z. (2019) Meat protein based bioactive peptides and their potential functional activity: a review. *Int. J. Food Sci. Technol.* **54**(6), 1956–1966.
- Xiong, Y. L., Guo, A. (2021) Animal and plant protein oxidation: Chemical and functional property significance. *Foods* **10**(1), 40.
- Xiong, Y.L. (2018) Muscle proteins. U: *Proteins in Food Processing* (Yada, R.Y., ured.), Woodhead Publishing, Cambridge, str. 127-148.
- Xue, M., Huang, F., Huang, M., Zhou, G. (2012) Influence of oxidation on myofibrillar

- proteins degradation from bovine via μ -calpain. *Food Chem.* **134**(1), 106–112.
- Yang, H., Ma, C., Qiao, F., Song, Y., Du, M. (2005). Lipolysis in intramuscular lipids during processing of traditional Xuanwei ham. *Meat Sci.*, **71**(4), 670–675.
 - Yebra-Pimentel, I., Fernández-González, R., Martínez-Carballo, E. , Simal-Gándara, J. (2015) A critical review about the health risk assessment of pahs and their metabolites in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **55**(10), 1383–1405.
 - Young, J. F., Therkildsen, M., Ekstrand, B., Che, B. N., Larsen, M. K., Oksbjerg, N. , Stagsted, J. (2013) Novel aspects of health promoting compounds in meat. *Meat Sci.* **95**(4), 904–911.
 - Zareian, M., Tybussek, T., Silcock, P., Bremer, P., Beauchamp, J. , Böhner, N. (2019) Interrelationship among myoglobin forms, lipid oxidation and protein carbonyls in minced pork packaged under modified atmosphere. *Food Packag. Shelf Life* **20**(March 2018), 100311.
 - Zhang, W., Xiao, S., Ahn, D. U. (2013) Protein Oxidation: Basic Principles and Implications for Meat Quality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **53**(11), 1191–1201.
 - Zhao, G. M., Zhou, G. H., Tian, W., Xu, X. L., Wang, Y. L., Luo, X. (2005) Changes of alanyl aminopeptidase activity and free amino acid contents in biceps femoris during processing of Jinhua ham. *Meat Sci.* **71**(4), 612–619.
 - Zhou, C. Y., Le, Y., Zheng, Y. Y., Wang, J. J., Li, G., Bai, Y., Li, C. B., Xu, X.L., Zhou, G. H., Cao, J.X. (2020a) Characterizing the effect of free amino acids and volatile compounds on excessive bitterness and sourness in defective dry-cured ham. *LWT-Food. Sci. Technol.* **123**, 109071.
 - Zhou, C. Y., Pan, D. D., Cao, J. X. , Zhou, G. H. (2021) A comprehensive review on molecular mechanism of defective dry-cured ham with excessive pastiness, adhesiveness, and bitterness by proteomics insights. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **20**(4), 3838–3857.
 - Zhou, C. Y., Wu, J. Q., Tang, C. B., Li, G., Dai, C., Bai, Y., Li, C. B., Xu, X. L, Cao, J.X. (2019) Comparing the proteomic profile of proteins and the sensory characteristics in Jinhua ham with different processing procedures. *Food Control* **106**, 106694.
 - Zhou, G. H. , Zhao, G. M. (2007) Biochemical changes during processing of traditional Jinhua ham. *Meat Sci.* **77**, 114–120.
 - Zhou, Y., Zhou, C., Pan, D., Wang, Y., Cao, J. (2020b) The effect of sodium chloride levels on the taste and texture of dry-cured ham. *J. Food Meas. Charact.* **14**(5), 2646–2655.

- Žužić, V., Toić, U. (2014) Krčki pršut – Oznaka zemljopisnog podrijetla, Specifikacija, Udruga proizvođača krčki pršut, Krk.

ŽIVOTOPIS

Ivna Poljanec, mag. ing., rođena je 16.09.1991. u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu i IV. gimnaziju. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu završila je 2017. godine s izvrsnim uspjehom, uz veliku pohvalu za uspjeh (*magna cum laude*).

Od ožujka do rujna 2018. godine radila je kao glavni tehnolog – pripravnik u prehrambenoj industriji Klara d.d. u Zagrebu. Od rujna 2018. godine zaposlena je kao doktorandica Hrvatske zaklade za znanost. Svoj istraživački rad provodi na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu u Zagrebu kao asistentica na projektu HRZZ-a pod nazivom „Primjena inovativnih metoda u praćenju proteolitičkih, lipolitičkih i oksidativnih procesa tijekom proizvodnje pršuta” (HRZZ IP 2016-06) pod mentorstvom voditeljice projekta prof. dr. sc. Helge Medić. Poslijediplomski doktorski studij upisala je 2019. godine na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu u Zagrebu i položila sve ispite s izvrsnom ocjenom. Primila je nagradu za najbolju prezentaciju rezultata istraživanja u okviru doktorske disertacije na Danu doktorata biotehničkog područja 2020. godine. Koautorica je sedam znanstvenih radova, od kojih su tri iz skupine A1 i četiri iz skupine A2. Sudjelovala je na nekoliko međunarodnih znanstvenih skupova i usavršavala se na specijalističkim radionicama iz statistike za programe SPSS i programski jezik R.

Dobitnica je nagrade Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta za izniman doprinos u znanstveno-istraživačkoj djelatnosti u znanstvenom polju prehrambena tehnologija za 2021. godinu.

Popis objavljenih radova:

Izvorni znanstveni radovi u CC časopisima:

1. Kurek, M., **Poljanec, I.**, Marušić Radovčić, N., Galić, K., Medić, H. (2021) Quality parameters and shelf-life of smoked Dalmatian dry-cured ham packed in bio-based and plastic bilayer pouches, *J. Stored Prod. Res.*, **94**, 101889. (Q1)
2. **Poljanec, I.**, Marušić Radovčić, N., Petričević, S., Karolyi, D., Listeš, E., Medić, H. (2021) Proteolysis and protein oxidation throughout the smoked dry-cured ham process. *Food Chem.* **362**, 130207. (Q1)
3. Marušić Radovčić, N., **Poljanec, I.**, Petričević, S., Mora, L., Medić, H. (2021) Influence of Muscle Type on Physicochemical Parameters, Lipolysis, Proteolysis, and Volatile Compounds throughout the Processing of Smoked Dry-Cured Ham. *Foods*, **10**(6), 1228. (Q1)

Znanstveni radovi u drugim časopisima:

1. **Poljanec, I.**, Marušić Radovčić, N., Katavić, J., Medić, H. (2021) Utjecaj tehnološkog procesa proizvodnje na udio masti, sastav masnih kiselina i stupanj oksidacije masti u dimljenom pršutu. *Meso*, **4**, 290-301.
2. Marušić Radovčić, N., **Poljanec, I.**, Vidinski, P., Novina, K., Medić, H. (2019) Influence of different pig genotype on aroma, colour and fatty acid composition of smoked dry-cured ham. *Meso*, **6**, 548-561.
3. **Poljanec, I.**, Marušić Radovčić, N., Karolyi, D., Petričević, S., Bogdanović, T., Listeš, E., Medić, H. (2019) Polycyclic aromatic hydrocarbons in four different types of Croatian dry-cured hams. *Meso*, **5**, 458-468.
4. **Poljanec, I.**, Vahčić, N., Krešić, G., Kolarić Kravar, S., Kudumija, N., Pleadin, J. (2017) Alergeni u mesnim proizvodima s hrvatskog tržišta. *Meso*, **5**, 420-427.

Sažeci u zbornicima skupova:

1. **Poljanec, I.**, Marušić Radovčić, N., Karolyi, D., Petričević, S., Brkljača, M., Listeš, E., Medić, H. (2020) Lipolysis and lipid oxidation during smoked dry-cured ham processing. XIII Conference of Chemists, Technologists and Environmentalists of Republic of Srpska, 30.10.2020., Banja Luka, Republika Srpska.

2. Marušić Radovčić, N., **Poljanec, I.**, Petričević, S., Bogdanović, T., Listeš, E., Karolyi, D., Medić, H. (2019) Proteolytic changes during salting and smoking of dry-cured ham. 2nd Food Chemistry Conference: Shaping the Future of Food Quality, Safety, Nutrition and Health, 17.-20.09.2020, Sevilla, Španjolska.

3. **Poljanec, I.**, Marušić Radovčić, N., Karolyi, D., Petričević, S., Bogdanović, T., Listeš, E., Medić, Helga (2019) The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in different types of Croatian dry-cured hams. 27th Animal Science Days, 18.-20.09.2019., Prag, Češka.

Nagrade i priznanja:

2022: Nagrada za izniman doprinos u znanstveno-istraživačkoj djelatnosti – objavljen znanstveni rad u najbolje rangiranom časopisu u prethodnoj godini (Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu), „Proteolysis and protein oxidation throughout the smoked dry-cured ham process“ u znanstvenom časopisu Food Chemistry (Poljanec, I., Marušić Radovčić, N., Petričević, S., Karolyi, D., Listeš, E., Medić, H.) (doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130207, Food Science & Technology, 7/143, Q1).

2020: Nagrada za najbolju poster prezentaciju rezultata istraživanja u okviru doktorske disertacije, pod temom „Proteolitički, lipolitički i oksidacijski procesi tijekom proizvodnje dimljenoga pršuta“, Dan doktorata biotehničkog područja 2020., Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, 16.10. 2020.

