

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Krista MIKLAVEC

**VPLIV ANTIOKSIDANTOV V PREHRANI  
PRAŠIČEV NA KAKOVOST IN OKSIDACIJSKO  
OBSTOJNOST MESA**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij – 2. stopnja Prehrana

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Krista MIKLAVEC

**VPLIV ANTIOKSIDANTOV V PREHRANI PRAŠIČEV NA  
KAKOVOST IN OKSIDACIJSKO OBSTOJNOST MESA**

MAGISTRSKO DELO  
Magistrski študij – 2. stopnja Prehrana

**INFLUENCE OF ANTIOXIDANTS IN PIG'S FEED ON THE  
QUALITY AND OXIDATIVE STABILITY OF MEAT**

M. SC. THESIS  
Master Study Programmes: Field Nutrition

Ljubljana, 2013

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa druge stopnje Prehrana. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, v Razvojnem centru za prehrano Emona v Ljubljani in na inštitutu Fraunhofer IVV v Freisingu.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje je za mentorja magistrskega dela imenovala prof. dr. Božidarja Žlenderja in za recenzentko prof. dr. Polono Jamnik.

Komisija za oceno in predstavitev:

Mentor: prof. dr. Božidar Žlender  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Recenzentka: prof. dr. Polona Jamnik  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana soglašam z objavo svojega magistrskega dela v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Krista Miklavec

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2
- DK UDK 637.51'64 + 637.524: 636.087.3: 577.161.3 (043) = 163.6
- KG prašiči/krma/prašičje meso/antioksidanti/vitamin E/tokoferoli/ $\alpha$ -tokoferol/oksidacija/ obstojnost mesa/barjene klobase/rancimat/holesterol/barva/senzorične lastnosti
- AV MIKLAVEC, Krista, dipl. inž. živ. in prehr. (UN)
- SA ŽLENDER, Božidar (mentor)/JAMNIK, Polona (recenzentka)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2013
- IN VPLIV ANTIOKSIDANTOV V PREHRANI PRAŠIČEV NA KAKOVOST IN OKSIDACIJSKO OBSTOJNOST MESA
- TD Magistrsko delo (Magistrski študij – 2. stopnja Prehrana)
- OP X, 53 str., 20 pregl., 13 sl., 59 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V magistrski nalogi je bil raziskan vpliv dodatka dveh različnih koncentracij in oblik vitamina E, ter dveh rastlinskih antioksidantov v krmi prašičev na klavne lastnosti prašičev, koncentracijo vitamina E v slanini in oksidacijsko obstojnost slanine. Ugotavljali smo tudi vpliv dodatka vitamina E na kemijske in senzorične lastnosti barjenih klobas v tipu Lyoner. V poskusu smo oblikovali 4 skupine prašičev – prvi dve sta prejemale 250 oziroma 500 mg vitamina E/kg krme, drugi dve pa vsaka drugačen komercialni dodatek z vsebnostjo antioksidantov za prašiče. Fizikalno-kemijske lastnosti, kot so debelina križne mišice, debelina hrbtna slanina, teža trupov in mesnatost so bile določene takoj po zakolu na klavni liniji, pH1 eno uro po zakolu, pH2 in barvni parametri ( $L^*a^*b^*$ ) pa 24 ur po zakolu. Opravili smo 2 kemijski analizi hrbtna slanina – določanje oksidacijske obstojnosti z metodo rancimata in določanje koncentracije vitamina E. Iz mesa in slanina prašičev posameznih skupin smo izdelali barjene klobase Lyoner, katerim smo določali vsebnost holesterola, barvne parametre ( $L^*a^*b^*$ ) in opravili senzorično ocenjevanje. Rezultati so pokazali, da dodatek višje koncentracije vitamina E vpliva na povečano oksidacijsko obstojnost slanina in barvne parametre  $L^*$  in  $b^*$  (meso prašičev, ki so prejemale višjo koncentracijo vitamina E v krmo, je bilo temnejše in manj rumeno obarvano). Pri analizah barjenih klobas trditev nismo statistično dokazali, smo pa opazili, da so se med skupinami pojavile razlike pri vsebnosti holesterola, barvnem parametru  $a^*$  in senzoričnih lastnostih.

### KEY WORD DOCUMENTATION

DN Du2  
DC UDC 637.51'64 + 637.524: 636.087.3: 577.161.3 (043) = 163.6  
CX pigs/feed/pig's meat/antioxidants/vitamin E/ tocopherols/  $\alpha$ -tocopherol/oxidation/  
meat stability/sausages/rancimat/cholesterol/colour/sensory properties  
AU MIKLAVEC, Krista  
AA ŽLENDER, Božidar (supervisor)/JAMNIK, Polona (reviewer)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and  
Technology  
PY 2013  
TI INFLUENCE OF ANTIOXIDANTS IN PIG'S FEED ON THE QUALITY AND  
OXIDATIVE STABILITY OF MEAT  
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes: Field Nutrition)  
NO X, 53 p., 20 tab., 13 fig., 59 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB The purpose of this thesis was to investigate the influence of the addition of two  
different concentrations and forms of vitamin E and two plant antioxidants in pig's  
feed on carcass traits, the concentration of vitamin E in fat tissue, oxidative stability  
of fat tissue. We also determined the effect of vitamin E on the chemical and  
sensory properties of Lyoner sausages. The experiment involved four groups of  
pigs - the first two were receiving 250 or 500 mg vitamin E / kg of feed, the other  
two were receiving different commercial supplements containing antioxidants.  
Physical and chemical properties such as muscle thickness, back fat thickness,  
carcass weight and meat percentage were determined immediately after  
slaughtering, pH1 one hour after slaughtering, pH2 and determination of colour  
parameters ( $L^*a^*b^*$ ) 24 hours after slaughtering. We conducted two chemical  
analysis of back fat - determination of oxidative stability using rancimat method  
and the concentration of vitamin E. Meat and fat of pigs was used for production of  
Lyoner sausages, in which we analysed cholesterol concentration, determined  
colour parameters ( $L^*a^*b^*$ ) and conducted sensory analysis. The results showed  
that the addition of higher concentrations of vitamin E, enhanced oxidative stability  
of fat and had influence on colour parameters  $L^*$  and  $b^*$  (meat of pigs receiving  
higher levels of vitamin E in the feed was darker and had lower yellow intensity). In  
sausage analyses the claims could not be statistically supported, but we noticed the  
differences between the groups in cholesterol content, colour parameter  $a^*$  and  
sensory properties.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORD DOCUMENTATION.....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VII</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>IX</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>X</b>
<b>1 UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1 <b>NAMEN DELA .....</b>	<b>2</b>
1.2 <b>HIPOTEZE .....</b>	<b>2</b>
<b>2 PREGLED OBJAV.....</b>	<b>3</b>
2.1 <b>VITAMIN E .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.1    Vpliv vitamina E na zdravje .....</b>	<b>5</b>
2.1.1.1 <b>Antioksidativno delovanje vitamina E.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1.2    Vpliv vitamina E na obstojnost mesa.....</b>	<b>6</b>
2.1.2.1 <b>Vpliv dodatka vitamina E v krmo na koncentracijo <math>\alpha</math>-tokoferola v prašičih.....</b>	<b>7</b>
2.1.2.2 <b>Vpliv dodatka vitamina E v krmo na lipidno oksidacijo .....</b>	<b>8</b>
2.1.2.3 <b>Vpliv dodatka vitamina E v krmo na barvo mesa.....</b>	<b>9</b>
2.2 <b>HOLESTEROL .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2.1    Fizikalno kemijske lastnosti.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2.2    Vloga holesterola v organizmu .....</b>	<b>10</b>
2.3 <b>BARVA MESA .....</b>	<b>10</b>
2.4 <b>OKSIDACIJA MESA .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.1    Oksidacija lipidov .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.2    Oksidacija holesterola .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3    Oksidacija pigmenta.....</b>	<b>13</b>
<b>3 MATERIAL IN METODE DE LA .....</b>	<b>15</b>
3.1 <b>PODATKI O PRAŠIČIH .....</b>	<b>16</b>
3.2 <b>KLAVNE LASTNOSTI.....</b>	<b>16</b>
3.3 <b>KEMIJSKE ANALIZE HRBTNE SLANINE .....</b>	<b>16</b>
<b>3.3.1    Rancimat .....</b>	<b>17</b>
<b>3.3.2    Določanje vsebnosti vitamina E.....</b>	<b>17</b>
3.3.2.1 <b>Material uporabljen za določanje vitamina E .....</b>	<b>17</b>
3.3.2.2 <b>Metoda določanja vitamina E .....</b>	<b>18</b>
3.4 <b>BARJENE KLOBASE .....</b>	<b>19</b>
<b>3.4.1    Tehnologija izdelave.....</b>	<b>19</b>
<b>3.4.2    Določanje barve .....</b>	<b>20</b>
<b>3.4.3    Določanje vsebnosti holesterola v vzorcu .....</b>	<b>21</b>
3.4.3.1 <b>Material uporabljen za določanje holesterola .....</b>	<b>21</b>
3.4.3.2 <b>Postopek določanja vsebnosti holesterola .....</b>	<b>21</b>
3.4.3.3 <b>Umeritvena krivulja .....</b>	<b>22</b>

<b>3.4.4</b>	<b>Senzorična analiza .....</b>	<b>23</b>
3.5	STATISTIČNA ANALIZA.....	25
<b>3.5.1</b>	<b>Multivariatne metode .....</b>	<b>25</b>
3.5.1.1	Faktorska analiza .....	25
3.5.1.2	Diskriminantna analiza .....	26
<b>4</b>	<b>REZULTATI.....</b>	<b>27</b>
4.1	LASTNOSTI PRAŠIČEV MED REJO.....	27
4.2	LASTNOSTI TRUPOV .....	28
4.3	FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI KAKOVOSTI MESA.....	29
<b>4.3.1</b>	<b>Instrumentalni parametri kakovosti.....</b>	<b>30</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Kemijski parametri kakovosti.....</b>	<b>31</b>
4.4	PCA IN LDA ANALIZA .....	31
4.5	KEMIJSKI, INSTRUMENTALNI IN SENZORIČNI PARAMETRI KAKOVOSTI BARJENIH KLOBAS .....	38
<b>4.5.1</b>	<b>Vsebnost holesterola.....</b>	<b>38</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Instrumentalni parametri barve .....</b>	<b>39</b>
<b>4.5.3</b>	<b>Rezultati senzorične analize.....</b>	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI.....</b>	<b>43</b>
5.1	RAZPRAVA.....	43
5.2	SKLEPI.....	45
<b>6</b>	<b>POVZETEK .....</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>VIRI.....</b>	<b>48</b>

**ZAHVALA**

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Oblike tokoferolov in tokotrienolov (Ball, 2006).....	4
Preglednica 2: Načrt študij vpliva dodatka vitamina E v krmo na koncentracijo $\alpha$ -tokoferola v tkivu (Trefan in sod., 2011).....	7
Preglednica 3: Načrt študij vpliva dodatka vitamina E v krmo na lipidno oksidacijo tkiva (Trefan in sod., 2011) .....	8
Preglednica 4: Skupine prašičev glede na dodatek različnih antioksidantov v krmi .....	16
Preglednica 5: Receptura sestavin (g in %) za izdelavo barjenih klobas Lyoner.....	19
Preglednica 6: Obrazec za ocenjevanje senzoričnih lastnosti barjenih klobas Lyoner .....	24
Preglednica 7: Teža in starost prašičev med rejo z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	27
Preglednica 8: Tehnološki parametri prašičev v času pitanja.....	28
Preglednica 9: Meritve klavnih lastnosti trupov z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	28
Preglednica 10: Vpliv dodatka antioksidantov v krmi na lastnosti trupov (Duncanov test, $\alpha=0,05$ ) .....	29
Preglednica 11: Instrumentalne in kemijske meritve mesa in slanine z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri .....	29
Preglednica 12: Vpliv dodatka antioksidantov v krmi prašičev na instrumentalno izmerjene parametre mesa (Duncanov test, $\alpha=0,05$ ).....	30
Preglednica 13: Vpliv dodatka antioksidantov v krmi prašičev na kemijsko določene parametre slanine (Duncanov test, $\alpha=0,05$ ) .....	31
Preglednica 14: Korelacijski koeficienti med spremenljivkami uporabljenimi v analizi glavnih komponent .....	32
Preglednica 15: Razporeditev posameznih vzorcev v predvidene skupine (LDA).....	38
Preglednica 16: Rezultati vsebnosti holesterola v barjenih klobasah.....	38
Preglednica 17: Rezultati meritev barve barjenih klobas pod različnimi pogoji z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	39
Preglednica 18: Rezultati meritev barve barjenih klobas pod različnimi pogoji glede na različne dodatke antioksidantov v krmo.....	40



Preglednica 19: Rezultati ocenjevanja senzoričnih parametrov kakovosti barjenih klobas pod različnimi pogoji z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri ..... 41

Preglednica 20: Senzorične lastnosti štirih skupin barjenih klobas pod različnimi pogoji glede na različne dodatke antioksidantov v krmo ..... 42

## KAZALO SLIK

Slika 1: Kemijska formula tokoferolov (zgoraj) in tokotrienolov (spodaj) (Ball, 2006) .....	4
Slika 2: Kemijska formula molekule holesterola (Arnold in Kwiterovich Jr., 2003) .....	10
Slika 3: Interakcije pigmentov v svežem mesu (Mancini in Hunt, 2005) .....	14
Slika 4: Shematičen prikaz poteka poskusa.....	15
Slika 5: Shematični prikaz delovanja metode rancimata (Jain in Sharma, 2011) .....	17
Slika 6: Volk, kuter in vakuumski polnilnik .....	20
Slika 7: CIE L*a*b* barvni prostor (Reddick in sod., 2009) .....	21
Slika 8: Umeritvena krivulja določanja koncentracije holesterola s HPLC analizo.....	23
Slika 9: Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti .....	33
Slika 10: Projekcija spremenljivk v ravnini, definirani s prvima dvema komponentama, ki predstavljata 44 % variabilnosti vhodnih podatkov .....	34
Slika 11: Projekcija spremenljivk v ravnini, definirani s tretjo in četrto glavno komponento, ki predstavljata 27 % variabilnosti vhodnih podatkov .....	35
Slika 12: Projekcija spremenljivk v ravnini, definiranih z analizo LDA .....	36
Slika 13: Projekcija vzorcev v ravnini, definiranih s prvima dvema glavnima funkcijama (LDA), ki prikazuje štiri ločene skupine glede na različne dodatke in koncentracije antioksidantov v krmo .....	37

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

A-•	askorbilni radikal
AH-	askorbat
BHT	butil hidroksi toluen
CIE	Mednarodna komisija za razsvetljavo (fr. <i>Commision Internationale de l'Eclairage</i> )
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	metilen klorid
CoQH•	ubisemikinonski radikal
CoQH <sub>2</sub>	ubikinol
GM	križna mišica <i>Gluteus medius</i>
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (angl. <i>High-Performance Liquid Chromatography</i> )
IU	mednarodna enota (angl. <i>International Unit</i> )
KOH	kalijev hidroksid
KV	koeficient variabilnosti
LDA	linearna diskriminantna analiza (angl. <i>Linear Discriminant Analysis</i> )
LDL	lipoproteini manjgne gostote (angl. <i>Low Density Lipoproteins</i> )
LOO•	radikal
LOOH	lipidni hidroperoksid
Mb	dezoksimioglobin, reducirani mioglobin
MbO <sub>2</sub>	oksimioglobin
MetMb	metmioglobin
MK	maščobne kisline
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	natrijev sulfat
NaCl	natrijev klorid
NeNMK	nenasičene maščobne kisline
O <sub>2</sub>	kisik
PCA	analiza glavnih osi (angl. <i>Principal Component Analysis</i> )
<i>p.m.</i>	po smrti (lat. <i>post mortem</i> )
R•	alkilni radikal
RH	maščobna kislina
ROO•	peroskilni radikal
ROOH	hidroperoksid
ROOR	končni produkt oksidacije
SD	standardni odklon (angl. <i>Standard Deviation</i> )
SPE	ekstrakcija s trdo fazo (angl. <i>Solid Phase Extraction</i> )
T-OH	tokoferol
TO•	tokoferoksilni radikal
VNMK	večkrat nenasičene maščobne kisline

## 1 UVOD

Potrošniki so danes vse bolj ozaveščeni o kakovosti in varnosti živil. Vedno bolj pogosto kupujejo sveža živila, za katera pa želijo čim daljšo obstojnost, saj vse hitrejši način življenja pogosto onemogoča vsakodnevni obisk trgovine. Pri nakupih je za potrošnika zelo pomemben izgled živila, ki je velikokrat edini parameter s katerim se lahko oceni kakovost živila.

Na kakovost prašičjega mesa vpliva veliko število okoljskih dejavnikov kot so način reje, prehrana, predklavni postopek z živalmi, zakol ter postopek hlajenja in skladiščenja klavnih polovic.

Že na klavni liniji poteka razvrščanje klavnih polovic v kakovostne razrede na osnovi razmerja med mišičnim tkivom in podkožnim mastnim tkivom. Ta razmerja so predvsem gensko pogojena, vezana na starost in težo živali ob zakolu ter v manjši meri odvisna od prehrane.

Kemijske lastnosti mesa, ki so odvisne od prehrane živali in drugih okoljskih vplivov pa se odražajo v barvi mesa, pH-ju in oksidacijski obstojnosti maščob. Barva mesa in njegova obstojnost je zelo pomembna za potrošnika, saj je velikokrat edini parameter, ki ga upošteva pri nakupu in povezuje s kakovostjo in starostjo. Oksidacijska obstojnost mesa in pH pa sta pomembna faktorja tudi za predelavo v mesne izdelke.

## 1.1 NAMEN DELA

Namen našega dela je bil raziskati vpliv prehrane prašičev, katerim so bili v krmo dodani različni antioksidanti (vitamin E, rastlinski antioksidanti – 4 poskusne skupine z različno količino dodanih antioksidantov v krmi) na različne kakovostne parametre:

- razvrstitev klavnih trupov,
- barva mesa,
- pH,
- oksidativna stabilnost maščob.

Parametre kakovosti mesa smo ovrednotili kemijsko in instrumentalno.

## 1.2 HIPOTEZE

Predvidevali smo statistično značilne razlike med skupinami prašičev, ki so s krmo dobili različne količine in oblike antioksidantov, na:

- dnevne priraste živali,
- na kakovost klavnih polovic,
- na barvo mesa in
- oksidativno stabilnost lipidov mesa.

## 2 PREGLED OBJAV

Barvo mesa potrošniki povezujejo s svežostjo, in menijo, da je meso intenzivno rdeče in rožnate barve sveže. Pri nakupu se zato potrošniki velikokrat izogibajo mesu, ki nima tako intenzivne barve in se pri njem že pojavlja rjav oksidirani metmioglobin. Zaradi tega je tako meso pogosto potrebno prodati po nižji ceni, kot manj kakovosten izdelek (Phillips in sod., 2001).

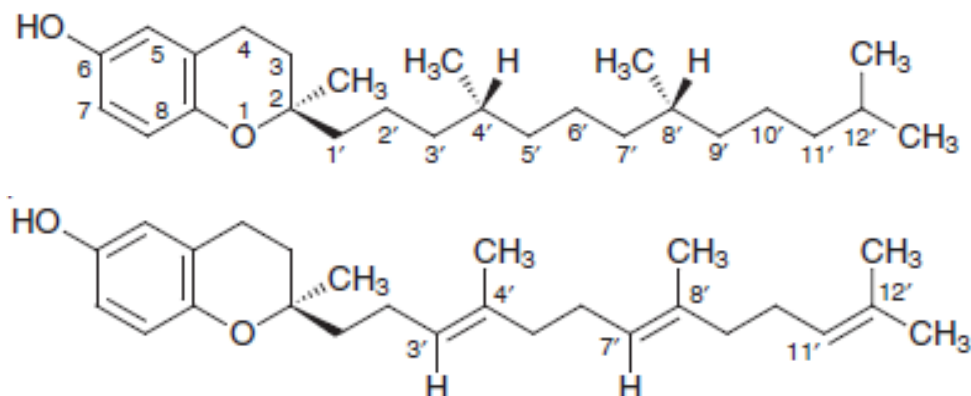
Poleg barve ima v zadnjih nekaj letih velik pomen za potrošnika tudi zdrava prehrana. Posledica tega je vpliv potrošnikov na spremembe v proizvodnji mesnih izdelkov, saj se je povečalo zanimanje za meso z manjšim deležem maščob. To je privedlo do sprememb v prehrani prašičev, katerim so začeli s pomočjo drugačne prehrane spreminjati maščobni del tkiva prašičev, ki močno vpliva na celotno kakovost mesa. Sestava maščob svinjskega mesa pa ni odvisna le od prehrane prašičev, temveč tudi od tipa mišice in mišičnega tkiva, genotipa in seveda pasme živali (Wood in sod., 2004).

V zadnjem času se krmi dodaja tudi večkrat nenasičene maščobne kisline (VNMK). Dodatek le teh pa vpliva na kakovost in obstojnost mesa, saj so nenasičene maščobne kisline (NeNMK) bolj izpostavljene oksidaciji (Whitney in sod., 2006).

Oksidacija lipidov vodi do povečanja neprijetnih vonjav in poškodbe struktur bolj občutljivih vitaminov, kar negativno vpliva na kakovost mesa in mesnih izdelkov. Prav to je razlog za dodajanje antioksidantov v krmo živali (Boler in sod., 2009). Vitamin E je najpogosteje dodan antioksidant topen v maščobi, ki preprečuje nastanek prostih radikalov v celični membrani tako *in vivo*, kot tudi *post mortem*, zaradi česar je meso bolj obstojno, saj se s tem, ko se vitamin E veže s prostimi radikali, upočasni oksidacija lipidov (Onibi in sod., 2000).

### 2.1 VITAMIN E

Pod izrazom vitamin E je zbrana skupina osmih podobnih molekul poznanih pod imenom tokoferoli in tokotrienoli (Schlenker, 2011b). To so kemične spojine, ki imajo vse v molekuli sistem obroča (kromanski obroč) z eno prosto oziroma eno zaestreno hidroksilno skupino ter eno nasičeno ali nenasičeno izoprenoidno stransko verigo (16 C-atomov). Tokoferoli so nasičene molekule vitamina E, medtem ko so tokotrienoli skladne molekule z nenasičeno stransko verigo (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004; Aggarwal in sod., 2010). Slika 1 prikazuje molekulo tokoferola in tokotrienola, v preglednici 1 pa so povzete vse oblike tokoferolov in tokotrienolov, ki jih najdemo v naravi.



Slika 1: Kemijska formula tokoferolov (zgoraj) in tokotrienolov (spodaj) (Ball, 2006)

Preglednica 1: Oblike tokoferolov in tokotrienolov (Ball, 2006)

Metilna substitucija molekule tokola	Tokoferol	Tokotrienol
5,7,8-trimetil	$\alpha$ -tokoferol	$\alpha$ -tokotrienol
5,8-dimetil	$\beta$ -tokoferol	$\beta$ -tokotrienol
7,8-dimetil	$\gamma$ -tokoferol	$\gamma$ -tokotrienol
8-metil	$\delta$ -tokoferol	$\delta$ -tokotrienol

Med vsemi osmimi molekulami je  $\alpha$ -tokoferol biološko najbolj aktiven. Razmerje učinkovitosti  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tokoferola pri podgani znaša 100 : 50 : 25 : 1. Zaestrenje molekule  $\alpha$ -tokoferola zmanjša učinek vitamina za 9 %. Med tokotrienoli je najbolj učinkovit  $\alpha$ -tokotrienol, njegova učinkovitost pa predstavlja eno tretjino učinkovitosti  $\alpha$ -tokoferola. Na tržišču se pojavlja tudi sintetično proizvedeni tokoferol pod imenom celokupen-rac- $\alpha$ -tokoferol, najpogosteje v zaestreni obliki kot celokupen-rac- $\alpha$ -tokoferolacetat. Njegova učinkovitost znaša dve tretjini učinkovitosti naravnega  $\alpha$ -tokoferola (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Vitamin E je hidrofobna molekula, zato je topna le v lipidih. Ravno zaradi tega, se molekula vitamina E nahaja v lipidnem okolju, predvsem v celičnih in medceličnih membranah (Close in McArdle, 2007).

Količino vitamina E se pogosto podaja v mednarodnih enotah (IU), in sicer ena IU predstavlja 0,67 mg naravnega  $\alpha$ -tokoferola, kar je enako 1 mg sintetičnega celokupnega-rac- $\alpha$ -tokoferilacetata. 1 mg  $\alpha$ -tokoferola tako predstavlja 1,49 IU in 1,49 mg celokupnega-rac- $\alpha$ -tokoferilacetata (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

### 2.1.1 Vpliv vitamina E na zdravje

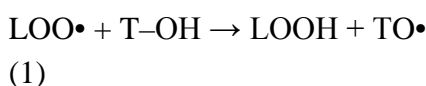
Tokoferole, ki nastopajo v naravi, sintetizirajo samo rastline. Tam, tako kot v živalskem organizmu, delujejo kot sistem zaščite pred kopičenjem reaktivnega kisika (radikal, prosti kisik) in tako predvsem preprečujejo peroksidacijo VNMK v membranskih lipidih. Tokoferol v živem organizmu deluje kot eden najpomembnejših sistemov zaščite proti peroksidaciji lipidov. Zavira nastajanje oksidirane LDL v plazmi, ki je pomemben dejavnik tveganja nastanka ateroskleroze. V tej funkciji ga podpirajo neencimski (npr. vitamin C,  $\beta$ -karoten) in encimski sistemi (npr. glutationperoksidaze, ki vsebujejo selen). V tej zvezi vitamin E vpliva na sintezo eikozanoidov in na imunski sistem, na razmerje holesterola in fosfolipidov v membranah (membranska fluidnost) in ima posredno vlogo pri celičnem dihanju (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

#### 2.1.1.1 Antioksidativno delovanje vitamina E

Vitamin E je pomemben antioksidant v lipidnem delu membran in tudi lipoproteinov v plazmi, kjer preprečuje peroksidacijo fosfolipidov. Molekule tokoferola se usidrajo v fosfolipidni dvosloj. Na tvorbo prostih radikalov v telesu vpliva več različnih dejavnikov:

- izpostavljenost svetlobi,
- toploti in/ali
- kemijskim spojinam (Ball, 2004; Biesalski in Grimm, 2005).

Vitamin E preprečuje nastanek verižne reakcije lipidne peroksidacije, ki jo propagirajo peroksilni radikali, kot je prikazano na sliki 2. Tokoferol (T-OH) odda vodikov atom iz svoje fenol hidroksilne skupine radikalumu ( $\text{LOO}\cdot$ ), pri čemer se tvori tokoferoksilni radikal ( $\text{TO}\cdot$ ) in lipidni hidroperoksid ( $\text{LOOH}$ ) (reakcija 1).



Tokoferoksilni radikal je relativno stabilen in nereaktiven, zato ne more nadaljevati verižne reakcije. Lahko pa se veže z drugim peroksilnim radikalom, kar vodi v:

- nastanek neaktivnih molekularnih produktov (reakcija 2),
- redukcijo do tokoferola s pomočjo reducirane koencima Q (reakcija 3) ali
- redukcijo do tokoferola s pomočjo askorbinske kisline (reakcija 4).





Ubisemikinonski radikal  $\text{CoQH}\bullet$ , ki je nastal v reakciji 3, se lahko pretvori nazaj v ubikinol ( $\text{CoQH}_2$ ) s pomočjo elektronske transportne verige v mitohondriju. Končni rezultat delovanja vitamina E v telesu je prekinitev verižne reakcije oksidacije lipidov. Antioksidativna aktivnost je najvišja pri  $\alpha$ -tokoferolu in najnižja pri  $\delta$ -tokoferolu (Chow, 2001; Ball, 2006; Erickson, 2008).

### 2.1.2 Vpliv vitamina E na obstojnost mesa

Vitamin E se običajno dodaja v krmo v obliki  $\alpha$ -tokoferil acetata, ki svoje antioksidativne lastnosti pridobi, ko se de-esterificira v gastrointestinalnem traktu (Buckley in sod., 1995). Živali vitamina E ne morejo sintetizirati, zato je prisotnost vitamina E v maščobnem in mišičnem tkivu posledica prehranskega vnosa (Jensen in sod., 1998).

Običajno je na vsakih 1000 molekul NeNMK na voljo le 0,5 – 3 tokoferolnih molekul, zaradi česar je pomemben vnos dovolj velike koncentracije vitamina E, prav tako pa je pomembna tudi regeneracija tokoferolnega radikala, ki ga omogočata molekuli ubikinona in askorbata (Biesalski in Grimm, 2005).

Učinkovitost tokoferola je tako odvisna od njegove koncentracije, ter koncentracije NeNMK v tkivu. Več študij je pokazalo, da dodatek vitamina E po smrti živali ne vpliva na oksidacijo lipidov, saj se le-ta ne vgradi v membranske prostore. V kolikor pa se vitamin E dodaja v krmo, jo lahko žival vgradi v svoja tkiva. Dodatek vitamina E v krmo živali se je izkazal za učinkovit pristop pri zmanjšanju oksidacije holesterola pri prašičih (Erickson, 2008). Poleg tega naj bi vplival tudi na izboljšanje drugih lastnosti svežega mesa, kot je barva in izguba vode (Eitenmiller in Lee, 2004).

Višja vsebnost VNMK v mesu lahko povzroči večjo podvrženost mesa k oksidaciji lipidov in barve. Previsoka koncentracija VNMK v mesu lahko torej izniči učinek dodanega antioksidanta v krmo (Guo in sod., 2006).

### 2.1.2.1 Vpliv dodatka vitamina E v krmo na koncentracijo $\alpha$ -tokoferola v prašičih

Trefan in sod. (2011) so opravili meta analizo vpliva dodatka vitamina E v krmo prašičev na koncentracijo  $\alpha$ -tokoferola in lipidno oksidacijo (poglavje 2.1.2.2) v tkivu. V preglednici 2 so povzeti osnovni podatki iz posameznih študij, ki so jih zbrali v meta analizo:

- število prašičev in skupin, ki so bili vključeni v poskus,
- količina dodanega vitamina E na kg krme po skupinah,
- spol,
- čas dodajanja vitamina E v krmo.

**Preglednica 2: Načrt študij vpliva dodatka vitamina E v krmo na koncentracijo  $\alpha$ -tokoferola v tkivu (Trefan in sod., 2011)**

Št. prašičev po skupinah	Količina vitamina E (IU) / kg krme	Spol	Trajanje dodajanja vitamina E v krmo pred zakolom (dni)
8/8/8	0/100/200	Kastrirani prašiči in svinjke	98
15/15	0/100	Kastrirani prašiči in svinjke	84
5/6	0/500	Ni podatka	46
8/8/8	50/100/300	Kastrirani prašiči in svinjke	60
16/16/16/16/16	0/100/150/300/600	Kastrirani prašiči in svinjke	42
20/20/20	100/200/700	Merjasci in svinjke	105
4/4/4/4	0/50/200/250	Svinjke	105
12/12	50/200	Merjasci in svinjke	14
16/16	0/200	Ni podatka	122,5
29/28/29	0/100/300	Kastrirani prašiči in svinjke	61
9/9	0/200	Svinjke	107
38/35	50/200	Kastrirani prašiči in svinjke	62
14/14	50/400	Svinjke	22

Več zgoraj navedenih študij je pokazalo, da s povečevanjem količine dodanega vitamina E v krmo narašča tudi njegova koncentracija v tkivu prašičev. Testirani modeli so omogočili določiti maksimalno kapaciteto akumulacije  $\alpha$ -tokoferola v tkivu, ki znaša med 6,3 in 7,3  $\mu$ g  $\alpha$ -tokoferola na g tkiva pri dodatku med 0 in 700 IU vitamina E na kilogram krme.

Na koncentracijo  $\alpha$ -tokoferola v tkivu pa vpliva tudi trajanje dodajanja vitamina E v krmo:

- Pri krajšem času (manj kot 70 dni) dodajanja vitamina E v krmo se pojavi statistično značilna razlika med navadno krmo brez dodatka vitamina E in dodatkom majhne količine vitamina E.
- Pri dodajanju vitamina E v daljšem časovnem obdobju (več kot 70 dni) pa se je izkazalo, da količina dodanega vitamina E vpliva veliko bolj in je tako večja razlika pri prašičih, ki so uživali navadno krmo v primerjavi s tistimi, ki so uživali krmo obogateno z vitaminom E (Trefan in sod., 2011).

#### 2.1.2.2 Vpliv dodatka vitamina E v krmo na lipidno oksidacijo

Ravno tako kot v preglednici 2, so tudi v preglednici 3 povzeti enaki osnovni podatki posameznih študij, ki jih je Trefan in sod. (2011) povzel v meta analizi.

**Preglednica 3: Načrt študij vpliva dodatka vitamina E v krmo na lipidno oksidacijo tkiva (Trefan in sod., 2011)**

Št. prašičev po skupinah	Količina vitamin E (IU) / kg krme	Spol	Trajanje dodajanja vitamina E v krmo pred zakolom (dni)
6/6	0/200	Kastrirani prašiči in svinjke	28
6/6	0/200	Kastrirani prašiči in svinjke	70
15/15	0/100	Kastrirani prašiči in svinjke	84
8/8/8	50/100/300	Kastrirani prašiči in svinjke	60
36/35	0/200	Kastrirani prašiči in svinjke	84
4/4/8	0/50/200	Svinjke	105
12/12	50/200	Merjasci in svinjke	14
16/16	0/200	Ni podatka	122,5
29/28/29	0/100/300	Kastrirani prašiči in svinjke	61
12/12/12	0/50/100	Kastrirani prašiči in svinjke	84,4

Študije so pokazale, da je za zmanjšanje lipidne oksidacije potrebno dodati vsaj 100 IU vitamina E/kg krme. Pojavile so se tudi statistično značilne razlike med dodatkom 0 IU vitamina E in vsemi višjimi koncentracijami dodanega vitamina E v krmo.

Zgornje ugotovitve potrjuje tudi raziskava, ki jo je opravil Cardenia in sod. (2011). Ugotovili so, da je najnižja oksidativna stabilnost mesa iz skupine prašičev, katere krma ni bila obogatena z vitaminom E. V isti skupini je bila zaznana tudi višja koncentracija produktov oksidacije holesterola. Meso skupin, ki sta prejemale dodatek vitamina E v krmo, je bilo oksidativno bolj stabilno, kar potrjuje antioksidativno učinkovanje vitamina E.

Študija, ki jo je izvedel Boler in sod. (2009), je pokazala, da dodatek 200 mg/kg krme sintetičnega vitamina E vpliva na boljšo oksidativno sposobnost svinjskega mesa, ki pa je bila nekoliko nižja kot pri dodatku enake količine naravnega vitamina E.

### 2.1.2.3 Vpliv dodatka vitamina E v krmo na barvo mesa

Trefan in sod. (2010) je izvedel meta analizo, v katero je bilo vključenih pet neodvisnih študij. Želeli so ugotoviti ali dodatek vitamina E v krmo prašičev vpliva na intenzivnost rdeče barve mesa. Osredotočili so se zgoj na parameter  $a^*$  (CIE specifikacija). Statistični modeli so pokazali, da dodatek vitamina E v krmo pozitivno vpliva na intenzivnost rdeče barve svinjskega mesa, vendar le kadar koncentracija dodatka vitamina E v krmo presega 100 IU/kg krme.

## 2.2 HOLESTEROL

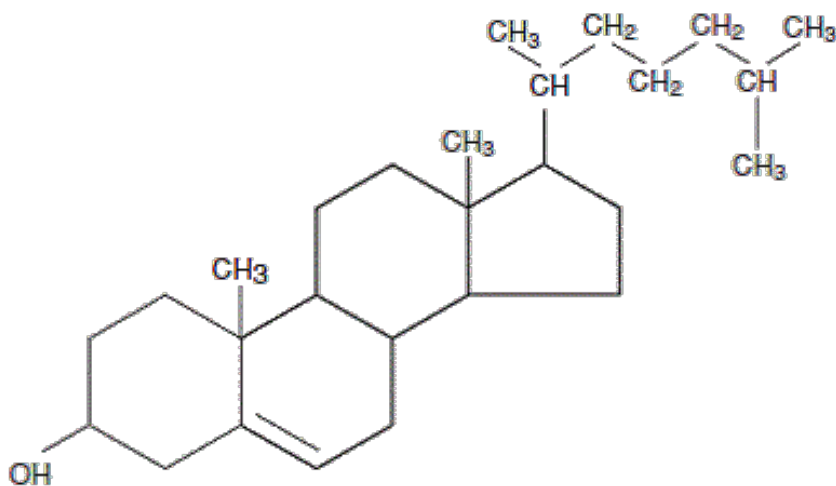
Holesterol je sterol, ki se ga uvršča med lipide. Pojavlja se v živalski masti in oljih, žolču, žolčnih kamnih, živčnem tkivu, krvi, možganih, plazmi in jajčnemu rumenjaku. Holesterol je najpogostejši živalski sterol, v sledovih pa ga najdemo tudi v rastlinskih masteh in oljih, algah in zelenih listih (Sheppard in sod., 1993).

Holesterol so najprej odkrili v žolčnih kamnih. Njegovo ime izhaja iz grške besede *khloé*, kar pomeni žolč in besede *stereos*, kar pomeni trden. Določanje koncentracije holesterola v serumu in živilih je ključnega pomena, saj je le-ta pogosto dejavnik tveganja za pojav ateroskleroze in bolezni srca in ožilja (Sheppard in sod., 1993).

### 2.2.1 Fizikalno kemijske lastnosti

Holesterol je molekula s kemijsko formulo  $C_{27}H_{45}OH$ . Holesterol je bela, lesketajoča, kristalinična snov, ki se skoraj ne topi v vodi. Nekoliko bolj se topi v alkoholu, še bolj pa v vročem alkoholu. Holesterol je topen v nepolarnih topilih, kot so eter, piridin, benzen, heksan, petroleter, kloroform ter v oljih, masteh, vodnih raztopinah žolčnih soli. Temperatura tališča holesterola brez vode je 148,5 °C, temperatura vrelišča je 360 °C pri tlaku 1 atmosfere.

Ciklopentanoperhidrofenantren-ov obroč je osnovno ogljikovo ogrodje molekule holesterola. Molekulska masa holesterola je 384,64. Sestavljen je iz ogljika (83,87 %), vodika (11,99 %) in kisika (4,145 %). Uradno kemijsko ime molekule je holest-5-en-3 $\beta$ -ol (slika 3). Jedro holesterola vsebuje osem kiralnih centrov, zato je možnih približno 240 izomer te molekule. Naravne izomere holesterola pa lahko tvorita le dva ogljikova kiralna centra (C3 in C5) (Sheppard in sod., 2003).



Slika 2: Kemijska formula molekule holesterola (Arnold in Kwiterovich Jr., 2003)

## 2.2.2 Vloga holesterola v organizmu

Sintetizira se pretežno v jetrih, manjši del tudi v črevesju in koži in je potreben za delovanje organizma. Funkcije holesterola (Schlenker, 2011a):

- komponenta celičnih membran,
- prekursor steroidnih hormonov,
- tvorba žolčnih kislin,
- komponenta možganskega in živčnega tkiva.

Holesterol ni esencialna komponenta za ljudi, saj jo lahko organizem sintetizira sam, zato naj ne bi dnevni vnos holesterola s hrano presegal 300 mg (Biesalski in Grimm, 2005).

## 2.3 BARVA MESA

Nezaželena barva mesa zmanjša sprejemljivost svežega mesa pri potrošniku. Barva je namreč drugi najpomembnejši faktor (takoj za ceno), ki vpliva na potrošnika, ki se odloča za nakup le-tega.

Najpomembnejša mišična pigmenta sta mioglobin in hemoglobin. Hemoglobin ima kvartarno strukturo molekule, medtem ko je mioglobin monomerna molekula, sestavljena iz enojne polipeptidne verige (Richards, 2005). Mioglobin sodeluje v procesu, kjer sprejme kisik od hemoglobina in ga prenese v celice, kjer je kisik potreben za celične funkcije. Hemoglobin se nahaja v rdečih krvnih celicah, ki se prenašajo po celičnem obtoku in oskrbujejo vse telesne celice s kisikom v živem organizmu. Izkrvavitev živali ob zakolu odstrani večji del hemoglobina iz mišičnega tkiva, vendar ne vsega. Mioglobin ostane v mišičnih celicah po izkrvavitvi in poskuša nadaljevati s svojo funkcijo po smrti, vendar ne prejema več kisika od hemoglobina (Hunt in Kropf, 1987).

Mioglobin se nahaja v treh oblikah (Hunt in Kropf, 1987; Cornforth in Jayasingh, 2004):

- vijolično rdeč dezoksimioglobin Mb (v svežem mesu ob odsotnosti zraka),
- svetlo rdeč oksimioglobin MbO<sub>2</sub> (tvori se ob prisotnosti kisika),
- rjav metmioglobin MetMb (kot posledica oksidacije mioglobina).

Na barvo mesa vplivajo tudi citokromski encimi, še posebej citokrom oksidaze. Omenjeni encimi se nahajajo v mišičnih celicah živih živali in po zakolu ostanejo tam kot kompetitorji za kisik (Hunt in Kropf, 1987).

## 2.4 OKSIDACIJA MESA

Oksidacija živil vpliva na kakovost in varnost hrane za ljudi. Pri procesu oksidacije se tvorijo komponente z biološko aktivnostjo, ki negativno vplivajo na zdravje ljudi. Nenasičene maščobne kisline so še posebej nagnjene k oksidaciji. Lipidna oksidacija je velikokrat glavni razlog za padec kakovosti mesa in mesnih izdelkov, saj se pri tem tvorijo hidroperoksidi, ki se nato razgradijo do sekundarnih produktov, kot so ketoni, aldehidi, alkoholi in kratko verižne karboksilne skupine (Souza, 2006). Oksidacija lipidov v mesu in mesnih izdelkih se najpogosteje prične v nenasičenih fosfolipidnih delih celičnih membran. Tu se nahajajo tudi druge nenasičene, v maščobah topne molekule (npr. holesterol), ki so nagnjene k oksidaciji (Boselli in sod., 2008a).

V zadnjem času se veliko proučuje tudi produkte oksidacije holesterola, saj je velika verjetnost da so ti produkti vključeni v metabolizem lipidov, v razne kronične in degenerativne bolezni, ter v moteno delovanje celic (Cardenia in sod., 2011). Pri oksidaciji holesterola nastajajo oksidi holesterola. Oksidacija holesterola lahko poteka po isti poti kot lipidna oksidacija, lahko pa jo sprožijo prosti radikali, ki so nastali med lipidno oksidacijo (Cardenia in sod., 2013). Poleg tega, da oksidi holesterola negativno vplivajo na zdravje ljudi, pa vplivajo tudi na samo kakovost in obstojnost mesa in mesnih izdelkov (Hur in sod., 2007).

Na oksidacijo lipidov in holesterola ima velik vpliv skladiščenje in procesiranje mesa. Toplotna obdelava mesa ima negativne vplive na celično strukturo, inaktivira encime, sprosti kisik iz molekul oksimioglobina in s tem ustvari pogoje za tvorbo vodikovega peroksida. Rezanje, mletje in mešanje mesa poruši mišično strukturo, pri čemer je večja površina izpostavljena kisiku in drugim oksidacijskim katalizatorjem. Negativne posledice ima tudi dodatek natrijevega klorida, saj le-ta deluje kot pro-oksidant in tako še pospeši oksidacijo (Haak in sod., 2009).

Oksidativna stabilnost mišičnega tkiva je odvisna od ravnotežja antioksidantov in prooksidantov. Zaradi tega lahko prehrana z dodatki naravnih antioksidantov poveča oksidativno stabilnost lipidov in holesterola v svinjskem mesu (Boselli in sod., 2008b).

### 2.4.1 Oksidacija lipidov

Dve glavni spojini, ki sta vključeni v lipidno oksidacijo sta NeNMK in kisik. Kisik iz okolja se veže z maščobnimi kislinami (MK), kar vodi v nastanek nestabilnega vmesnega produkta, ki sčasoma razpade in povzroči nastanek komponent z neprijetnim okusom in aromo. Vzrok za to je lahko encimska oksidacija, vendar so najpogostejši vzrok prosti radikali.

Reakcija oksidacije poteče v treh fazah (Erickson, 2008; Shahidi in Wanasundara, 2008):

- iniciacija (začetek):  $RH + \text{iniciator} \rightarrow H\cdot + R\cdot$
- propagacija (razvoj):  $R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$   
 $ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$
- terminacija (konec):  $R\cdot + R\cdot \rightarrow RR$   
 $R\cdot + ROO\cdot \rightarrow ROOR$   
 $ROO\cdot + ROO\cdot \rightarrow ROOR + O_2$

Do iniciacije pride, ko se vodikov atom cepi od NeNMK. Rezultat tega je nastanek lipidnega prostega radikala, ki reagira z molekulo kisika in tvori lipidni peroksilni radikal. V fazi propagacije pride do reakcije med dvema molekulama lipidov, kjer lipidni peroksilni radikal odstrani vodikov atom sosednji molekuli. Nastane lipidni hidroperoksid in nov lipidni prosti radikal. Taka vrsta interakcije lahko poteče desetkrat pa vse do stokrat, preden dva prosta radikala zaključita proces in tvorita nevtralne produkte (Erickson, 2008).

Lipidni hidroperoksidi sami po sebi ne vplivajo na poslabšanje kakovosti živil, vendar pa nanjo vplivajo produkti, ki nastanejo pri nadaljnjem razpadanju hidroperoksidov (sekundarna oksidacija). To so hlapne in nehlapne komponente, kot so aldehidi, alkoholi, karbonili in furani (Žlender, 2000; Erickson, 2008).

### 2.4.2 Oksidacija holesterola

Potek oksidacije holesterola je zelo podoben oksidaciji lipidov. Pri oksidaciji holesterola se tvorijo oksidi holesterola, ki so lahko toksični za organizem (Boselli in sod, 2001; Azadmard-Damirchi in Dutta, 2009). Po strukturi so podobni holesterolu in vsebujejo dodatno hidroksilno, ketonsko ali epoksidno skupino na jedru sterola ali pa hidroksilno skupino na stranski verigi molekule (Linseisen in Wolfram, 1998). Oksidi holesterola lahko povzročijo spremembe v morfologiji in funkciji celične membrane, kar poveča pojav škodljivih bioloških učinkov povezanih z nekaterimi degenerativnimi boleznimi, kot na primer ateroskleroza in rakava obolenja (Vejuj in Lizard, 2009; Cardenia in sod., 2013).

Koncentracija oksidov holesterola je nizka v surovih živilih živalskega izvora (npr. meso, mleko, jajca), vendar pa se koncentracija oksidov holesterola izdatno poveča pri (Ferioli in sod., 2008; Boselli in sod., 2009; Derewiaka in Obiedziński, 2010):

- toplotni obdelavi živil,
- izpostavitvi živila svetlobi,
- izpostavitvi živila kovinskim ionom in drugim katalizatorjem,
- izpostavitvi živila kisiku,
- procesiranju živil.

Kako obsežna bo oksidacija mesa pa je odvisno tudi od prisotnosti naravnih antioksidantov in količine nenasičenih MK (Bou in sod., 2006).

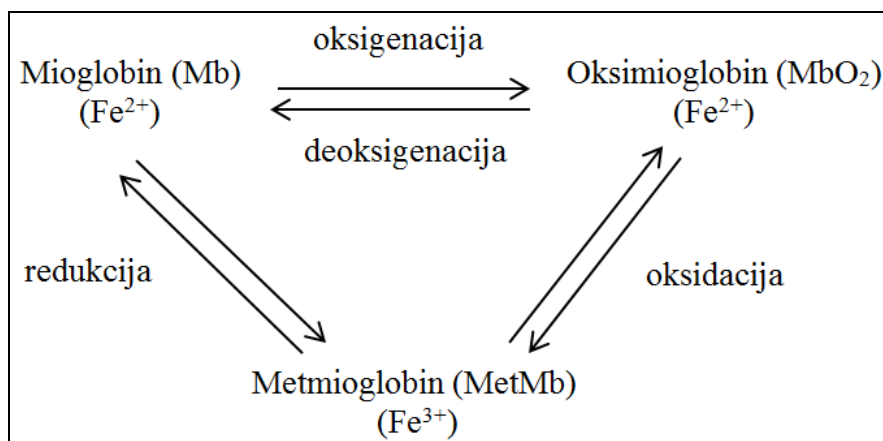
Do danes je bilo identificiranih že preko 80 holesterol oksidov. V živilih se najpogosteje pojavljajo: 7 $\alpha$ -hidroksiholesterol, 7 $\beta$ -hidroksiholesterol, 5,6 $\alpha$ -epoksiholesterol, 5,6 $\beta$ -epoksiholesterol, 7-ketoholesterol, 5 $\alpha$ -holestan-3 $\beta$ -5,6 $\beta$ -triol, 5-holesten-3 $\beta$ -25-diol (Sampaio in sod., 2006; Lee in sod., 2008).

#### 2.4.3 Oksidacija pigmenta

Barva mesa je odvisna od oksidacijskega stanja pigmenta, njegove koncentracije in fizikalnih lastnosti mesa. Mioglobin v mesu se kemijsko spreminja – gre za dinamično ravnovesje med tremi oblikami mioglobina (Mb, MbO<sub>2</sub>, MetMb) (Žlender, 2000).

Ko je Mb izpostavljen kisiku se na njegove proste vezi veže kisik, pri čemer se zelo hitro oblikuje MbO<sub>2</sub>. Oblikuje se na površini mišic, kjer je dostopnega veliko kisika. Pojav se imenuje oksigenacija. Če pride do povratne reakcije se ponovno tvori Mb (Gašperlin, 2000). Oksidacija osrednjega železovega atoma v hemske skupini je glavni vzrok za razbarvanje mesa. Mb rdeče barve se oksidira do rjavega MetMb, kjer se hemske železo iz fero (Fe<sup>2+</sup>) oblike pretvori v feri (Fe<sup>3+</sup>) obliko, sprosti se kisik, ki ga zamenja molekula vode (Faustman in sod., 2010). Gre za spontano neencimsko reakcijo v prisotnosti kisika, ki jo imenujemo tudi avtooksidacija in poteče še hitreje kadar je parcialni tlak kisika nižji od 0,005 bar. Poleg tega avtooksidacijo pospešijo še kovinski ioni (Cu, Fe), nizek pH, prisotnost soli.





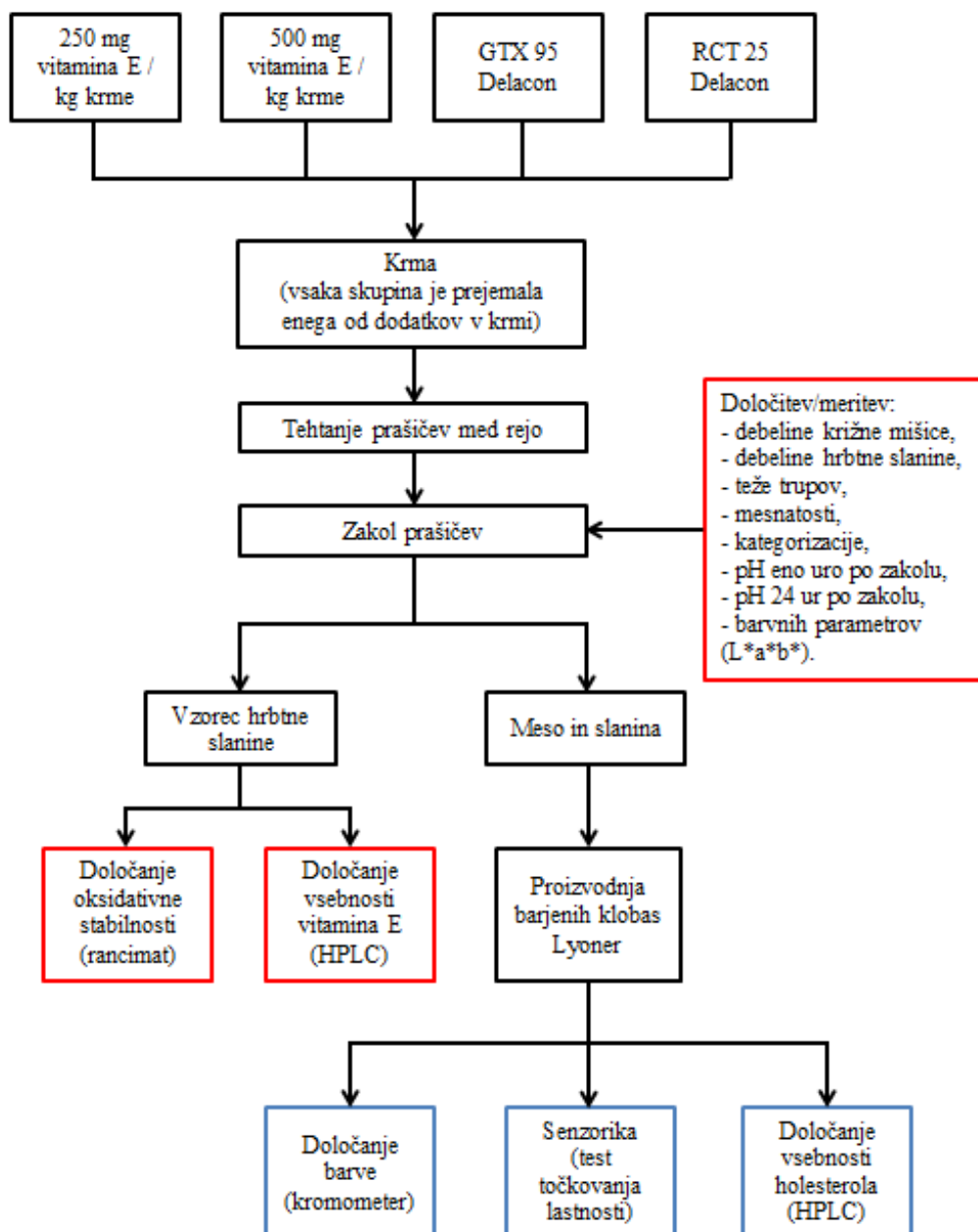
Slika 3: Interakcije pigmentov v svežem mesu (Mancini in Hunt, 2005)

Na barvo mesa pa vplivajo tudi sledeči dejavniki:

temperatura, svetloba, pakiranje, zmrzovanje, skladiščenje, tehnološka obdelava, dodatek antioksidantov in prisotnost mikroorganizmov (Gašperlin, 2000; Allen in Cornforth, 2006).

### 3 MATERIAL IN METODE DE LA

Slika 4 prikazuje potek poskusa. Rdeča obroba zajema analize, katerih rezultati so bili statistično obdelani, modra obroba pa prikazuje analize, katerih rezultatov nismo mogli statistično primerjati (ni bilo dovolj ponovitev).



Slika 4: Shematičen prikaz poteka poskusa

V poskus je bilo vključenih 29 prašičev, ki so jih vzredili na Farmi Ihan d.d. v Ihanu in jih zaklali 28.9.2011 v Šentjurju pri Celju v klavnici, ki je last Farm Ihan d.d.. Prašiči so bili razdeljeni v 4 skupine – vsaka skupina je prejela različne koncentracije in oblike antioksidantov v krmi, kot je prikazano v preglednici 4.

**Preglednica 4: Skupine prašičev glede na dodatek različnih antioksidantov v krmi**

Oznaka skupine	Dodatki in njihova količina
Skupina 1 – kontrolna skupina	Dodatek 250 mg vitamina E/kg krme
Skupina 2	Dodatek 500 mg vitamina E/kg krme
Skupina 3	Dodatek GTX 95 Delacon <sup>1</sup> v krmo
Skupina 4	Dodatek RCT 25 Delacon <sup>1</sup> v krmo

<sup>1</sup> komercialna dodatka za krmo prašičev podjetja Delacon, ki vsebujeta različne antioksidante

### 3.1 PODATKI O PRAŠIČIH

V poskus so bili vključeni prašiči križanci linije 12x99. Na koncu poskusa so bili v prvi, tretji in četrti skupini po štiri kastrirani prašiči in tri svinjke, v drugi skupini pa so bili štiri kastrirani prašiči in štiri svinjke. Telesna masa in starost prašičev je bila med rejo kontrolirana v prostorih Farme Ihan d.d.

### 3.2 KLAVNE LASTNOSTI

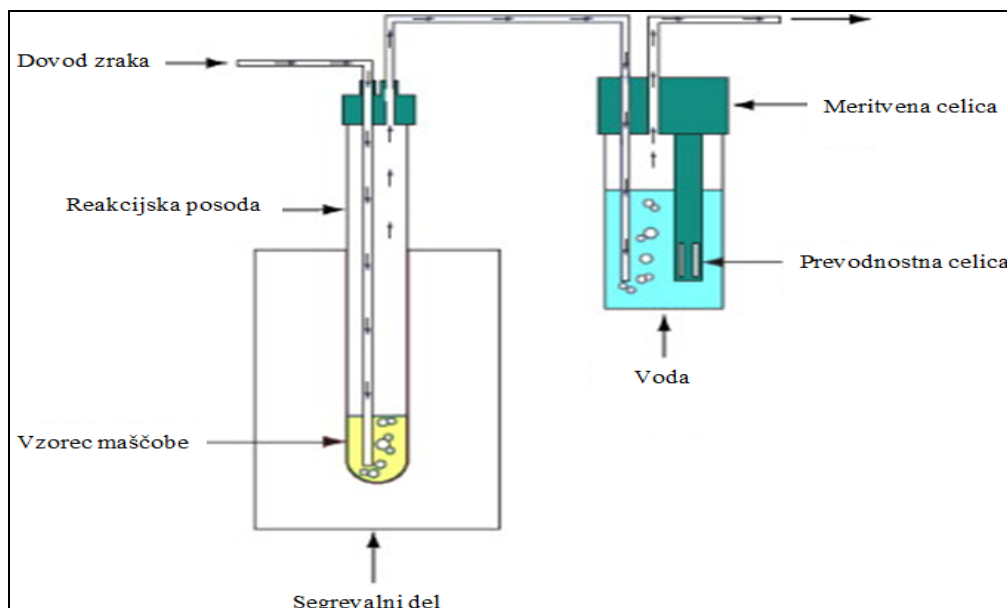
Meritve debeline križne mišice *Gluteus medius*, debelina hrbtne slanine, teža trupov, mesnatost in kategorizacija so bili opravljeni na klavni liniji takoj po zakolu, meritev pH1 eno uro po zakolu, pH2, ter barvni parametri pa 24 ur po zakolu. Barvo smo izmerili s kromometrom Minolta na rezu med trinajstim in štirinajstim vretencem. Postopek določanja barve s kromometrom je podrobneje opisan v poglavju 3.4.2.

### 3.3 KEMIJSKE ANALIZE HRBTNE SLANINE

Analizirali smo oksidativno stabilnost maščobe z metodo rancimata in vsebnost vitamina E. Pri obeh kemijskih analizah smo uporabili hrbtno slanino prašičev, ki je bila takoj po razseku prašičev zamrznjena. Vzorcena je bila pri vsakem prašiču posebej (7 vzorcev v skupinah 1, 3 in 4, ter 8 vzorcev v skupini 2), analize smo nato izvajali v paralelkah.

### 3.3.1 Rancimat

Pri analizi vzorcev slanine smo uporabili Rancimat 679 (Metrohm). Metoda rancimata je avtomatska in temelji na reakciji vzorca maščobe s tokom zraka pri temperaturah med 50 in 220 °C. Hlapljive komponente, predvsem karboksilne kisline, se s tokom zraka prenesejo v posodico napolnjeno z vodo, katere prevodnost se neprestano meri, kot je shematično prikazano na sliki 5. Analiza je potekala pri temperaturi 110 °C in pretoku zraka 20 L/h. Oksidativna obstojnost je bila izražena kot indukcijski čas v urah.



Slika 5: Shematični prikaz delovanja metode rancimata (Jain in Sharma, 2011)

### 3.3.2 Določanje vsebnosti vitamina E

#### 3.3.2.1 Material uporabljen za določanje vitamina E

Pri določanju vsebnosti vitamina E v slanini smo uporabili sledeče kemikalije:

- 100 % etanol (Riedel-de Haën),
- metanol (Fluka),
- n-heksan (Riedel-de Haën),
- butilhidroksi toluen (BHT) (Fluka),
- kalijev hidroksid (KOH) (Riedel-de Haën),
- natrijev askorbat (Fluka).

Vsebnost vitamina E v slanini smo določali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC) proizvajalca Agilent Technologies serije 1200 s kolono Phenomenex Synergi Hydro-RP (dimenzije: 100 mm x 4,6 mm).

### 3.3.2.2 Metoda določanja vitamina E

V erlenmajerico smo zatehtali po 20 g hrbtno slanino, ki je bila predhodno delno odtajana.

Najprej smo opravili postopek saponifikacije. Vzorcju smo dodali:

- 100 mL etanola,
- 2 mL 10 % BHT-ja,
- 2 mL 10 % natrijevega askorbata in
- 25 mL 50 % KOH.

Vsebino v erlenmajerici smo nato premešali, prepihali z dušikom, zamašili in dali v kopel za 30 minut na 80 °C. Vsakih 5 minut smo vzorec premešali.

Po 30 minutah smo vzorce ohladili.

Za ekstrakcijo smo uporabili heksan: vsebino iz erlenmajerice smo prefiltrirali v lij ločnik ter dodali 100 mL heksana. Stresali smo 15 sekund, nakar smo fazo iz prvega lija ločnika prenesli v drugi lij ločnik, dodali 100 mL heksana, ter stresali 30 sekund.

Ekstrakciji je sledila evaporacija z uporabo rotavaporja v vodni kopeli pod parcialnim vakuumom pri temperaturi okrog 40 °C. Evaporacija je potekala približno 5 minut. Suhemu preostanku smo po ohladitvi dodali metanol in vsebino dobro premešali. Vzorce smo prenesli v vialo, za nadaljnje določanje vsebnosti vitamina E s HPLC analizo.

### 3.4 BARJENE KLOBASE

Za pripravo barjenih klobas tipa Lyoner smo uporabili sestavine navedene v preglednici 5. Pri vseh štirih poskusnih skupinah smo uporabili enako začimbno mešanico, ter enake količine sestavin, razlikovalo se je le meso in slanina, ki sta pripadala posamezni skupini prašičev. Pri posameznemu vzorcu smo uporabili petkratno količino navedenih vrednosti sestavin v preglednici 5 (masa za 38,7 kg).

Preglednica 5: Receptura sestavin (g in %) za izdelavo barjenih klobas Lyoner

Sestavine	Masa za 7,7 kg (g)	Masa za 38,7 kg (kg)	Delež (%)
<b>Prašičje meso</b>	3150	15,75	40,68
<b>Prašičja slanina</b>	1500	7,5	19,37
<b>Prašičje mastne obreznine</b>	1500	7,5	19,37
<b>Voda (led)</b>	1350	6,75	17,43
<b>Askorbinska kislina (E300)</b>	7,5	0,038	0,10
<b>Difosfat (E450)</b>	22,5	0,113	0,29
<b>0,45 % nitritna sol</b>	75	0,375	0,97
<b>0,85 % nitritna sol</b>	75	0,375	0,97
<b>Sladkor</b>	22,5	0,113	0,29
<b>Poper</b>	18,75	0,094	0,24
<b>Ingver</b>	7,5	0,038	0,10
<b>Kardamon</b>	7,5	0,038	0,10
<b>Muškat</b>	7,5	0,038	0,10

#### 3.4.1 Tehnologija izdelave

Po pripravi sestavin za izdelavo barjenih klobas smo najprej razdevali ohlajeno meso, slanino in obrezine z volkom (Seydelmann). To smo prenesli v kuter (Kilia) ter ob stalnem mešanju izmenično dodajali led in začimbe, dokler nismo dobili homogene mase – mesne emulzije. Dobljeno maso smo s pomočjo vakuumskega polnilnika (Handtmann) napolnili v nepropustne plastične ovitke.

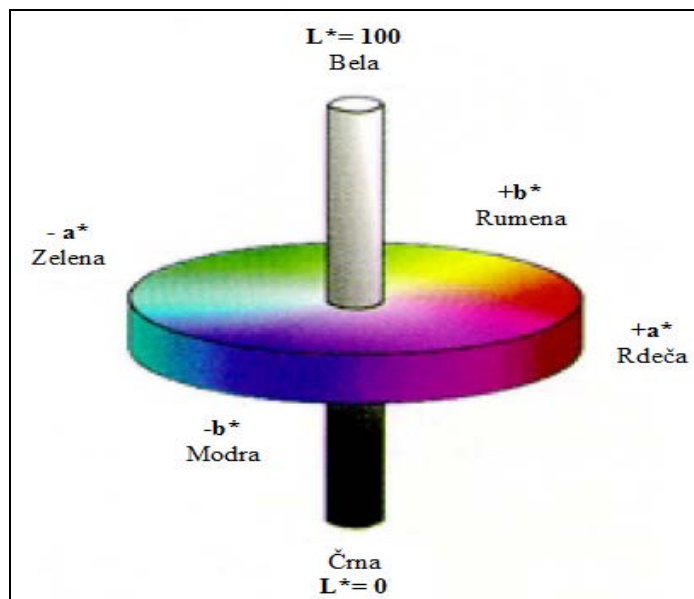


Slika 6: Volk, kuter in vakuumski polnilnik

Napolnjene ovitke smo obesili na palice, ter jih postavili v komoro za toplotno obdelavo – barjenje. Temperatura je bila v začetni fazi približno 50 °C, nato pa smo jo dvignili na 75 °C. Ko je središčna temperatura klobas dosegla 70 °C, smo jih prenesli v hladilne komore s temperaturo 4 °C.

### 3.4.2 Določanje barve

Za določanje barve smo uporabili kromometer (Konica Minolta CR-400). Uporablja se za merjenje barve vzorca v izpeljanem L\* a\* b\* sistemu barv. Vrednost L\* predstavlja svetlost vzorca mesa (višja vrednost L pomeni svetlejšo barvo vzorca, nižja vrednost L pa temnejšo), vrednost a\* in b\* pa predstavljata odtenek barve, pri čemer vrednost a\* predstavlja odtenke od rdeče do zelene, vrednost b\* pa od rumene do modre. Kromometer smo predhodno standardizirali na beli keramični ploščici.



Slika 7: CIE L\*a\*b\* barvni prostor (Reddick in sod., 2009)

### 3.4.3 Določanje vsebnosti holesterola v vzorcu

#### 3.4.3.1 Material uporabljen za določanje holesterola

Pri določanju holesterola v barjenih klobasah smo uporabili sledeče kemikalije:

- metilen klorid (Merck),
- BHT (Sigma-Aldrich),
- KOH (Merck),
- 96 % etanol (Merck),
- natrijev klorid (NaCl) (Merck),
- natrijev sulfat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Merck),
- heksan (Fluka),
- dietileter (Sigma-Aldrich),
- acetonitril (Sigma-Aldrich),
- izopropanol (Merck).

Vsebnost holesterola v vzorcih barjenih klobas smo določali s HPLC sistemom proizvajalca Agilent Technologies serije 1100.

#### 3.4.3.2 Postopek določanja vsebnosti holesterola

##### **Priprava vzorcev:**

Vzorci barjenih klobas smo narezali na kose in homogenizirali s sekljalnikom. Vzorce smo nato vakuumsko zapakirali in shranili v zamrzovalnik do pričetka analiz vsebnosti holesterola.



### **Interni standard:**

Kot interni standard smo uporabili standardno raztopino kromatografsko čistega holesterola (5-holesterol-3 $\beta$ -ol).

### **Določanje vsebnosti holesterola:**

#### Umiljenje

V erlenmajerice s pokrovčki na navoj smo zatehtali 2 g odtajanega vzorca. Dodali smo 3 mL metilen klorida (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 100  $\mu$ L BHT-ja in 7 mL 1 M raztopine KOH v 96 % etanolu. Vse skupaj smo pustili 1 uro mešati na magnetnem mešalu pri temperaturi 50 °C.

#### Ekstrakcija holesterola

Vzorci smo prenesli v 50 mL centrifugirke, dodali 10 mL destilirane vode, 10 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, vsebino dobro premešali in dali v ultrazvočno kopel za 15 minut. Sledilo je 6 minutno centrifugiranje vzorcev pri 1700 g, kjer sta se ločili polarna in nepolarna faza. Zgornjo polarno fazo smo v večji meri odstranili. V organsko fazo, ki je ostala v centrifugirki smo dodali 5 mL 0,5 M KOH v destilirani vodi. Vsebino v centrifugirkah smo dobro premešali in dali v ultrazvočno kopel za 15 minut in nato 6 minut centrifugirali pri enakih pogojih. Ob ločitvi faz smo odstranili zgornjo polarno fazo, v organsko pa dodali 5 mL destilirane vode. Vsebino smo dobro premešali, jo postavili v ultrazvočno kopel za 15 minut in nato v centrifugirke dodali približno 2 g NaCl. Sledilo je 6 minutno centrifugiranje pri enakih pogojih. Po končani ekstrakciji smo s stekleno pipeto odmerili 5 ml spodnje organske faze v epruvete. Vsebino smo prefiltrirali skozi Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in nato odparili topilo. Suh preostanek smo raztopili v 2 mL raztopine heksana in dietiletra (75:25). Tako smo vzorce pripravili za ločevanje s postopkom ekstrakcije s trdno fazo (SPE).

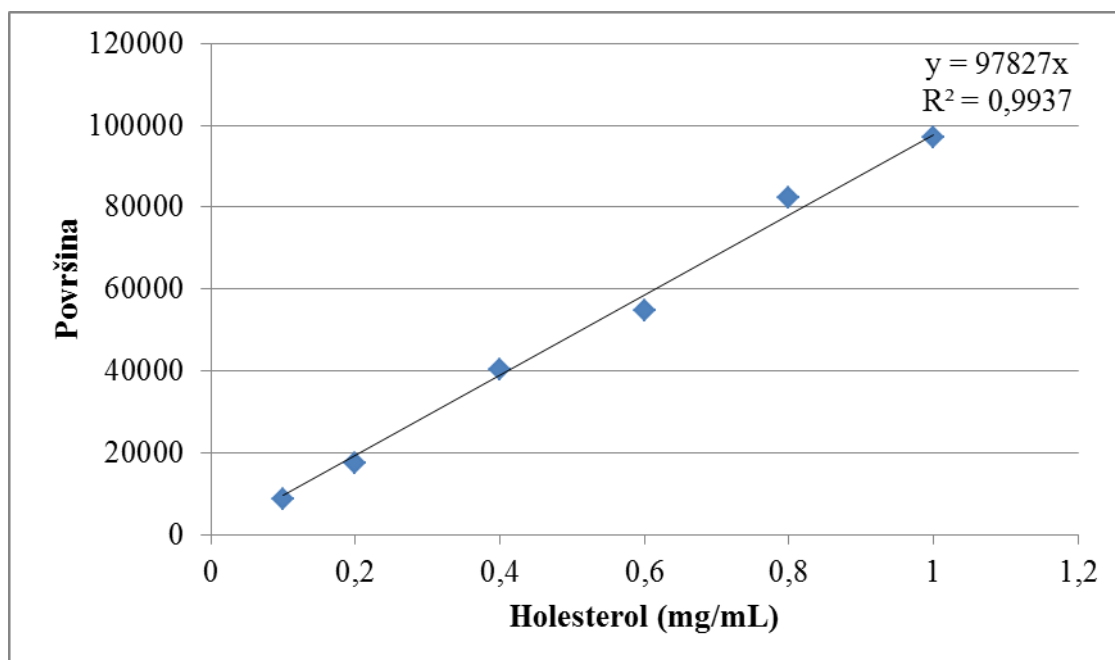
#### SPE

Uporabili smo kolono Strata SI-1, ki smo jo kondicionirali z 2,5 mL heksana (eluat smo zavrgli). Nato smo uvajali ves (2 mL) predhodno pripravljen vzorec in pazili, da je vzorec počasi potoval skozi kolono (eluat smo zavrgli). Kolono smo potem spirali z 2,5 mL heksana in 2,5 mL raztopine heksana in dietiletra (90:10) (eluat smo zavrgli). Na kolono smo nanesti še 2 mL raztopine heksana in dietiletra in eluat zbirali v epruvete. Topilo smo nato odparili, suh preostanek pa raztopili v mešanici acetonitrila in izopropanola (55:45). Vzorce smo prenesli v majhne vial. Vzorci so bili pripravljene za določanje holesterola s HPLC analizo.

#### 3.4.3.3 Umeritvena krivulja

V 10 mL bučko smo zatehtali 100 mg holesterola (5-holesterol-3 $\beta$ -ol) in dopolnili do oznake z raztopino acetonitrila in izopropanola (55:45). Z ustreznim redčenjem smo prišli do različnih koncentracij holesterola:  $\gamma_1=1$  mg/mL,  $\gamma_2=0,8$  mg/mL,  $\gamma_3=0,6$  mg/mL,  $\gamma_4=0,4$  mg/mL,  $\gamma_5=0,2$  mg/mL,  $\gamma_6=0,1$  mg/mL.

Iz vsake bučke (v vsaki je bila različna koncentracija holesterola) smo vzorec prenesli v vialo. Vzorci so bili pripravljene za določanje koncentracije holesterola s HPLC analizo.



Slika 8: Umeritvena krivulja določanja koncentracije holesterola s HPLC analizo

#### 3.4.4 Senzorična analiza

Senzorično analizo barjenih klobas je izvajal panel štirih izkušenih ocenjevalcev na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil Biotehniške fakultete.

Uporabili smo test točkovanja lastnosti, ki spada v skupino deskriptivnih testov z nestrukturirano točkovno letvico. Za ocenjevanje značilnosti in intenzivnosti barve ter tujih vonjev in arom smo izbrali točkovanje 1-7, kjer število 1 predstavlja ekstremno neizraženo (nezaznavno) lastnost, število 7 pa ekstremno izraženo lastnost. Za ocenjevanje intenzivnosti barve smo izbrali točkovanje 1-4-7, kjer 4 predstavlja optimalno izraženo lastnost, nižje ocene premalo, višje ocene pa premočno izraženo lastnost.

Ocenjeni so 3 različni parametri barjenih klobas:

- barva:
  - sveže narezanih rezin,
  - rezin, ki so bile 2 uri v hladilniku (4,6 °C),
  - rezin, ki so bile 2 uri na sobni temperaturi (20,7 °C).
- tuji vonji,
- tuje arome.

Pri ocenjevanju barve so bile rezine klobas narezane na debelino 5 mm, pri ocenjevanju tujih vonjev in arom pa 2 mm.

Panel je ocenjeval po obrazcu, ki je prikazan v preglednici 6.

**Preglednica 6: Obrazec za ocenjevanje senzoričnih lastnosti barjenih klobas Lyoner**

		Vzorec	Zelena <sup>6</sup>	Modra <sup>6</sup>	Rdeča <sup>6</sup>	Siva <sup>6</sup>
<b>BARVA</b>	Takoj	Značilnost (1-7) <sup>1</sup>				
		Intenzivnost (1-4-7) <sup>2</sup>				
		Enakomernost (1-7) <sup>3</sup>				
	2 h hladilnik	Značilnost (1-7)				
		Intenzivnost (1-4-7)				
		Enakomernost (1-7)				
	2 h sobna T	Značilnost (1-7)				
		Intenzivnost (1-4-7)				
		Enakomernost (1-7)				
Vonji in arome	Tuji vonji (1-7) <sup>4</sup>					
	Tuje arome (1-7) <sup>5</sup>					

<sup>1</sup> Število 1 predstavlja neznačilno, število 7 značilno barvo; <sup>2</sup> Število 1 predstavlja svetlo, število 4 predstavlja optimalno in število 7 predstavlja temno barvo; <sup>3</sup> Število 1 predstavlja neenakomerno barvo, število 7 predstavlja enakomerno barvo; <sup>4</sup> Število 1 pomeni, da tuji vonji niso prisotni, število 7 pomeni nesprejemljivo; <sup>5</sup> Število 1 pomeni, da tuje arome niso prisotne, število 7 pomeni nesprejemljivo; <sup>6</sup> Vsaka barva označuje eno od skupin barjenih klobas

### 3.5 STATISTIČNA ANALIZA

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom Excel XP. Osnovne statistične parametre smo izračunali s postopkom MEANS, s postopkom UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve (SAS Software, 1999). Rezultati poskusa so bili analizirani po metodi najmanjših kvadratov s postopkom GLM, povezave med parametri pa z multivariatnima metodama – PCA in LDA.

Pričakovane povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa in primerjane pri 5 % tveganju.

#### 3.5.1 Multivariatne metode

Pri statistični analizi podatkov smo uporabili dve multivariatni metodi. Prva je PCA, ki spada med faktorsko analizo, druga je LDA, ki spada med diskriminantno analizo. Obe metodi se pogosto uporabljata za klasifikacijo in redukcijo podatkov.

##### 3.5.1.1 Faktorska analiza

Pri faktorski analizi za študijo povezav med spremenljivkami. Pri tem je potrebno poiskati novo množico spremenljivk (jih je manj kot je bilo merjenih spremenljivk), ki predstavljajo to kar je skupnega opazovanih spremenljivk. S tem poskuša analiza poenostaviti kompleksnost povezav med množico opazovanih spremenljivk. Cilj faktorskih metod je ugotoviti ali je možno pojasniti zveze med opazovanimi spremenljivkami (korelacije) z manjšim številom posredno opazovanih spremenljivk (Bastič, 2006; Adams, 1998).

#### **PCA**

Cilj metode je pojasniti kar se da velik del celotne razpršenosti (variance) podatkov tako, da se določi manjše število linearnih kombinacij merjenih spremenljivk. Zadostno vrednost variance običajno predstavlja že tri do pet osi, ki omogočijo predpostaviti najpomembnejše podatkovne strukture (Adams, 1998).

Prva glavna os mora imeti največjo možno varianco, druga os se nato oblikuje glede na prvo os, in sicer pod pogojem, da je ortogonalna na prvo os in ima največjo možno inercijo. Ostale osi se oblikujejo po enakem postopku. Vrednosti novih opazovanih spremenljivk se lahko interpretirajo geometrijsko kot projekcije opazovanih spremenljivk na glavno os (Abdi in Williams, 2010).

### 3.5.1.2 Diskriminantna analiza

Diskriminantna analiza je iskanje linearnih kombinacij osnovnih spremenljivk, ki najbolj pojasnijo razlike med skupinami. Dobljene linearne kombinacije imenujemo diskriminantne spremenljivke ali diskriminantne funkcije. Prva diskriminantna spremenljivka določa, po katerih osnovnih spremenljivkah se populacije najbolj razlikujejo. V drugi diskriminantni spremenljivki so kot pomembnejše zastopane osnovne spremenljivke, le-te pa po pomembnosti sledijo tistim v prvi diskriminantni spremenljivki, itd. Pomembnih diskriminantnih spremenljivk želimo imeti čim manj, da lahko razlike med skupinami razložimo z največ tremi spremenljivkami, kar omogoča lažjo grafično predstavitev razlik med skupinami (Kastelec in Košmelj, 2008).

#### **LDA**

Glavni princip delovanja LDA je najti smeri v večvariatnem prostoru, ki najbolj ločujejo posamezne skupine vzorcev. Po določitvi prve nove smeri, poiščemo naslednjo takšno smer, ki ima enake lastnosti, vendar informacije vsebovane v obeh smereh ne smejo korelirati. Iskanje novih smeri se zaključi takrat, ko imamo zadostno število novih smeri, ki zadovoljivo opišejo sistem (Adams, 1998).

## 4 REZULTATI

Rezultati našega poskusa so predstavljeni v več sklopih. Prvi sklop zajema lastnosti prašičev med rejo, klavne lastnosti in kemijsko analizo hrbtne slanine. V tem sklopu smo rezultate statistično obdelali in jih primerjali med skupinami z uporabo osnovnih statističnih parametrov. V drugem sklopu so predstavljeni rezultati klavnih lastnosti (debelina mišice, debelina hrbtne slanine, teža trupov, mesnatost, klavnost) in kemijskih analiz hrbtne slanine (oksidativna stabilnost, koncentracija vitamina E) s pomočjo statističnih modelov PCA in LDA. V zadnjem sklopu so predstavljeni še rezultati meritev in analiz (določanje holesterola, barve in senzorična analiza), ki so bili opravljeni na barjenih klobasah Lyoner, narejenih iz mesa in slanine poskusnih prašičev.

### 4.1 LASTNOSTI PRAŠIČEV MED REJO

V preglednici 7 so podane telesne mase prašičev merjene med rejo in starost prašičev ob zakolu. Povprečne telesne mase prašičev med rejo so bile 28,9 kg (pri starosti 81 oziroma 82 dni), 66,4 kg (pri starosti 129 oziroma 130 dni) in ob zakolu 118,3 kg. Povprečna starost prašičev ob zakolu je bila 193,7 dni. Vzorci so bili glede na telesno maso v začetku nekoliko nehomogeni, saj je bil koeficient variabilnosti 10 %, ki pa se je prepolovil pri merjenju telesne mase ob zakolu.

**Preglednica 7: Teža in starost prašičev med rejo z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri**

Parameter	n	povprečje	min	max	SD	KV (%)
Telesna masa 1 <sup>1</sup> (kg)	29	28,9	24,0	34,0	2,9	9,9
Telesna masa 2 <sup>2</sup> (kg)	29	66,4	57,0	75,0	4,9	7,3
Telesna masa 3 <sup>3</sup> (kg)	29	118,3	106,0	128,0	5,1	4,3
Starost (dni)	29	193,7	191,0	195,0	1,0	0,5

n – število prašičev; min – minimalna vrednost; max – maksimalna vrednost; SD – standardni odklon; KV – koeficient variabilnosti; <sup>1</sup> – pri starosti 81-82 dni; <sup>2</sup> – pri starosti 129-130 dni; <sup>3</sup> – pri starosti 193-194 dni

Iz preglednice 8 je razvidno, da med poskusnimi skupinami v povprečju ni bilo večjih razlik pri telesni masi merjeni ob določeni starosti. Telesna masa je bila prvič merjena pri povprečni starosti prašičev med 81,1 in 82,0 dnevi, drugič je bila merjena v povprečni starosti med 129,1 in 130,0 in tretjič ob zakolu med 193,1 in 194 dnevom starosti prašičev.

**Preglednica 8: Tehnološki parametri prašičev v času pitanja**

Lastnosti prašičev	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4
	Povprečna vrednost ± SD			
Število prašičev <sup>1</sup>	7	8	7	7
Starost 1 (dni)	81,1 ± 0,9	81,8 ± 1,3	81,7 ± 0,8	82,0 ± 0,8
Telesna masa 1 (kg) <sub>2</sub>	28,0 ± 2,6	29,6 ± 3,0	28,6 ± 3,3	29,3 ± 2,9
Starost 2 (dni)	129,1 ± 0,9	129,8 ± 1,3	129,7 ± 0,8	130,0 ± 0,8
Telesna masa 2 (kg) <sub>3</sub>	63,1 ± 4,3	68,9 ± 3,2	67,6 ± 2,9	65,9 ± 7,0
Starost 3 (dni)	193,1 ± 0,9	193,8 ± 1,3	193,7 ± 0,8	194,0 ± 0,8
Telesna masa 3 (kg) <sub>4</sub>	120,0 ± 4,0	119,0 ± 5,1	117,4 ± 6,1	116,9 ± 5,7

<sup>1</sup> Število prašičev v posamezni skupini, ki so bili vključeni v testno skupino; <sup>2</sup> Telesna masa merjena pri starosti 1; <sup>3</sup> Telesna masa merjena pri starosti 2; <sup>4</sup> Telesna masa merjena pri starosti 3 = masa ob zakolu

## 4.2 LASTNOSTI TRUPOV

V preglednici 9 so podani rezultati meritev klavnih lastnosti trupov z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri. V analizo so bili vključeni rezultati meritev vseh štirih skupin skupaj.

**Preglednica 9: Meritve klavnih lastnosti trupov z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri**

Parameter	n	povprečje	min	max	SD	KV(%)
Debelina mišice GM (mm)	29	78	71	85	3	4
Debelina hrbtne slanine (mm)	29	15	6	19	3	21
Topla teža trupa (kg)	29	92,6	83,4	102,4	4,8	5,2
Mesnatost (%)	29	59,7	55,6	65,3	2,4	4,0
Klavnost (%)	29	78,2	75,8	81,4	1,3	1,7

n – število prašičev; min – minimalna vrednost; max – maksimalna vrednost; SD – standardni odklon; KV – koeficient variabilnosti; klavnost – razmerje med maso trupa in telesno maso prašiča

Povprečna debelina mišice je bila 78 mm, hrbtne slanine pa 15 mm. Pri meritvah debeline hrbtne slanine so je pokazalo, da so vzorci nehomogeni, saj znaša koeficient variabilnosti 21 %. To se lahko opazi tudi pri razliki med najvišjo in najnižjo vrednostjo, saj je najmanjša debelina hrbtne slanine le 6 mm, največja pa kar 19 mm. Teža trupov je bila v povprečju 92,6 kg. Mesnatost trupov je v povprečju znašala 59,7 %, klavnost (računana iz tople teže trupov) pa 78,2 % (preglednica 9).

**Preglednica 10: Vpliv dodatka antioksidantov v krmi na lastnosti trupov (Duncanov test,  $\alpha=0,05$ )**

Lastnosti trupov	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4	Značilnost
	Povprečna vrednost $\pm$ SD				
<b>Debelina mišice</b> ( <i>Gluteus medius</i> )(mm)	79,3 $\pm$ 3,4	77,9 $\pm$ 2,7	77,9 $\pm$ 4,8	78,3 $\pm$ 3,3	nz
<b>Debelina hrbtne slanine</b> (mm)	14,3 $\pm$ 4,6	15,9 $\pm$ 3,0	15,0 $\pm$ 2,5	13,3 $\pm$ 1,9	nz
<b>Topla teža trupov (kg)</b>	93,6 $\pm$ 3,6	92,8 $\pm$ 5,2	92,3 $\pm$ 5,3	91,7 $\pm$ 5,8	nz
<b>Mesnatost (%)</b>	60,0 $\pm$ 3,1	58,7 $\pm$ 2,4	59,3 $\pm$ 2,3	60,6 $\pm$ 1,5	nz
<b>R-klavnost</b>	78,0 $\pm$ 0,6	78,0 $\pm$ 1,7	78,6 $\pm$ 0,9	78,5 $\pm$ 1,8	nz

nz –  $p > 0,05$  statistično neznačilen vpliv

Lastnosti trupov se v povprečju ne razlikujejo veliko, kar je razvidno iz preglednice 10. Razlike med posameznimi skupinami niso statistično značilne.

#### 4.3 FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI KAKOVOSTI MESA

Rezultati instrumentalno in kemijsko pridobljenih meritev so podani v preglednici 11. Vrednost pH1 merjena eno uro po zakolu je bila v povprečju 6,27, pH2 merjena 24 ur po zakolu je v povprečju znašala 5,63, kar kaže na normalno kakovost mišičnine. Pri meritvah barvnih parametrov, z izjemo barvnega parametra L\*, oksidativne stabilnost in vitamina E lahko vidimo, da so vzorci dokaj nehomogeni. Koeficient variabilnosti pri teh parametrih namreč znaša od 28,7 in vse do 51,7 %.

**Preglednica 11: Instrumentalne in kemijske meritve mesa in slanine z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri**

Parameter	n	povprečje	min	max	SD	KV(%)
<b>pH 1</b>	29	6,27	5,94	6,61	0,20	3,15
<b>pH 2</b>	29	5,63	5,43	6,53	0,21	3,66
<b>Vrednost L*</b>	29	50,2	41,8	60,6	3,7	7,5
<b>Vrednost a*</b>	29	12,7	7,7	24,1	3,6	28,7
<b>Vrednost b*</b>	29	5,0	-0,5	8,5	2,0	41,0
<b>Oksidativna stabilnost (h)</b>	29	11,21	0,84	19,90	5,8	51,7
<b>Vitamin E (mg/kg)</b>	29	6	2	12	2	39

n – število vzorcev; min – minimalna vrednost; max – maksimalna vrednost; SD – standardni odklon; KV – koeficient variabilnosti



#### 4.3.1 Instrumentalni parametri kakovosti

Pri instrumentalnih parametrih so v preglednici 12 podane povprečne vrednosti rezultatov meritev parametrov pH1, pH2, ter barvnih parametrov L\*, a\* in b\*.

**Preglednica 12: Vpliv dodatka antioksidantov v krmi prašičev na instrumentalno izmerjene parametre mesa (Duncanov test,  $\alpha=0,05$ )**

Parameter	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4	Značilnost
	Povprečna vrednost $\pm$ SD				
<b>pH1</b> <sup>1</sup>	6,2 $\pm$ 0,2	6,2 $\pm$ 0,3	6,4 $\pm$ 0,2	6,3 $\pm$ 0,2	nz
<b>pH2</b> <sup>2</sup>	5,6 $\pm$ 0,1	5,6 $\pm$ 0,1	5,7 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,1	nz
L*	50,6 $\pm$ 1,5ab	47,3 $\pm$ 2,8b	51,7 $\pm$ 4,1a	51,7 $\pm$ 4,5a	nz
<b>Barva</b> a*	10,8 $\pm$ 1,7	11,4 $\pm$ 3,3	12,5 $\pm$ 3,0	14,2 $\pm$ 2,3	nz
b*	5,7 $\pm$ 1,5a	3,3 $\pm$ 1,6b	6,3 $\pm$ 1,3a	5,8 $\pm$ 1,0a	***

<sup>1</sup> pH vrednost merjena eno uro *p.m.*; <sup>2</sup> pH vrednost merjena 24 ur *p.m.*; \*\*\* $p \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilen vpliv; nz -  $p > 0,05$  statistično neznačilen vpliv; a,b - srednje vrednosti označene z različno črko znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p < 0,05$ )

Iz preglednice 12 lahko povzamemo, da dodatek vitamina E in rastlinskih antioksidantov v krmi prašičev, ne vpliva na vrednosti pH1 in pH2, ter barvni parameter a\*. Pri mesu skupine, ki ji je bilo v krmo dodano 500 mg vitamina E smo izmerili značilno manjšo vrednost barvnega parametra b\* (manjša intenzivnost rumene barve) v primerjavi z drugimi tremi skupinami. Kljub vsemu pa barvni parameter b\* v tem primeru nima posebne vloge, saj nas je bolj zanimalo, kako dodatek antioksidantov v krmi vpliva na svetlost in rdečo barvo mesa, ki pa sta pojasnjeni z barvnima parametroma L\* in a\*. Statistično značilna razlika v svetlosti barve se je pokazala le med skupino 1 in 2. Meso skupine 1 je v povprečju svetlejšje barve kot meso skupine 2, iz česar lahko sklepamo, da dodatek višje koncentracije vitamina E v krmo prašičev lahko vpliva na barvo mesa.

#### 4.3.2 Kemijski parametri kakovosti

Med kemijsko določene parametre spadata koncentracija vitamina E in oksidativna obstojnost določena z metodo rancimata, kot je podano v preglednici 13. Ena od hipotez našega raziskovalnega dela je bila, da bi lahko povečan dodatek vitamina E v krmi prašičev vplival na oksidativno stabilnost slanine. Razvidno je, da dodatek 500 mg vitamina E v krmi značilno ( $p \leq 0,001$ ) vpliva na oksidativno sposobnost. Slanina iz druge poskusne skupine se je namreč v povprečju oksidirala po preteku 17,6 ur. Pri drugih poskusnih skupinah je bil ta čas bistveno krajši, še posebno v četrti skupini, kjer je oksidacija slanine potekla v povprečju že v času 4,6 ur.

Dodatek vitamina E v krmi prašičev ni zagotovilo, da se bo povečala tudi njegova koncentracija v mesu oziroma slanini. Absorpcija vitamina E je namreč pogojena z različnimi dejavniki in predvidevamo da variira med prašiči. Iz preglednice 13 je razvidno, da dodatek vitamina E v krmi ne vpliva na koncentracijo vitamina E v slanini, saj ni statistično značilnih razlik med skupinami.

**Preglednica 13: Vpliv dodatka antioksidantov v krmi prašičev na kemijsko določene parametre slanine (Duncanov test,  $\alpha=0,05$ )**

Parameter	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4	Značilnost
	Povprečna vrednost $\pm$ SD				
<b>Oksidativna obstojnost (h)</b>	11,4 $\pm$ 1,5b	17,6 $\pm$ 2,0a	10,4 $\pm$ 5,0b	4,6 $\pm$ 4,2c	***
<b>Vitamin E (mg/kg)</b>	7,0 $\pm$ 2,4	7,0 $\pm$ 2,8	6,6 $\pm$ 2,4	5,0 $\pm$ 1,7	nz

\*\*\* $p \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilen vpliv; nz –  $p > 0,05$  statistično neznačilen vpliv; a,b,c - srednje vrednosti označene z različno črko znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p < 0,05$ )

#### 4.4 PCA IN LDA ANALIZA

Dobljene rezultate smo najprej obdelali z analizo glavnih komponent (PCA), nato pa smo uporabili še linearno diskriminantno analizo (LDA). Pri obeh analizah smo uporabili sledeče parametre/spremenljivke: masa polovice, debelina mišice, debelina hrbtne slanine, masa trupa, mesnatost, klavnost, pH1, pH2, barvne parametre L\*, a\* in b\*, ter oksidativno stabilnost in koncentracijo vitamina E v slanini.

V preglednici 14 so predstavljeni korelacijski koeficienti med spremenljivkami, ki so bile uporabljene v analizi PCA.

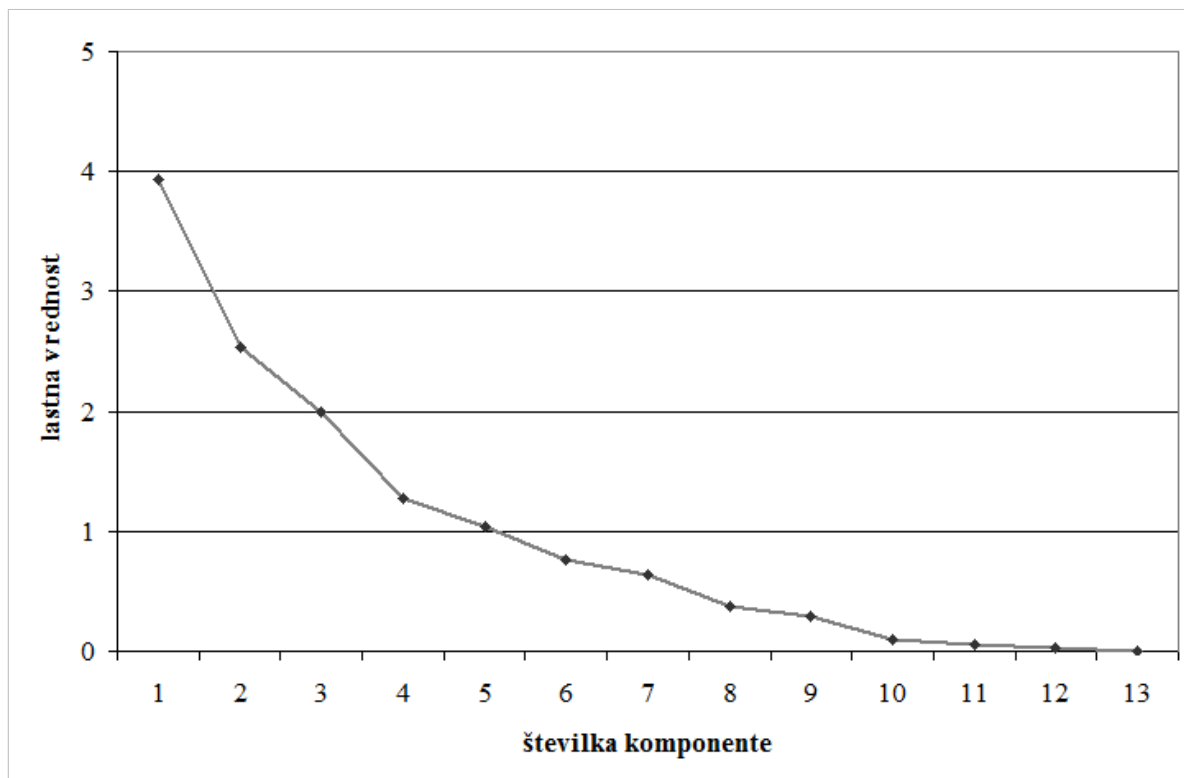
**Preglednica 14: Korelacijski koeficienti med spremenljivkami uporabljenimi v analizi glavnih komponent**

Parameter	DM	DS	MT	mesnatost	klavnost	pH1	pH2	L	a	b	OS	vitE
MP	0,07	0,41*	0,96**	-0,36	0,38*	0,49**	0,27	-0,11	-0,16	-0,05	0,02	0,15
DM	1,00	-0,19	0,07	0,38*	0,03	0,26	-0,11	-0,08	0,07	-0,07	-0,04	0,14
DS		1,00	0,37*	-0,98***	0,09	0,18	0,18	-0,12	-0,40*	0,17	0,14	-0,19
MT			1,00	-0,32	0,63***	0,50**	0,26	-0,14	-0,11	0,01	-0,04	0,17
mesnatost				1,00	-0,07	-0,11	-0,19	0,10	0,38*	-0,18	-0,14	0,22
klavnost					1,00	0,29	0,10	-0,18	0,05	0,16	-0,18	0,15
pH1						1,00	0,17	0,08	-0,01	0,15	-0,21	0,22
pH2							1,00	-0,52***	0,11	-0,13	0,11	-0,14
L								1,00	-0,03	0,50**	-0,51***	-0,06
a									1,00	-0,40*	-0,06	-0,10
b										1,00	-0,56***	-0,19
OS											1,00	0,43*

Legenda: MP – masa polovice; DM – debelina mišice; DS – debelina hrbtna slanina; MT – masa trupa; OS – oksidativna stabilnost; vitE – koncentracija vitamina E

\* statistično vpliv pri  $p < 0,05$ ; \*\* statistično visoko značilen vpliv pri  $p < 0,01$ ; \*\*\* statistično zelo visoko značilen vpliv pri  $p < 0,001$

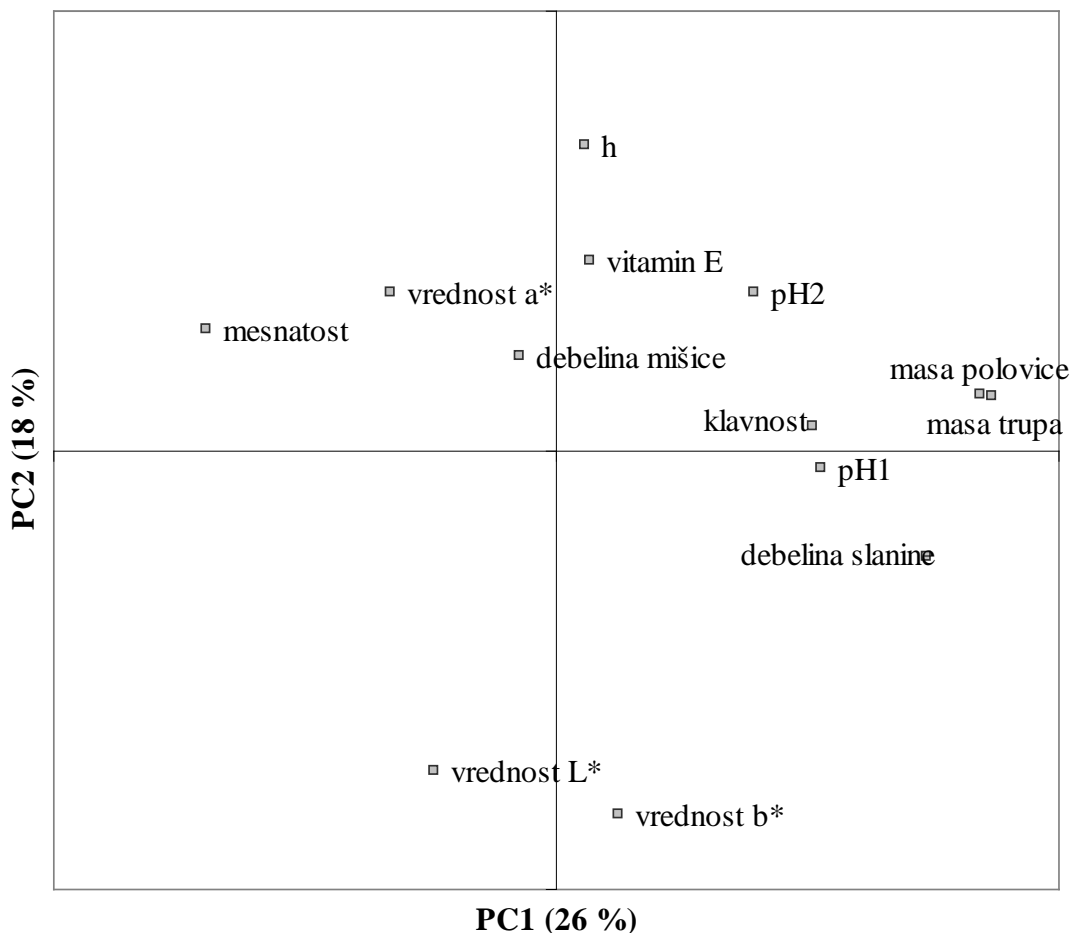
Prve štiri glavne komponente razložijo 71 % skupne variabilnosti (26 %, 18 %, 16 % in 11 %; slika 9). Vsaka glavna komponenta predstavlja neodvisen vzrok variabilnosti, torej so sosednje lastnosti v pozitivni korelaciji, lastnosti, ki so med seboj pravokotne (90 °) so neodvisne, in lastnosti, ki so si nasproti (180 °) so v negativni korelaciji. Vse glavne komponente so linearne kombinacije lastnosti, pri čemer lastnost, katere pravokotna projekcija na določeno glavno komponento je največja, predominantno opredeljuje to glavno komponento.



Slika 9: Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti

Številka komponente na abscisni osi na sliki 9 označuje parametre iz preglednice 14. Prva os je pojasnila 26 %, druga pa 18 % variabilnosti podatkov.

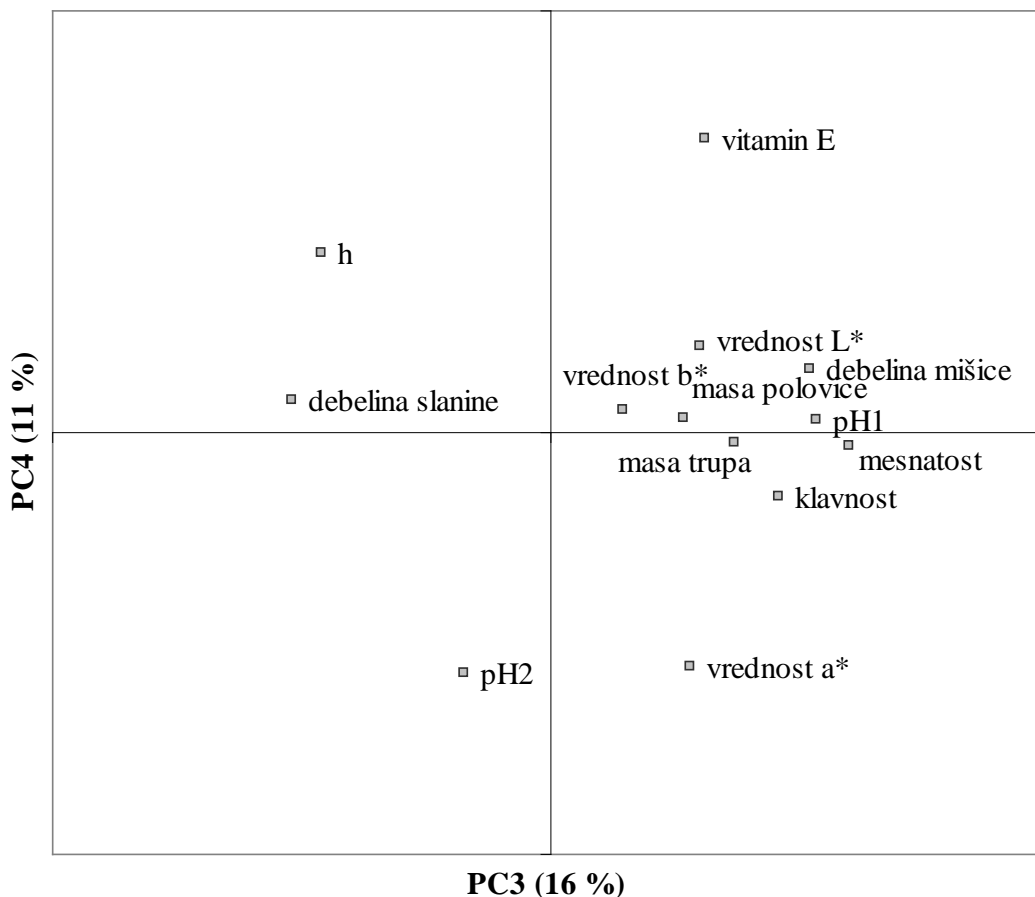
Rezultati PCA analize, predstavljeni na prvih dveh oseh, ki skupaj predstavljata 44 % variabilnosti vhodnih podatkov, so prikazani grafično na sliki 10. Jasno lahko razlikujemo skupino spremenljivk, katerih pravokotna projekcija na prvo glavno komponento je največja. Ta skupina vključuje mesnatost, maso polovic po zakolu in maso trupov ter debelino slanine. Spremenljivke, katerih pravokotna projekcija na drugo glavno komponento je največja, so oksidativna obstojnost in koncentracija vitamina E, na nasprotni strani druge glavne komponente pa barvna parametra  $b^*$  in  $L^*$ . Lastnosti, ki ležijo blizu druga drugi, so v visoki pozitivni korelaciji, kot sta to masa polovice po zakolu in masa trupa.



Legenda: h – oksidativna stabilnost

**Slika 10: Projekcija spremenljivk v ravnini, definirani s prvima dvema komponentama, ki predstavljata 44 % variabilnosti vhodnih podatkov**

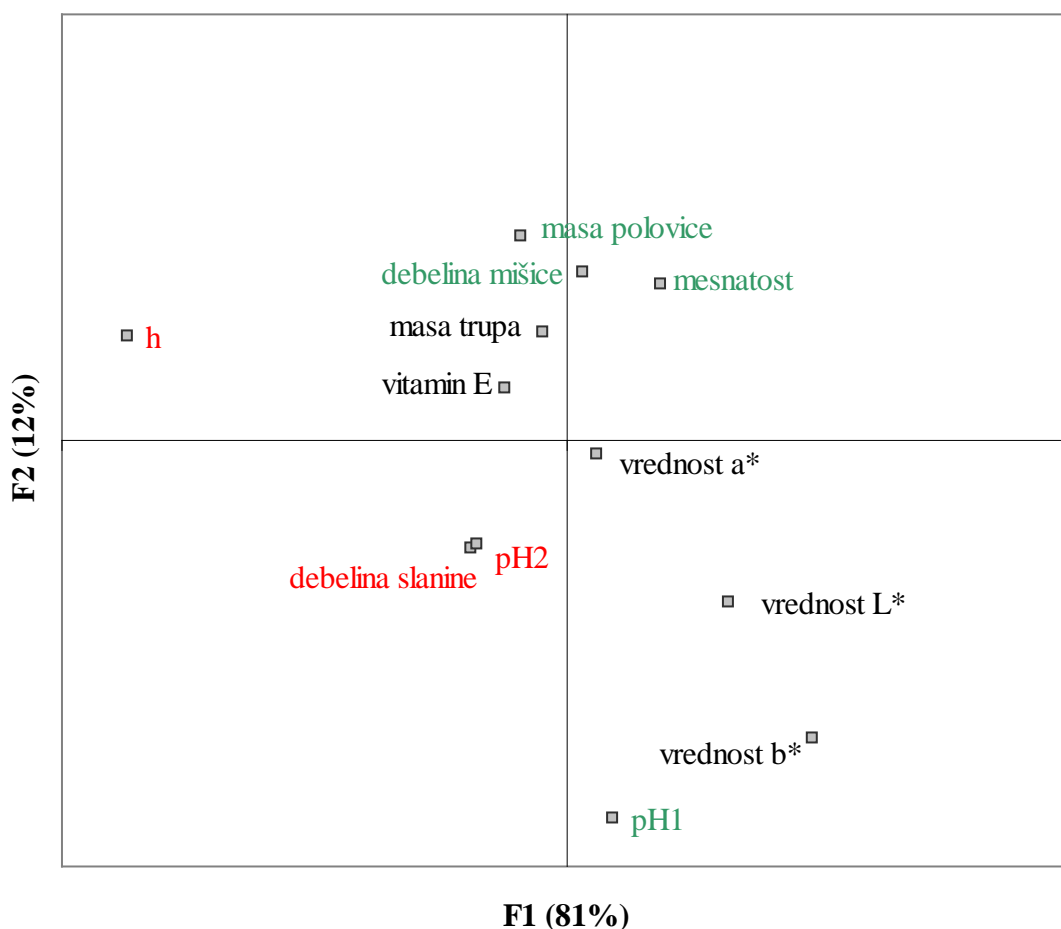
Slika 11 prikazuje projekcijo spremenljivk v ravnini, definirani s tretjo in četrto glavno komponento, ki skupno predstavljata 27 % variabilnosti vhodnih podatkov. Vrednost pH1 in debelina mišice GM vplivata na glavno komponento 3. Vrednost pH2 in a\* pomembno vplivata na komponento 4, ostali parametri pa ležijo blizu izhodišča in ne vplivajo pomembno na komponenti 3 in 4 (slika 12).



**Slika 11:** Projekcija spremenljivk v ravnini, definirani s tretjo in četrto glavno komponento, ki predstavljata 27 % variabilnosti vhodnih podatkov

Z analizo LDA smo določili tri najpomembnejše parametre: oksidativna obstojnost (h), debelina slanine in pH2. Ostali štirje parametri (pH1, masa polovice, debelina mišice in mesnatost) so poglavitni pri determiniranju druge ordinate, saj je njihova pravokotna projekcija na to ordinato največja. Barvni parametri b\*, L\*, a\*, masa trupa ob zakolu in vsebnost vitamina E pa so poglavitni pri determiniranju tretje ordinate. Klavnost ne prispeva veliko k porazdelitvi vzorcev v skupine.

Slika 12 prikazuje projekcijo spremenljivk k ravnini, kjer so zgoraj omenjene funkcije prikazane s tremi različnimi barvami. Funkcijo 1 predstavljajo parametri obarvani z rdečo pisavo, funkcijo 2 parametri obarvani z zeleno pisavo in funkcijo 3 parametri obarvani s črno pisavo.



Legenda: h – oksidativna obstojnost

**Slika 12: Projekcija spremenljivk v ravnini, definiranih z analizo LDA**

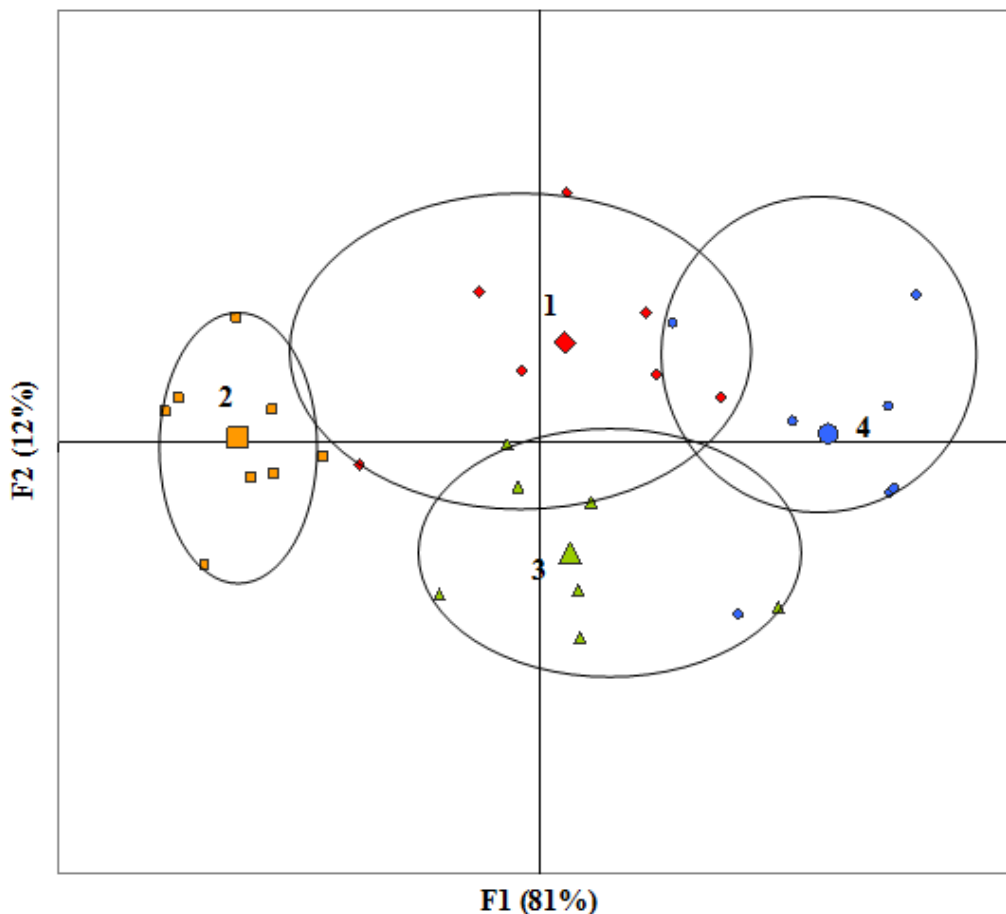
Tiste lastnosti na sliki 12, ki ležijo blizu druga drugi, so v visoki pozitivni korelaciji kot na primer debelina slanine in instrumentalno določena vrednost pH2. Tisti parametri, ki ležijo v bližini koordinatnega izhodišča, nimajo pomembnega vpliva na diskriminantni funkciji in na porazdelitev vzorcev v skupine. Tak parameter je na primer vrednost a\*.

Pri LDA analizi (29 vzorcev, 12 lastnosti) smo dobili tri diskriminantne funkcije:

- funkcija 1 pojasnjuje 81 %,
- funkcija 2 pojasnjuje 12 % in
- funkcija 3 pojasnjuje 7 % skupne variance.

Pridobljene podatke o klavnih lastnostih, instrumentalnih in kemijskih analizah slanine smo uporabili za razvrstitev vzorcev v skupine (slika 13). Rezultati analize LDA, predstavljeni s prvima dvema osem/funkcijama, ki skupaj pojasnita 93 % variabilnosti vhodnih podatkov, kar je bolje kot s tremi osmi pri analizi PCA. Iz slike je razvidno, da imamo štiri ločene skupine točk. To so eksperimentalne skupine prašičev. Skupina 1 (rdeči

karo) leži pretežno v zgornji polovici grafa. Parametri, ki so značilni za to skupino so masa trupa, debelina mišice, masa polovice in mesnatost. Levo od izhodišča leži skupina 2 (oranžni kvadrati), za katero je značilen parameter oksidativna sposobnost. Tretja skupina (zeleni trikotniki) leži na spodnji polovici grafa. Zanja so značilni parametri: barvna parametra L\* in a\*, pH2 in debelina slanine. Na desni strani od izhodišča leži še četrta skupina (modri krogi), za katero pa ni značilen noben parameter, ki je prikazan na sliki 12.



**Slika 13: Projekcija vzorcev v ravnini, definiranih s prvima dvema glavnima funkcijama (LDA), ki prikazuje štiri ločene skupine glede na različne dodatke in koncentracije antioksidantov v krmo**

Slika 13 prikazuje štiri ločene skupine, od katerih je pravilno (100 %) ločena le skupina 2. Zato nas je zanimala tudi klasifikacija, kar pomeni možnost uvrščanja v skupine. Rezultati so podani v preglednici 15. Vzorce iz druge poskusne skupine smo uvrstili povsem pravilno (100 %), medtem ko smo jih lahko v skupini 3 pravilno uvrstili 85,7 %, v prvi in četrti skupini pa smo jih uspeli pravilno uvrstiti le v 71,4 %. Skupno je bila pravilna razporeditev posameznih vzorcev v ustrezne skupine 82,1 odstotna. Od skupno 29 vzorcev je neporazdeljenih vzorcev ostalo pet.



**Preglednica 15: Razporeditev posameznih vzorcev v predvidene skupine (LDA)**

Skupina	Predvidena skupina				Pravilno uvrščeni vzorci (%)
	1	2	3	4	
1	5	1	0	1	71,4
2	0	8	0	0	100
3	1	0	6	0	85,7
4	1	0	1	5	71,4
Neporazdeljeni vzorci	2	0	1	2	

#### 4.5 KEMIJSKI, INSTRUMENTALNI IN SENZORIČNI PARAMETRI KAKOVOSTI BARJENIH KLOBAS

Podatke, ki smo jih pridobili z meritvami in analizami barjenih klobas ne moremo med skupinami statistično primerjati, ker ni bilo dovolj ponovitev. Za vsako eksperimentalno skupino je bila izdelana zgolj ena šarža klobas, zaradi česar smo dobili le po en vzorec v vsaki skupini. Vse nadaljnje meritve in analize smo izvajali v paralelkah, vendar rezultati predstavljajo samo dodatno informacijo k raziskavi brez statistično podprtih trditev.

##### 4.5.1 Vsebnost holesterola

V preglednici 16 so podane vrednosti holesterola v barjenih klobasah posamezne skupine. Rezultati so podani kot povprečne vrednosti v mg/100 g barjene klobase.

**Preglednica 16: Rezultati vsebnosti holesterola v barjenih klobasah**

	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4
	Povprečna vrednost ± SD			
<b>Holesterol (mg/100 g mesa)</b>	33,3 ± 21,0	29,3 ± 18,2	27,1 ± 9,6	35,6 ± 19,1

Največja koncentracija holesterola je bila v povprečju v barjenih klobas skupine 4, in sicer 35,6 mg/100 g klobase. Najmanjša koncentracija pa je bila v povprečju pri klobasah iz tretje skupine, to je 27,1 mg/100 g klobase. V klobasah skupine 1 je bilo v povprečju 33,3 mg holesterola/ 100 g klobase, v klobasah skupine 2 pa 29,3 mg/100 g klobase.

Podatki za vsebnost holesterola so nekoliko nizki v primerjavi s podatki programa Prodi (67 mg/100 g) (Kluthe, 2004), vendar vseeno nekoliko višji kot v primerjavi s hrenovkami iz mesa klavnih živali (18,2 mg/100 g) (Golob in sod., 2006).

#### 4.5.2 Instrumentalni parametri barve

V preglednici 17 so zbrani podatki instrumentalnih meritev barvnih parametrov  $L^*$ ,  $a^*$  in  $b^*$  barjenih klobas pri različnih pogojih: barva sveže rezine; barva rezine po eni uri v hladilniku; barva rezine po dveh urah v hladilniku in barva rezine po dveh urah na sobni temperaturi. Vsem vzorcem smo na površini rezine opravili po osem meritev barve s kromometrom Minolta v sistemu CIE  $L^*a^*b^*$ .

V povprečju je bila vrednost  $L^*$  najnižja pri sveži rezini (73,6) in rezini eno uro hranjeni v hladilniku (73,7). Najbolj svetla je bila v povprečju rezina, ki je bila dve uri na sobni temperaturi ( $L^*$  74,7). Največ rdeče barve je imela v povprečju rezina, ki je bila eno uro hranjena v hladilniku (vrednost  $a^*$  5,7), najmanj pa rezina, ki je bila dve uri na sobni temperaturi (vrednost  $a^*$  3,2).

**Preglednica 17: Rezultati meritev barve barjenih klobas pod različnimi pogoji z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri**

	Barvni parametri	n	povprečje	min	max	SD	KV (%)
<b>Sveža rezina</b>	$L^*$	4	73,6	72,2	74,9	0,77	1,1
	$a^*$	4	5,0	4,3	5,8	0,41	8,1
	$b^*$	4	15,5	14,9	16,3	0,31	2,0
<b>1 h v hladilniku</b>	$L^*$	4	73,7	71,9	75,1	0,79	1,1
	$a^*$	4	5,7	5,0	6,1	0,29	5,0
	$b^*$	4	14,5	13,9	15,1	0,26	1,8
<b>2 h v hladilniku</b>	$L^*$	4	74,1	73,2	75,3	0,42	0,57
	$a^*$	4	4,8	4,1	5,3	0,30	6,35
	$b^*$	4	15,5	15,2	15,9	0,18	1,16
<b>2 h na sobni temperaturi</b>	$L^*$	4	74,7	73,4	75,6	0,58	0,8
	$a^*$	4	3,2	2,2	3,9	0,33	10,3
	$b^*$	4	16,6	16,2	17,0	0,21	1,3

n – število vzorcev; min – minimalna vrednost; max – maksimalna vrednost; SD – standardni odklon; KV – koeficient variabilnosti

**Preglednica 18: Rezultati meritev barve barjenih klobas pod različnimi pogoji glede na različne dodatke antioksidantov v krmo**

	Barvni parametri	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4
		Povprečna vrednost $\pm$ SD			
<b>Sveža rezina</b>	L*	74,3 $\pm$ 0,5	73,1 $\pm$ 0,6	73,3 $\pm$ 0,5	74,1 $\pm$ 0,6
	a*	4,6 $\pm$ 0,3	5,4 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,3	5,0 $\pm$ 0,3
	b*	15,4 $\pm$ 0,5	15,6 $\pm$ 0,2	15,4 $\pm$ 0,2	15,5 $\pm$ 0,3
<b>1 h v hladilniku</b>	L*	73,8 $\pm$ 1,0	73,4 $\pm$ 0,9	74,3 $\pm$ 0,5	73,5 $\pm$ 0,6
	a*	5,6 $\pm$ 0,4	5,8 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,3
	b*	14,4 $\pm$ 0,3	14,6 $\pm$ 0,3	14,7 $\pm$ 0,1	14,5 $\pm$ 0,2
<b>2 h v hladilniku</b>	L*	74,3 $\pm$ 0,5	74,0 $\pm$ 0,4	74,1 $\pm$ 0,4	74,1 $\pm$ 0,5
	a*	4,6 $\pm$ 0,3	5,0 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,2
	b*	15,5 $\pm$ 0,2	15,5 $\pm$ 0,2	15,6 $\pm$ 0,1	15,5 $\pm$ 0,2
<b>2 h na sobni temperaturi</b>	L*	74,9 $\pm$ 0,6	74,4 $\pm$ 0,7	74,9 $\pm$ 0,3	74,6 $\pm$ 0,7
	a*	2,9 $\pm$ 0,3	3,2 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,2	3,3 $\pm$ 0,4
	b*	16,6 $\pm$ 0,3	16,6 $\pm$ 0,2	16,7 $\pm$ 0,2	16,6 $\pm$ 0,2

Glavna barvna parametra, ki sta pomembna pri določanju barve mesa in mesnih izdelkov sta L\* in a\*. Prvi nam pove kako svetle oziroma temne barve je meso ali izdelek, drugi pa kakšen je odtenek rdeče barve. V povprečju se nobena od izmerjenih komponent barve rezin ni pomembno razlikovala med eksperimentalnimi skupinami, ki so predstavljene v preglednici 18.

Kaže pa se trend nekoliko manj rdeče barve (nižja vrednost a\*) sveže rezine oz. slabše stabilnosti rdeče barve po dveh urah na sobni temperaturi pri standardni skupini 1 iz živali krmljenih z manjšo količino dodanega vitamina E.

#### 4.5.3 Rezultati senzorične analize

V preglednici 19 so zbrani rezultati senzoričnega ocenjevanja parametrov kakovosti barjenih klobas, ki so bile hranjene pod različnimi pogoji. V rezultatih so povzete ocene barve sveže rezine, rezine, ki je bila 2 uri v hladilniku in rezine, ki je bila 2 uri na sobni temperaturi. Na sveži rezini je bila ocenjena tudi prisotnost tujih vonjev in arom.

Najbolj variabilna je bila ocena prisotnosti tujih arom in vonjev (KV je 21,9 in 27,9 %). Tuje arome so bile v povprečju minimalno zaznane, nekoliko bolj so bili v povprečju zaznani tuji vonji. Najbolj značilna je bila v povprečju barva sveže rezine (5,7), najmanj pa barva rezine, ki je bila dve uri na sobni temperaturi (3,1). Barva sveže rezine je bila najbližje optimalni (3,5). Enakomernost barve se ni pretirano razlikovala med rezinami klobase (preglednica 19).

**Preglednica 19: Rezultati ocenjevanja senzoričnih parametrov kakovosti barjenih klobas pod različnimi pogoji z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri**

		<b>povprečje</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>Barva sveže rezine</b>	Značilnost	5,7	5,0	6,5	0,5	8,4
	Intenzivnost	3,5	3,0	4,0	0,4	11,1
	Enakomernost	5,6	5,0	6,5	0,6	10,4
<b>Barva po 2 h hranjenja v hladilniku</b>	Značilnost	5,4	4,5	6,0	0,4	8,0
	Intenzivnost	3,3	2,5	4,0	0,4	12,2
	Enakomernost	5,3	4,0	6,5	0,6	10,8
<b>Barva po 2 h na sobni temperaturi</b>	Značilnost	3,1	2,5	3,5	0,4	12,1
	Intenzivnost	2,4	2,0	2,5	0,2	7,0
	Enakomernost	5,4	4,5	6,5	0,5	9,9
<b>Arome in vonji</b>	Tuji vonji	1,9	1,5	2,5	0,4	21,9
	Tuje arome	1,5	1,0	2,5	0,4	27,9

min – minimalna vrednost; max – maksimalna vrednost; SD – standardni odklon; KV – koeficient variabilnosti

V preglednici 20 so zbrani rezultati ocen senzoričnih parametrov glede na poskusno skupino.

Barva sveže rezine: najbolj značilna je barva tretje skupine (6,3), najmanj pa barva prve skupine (5,4). Optimalna intenzivnost barve (4,0) je bila ocenjena pri tretji skupini, pri skupini 1 (standard) pa le z 3,1 točke. Tudi enakomernost barve je bila najbolj ocenjena pri tretji skupini.

Barva po 2 urah v hladilniku: značilnost in intenzivnost barve se v povprečju med skupinami niso veliko razlikovale. Najbolj enakomerna barva je bila ponovno pri skupini 3 (5,6), in najmanj pri skupini 2 (4,6).

Barva po 2 urah na sobni temperaturi: najbolj značilna barva je bila pri skupini 1 (3,4), najmanj pa pri skupini 4 (2,9). Intenzivnost barve je bila pri vseh skupinah izenačena in nekoliko pod optimalno. Enakomernost barve je bila najboljša pri prvi in četrti skupini (5,8) in najslabša pri skupini 2 (4,8).

Tuje arome in vonji: tuje arome in vonji so bili najbolj zaznani pri skupini 1, najmanj pa pri skupini 2.

**Preglednica 20: Senzorične lastnosti štirih skupin barjenih klobas pod različnimi pogoji glede na različne dodatke antioksidantov v krmo**

		<b>Skupina 1</b>	<b>Skupina 2</b>	<b>Skupina 3</b>	<b>Skupina 4</b>
		Povprečna vrednost $\pm$ SD			
<b>Barva sveže rezine</b>	Značilnost (1-7)	5,4 $\pm$ 0,4	5,5 $\pm$ 0,4	6,3 $\pm$ 0,3	5,6 $\pm$ 0,5
	Intenzivnost (1-4-7)	3,1 $\pm$ 0,3	3,4 $\pm$ 0,3	4,0 $\pm$ 0,0	3,4 $\pm$ 0,3
	Enakomernost (1-7)	5,4 $\pm$ 0,5	5,3 $\pm$ 0,5	6,1 $\pm$ 0,3	5,6 $\pm$ 0,8
<b>Barva po 2 h hranjenja v hladilniku</b>	Značilnost (1-7)	5,3 $\pm$ 0,3	5,6 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,3	5,3 $\pm$ 0,6
	Intenzivnost (1-4-7)	3,3 $\pm$ 0,3	3,3 $\pm$ 0,6	3,5 $\pm$ 0,4	3,3 $\pm$ 0,3
	Enakomernost (1-7)	5,5 $\pm$ 0,0	4,6 $\pm$ 0,5	5,6 $\pm$ 0,3	5,5 $\pm$ 0,7
<b>Barva po 2 h na sobni temperaturi</b>	Značilnost (1-7)	3,4 $\pm$ 0,3	3,0 $\pm$ 0,4	3,1 $\pm$ 0,3	2,9 $\pm$ 0,5
	Intenzivnost (1-4-7)	2,5 $\pm$ 0,0	2,4 $\pm$ 0,3	2,4 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,0
	Enakomernost (1-7)	5,8 $\pm$ 0,5	4,8 $\pm$ 0,3	5,3 $\pm$ 0,3	5,8 $\pm$ 0,3
<b>Arome in vonji</b>	Tuji vonji (1-7)	2,5 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,0	1,6 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,0
	Tuje arome (1-7)	2,1 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,0

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

Namen magistrskega dela je bil ugotoviti, kako vpliva dodatek antioksidantov v krmi na dnevne priraste prašičev, klavne lastnosti, barvo mesa in oksidacijsko obstojnost maščob. Ugotoviti smo želeli tudi kako dodatek antioksidantov v krmi vpliva na koncentracijo holesterola, barvo in senzorične lastnosti mesnega izdelka – v našem primeru barjene klobase Lyoner.

Postavili smo štiri osnovne hipoteze: (i) da dodatek vitamina E in rastlinskih antioksidantov v krmi vpliva na dnevne priraste prašičev, (ii) da dodatek antioksidantov v krmi vpliva na klavne lastnosti, (iii) da dodatek antioksidantov v krmi vpliva na barvo mesa, (iv) da dodatek antioksidantov v krmi vpliva na oksidacijsko obstojnost maščob (slanine). Četrto (iv) hipotezo smo potrdili v celoti, tretjo (iii) smo delno potrdili, prve in druge (i in ii) pa nismo potrdili.

Kot je bilo predhodno omenjeno, dodatek antioksidantov v krmi ni vplival na dnevne priraste prašičev. Telesna masa le-teh je tekom reje variirala med skupinami in znotraj skupin. Ravno tako dodatek antioksidantov v krmi ni statistično značilno vplival na klavne lastnosti prašičev, kot so debelina mišice, debelina hrbtne slanine, teža trupov, mesnatost, klavnost, pH1 in pH2. To je razumljivo glede na to, da nismo potrdili že prve hipoteze. Dobljeni rezultati sovpadajo z rezultati študije, ki jo je opravil Boler in sod. (2009).

V drugem odstavku je bilo omenjeno, da smo tretjo hipotezo delno potrdili. Dodatek antioksidantov v krmi je značilno vplival le na določene barvne parametre, ne pa na vse tri. Statistično zelo visoko značilen vpliv dodatka antioksidantov v krmi se je pokazal pri barvnem parametru  $b^*$ , kar pa pri barvi mesa ne igra tako pomembne vloge kot barvna parametra  $L^*$  in  $a^*$ . Barvni parameter  $b^*$  opisuje barvni razpon med modro in rumeno barvo. Meso poskusne skupine 2 je imelo vrednost  $b^*$  3,3, ostale tri skupine so imele vrednosti višje od 5,7, kar pomeni da so bile bolj rumeno obarvane kot meso druge skupine. Pri barvnem parametru  $L^*$  se je pokazala statistično značilna razlika med drugo in tretjo skupino, ter drugo in četrto skupino. Pri barvnem parametru  $a^*$  statistično značilne razlike ni bilo.

Našo glavno, četrto, hipotezo smo v celoti potrdili. Dodatek antioksidantov v krmi namreč statistično zelo visoko značilno vpliva na oksidacijsko obstojnost slanine. Izkazalo se je, da dodatek 500 mg vitamina E v kg krme bistveno bolj vpliva na oksidacijsko obstojnost hrbtne slanine v primerjavi z drugimi tremi skupinami, saj je prišlo do oksidacije slanine pri drugi skupini po 17,6 ure, pri skupini 1 je oksidacija nastopila že po 11,4 ure, pri tretji skupini po 10,4 ure, pri četrti skupini pa že po 4,6 ure. Statistično značilne razlike so bile med vsemi skupinami, razen med prvo in tretjo skupino. Rezultati so skladni s študijami, ki

so jih opravili Phillips in sod. (2001), Guo in sod. (2005), Lahučký in sod. (2005), Boler in sod. (2009). V vseh omenjenih študijah so ugotovili, da dodatek višje koncentracije vitamina E v krmo vpliva na povečanje oksidacijske obstojnosti mesa in slanine prašičev.

Poleg oksidacijske obstojnosti smo opravili tudi kemijsko analizo vsebnosti vitamina E v hrbtni slanini. Kljub temu, da statistično značilnih razlik ni bilo, pa sta prva in druga skupina v povprečju vsebovali višjo koncentracijo vitamina E. Statistična neznačilnost je lahko posledica samega postopka določanja koncentracije vitamina E, saj so končni rezultati podani v nekaj mg/kg, zaradi česar se manjša napaka pri postopku odraža v večji variabilnosti končnih podatkov. Do enakega zaključka je prišel tudi Boselli in sod. (2008). Ugotovili so, da se razlike med skupinami pojavijo, vendar pa le-te niso statistično značilne, zaradi velikih variabilnosti znotraj skupin. Rezultati raziskave, ki jo je opravil Boler in sod. (2009), pa so pokazali, da se dodatek višje koncentracije vitamina E v krmi odraža s povečano koncentracijo vitamina E v slanini in mesu.

Z uporabo metode PCA smo lahko s tremi osmi razložili 60 % variabilnosti podatkov. Bolje smo variabilnost podatkov razložili z LDA analizo, saj je le-ta z dvema osema pojasnila kar 93 % variabilnosti. Podatki, ki so oblikovali prvo os pri analizi LDA so bili oksidacijska obstojnost, pH2 in debelina slanine, drugo os pa so oblikovali podatki pH1, debelina mišice, masa polovice in mesnatost. Od vseh štirih skupin je bila pravilno ločena le druga skupina, za katero je bil najbolj značilen parameter oksidacijske obstojnosti, kar je skladno z ugotovitvami iz prejšnjega odstavka.

Predhodno je bilo že omenjeno, da trditev vezanih na rezultate barjenih klobas nismo mogli statistično ovrednotiti. Opazili smo, da se pojavljajo določene razlike med skupinami. Pri določanju koncentracije holesterola smo ugotovili, da imajo klobase skupine 2 manj holesterola v primerjavi s skupino 1, ki je s krmo prejemale polovico manjšo koncentracijo vitamina E. Souza in Silva (2006) sta ugotovila, da višje koncentracije vitamina E dodanega v krmi vplivajo na znižanje koncentracije holesterola v šunki. Šunka prašičev, ki so jim dodajali 400 mg vitamina E/kg krme, je imela do 30 % nižjo koncentracijo holesterola v primerjavi s šunko prašičev, ki so dobivali le 11 mg vitamina E/kg krme. Nadaljnje so ugotovili, da je dodatek višje koncentracije vitamina E vplival na manjše tvorjenje holesterol oksidov med skladiščenjem.

Barva rezin barjenih klobas se med skupinami ni pomembno razlikovala, kar so ugotovili tudi Harms in sod. (2003). To je lahko posledica tehnološkega postopka izdelave klobas ter dodatka različnih začimb, ki lahko vpliva na obstojnost vitamina E, zaradi česar razlike med skupinami niso zaznane.

Pri analizi senzoričnih lastnosti je bila barva rezin najboljše ocenjena pri skupini 3, pri skupini 2 pa je bilo zaznanih najmanj tujih vonjev in arom. V tem delu raziskave se odpirajo nova področja za raziskavo, in sicer kako vpliva dodatek vitamina E v krmi prašičev na klobase (vsebnost holesterola, tvorba holesterol oksidov, sprememba barve,

vpliv na senzorične lastnosti), ki so skladiščene pod različnimi pogoji in kakšen vpliv ima dodatek višje koncentracije vitamina E na rok trajanja klobase.

## 5.2 SKLEPI

Na podlagi pridobljenih rezultatov opravljenih analiz in meritev lahko oblikujemo sledeče sklepe:

- Višja koncentracija dodanega vitamina E v krmi prašičev vpliva na povečano oksidacijsko obstojnost slanine, kar je pomembna ugotovitev za obstojnost svežega mesa bodisi za presno uporabo kot tudi za kakovost vhodne surovine za predelavo.
- Dodatek različnih koncentracij vitamina E v krmi vpliva na svetlost barve (barvni parameter  $L^*$ ) in intenzivnost rumene barve (barvni parameter  $b^*$ ) mesa, ne vpliva pa na intenzivnost rdeče barve.
- Pri statistični analizi podatkov z multivariatnima analizama smo ugotovili, da model LDA bolje predstavi variabilnost naših podatkov kot model PCA.
- Različne koncentracije in oblike dodatka antioksidantov različno vplivajo na senzorične lastnosti barjenih klobas.
- Za podrobnejše razumevanje vpliva dodatka vitamina E v krmi prašičev na instrumentalne, kemijske in senzorične lastnosti barjenih in trajnih mesnih izdelkov, pa tudi za obstojnost mesa v zamrzovalniku, so potrebne nadaljnje in bolj podrobne raziskave.



## 6 POVZETEK

Meso in mesni izdelki spadajo med živila, ki predstavljajo del vsakodnevne prehrane pri ljudeh. Kot pri ostalih živilih, si potrošniki, predvsem pa trgovci, tudi pri mesu in mesnih izdelkih želijo čim daljšo obstojnost, istočasno pa čim manj dodanih nenaravnih konzervansov. Zato je dodatek vitamina E v krmi prašičev dobra rešitev za podaljšanje obstojnosti mesa. Poleg obstojnosti mesa, pa je za potrošnika pomemben tudi vpliv živila na zdravje. Prisotnost visokih koncentracij holesterola in pomanjkanje antioksidantov v tkivu prašičev lahko vodi do povečane tvorbe holesterol oksidov, ki so škodljivi za zdravje.

V magistrski nalogi smo proučevali kakšen je vpliv dodatka različnih koncentracij in oblik antioksidantov v krmi prašičev na klavne lastnosti prašičev, koncentracijo vitamina E v slanini, oksidacijsko obstojnost slanine. Poleg tega smo želeli ugotoviti tudi vpliv dodatka antioksidantov v krmi na kemijske in senzorične lastnosti barjenih klobas Lyoner, ki smo jih izdelali na inštitutu Fraunhofer IVV v Nemčiji. Del analiz in meritev smo opravili v laboratoriju Razvojnega centra za prehrano Emona, del pa na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil na Oddelku za živilstvo, Biotehniške fakultete.

V poskus so bile vključene 4 skupine prašičev – prvi dve sta prejemale 250 oziroma 500 mg vitamina E/kg krme, drugi dve pa vsaka različen komercialni dodatek z vsebnostjo antioksidantov za prašiče podjetja Delacon.

Fizikalno-kemijske lastnosti, kamor spadajo debelina križne mišice *Gluteus medius*, debelina hrbtna slanina, teža trupov, mesnatost so bile določene takoj po zakolu, pH eno uro (pH1) in 24 ur (pH2) po zakolu ter določitev barvnih parametrov ( $L^*a^*b^*$ ) 24 ur po zakolu.

Opravili smo dve kemijski analizi hrbtna slanina, in sicer določanje oksidacijske obstojnosti z metodo rancimata in določanje koncentracije vitamina E. Iz mesa in slanina prašičev posameznih skupin smo izdelali barjene klobase tipa Lyoner. Barjenim klobasam smo nato kemijsko določili vsebnost holesterola, instrumentalno izmerili barvne parametre ( $L^*a^*b^*$ ) in opravili senzorično ocenjevanje barve (pri različnih pogojih) ter prisotnosti tujih vonjev in arom.

Dobljeni rezultati so pokazali, da dodatek višjih koncentracij vitamina E v krmi vpliva na povečano oksidacijsko obstojnost slanina in barvne parametre  $L^*$  in  $b^*$  (meso prašičev, ki so prejemale višjo koncentracijo vitamina E v krmi, je bilo temnejše in manj rumeno obarvano). S tem smo tudi potrdili glavno hipotezo našega dela. Ravno tako smo opazili razlike med skupinami, ki so prejemale komercialne dodatke antioksidantov. Komercialni dodatki so slabše vplivali na merjene parametre v primerjavi s skupinama, ki sta prejemale vitamin E. Pri analizah barjenih klobas trditvev nismo mogli statistično podpreti, smo pa

opazili, da so se med skupinami pojavile razlike pri vsebnosti holesterola, barvnem parametru  $a^*$  in senzoričnih lastnostih, kar je lahko dobro izhodišče za nadaljnje raziskave vpliva dodatka vitamina E v krmi na mesne izdelke.

## 7 VIRI

- Abdi H., Williams L. J. 2010. Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2, 4: 433-459
- Adams M. J. 1998. The principles of multivariate data analysis. V: *Analytical methods of food authentication*. Ashurst P. R., Dennis M. J. (eds.). London, Blackie Academic & Professional: 308-336
- Aggarwal B. B., Sundaram C., Prasad S., Kannappan R. 2010. Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: Its potential against cancer and other chronic diseases. *Biochemical Pharmacology*, 80, 11: 1613-1631
- Allen K. E., Cornforth D. P. 2006. Myoglobin oxidation in a model system as affected by nonheme iron and iron chelating agents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 26: 10134-10140
- Arnold D. R., Kwiterovich Jr. P. O. 2003. Cholesterol: absorption, function and metabolism. V: *Encyclopedia of food science and nutrition*. 2<sup>nd</sup> ed. Caballero B., Trugo L., Finglas P. M. (eds.). Oxford, Academic Press: 1226-1237
- Azadmard-Damirchi S., Dutta P. C. 2009. A single step solid-phase extraction method for complete separation of sterol oxidation products in food lipids. *Journal of Chromatography A*, 1216, 1: 36-42
- Ball G. F. M. 2006. *Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability*. Boca Raton, CRC Press: 785 str.
- Bastič M. 2006. *Metode raziskovanja*. Maribor, Ekonomsko-poslovna fakulteta Maribor: 51 str.  
<http://shrani.si/f/2J/WJ/1HkYy8qF/file.pdf> (december 2012)
- Biesalski H. K., Grimm P. 2005. *Pocket atlas of nutrition*. New York, Thieme: 381 str.
- Boler D. D., Gabriel S. R., Yang H., Balsbaugh R., Mahan D. C., Brewer M. S., McKeith F. K., Killefer J. 2009. Effect of different dietary levels of natural-source vitamin E in grow-finish pigs on pork quality and shelf life. *Meat Science*, 83, 4: 723-730
- Boselli E., Velazco V., Fiorenza-Caboni M., Lercker G. 2001. Pressurized liquid extraction of lipids for the determination of oxysterols in egg-containing food. *Journal of Chromatography A*, 917, 1-2: 239-244

- Boselli E., Pacetti D., Lucci P., Di Lecce G., Frega N. G. 2008a. Supplementation with high-oleic sunflower oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate: effects on pork meat lipids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 5: 381-391
- Boselli E., Pacetti D., Curzi F., Frega N. G. 2008b. Determination of phospholipid molecular species in pork meat by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry and evaporative light scattering detection. *Meat Science*, 78, 3: 305-313
- Boselli E., Rodriguez-Estrada M. T., Fedrizzi G., Fiorenza-Caboni M. 2009. Cholesterol photosensitized oxidation of beef meat under standard and modified atmosphere at retail conditions. *Meat Science*, 81, 1: 224-229
- Bou R., Grimpa S., Baucells M. D., Codony R., Guardiola F. 2006. Dose and duration effect of  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation on chicken meat fatty acid composition, tocopherol content, and oxidative status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 14: 5020-5026
- Buckley D. J., Morrissey P. A., Gray J. I. 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*, 73, 10: 3122 – 3130
- Cardenia V., Rodriguez-Estrada M. T., Boselli E., Lercker G. 2013. Cholesterol photosensitized oxidation in food and biological systems. *Biochimie*, 95, 3: 473-481
- Cardenia V., Rodriguez-Estrada M. T., Cumella F., Sardi L., Della Casa G., Lercker G. 2011. Oxidative stability of pork meat lipids as related to high-oleic sunflower oil and vitamin E diet supplementation and storage conditions. *Meat Science*, 88, 2: 271-279
- Chow C. K. 2001. Vitamin E. V: Handbook of vitamins. 3<sup>rd</sup> ed. Rucker R. B., Suttie J. W., McCormick D. B., Machlin L. J. (eds.). New York, Marcel Dekker Inc.: 165-198
- Close G. L., McArdle F. 2007. Antioxidants and free radicals. V: Nutrition and sport. MacLaren D. (ed). Philadelphia, Churchill Livingstone: 153-175
- Cornforth D. P., Jayasingh P. 2004. Colour and pigment. V: Encyclopedia of meat sciences. Vol. 1. Jensen W. K., Devine C., Dikeman M. (eds.). Oxford, Academic Press: 249-256

- Derewiaka D., Obiedziński M. 2010. Cholesterol oxides content in selected animal products determined by GC-MS. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 10: 1130-1137
- Eitenmiller R., Lee J. 2004. *Vitamin E: food chemistry, composition and analysis*. New York, Marcel Dekker Inc.: 505 str.
- Erickson M. C. 2008. Lipid oxidation of muscle foods. V: *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. 3<sup>rd</sup> ed. Akoh C. C., Min D. B. (eds.). Boca Raton, CRC Press: 321-364
- Faustman C., Sun Q., Mancini R., Suman S. P. 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86, 1: 86-94
- Ferioli F., Fiorenza-Caboni M., Dutta P. C. 2008. Evaluation of cholesterol and lipid oxidation in raw and cooked minced beef stored under oxygen-enriched atmosphere. *Meat Science*, 80, 3: 681-685
- Gašperlin L. 2000. Oksidacija pigmenta in barva mesa. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 139-150
- Golob T., Stibilj V., Žlender B., Doberšek U., Jamnik M., Polak T., Salobir J., Čandek-Potokar M. 2006. *Slovenske prehranske tabele – meso in mesni izdelki*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 104-105
- Guo Q., Richert B. T., Burgess J. R., Webel D. M., Orr D. E., Blair M., Fitzner G. E., Hall D. D., Grant A. L., Gerrard D. E. 2006. Effects of dietary vitamin E and fat supplementation on pork quality. *Journal of Animal Science*, 84, 11: 3089-3099
- Haak L., Raes K., De Smet S. 2009. Effect of plant phenolics, tocopherol and ascorbic acid on oxidative stability of pork patties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 8: 1360-1365
- Harms C., Fuhrmann H., Nowak B., Wenzel S., Sallmann H. P. 2003. Effect of dietary vitamin E supplementation on the shelf life of cured pork sausage. *Meat Science*, 63, 1: 101-105
- Hunt M. C., Kropf D. H. 1987. Color and appearance. V: *Advances in meat research*. Vol. 3. Pearson A. M., Dutson T. R. (eds.). New York, Van Nostrand Reinhold Company: 125-156

- Hur S. J., Park G. B., Joo S. T. 2007. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. *Food Control*, 18, 8: 939-947
- Jain S., Sharma M. P. 2011. Thermal stability of biodiesel and its blends: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15, 1: 438-448
- Jensen C., Lauridsen C., Bertelsen G. 1998. Dietary vitamin E: Quality and storage stability of pork and poultry. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 2: 62-72
- Kastelec D., Košmelj K. 2008. Diskriminantna analiza in klasifikacija: osnove in primer. *Acta agriculturae Slovenica*, 91, 1: 167-190
- Kluthe B. 2004. Prodi 5.0 Euro Software für Ernährungs- und Diätberatung: Funktionsbeschreibung. Hausach, Nutri-Science: 35 str. + 1 CD ROM
- Lahučký R., Bahelka I., Novotná K., Vašíčková K. 2005. Effects of dietary vitamin E and vitamin C supplementation on the level of  $\alpha$ -tocopherol and L-ascorbic acid in muscle and on the antioxidative status and meat quality of pigs. *Czech Journal of Animal Science*, 50, 4: 175-184
- Lee H. W., Chien J. T., Chen B. H. 2008. Inhibition of cholesterol oxidation in marinated foods as affected by antioxidants during heating. *Food Chemistry*, 108, 1: 234-244
- Linseisen J., Wolfram G. 1998. Origin, metabolism, and adverse health effects of cholesterol oxidation products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 100, 6: 211-219
- Mancini R. A., Hunt M. C. 2005. Current research in meat color. *Meat Science*, 71, 1: 100-121
- Onibi G. E., Scaife J. R., Murray I., Fowler V. R. 2000. Supplementary  $\alpha$ -tocopherol acetate in full-fat rapeseed-based diets for pigs: effects on the  $\alpha$ -tocopherol content and fatty acid composition of pig muscle microsomal and mitochondrial membranes and membrane lipid peroxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 11: 1633-1639
- Phillips A. L., Faustman C., Lynch M. P., Govoni K. E., Hoagland T. A., Zinn S. A. 2001. Effect of dietary  $\alpha$ -tocopherol supplementation on color and lipid stability in pork. *Meat Science*, 58, 4: 389-393

Reddick J. F., Hesketh A. H., Morar S. H., Bradshaw D. J. 2009. An evaluation of factors affecting the robustness of colour measurement and its potential to predict the grade of flotation concentrate. *Minerals Engineering*, 22, 1: 64-69

Referenčne vrednosti za vnos hranil. 2004. Ljubljana. Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 215 str.

Richards M. P. 2005. Lipid chemistry and biochemistry. V: *Handbook of food science, technology and engineering*. Vol. 1. Hui Y. H. (ed.). Boca Raton, CRC Press: 119-139

Sampaio G. R., Bastos D. H. M., Soares R. A. M., Queiroz Y. S., Torres E. A. F. S. 2006. Fatty acids and cholesterol oxidation in salted and dried shrimp. *Food Chemistry*, 95, 2: 344-351

SAS Software. Version 8.01. 1999. Cary, SAS Institute Inc.: software

Schlenker E. D. 2011a. Lipids. V: *William's essentials of nutrition and diet therapy*. 10th ed. Alexopoulos Y., Fraizer D. M. (eds.). St. Louis, Mosby: 61-76

Schlenker E. D. 2011b. Vitamins. V: *William's Essentials of Nutrition and Diet Therapy*. 10th ed. Alexopoulos Y., Fraizer D. M. (eds.). St. Louis, Mosby: 95-130

Shahidi F., Wanasundara U. N. 2008. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. V: *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. 3<sup>rd</sup> ed. Akoh C. C., Min D. B. (eds.). Boca Raton, CRC Press: 387-407

Sheppard A. J., O'Dell R. G., Pennington J. A. T. 1993. Cholesterol: properties and determination. V: *Encyclopedia of food science and nutrition*. 2<sup>nd</sup> ed. Caballero B., Trugo L., Finglas P. M. (eds.). Oxford, Academic Press: 1220-1226

Souza V. L. F., Silva R. S. S. 2006. Dietary vitamin E supplementation on cholesterol and cholesterol oxides of pig meat and cooked ham. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49, 2: 197-205

Trefan L., Bünger L., Rooke J. A., Blom-Hansen J., Salmi B., Larzul C., Terlouw C., Doeschl-Wilson A. 2010. Meta-analysis of effects of dietary vitamin E and post slaughter storage conditions on changes of redness (a\*) of pork. *Archiv Tierzucht*, 53, 5: 564-577

Trefan L., Bünger L., Blom-Hansen J., Rooke J. A., Salmi B., Larzul C., Terlouw C., Doeschl-Wilson A. 2011. Meta-analysis of the effects of dietary vitamin E

supplementation on  $\alpha$ -tocopherol concentration and lipid oxidation in pork. *Meat Science*, 87, 4: 305-314

Vejud A., Lizard G. 2009. Cytotoxic effects of oxysterols associated with human diseases: Induction of cell death (apoptosis and/or oncosis), oxidative and inflammatory activities, and phospholipidosis. *Molecular Aspects of Medicine*, 30, 3: 153-170

Whitney M. H., Shurson G. C., Johnston L. J., Wulf D. M., Shanks B. C. 2006. Growth performance and carcass characteristics of grower-finisher pigs fed high-quality corn distillers dried grain with solubles originating from a modern Midwestern ethanol plant. *Journal of Animal Science*, 84, 12: 3356-3363

Wood J. D., Nute G. R., Richardson R. I., Whittington F. M., Southwood O., Plastow G., Mansbridge R., Da Costa N., Chang K. C. 2004. Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat Science*, 67, 4: 651-667

Žlender B. 2000. Oksidacija in stabilnost mesa in mesnin. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 129-138



## ZAHVALA

Hvala mentorju prof. dr. Božidarju Žlendru za pomoč, nasvete in strokoven pregled magistrskega dela.

Zahvalila bi se tudi recenzentki prof. dr. Poloni Jamnik za nasvete ter strokoven in natančen pregled magistrskega dela.

Lepo se zahvaljujem zaposlenim v Razvojnem centru za prehrano Emona za pomoč in usmeritve pri opravljanju magistrskega dela. Še posebej bi se rada zahvalila dr. Mihaelu Gajstru za pomoč in strokoven pregled magistrskega dela.

Zahvala gre tudi prof. dr. Lei Demšar za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Prav tako se zahvaljujem dr. Tomažu Polaku za strokovno pomoč pri opravljanju laboratorijskega dela.

Hvala zaposlenim na inštitutu Fraunhofer IVV v Freisingu.

Za pregled magistrskega dela se zahvaljujem univ. dipl. inž. Lini Burkan Makivić.

Največja zahvala gre moji celi družini za spodbudo, podporo, motivacijo in pomoč tekom študija, še posebej atu in mami, ki sta mi študij omogočila in me vseskozi podpirala.

Zahvaljujem se tudi vsem prijateljem in sošolcem, ki so mi popestrili dneve v času študija in vsem, ki so kakorkoli pripomogli k uspešnemu zaključku študija.