

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tanja FINGUŠT

**VSEBNOST OKSISTEROLOV V JETRNI PAŠTETI Z DODATKOM
KOENCIMA Q₁₀, ASKORBINSKE KISLINE IN α -TOKOFEROLA**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**CONTENT OF OXYSTEROLS IN LIVER PATÉ WITH COENZYME
Q₁₀, ASCORBIC ACID AND α -TOCOPHEROL**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Delo je bilo opravljeno na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana prof. dr. Lea Demšar, za somentorja dr. Tomaž Polak in za recenzenta doc. dr. Blaž Cigić.

Mentorica: prof. dr. Lea Demšar

Somentor: dr. Tomaž Polak

Recenzent: doc. dr. Blaž Cigić

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Diplomsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Tanja FINGUŠT

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 637.52 + 664.934: 641.1: 543.9(043) = 163.6
KG	mesni izdelki/pašteta/funkcionalna živila/aditivi/antioksidanti/koencim Q ₁₀ /askorbinska kislina/α-tokoferol/fizikalnokemijske lastnosti/senzorične lastnosti
AV	FINGUŠT, Tanja
SA	DEMŠAR, Lea (mentorica) / POLAK, Tomaž (somentor) / CIGIČ, Blaž (recenzent)
KZ	SI – Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2012
IN	VSEBNOST OKSISTEROLOV V JETRNI PAŠTETI Z DODATKOM KOENCIMA Q ₁₀ , ASKORBINSKE KISLINE IN α-TOKOFEROLA
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	X, 43 str., 13 pregl., 8 sl., 1 pril., 58 vir.
IJ	SI
JI	sl/en
AI	<p>V diplomski nalogi smo proučevali vpliv dodatka različnih antioksidantov, askorbinske kisline (AA, 2 g/kg), α-tokoferola (α-t, 200 mg/kg) in koencima Q₁₀ (Q, 200 mg/kg), posamično ali v kombinaciji, na vsebnost oksisterolov v jetrni pašteti takoj po izdelavi in po 40-dnevnem skladiščenju. Jetrno pašteto smo izdelali v osmih eksperimentalnih skupinah (kontrola, AA, Q, α-t, AA+Q, α-t+Q, α-t+AA in α-t+AA+Q) in v štirih proizvodnih ponovitvah. Na 32 vzorcih smo opravili kemijske (vsebnost CoQ₁₀, holesterola in oksidov holesterola, maščobnokislinsko sestavo ter osnovno kemijsko sestavo) in senzorično analizo. Dodatek antioksidantov v paštetni nadev značilno vpliva na vsebnost vode in CoQ₁₀ v končnem izdelku, ne vpliva pa vsebnost maščob, beljakovin, skupih mineralnih snovi in soli. V povprečju 100 g paštete vsebuje 60,52 ± 2,9 mg holesterola in 12,08 ± 9,4 mg oksisterolov (od tega 25-hidroksi-holesterola 4,29 ± 4,3 mg/100 g, 5α-holestena 3,35 ± 3,8 mg/100 g, 7β-hidroksi-holesterola 0,83 ± 0,3 mg/100 g in 20α-hidroksi-holesterola 3,61 ± 4 mg/100 g). Dodatek antioksidantov ne vpliva značilno na vsebnost holesterola in oksisterolov v pašteti, pač pa 40-dnevno skladiščenje vpliva na vsebnost nekaterih oksisterolov (25α-hidroksiholesterola in 20α-hidroksi-holesterola) ter skupne okside in delež oksisterolov. Največji učinek dodanih antioksidantov na zmanjšanje celokupnih oksidov holesterola v 40-ih dneh skladiščenja smo ugotovili v pašteti, v katero smo dodali mešanico AA in Q (povečajo se iz 6,05 ± 1,69 mg/100 g na 14,12 ± 8,91 mg/100 g), in v pašteti z dodanim Q (povečajo se iz 7,05 ± 3,93 mg/100 g na 15,94 ± 6,98 mg/100 g), najmanjši učinek pa v pašteti z dodano AA (povečajo se iz 5,71 ± 0,97 mg/100 g na 24,20 ± 12,30 mg/100 g. Dodatek različnih antioksidantov značilno vpliva na senzorično ocenjeno kakovost izdelka, zunanji izgled, teksturo in predvsem okus, ne vpliva na sestavo prereza, barvo, vonj ter skupno oceno pašet.</p>

KEY WORD DOKUMENTATION

- DN Dn
- DC UDK 637.52 + 664.934: 641.1: 543.9(043) = 163.6
- DX meat products/pates/functional foods/additives/antioxidants/coenzyme Q₁₀/ascorbic acid/
α-tocopherol/physicochemical properties/sensory properties
- AU FINGUŠT, Tanja
- AA DEMŠAR, Lea (supervisor)/ POLAK, Tomaž (co-advisor)/ CIGIČ, Blaž (reviewer)
- PP SI – Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and
Technology
- PY 2012
- TI CONTENT OF OXYSTEROLS IN LIVER PATÉ WITH COENZYME Q₁₀, ASCORBIC
ACID AND α-TOCOPHEROL
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO X, 43 p., 13 tab., 8 fig., 1 ann., 58 ref.
- LA SI
- AL sl/en
- AB The aim of this study was to determine the influence of the addition of different antioxidants, ascorbic acid (AA, 2 g/kg), α-tocopherol (α-t, 200 mg/kg) and coenzyme Q₁₀ (Q, 200 mg/kg) alone or in combination on cholesterol oxidation products content in liver paté immediately after manufacture and after 40-day storage. Liver paté was made in the eight experimental groups (control, AA, Q, α-t, AA+Q, α-t+Q, α-t+AA and α-t+AA+Q) and at four repetitions. On 32 samples were performed chemical (content of CoQ₁₀, cholesterol oxides and cholesterol, fatty acid composition and basic chemical composition) and sensory analysis. Addition of antioxidants in paté filling significantly affect the water content and CoQ₁₀ in the final product, but does not affect fat, protein, minerals and salt. In average 100 g of paté contains 60.52 ±2.9 mg of cholesterol and 12.08 ±9.4 mg hydroxysterols (from this 25-hydroxy-cholesterol 4.29 ± 4.3 mg/100 g, 5α-cholesten 3.35 ±3.8 mg/100 g, 7β-hydroxy cholesterol 0.83 ± 0.3 mg/100 g and 20α-hydroxy-cholesterol 3.61 ±4 mg/100 g). Addition of antioxidants does not significantly affect content of cholesterol and hydroxysterols, but the 40-day storage effect on the levels of certain hydroxysterols (25α-hydroxy and 20α-hydroxy cholesterol), total hydroxysterols and share of hydroxysterols. The highest effect of added antioxidants to reduce total cholesterol oxides in 40 day storage was found in paté in which we added a mixture of AA and Q (increase from 6.05 ±1.69 mg/100 g to 14.12 ± 8, 91 mg/100 g), and the paté with added Q (increase from 7.05 ± 3.93 mg/100 g to 15.94 ± 6.98 mg/100 g), and the lowest effect in paté with added AA (increased from 5.71 ± 0.97 mg/100 g in 24.20 ±12.30 mg/100 g. Addition of various antioxidants significantly affected the sensory rated product quality, appearance, texture and mainly taste, and does not affect the cross-section composition, colour, smell and overall assessment of paté.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORD DOKUMENTATION.....	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD.....	1
1.1 NAMEN.....	2
1.2 HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 PAŠTETA	3
2.1.1 Senzorične lastnosti pašet	4
2.1.1.1 Zunanji izgled.....	4
2.1.1.2 Sestava in izgled prereza	4
2.1.1.3 Barva prereza oz. vsebine.....	4
2.1.1.4 Tekstura.....	4
2.1.1.5 Vonj.....	4
2.1.1.6 Aroma (okus)	4
2.2 KOENCIM Q ₁₀	4
2.2.1 Delovanje	5
2.2.2 Viri koencima Q₁₀.....	5
2.2.3 Pozitiven učinek CoQ₁₀ pri posameznih boleznih.....	6
2.3 HOLESTEROL IN OKSIDI HOLESTEROLA	7
2.3.1 Holesterol.....	7
2.3.2 Oksidi holesterola	8
2.3.3 Oksidacija holesterola	8
2.4 MAŠČOBNE KISLINE.....	9
2.5 ANTIOKSIDANTI	12
2.5.1 Vitamin C (L-askorbinska kislina)	13
2.5.2 Vitamin E (α-tokoferol).....	14
3 MATERIALI IN METODE DELA	15
3.1 MATERIAL IN NAČRT DELA	15
3.2 TEHNOLOGIJA IZDELAVE JETRNIH PAŠTET	16
3.2.1 Priprava mase za pašteto	16
3.2.2 Priprava skupin	17
3.3 METODE.....	17
3.3.1 Določanje vsebnosti CoQ₁₀ v pašteti	17
3.3.2 Določanje vsebnosti oksidov holesterola in holesterola v pašteti	19
3.3.3 Določanje maščobnokislinske sestave	21

3.3.4	Določanje vsebnosti maščobe v pašteti in mesu po Weibullu in Stoldtu	23
3.3.5	Določanje vsebnosti beljakovin v pašteti in mesu po Kjeldahlu	23
3.3.6	Določanje vsebnosti vode v pašteti in mesu s sušenjem	23
3.3.7	Določanje vsebnosti skupnih mineralnih snovi v pašteti in mesu	23
3.3.8	Določanje vsebnosti soli v pašteti in mesu po Volhardu	23
3.3.9	Senzorična analiza	24
3.4	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	24
4	REZULTATI	25
4.1	OSNOVNA KEMIJSKA SESTAVA	25
4.2	VSEBNOST HOLESTEROLA IN OKSISTEROLOV	26
4.3	MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA	29
4.4	SENZORIČNA ANALIZA S SKRAJŠANIM ANALITIČNIM TESTOM	31
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	33
5.1	RAZPRAVA	33
5.2	SKLEPI	36
6	POVZETEK	37
7	VIRI	39
ZAHVALA		
PRILOGE		

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Pregled pomembnejših maščobnih kislin (Salobir, 2001).....	11
Preglednica 2: Skupine jetrnih paštet na osnovi različnih dodatkov	15
Preglednica 3: Receptura za izdelavo jetrne paštete.....	15
Preglednica 4: Rezultati kemijskih analiz paštet, izdelanih z različnimi dodatki antioksidantov, z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	25
Preglednica 5: Vpliv dodatka antioksidantov na kemijske parametre jetrnih paštet (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).....	26
Preglednica 6: rezultati določanja vsebnosti holesterola in oksisterolov v jetrnih paštetah, izdelanih z različnimi dodatki antioksidantov, z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	26
Preglednica 7: Vpliv vrste dodanih antioksidantov na vsebnost holesterola, 25 α -hidroksiholesterola in holestana v jetrnih paštetah, takoj po izdelavi in po 40 dnevih skladiščenja (Duncanov test, $\alpha = 0,05$)	27
Preglednica 8: Vpliv vrste dodanih antioksidantov in časa skladiščenja na vsebnost 7 α -hidroksiholesterola, 20 α -hidroksiholesterola, skupnih oksisterolov in njihov delež, preračunan na skupni holesterol v jetrnih paštetah, takoj po izdelavi in po 40 dnevih skladiščenja (Duncanov test, $\alpha = 0,05$)	28
Preglednica 9: Vpliv 40-dnevnega skladiščenja na povprečno vsebnost holesterola in oksisterolov v jetrnih paštetah, izdelanih z različnimi vrstami dodanih antioksidantov (<i>t</i> -test v paru)	28
Preglednica 10: Rezultati senzorične analize jetrnih paštet, izdelanih z različnimi dodatki antioksidantov, z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri	29
Preglednica 11: Vpliv vrste dodanih antioksidantov na maščobnokislinsko sestavo lipidov v jetrnih paštetah, izdelanih z različnimi vrstami dodanih antioksidantov (Duncanov test, $\alpha = 0,05$)	30
Preglednica 12: Rezultati senzorične analize jetrnih paštet, izdelanih z različnimi dodatki antioksidantov, z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri	31
Preglednica 13: Vpliv vrste dodanih antioksidantov na senzorično kakovost jetrnih paštet, izdelanih z različnimi vrstami dodanih antioksidantov (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).....	32

KAZALO SLIK

Slika 1: Ubikinon (Coenzym Q ₁₀ , 2007)	5
Slika 2: Struktura holesterola, ki prikazuje številčenje C-atomov (Sheppard in sod., 2003).....	7
Slika 3: Strukturne formule nekaterih maščobnih kislin (Salobir, 2001).....	12
Slika 4: L-askorbinska kislina (Rudan-Tasič, 2000)	13
Slika 5: Strukture tokoferolov (Bramley in sod., 2000)	14
Slika 6: Shematski prikaz načrta poskusa	16
Slika 7: Kuter (Fotosa, Tip C-20-T, Španija)	17
Slika 8: Umeritvena krivulja za določanje CoQ ₁₀ v pašteti (Koren, 2009).....	19

KAZALO PRILOG

Priloga A: Ocenjevalni zapisnik 1

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AA	askorbinska kislina 2g/kg
AA+Q	askorbinska kislina 2g/kg + CoQ ₁₀ 200 mg/kg
ALK	α -linolenska kislina
ATP	adenozin trifosfat
CoQ ₁₀	koencim Q ₁₀
DHK	dokozaheksaenojska kislina
DNK	dezoksiribonukleinska kislina
ENMK	enkrat nenasičene maščobne kisline
EPK	eikozapentaenojska kislina
GRAS	zdravstveno neoporečno (»generally recognized as safe«)
IA	indeks aterogenosti
LK	linolna kislina
MK	maščobna kislina
NMK	nasičene maščobne kisline
Q	CoQ ₁₀ 200 mg/kg
VNMK	večkrat nenasičene maščobne kisline
α t+AA+Q	α -tokoferol 200 mg/kg + askorbinska kislina 2g/kg + CoQ ₁₀ 200 mg/kg
α -t	α -tokoferol 200 mg/kg
α -t+AA	α -tokoferol 200 mg/kg + askorbinska kislina 2g/kg
α -t+Q	α -tokoferol 200 mg/kg + CoQ ₁₀ 200 mg/kg

1 UVOD

Na živilskem trgu se pojavlja množica novih funkcionalnih izdelkov z različnimi dodatki, od CoQ₁₀, vitamina E do omega-3 maščobnih kislin.

Posebno popularni so izdelki z dodatkom CoQ₁₀, kar lahko pripisujemo poplavi medijskih informacij o njegovem »čudežnem« delovanju. Kot dodatek ga dandanes najdemo praktično povsod, od krem za telo in obraz pa vse do mleka in mesa.

Koencim Q₁₀ ali ubikinon je naravna snov, prisotna v vsaki živi celici telesa. V organizmu ima dve vlogi:

- je pomembna spojina v procesu sinteze ATP in
- ima lastnosti antioksidanta.

Največ ga najdemo v srčni mišici, jetrih ter ledvicah. Telo ga samo proizvaja, vendar z leti količina v telesu proizvedenega koencima Q₁₀ hitro upada. Na zmanjšanje količine v telesu proizvedenega koencima še dodatno vpliva stres, genske napake pri biosintezi ubikinona, pomanjkanje vitaminov, elementov v sledovih in drugih molekul potrebnih za tvorbo CoQ₁₀.

Vpliv CoQ₁₀ so proučevali pri različnih boleznih in stanjih, kot so kardiovaskularne bolezni, rak, veliki fizični napor pri športnikih, bolezni imunske pomanjkljivosti, Parkinsonova bolezen ipd. Vse te bolezni so povezane s povečano tvorbo radikalov in njihovim delovanjem na celice in organe. Pacienti, ki so redno jemali CoQ₁₀, so pokazali klinično izboljšanje, vendar so bile potrebne visoke doze in dolgotrajna uporaba.

Najbolj pogoste bolezni razvitega sveta spadajo v skupino kardiovaskularnih bolezni, katerih glavni »krivec« je holesterol. Vendar pa holesterol ni nujno slab. Človeško telo ga namreč nujno potrebuje, saj je sestavni del celičnih membran, predhodnik steroidnih hormonov in vitamina D. Zanimivo pa je tudi dejstvo, da premajhne koncentracije holesterola v krvi povezujejo z večjo stopnjo tveganja za samomor.

Človeško telo samo sintetizira holesterol, vendar ga v telo največ vnesemo s hrano. Ravno zato se živilska industrija trudi, da bi v živilih vsebnost holesterola zmanjšala. Na trgu je prisotnih veliko izdelkov z nizko vsebnostjo holesterola, oz. ki ne vsebujejo holesterola. Predvsem sporne so oglaševalske tehnike, kjer oglašujejo odsotnost holesterola – ko ga v tem živilu niti ne more biti.

V tej nalogi smo se posvetili oksisterolom, derivatom holesterola, ki se tvorijo pri toplotni obdelavi in skladiščenjem živil ali pa jih telo tvori *in vivo* s peroksidacijo holesterola. So toksični in v večji količini neugodno vplivajo na zdrave ljudi. Raziskave so pokazale, da lahko izzovejo različne kronične in degenerativne bolezni, so citotoksični in mutageni.

1.1 NAMEN

Namen naloge je raziskati, v kolikšni meri z dodatkom koencima Q₁₀, askorbinske kisline in α -tokoferola, skupaj ali posamično, lahko zmanjšamo oz. preprečimo oksidacijo holesterola (nastanek oksisterolov) takoj ob izdelavi in ob koncu roka uporabnosti pasterizirane jetrne paštete iz prašičjega mesa. Z dodatkom koencima Q₁₀ (200 mg koencima Q₁₀/kg živila) bomo prispevali k funkcionalnosti izdelka jetrne paštete.

1.2 HIPOTEZE

Predvidevamo, da bosta v paštetni nadev dodana askorbinska kislina in α -tokoferol s preprečevanjem oksidacije lipidov in posledično holesterola vplivala na manjšo tvorbo oksidov holesterola in povečala obstojnost CoQ₁₀.

2 PREGLED OBJAV

2.1 PAŠTETA

Pravilnik o kakovosti mesnih izdelkov (2012) pravi, da se kot pašteta lahko poimenuje izdelek izdelan iz mesa, slanine ali druge maščobe živalskega ali rastlinskega izvora, bujona ali vode, drobovine (jeter), kožic, dodatnih surovin in aditivov. Stopnja razdetosti nadeva mora biti homogena ali gladke konzistence, mazave strukture, skladnega vonja in okusa (20. člen Pravilnika..., 2012).

Paštete spadajo v skupino pasteriziranih mesnin, podskupina kuhane klobase, polnjene v naravne ali umetne ovitke ali v drugo embalažo (20. člen Pravilnika..., 2012) ali v skupino steriliziranih mesnin, polnjene v embalažo, ki se neprodušno zapre in sterilizira (30. člen Pravilnika..., 2012).

Pri navajanju imena »jetrna pašteta« mora biti vsebnost jeter v končnem izdelku najmanj 15 % (20. in 30. člen Pravilnika..., 2012).

Na slovenskem trgu so paštete močno zastopane in jih najdemo z različno sestavo in dodatki (z olivami, šampinjoni, orehi, šunko, brusnicami, smetano, itd.). Narejena je lahko iz različnih vrst mesa (govedine, teletine, piščanca, purana, itd.), namesto maščob živalskega izvora pa se lahko uporabi tudi rastlinske maščobe (Gašperlin in Polak, 2010).

Za izdelavo paštete najprej vse sestavine (razen jeter) toplotno obdelamo v vodi ali maščobi. S tem postopkom mesne beljakovine denaturirajo in nam kasneje dajo mazavo konzistenco. Jetra dodamo mesni emulziji na koncu, saj tako dosežemo boljšo aromo, prav tako pa jetra delujejo kot emulgator. Količina jeter v izdelku je odvisna od toplotne obdelave vendar naj ne bi bila večja od 30 %. Pri sterilizaciji se ponavadi uporabi manjša količina jeter kot pri pasterizaciji, saj se med toplotno obdelavo tvorijo produkti Maillardove reakcije, ki so moteči in dajejo pašteti grenak priokus (Gašperlin in Polak, 2010).

Izdelava paštete običajno poteka v kutru, kjer se naredi emulzija, s katero dosežemo zelo fino gladko teksturo, vendar pa za doseganje najboljše teksture emulgiranje zaključimo v mikrokutru. Med oblikovanjem pašetne emulzije, ko se sestavine v vročem stanju homogenizirajo in mešajo se v pašetno maso vtepa zrak, ki povzroča oksidacijo maščob in luknjičavost nadeva. Ta pojav lahko zmanjšamo z uporabo vakuumskega kutra (Gašperlin in Polak, 2010).

Topla pašetna emulzija je idealen vir tvorbe mikroorganizmov, zato jo je potrebno po koncu izdelave v najkrajšem možnem času embalirati in toplotno obdelati. Od toplotne obdelave paštete je odvisna tudi embalaža paštete, saj se lahko napolni v nepropustne ovitke in pasterizira ali pa se pašetna masa napolni v pločevinke, lončke ali tube in se nato sterilizira (Gašperlin in Polak, 2010).

2.1.1 Senzorične lastnosti paštete

Senzorično kakovost paštete določa zunanji izgled, sestava in izgled prereza oz. vsebine, barva prereza oz. vsebine, tekstura, vonj in aroma (Gašperlin in Polak, 2010).

2.1.1.1 Zunanji izgled

Izgled tako pasterizirane kot sterilizirane paštete je pomembna lastnost izdelka, saj atraktiven zunanji izgled izdelka pripomore k odločitvi posameznika za nakup. Embalaža ne sme biti poškodovana, umazana, mastna po robovih, ... Slab izgled prav tako predstavlja natrgana ali postrani nalepljena etiketa. Poškodovana embalaža pa ne predstavlja samo slab izgled, temveč je lahko potencialno tudi vir okužbe in kvara izdelka (bombirane pločevinke) (Gašperlin in Polak, 2010).

2.1.1.2 Sestava in izgled prereza

Nadev paštete mora biti homogen, gladek in stabilen. Izjema so paštete z dodatki. Pogosta napaka steriliziranih paštete je izločena maščoba in žele, ki kvarita izgled izdelka, in sta lahko posledica nepravilne toplotne obdelave ali prevelike količine uporabljene maščobe (Gašperlin in Polak, 2010).

2.1.1.3 Barva prereza oz. vsebine

Barva paštete je odvisna od vrste soli, ki je uporabljena za izdelavo. V primeru nitritne soli je barva paštete roza, če pa se uporabi kuhinjska sol, je barva sivo-rjava. Senzorična napaka paštete bi bila, če bi pašteta bila neenakomerne barve, bila pretemna ali presvetla ter če bi imela diskoloracije (Gašperlin in Polak, 2010).

2.1.1.4 Tekstura

Pašteta mora biti lepo mazava. V ustih ne sme biti groba, vodena, mastna, »kosmata«, peskava... (Gašperlin in Polak, 2010).

2.1.1.5 Vonj

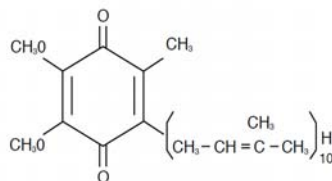
Vonj paštete mora biti harmoničen, prijeten in tipičen za vrsto paštete, ki se razlikuje glede na vrsto mesa, jetr, dodatkov, začimb (Gašperlin in Polak, 2010).

2.1.1.6 Aroma (okus)

Tako kot pri vonju mora tudi aroma biti harmonična, prijetna in skladna s tipom izdelka. Senzorične napake, ki se pojavljajo pri aromi so premajhna ali prevelika začinjenost, priokusi... (Gašperlin in Polak, 2010).

2.2 KOENCIM Q₁₀

Koencim Q₁₀ (CoQ₁₀) je profesor Frederic Crane ga je leta 1957 v čisti obliki izoliral iz mitohondrija govejega srca, leto kasneje pa je profesor Karl Folkers skupaj s sodelavci podjetja Merck določil njegovo kemijsko strukturo in ga tudi kot prvi uspel proizvesti s fermentacijo. Kemijsko je CoQ₁₀ 2,3-dimetoksi-5-metil-6-poliprenil-1,4-benzokinon (Langsjoen, 1994; Rudan-Tasič, 2000; Rus P. in Rus R.R., 2008).



Slika 1: Ubikinon (Coenzyme Q₁₀, 2007)

Peter Mitchell je leta 1978 prejel Nobelovo nagrado, saj je svojem članku definiral vlogo CoQ₁₀ v telesu, pri čemer gre za osrednjo vlogo v procesu prenosa elektronov in vzdrževanju protonskega gradienta ter s tem pretvorbe energije v celici (Langsjoen, 1994; Littarru in Langsjoen, 2007; Rus P. in Rus R.R., 2008).

Telo samo proizvaja CoQ₁₀ s pomočjo vitaminov (vitamina B6 in B12, vitamina C, folne kisline, niacinamida, pantotenske kisline) in številnih elementov v sledovih. Koencim Q₁₀ nastane iz dveh aminokislin fenilalanina in tirozina. Pomanjkanje kateregakoli izmed vitaminov, elementov v sledih ali aminokislin posledično privede do pomanjkanja CoQ₁₀ (Coenzyme Q₁₀, 2007; Langsjoen, 1994).

2.2.1 Delovanje

Ugotovili so, da ima CoQ₁₀ v telesu več pomembnih funkcij (Rus P. in Rus R.R., 2008):

- je del elektronske transportne verige, ki se nahaja v mitohondrijih, in s tem sodeluje v verigi reakcij, kjer nastaja energija v obliki ATP,
- deluje kot v maščobah topen antioksidant ter tako ščiti telo pred prostimi radikali, ki lahko poškodujejo DNK,
- pomembno vpliva na prenos protonov preko membrane lizosomov in s tem ohranja optimalno vrednost pH celic,
- pomemben je kot stabilizator celičnih membran.

2.2.2 Viri koencima Q₁₀

Koencim Q₁₀ najdemo v rastlinah in v različnih tkivih živali. Nastaja v večini človeških tkiv, nekaj pa ga zaužijemo tudi s hrano. Največ koencima Q₁₀ nastaja v tistih tkivih, ki proizvajajo veliko energije (Rus P. in Rus R.R., 2008).

Vir koencima Q₁₀ so meso, zlasti govedina, perutnina, drobovina in ribe. Precej koencima Q₁₀ najdemo tudi v soji, zemeljskih in v drugih oreških. Zmerna količina koencima Q₁₀ je v sadju, zelenjavi, jajcih in mlečnih izdelkih. Na splošno velja, da so živila z veliko vsebnostjo maščob bogatejša s koencimom Q₁₀. Na primeru jajc in zelenjave so ugotovili, da kuhanje ne vpliva pomembno na vsebnost koencima Q₁₀, medtem ko naj bi se med pečenjem zelenjave in jajc izgubi od 14-32 % koencima Q₁₀ (Rus P. in Rus R.R., 2008).

Pri zdravih in mladih ljudeh, pri katerih endogena sinteza koencima Q₁₀ normalno poteka, je z normalno prehrano, predvsem pa z uživanjem živil bogatih s koencimom Q₁₀, možno vzdrževati normalen nivo koencima Q₁₀ v telesu. Pri starejših ljudeh, športnikih, srčnih bolnikih in osebah, ki so vsakodnevno izpostavljene stresu ter večjim psihičnim in fizičnim bremenitvam so zaradi zmanjšane endogene sinteze oz. povečane porabe koencima Q₁₀

potrebe po njem večje. To pomeni, da je potrebno zagotoviti bistveno večji eksogeni vnos CoQ₁₀, ki pa ga samo s hrano težko dosežemo.

Samo s hrano je zelo težko zagotoviti tako visoke vnose CoQ₁₀, saj bi morali dnevno zaužiti velike količine s CoQ₁₀ bogatih živil npr. približno 0,5 kg sardin, 1 kg govedine ali 1,5 kg arašidov, kar pa je praktično nemogoče. Glavni problem pri tem predstavlja precej skromna absorpcija CoQ₁₀ iz hrane, saj se v črevesju iz hrane absorbira v povprečju le okrog 10 % CoQ₁₀. V teh primerih strokovnjaki za pokritje potreb priporočajo uživanje CoQ₁₀ v obliki prehranskega dodatka, ki je na trgu dostopen v različnih oblikah. Koncentracije CoQ₁₀ so v teh dodatkih bistveno večje, poleg tega pa je tudi absorpcija CoQ₁₀ iz njih boljša. Tako je npr. absorpcija CoQ₁₀ iz oljne suspenzije, predvsem pa iz vodotopnega gela bistveno boljša kot iz hrane, kjer je biološka izkoristljivost CoQ₁₀ le 2-4 % (Pepe in sod., 2007).

Na slovenskem tržišču je dostopnih precej izdelkov z različnimi oblikami koencima Q₁₀. Na podlagi podatkov o sestavi izdelkov lahko izdelke glede na dostopne podatke o njihovi potencialni biodostopnosti razdelimo v pet razredov:

- izdelki z kristaliničnim koencimom Q₁₀, za katerega je značilna slaba absorpcija (NOW Koencim Q₁₀, Sensilab Koencim Q₁₀, GOGO Q₁₀ Energy);
- izdelki z oljno suspenzijo ubikinona, katere biodostopnost ni bila preverjena, vendar je verjetno boljša od kristaliničnega koencima Q₁₀ (Fidi Koencim Q₁₀, Natural Wealth Koencim Q₁₀, Koencim Q₁₀);
- izdelki z oljno suspenzijo ubikinona, katerih biodostopnost je z objavljenimi študijami dokazano boljša od kristaliničnega koencima Q₁₀ (Pharma Nord Bio – Qinone Q₁₀);
- izdelki z oljno suspenzijo ubikinola, katerih biodostopnost je boljša od kristaliničnega koencima Q₁₀ (NOW Ubiquinol CoQH-FC);
- izdelki z vodotopno obliko koencima Q₁₀, katere biodostopnost je z objavljenimi študijami dokazano boljša od oljne suspenzije ubikinona (Quvital forte sirup, Quvital tablete, Sensilab Q₁₀ koencim mladosti) (Žmitek J. in Žmitek K., 2009).

2.2.3 Pozitiven učinek CoQ₁₀ pri posameznih boleznih

Strokovna literatura omenja koencim Q₁₀ predvsem v zvezi s kongestivno srčno boleznijo, srčno aritmijo, hipertenzijo in hipoksično poškodbo miokarda, kjer priporočajo uporabo koencima Q₁₀ kot podporno terapijo.

Poleg tega naj bi bili drugi učinki koencima Q₁₀ še: povečevanje sposobnosti za fizični napor, stimulacija imunskega sistema in upočasnjevanje procesov staranja. Študije na podganah so pokazale, da koncentracija koencima Q₁₀ in citokrom C reduktaze narašča med fizično vadbo. To povečanje je opazno v nekaterih mišicah, v drugih pa ne. Porast v rdečih mišicah predstavlja pozitivno prilagoditev na fizični napor (Doljak, 2002). Kadar pride v določenem tkivu najprej do zmanjšane prekrvavljenosti in potem do ponovne prekrvavljenosti, se še posebej intenzivno tvorijo prosti radikali. V takšnih tkivih najverjetneje deluje koencim Q₁₀ kot lovilec teh radikalov in stabilizator membran. Do te domneve so prišli z eksperimenti na zajčji srčni mišici. Kot sestavni del mitohondrijskih membran je koencim Q₁₀ udeležen v prenosu elektronov. Zaradi te lastnosti predstavlja

potencialno zdravilno učinkovino pri ishemiji srca, kroničnem srčnem popuščanju, kardiopatiji zaradi toksinov in mogoče celo pri hipertenziji. To so indikacije, ki jih je potrebno še potrditi. Znano pa je, da med operacijo srca koencim Q₁₀ ščiti ishemično srčno mišico. Na številnih živalskih mišicah je koencim Q₁₀ izkazal zaščitno vlogo na mitohondrijih pred oksidativnimi poškodbami lipidnih membran. Zaščitni učinek koencima Q₁₀ na membranskih fosfolipidih bi bil lahko posledica zmanjševanja aktivnosti fosfolipaze (Doljak, 2002).

Rus P. in Rus R. R. (2008) ter Doljak (2002) navajajo, da ima koencim Q₁₀ kot dopolnilo k hrani minimalne stranske učinke. Ti stranski učinki so izguba teka, slabost, diareja, bruhanje, občutki nelagodja v trebuhu. Opisali so tudi glavobol, migrene, srbenje kože, izpuščaje, nespečnost in razdražljivost. Doljak (2002) navaja, da so se v zelo obsežni študiji, v katero je bilo vključenih 5.000 ljudi, omenjeni stranski učinki pojavili skoraj pri 1 % sodelujočih.

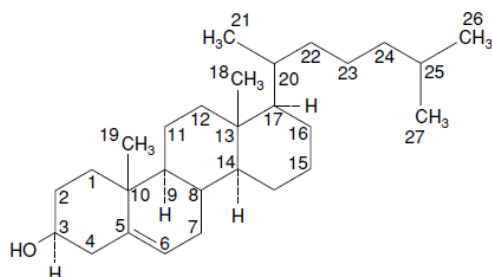
2.3 HOLESTEROL IN OKSIDI HOLESTEROLA

2.3.1 Holesterol

Holesterol je morda ena najbolj strah zbujujočih molekul v naravi. O njem smo poslušali pri pouku biologije in pri urah prehrane ter o njem beremo v časopisih in vidimo pri poročilih. Večinoma nas opozarjajo na njegovo povezanost z boleznimi srca in ožilja. Tudi znanstvene raziskave potrjujejo to slabo stran holesterola, vendar zelo malo slišimo o njegovi "dobri strani". Holesterol je namreč za življenje nujno potreben saj ima v organizmu več vlog: (1) je pomembna komponenta membran živalskih celic, kjer uravnava fluidnost in (2) je izhodna spojina večjega števila pomembnih biomolekul (steroidnih hormonov, žolčnih kislin in vitamina D) (Boyer, 2005).

Holesterol je kemijsko sterol, le-te pa uvrščamo v skupino lipidov. Njegova empirična formula je C₂₇H₄₅OH. Nahaja se v živalskih maščobah, oljih, žolču, žolčnih kamnih, živčnih tkivih, krvi, možganih, plazmi in jajčnem rumenjaku. Holesterol je najpogostejši živalski sterol, a se v sledovih nahaja tudi v rastlinskih maščobah in oljih, morski travi in zelenem listju (Sheppard in sod., 2003).

Holesterol so prvič izolirali iz žolčnih kamnov leta 1784, a kljub temu je bila njegova kompleksna struktura še dolgo nerazjasnjena. Šele po letu 1940 so odkrili večino stopenj v biosintezi holesterola (Boyer, 2005).



Slika 2: Struktura holesterola, ki prikazuje številčenje C-atomov (Sheppard in sod., 2003)

Holesterol je sestavljen iz treh šest členskih obročev in enim pet členskim obročem. Ker je molekula holesterola nepolarna, se le-ta ne topi v vodi. Delno je topen v alkoholu, dobro pa v nepolarnih topilih, kot so benzen, heksan in petroleter (Sheppard in sod., 2003).

2.3.2 Oksidi holesterola

Oksidi holesterola so produkti oksidacije holesterola, pri čemer oksidirana molekula vsebuje dodatno funkcionalno skupino – hidroksilno ali epoksilno.

Sekundarne produkte oksidacije holesterola – okside holesterola absorbiramo s hrano, saj le-ti nastajajo med predelavo, mletjem in kuhanjem. Zaskrbljujoče je dejstvo, da imajo lahko oksidi holesterola širok spekter slabih vplivov, kot so sodelovanje pri razvoju bolezni srca in ožilja, aterogenezi in rakastih obolenjih, čeprav njihova vloga in mehanizem delovanja še nista povsem pojasnjena (Polak in sod., 2011).

Do danes so odkrili več kot 80 različnih oksidov holesterola. V živilih so najbolj razširjeni 7-ketoholesterol, 6-ketoholesterol, 7 α -hidroksiholesterol, 7 β -hidroksiholesterol, 5,6 α -epoksiholesterol, 5,6 β -epoksiholesterol, 25-hidroksiholesterol, 20-hidroksiholesterol in holestantriol (Boselli in sod., 2001).

Presna, nepredelana živila vsebujejo zelo nizke koncentracije oksidov holesterola, s skladiščenjem, toplotno obdelavo in predelavo pa njihova vsebnost naraste. Nekateri oksidi holesterola lahko nastanejo endogeno v tkivih med samo pretvorbo holesterola v žolčne kisline in steroidne hormone. Živila z veliko vsebnostjo holesterola (jajca, mlečni in mesni izdelki) so podvržena avtooksidaciji in/ali encimski oksidaciji, tvorijo se oksidi holesterola. Nastanejo lahko med samo pripravo živil, ki so izpostavljena toploti, svetlobi, zraku, radiaciji, eden od možnih vzrokov pa je tudi neprimerno skladiščenje. Glavni dejavniki, ki vplivajo na tvorbo oksidov holesterola, so torej: visoka temperatura, pH, svetloba, kisik, vodna aktivnost in prisotnost nenasičenih maščobnih kislin (Gallina Toschi in Caboni, 1992; Tai, 1999; Razzazi-Fazeli in sod., 2000).

Nekateri oksidi holesterola imajo nezaželene biološke učinke na encimskem, celičnem ali tkivnem nivoju: inhibirajo biosintezo holesterola, delujejo mutageno, citotoksično in angiotoksično, kar lahko povzroči bolezni, kot sta ateroskleroza in rak.

Težavo pri določanju v živilih predstavlja dejstvo, da se lahko sintetizirajo umetno, med samo pripravo vzorca: z umiljanjem pri visoki temperaturi (80 °C, 15 min) ali z umiljanjem pri sobni temperaturi 10-12 ur (Boselli in sod., 2001; Polak in sod., 2011).

Podatki v literaturi o vsebnosti oksidov holesterola v istovrstnih živilih se močno razlikujejo, zato so med seboj težko primerljivi. Njihova kvantitativna določitev je problematična, saj izolacijo posameznega oksida holesterola ovira bistveno višja vsebnost holesterola, triacilglicerolov, fosfolipidov in ostalih lipidov v živilu (Gallina Toschi in Caboni, 1992; Razzazi-Fazeli in sod., 2000; Tai, 1999).

2.3.3 Oksidacija holesterola

Oksidacija holesterola poteka podobno kot ostalih lipidov. Sproži jo prisotnost kisika, visoke temperature in/ali svetloba; rezultat je oksidacija ali fotooksidacija. Prav tako jo

lahko sprožijo tudi prosti radikali in hidroperoksidi, ki nastanejo med oksidacijo lipidov (Azadmard-Damirchi in Dutta, 2009). Čeprav je holesterol pri visokih temperaturah stabilen, je v kombinaciji s triacilgliceroli podvržen procesom razgradnje. Tako nastajajo oksisteroli, katerih struktura je odvisna od vrste maščobnih kislin v živilu. Vsi običajni oksidi holesterola so produkti holesteril esterske oksidacije, vendar je njihov nastanek bistveno hitrejši ob prisotnosti večkrat nenasičenih maščobnih kislin – VNMK (sojino, sončnično, ribje olje) kot ob prisotnosti nasičenih maščob. Holesterol v ribjem olju se na primer razgradi že po eni uri segrevanja. Holesterol se torej v živilih oksidira v prisotnosti maščob (Gallina Toschi in Caboni, 1992; Lercker in Rodriguez-Estrada, 2000).

V predpripravljenih jedeh, ki so toplotno obdelane ali pa dlje časa čakajo na uporabo, oksidi holesterola nastajajo v večjih količinah. Tvorbo le-teh uspešno zaviramo z:

- zmanjšanjem maščob v izdelku,
- razsoljevanjem in dodatkom fosfatov in drugih kelatnih snovi,
- dimljenjem,
- uporabo nizkih temperatur obdelave ali minimalno predelavo,
- pakiranjem v majhni koncentraciji kisika,
- temnim delovnim prostorom ter
- dodatkom antioksidantov v živilo ali v krmo živali (Božidar Žlender, 2000; Hur in sod., 2007; Polak in sod., 2011).

2.4 MAŠČOBNE KISLINE

Masti in olja so triacilgliceroli oz. estri glicerola z maščobnimi kislinami. Maščobne kisline pa so karboksilne kisline s 4 do 36 ogljikovih atomov. Enostavni triacilgliceroli so zgrajeni iz treh enakih maščobnih kislin, ki je vsaka estersko vezana z glicerolom. Večina naravnih triacilglicerolov je mešanih estrov, z dvema ali več različnimi maščobnimi kislinami.

Ker so polarne hidroksilne skupine glicerola in polarne karboksi skupine maščobnih kislin povezane v estersko vez, so triacilgliceroli nepolarne, hidrofobne molekule, ki so netopne v vodi (Nelson in Cox, 2005).

Alkilna veriga je lahko popolnoma nasičena in vsebuje le enojne vezi ali pa nenasičena ter vsebuje eno ali več dvojnih vezi. Pri enkrat nenasičenih maščobnih kislinah je dvojna vez locirana med devetim in desetim ogljikovim atomom. Če molekula maščobnih kislin vsebuje več dvojnih vezi, se te nahajajo med končno metilno skupino in devetim ogljikovim atomom (Nelson in Cox, 2005).

Kadar je v alkilni verigi več dvojnih vezi, te niso konjugirane, ampak so ločene z etilensko skupino. Dvojne vezi so v t.i. cis-konfiguracijski obliki, kar povzroči na mestu dvojne vezi pregib. Maščobne kisline z več dvojnimi vezmi imajo tudi ustrezno število pregibov (Klofutar, 1992).

Priporočila o vnosu maščob se z leti spreminjajo in dopolnjujejo. Priporočljivo je uravnoteženo uživanje pravih maščob, kar pomeni manj nasičenih maščobnih kislin (NMK) in *trans* maščobnih kislin ter več enkrat nenasičenih in večkrat nenasičenih maščobnih kislin.

Najpomembnejše maščobne kisline so (Salobir, 2001):

- enkrat nenasičene (ENMK): oleinska kislina (C18:1, *n*-9),
- *n*-6 VNMK: linolna kislina (LK; C18:2, *n*-3),
- *n*-3 VNMK :
 - α -linolenska kislina (ALK; C18:3, *n*-3),
 - eikozapentaenojska kislina (EPK; C20:5, *n*-3),
 - dokozaheksaenojska kislina (DHK; C22:6, *n*-3).

WHO (1994) je pred leti pripravila priporočila tudi o oskrbi z esencialnimi maščobnimi kisljinami: razmerje med *n*-6 in *n*-3 MK naj bo med 5:1 do 10:1. Če osebe uživajo prehrano z večjim razmerjem kot 10:1, jih je treba vzpodbujati, da uživajo več hrane bogate z *n*-3 MK, kot so zelena listnata zelenjava, stročnice, ribe in druga hrana iz morja.

Za oceno primernosti maščob uporabljamo razmerje med VNMK in NMK, ki ga označimo kot P/S razmerje. Kadar imajo posamezne maščobe P/S razmerje manjše od 0,5, so manj primerne za prehrano ljudi, saj se pri takih maščobah poveča tveganje za kardiovaskularna obolenja. Pri tem je pomembno, koliko maščob posamezno živilo vnaša v obrok in s tem vpliva na razmerje maščobnih kislin v skupnem obroku. S pustim mesom vnesemo le malo maščob in tako malo vplivamo na skupno razmerje MK.

Preglednica 1: Pregled pomembnejših maščobnih kislin (Salobir, 2001)

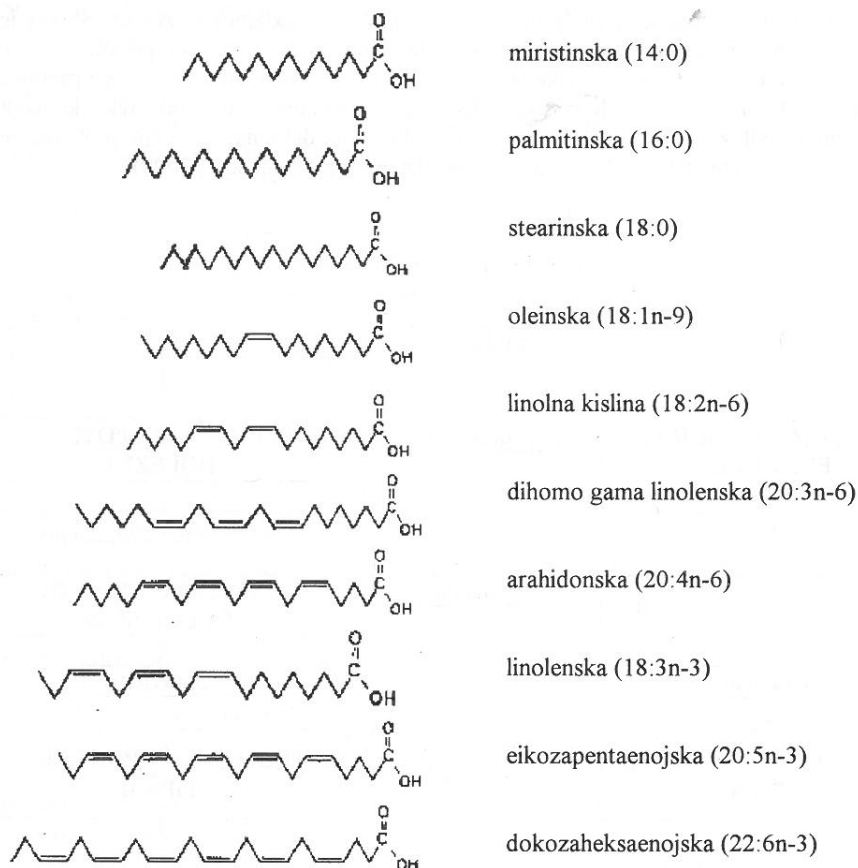
Kratka oznaka	kemijsko ime (iupac)	trivialno ime
nasičene kisline		
a) kratkoverižne		
C4:0	butanojska kislina	maslena kislina
C6:0	heksanojska kislina	kapronska kislina
b) srednjeverižne		
C8:0	oktanojska kislina	kaprilna kislina
C10:0	dekanojska kislina	kaprinska kislina
c) dolgoverižne		
C12:0	dodekanojska kislina	lavrinska kislina
C14:0	tetradekanojska kislina	miristinska kislina
C16:0	heksadekanojska kislina	palmitinska kislina
C18:0	oktadekanojska kislina	stearinska kislina
C20:0	eikozanojska kislina	arahidinska kislina
C22:0	dokozanojska kislina	behenska kislina
enkrat nenasičene maščobne kisline		
C18:1	cis-9-oktadecenska kislina	oleinska kislina
C18:1t-9	trans-9-oktadecenska kislina	elaidinska kislina
C22:1c-9	cis-13-dokosenska kislina	eruka kislina
večkrat nenasičene maščobne kisline		
C18:2n-6	cis-cis-9,12-oktadekadienska kislina	linolna kislina
C18:3n-3	cis-9,12,15-oktadekatrienska kislina	α-linolenska kislina
C18:3n-6	cis-6,9,12-oktadekatrienska kislina	γ-linolenska kislina
C20:4n-6	cis-5,8,11,14-eikozatetraenojska kislina	arahidonska kislina
C20:5n-3	cis-5,8,11,14,17-eikozapentaenska	EPA (eikozapentanojska kislina)
C22:6n-3	cis-4,7,10,13,16,19-dokozaheksaenska kislina	DHA (dokozaheksanojska kislina)

Danes namesto razmerja P/S uporabljamo indeks aterogenosti (IA). Postavila sta ga Ulbricht in Southgate leta 1991 ter tako bolje ocenila kakovost maščob z vidika zdravja. Indeks aterogenosti upošteva specifične vplive posameznih MK na koncentracijo holesterola v krvi. Pri izračunu indeksa aterogenosti upoštevamo MK, ki povečujejo koncentracijo holesterola v krvi (lavrinska, miristinska, palmitinska in *trans*-MK) ter VNMK, oleinsko MK (C18:1n-9) in druge ENMK, ki koncentracijo holesterola zmanjšujejo. Ker je vpliv miristinske MK (C14:0) najmočnejši, ga pomnožimo s faktorjem 4 (Salobir, 1997).

$$IA = \frac{\text{lavrinska MK (12:0)} + 4 \times (\text{miristinska MK (14:0)} + \text{palmitinska MK (16:0)} + \text{trans-MK})}{\text{VNMK} + \text{oleinska MK (18:1)} + \text{druge VNMK}}$$

...(1)

S prehranskega stališča so ugodne maščobe, ki imajo IA manjši od 0,5.



Slika 3: Strukturne formule nekaterih maščobnih kislin (Salobir, 2001)

2.5 ANTIOKSIDANTI

Beseda antioksidanti postaja vse bolj »čarobna«, če pa je napisana na izdelku, pa je to skoraj zagotovo za uspešno prodajo. Mediji nas konstantno bombardirajo s propagandami in čudežnimi vplivi antioksidantov, internet je poln različnih razlag, kaj antioksidanti počnejo in kako delujejo. Vendar niso vse trditve pravilne. Tako se marsikdaj zazdi, da se laični potrošnik vpraša: Kaj sploh so antioksidanti?

Tudi stroke so glede tega vprašanja neenotne. Strokovnjaki s področja medicine in fiziologije namreč izpostavljajo, da so antioksidanti tiste snovi, ki ščitijo organizem pred potencialno škodljivimi oksidirajočimi agensi. Strokovnjaki s področja živilstva pa poudarjajo pomen antioksidantov kot snovi, ki zmanjšujejo oksidativne spremembe živil (Cigić in Rudan Tasič, 2006).

Tako Žlender (2000) pravi, da so antioksidanti snovi, ki ščitijo telo pred potencialno škodljivimi oksidirajočimi snovmi. Vnos antioksidantov v telo je zelo pomemben, saj lahko že majhna koncentracija preprečuje, zmanjšuje ali zavira nezaželene oksidacijske spremembe v človeškem telesu. S tem se zmanjšajo možnosti za nastanek celičnih poškodb in posledično številnih bolezni modernega časa.

Rudan-Tasičeva (2000) pravi, da antioksidanti zaščitijo živilo proti oksidantom, s katerimi reagirajo izredno hitro in tako preprečijo nastanek nezaželenih oksidacijskih produktov. V

splošnem prištevamo k oksidantom vse snovi, ki hitro reagirajo s kisikom, še preden kisik lahko oksidira določeno komponento živila. Med pomembnejše antioksidante prištevamo L-askorbinsko kislino, tokoferole, nekatere derivate fenola, žveplovo (IV) kislino in sulfite. Izbira antioksidanta je odvisna od spojine, ki jo želimo zaščititi, vrste izdelka, stabilnosti antioksidanta v izbrani obliki, ostalih prisotnih antioksidantov, itd.

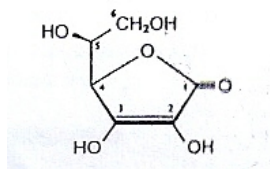
Raspor in sod. (2000) navajajo, da delimo antioksidante v tri skupine:

- Primarni antioksidanti, ki nastajajo v organizmu ali jih tvorijo mikroorganizmi, to so predvsem encimi, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, ceruloplazmin. Njihova vloga je preprečevanje tvorbe prostih radikalov. Med primarne antioksidante prištevamo snovi, ki lahko reaktivne radikale spremenijo v bolj stabilne produkte in s tem prekinajo verižno reakcijo avtooksidacije.
- Sekundarni antioksidanti nevtralizirajo novotvorjene proste radikale in preprečujejo, da bi vstopili v verižne reakcije in tvorili nove proste radikale. To so snovi, ki zavirajo avtooksidacijo brez direktnega vključevanja v verižno reakcijo. Značilnost te skupine antioksidantov je reakcija s kovinskimi ioni, ki so katalizatorji oksidacije, odvzemajo kisik iz medija, razgrajujejo hidroperokside do komponent, ki niso radikali, absorbirajo UV svetlobo in nenazadnje deaktivirajo aktivni kisik.
- Terciarni antioksidanti so snovi, ki popravljajo poškodbe, ki jih povzročajo prosti radikali v strukturi celice (encimi, ki "popravljajo" poškodbe DNA, metionin sulfoksid reduktaza).

Medtem pa Kreft in sod. (2000) navajajo, da so, v našem organizmu po izvoru dve vrsti antioksidantov: endogeni in eksogeni. Endogene antioksidante tvori naš organizem, eksogene pa dobimo s hrano.

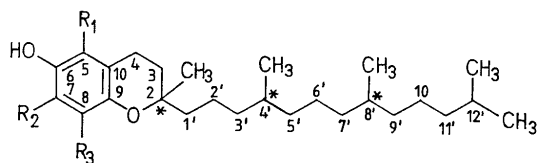
2.5.1 Vitamin C (L-askorbinska kislina)

L-askorbinska kislina oz. vodotopen vitamin C je v živilstvu med najuporabnejšimi antioksidanti in se dodaja živilom kot aditiv z zdravstveno neoporečno oznako GRAS (»generally recognized as safe«). Njena najvažnejša kemijska lastnost je reverzibilni oksidacijsko-redukcijski proces. V živilski industriji uporabljamo L-askorbinsko kislino saj deluje kot konzervans, ohranja barvo, aromo in teksturo proizvodov ter izboljša splošno obstojnost izdelkom. V mesni industriji se med drugim dodaja L-askorbinska kislina kot aditiv prekajenemu mesu, saj močno zmanjša in preprečuje nastanek nitrozaminov, ki so kancerogene spojine v živilih. Za zaščito maščob in olj pa se zaradi boljše topnosti uporabljajo estri L-askorbinske kisline, predvsem L-askorbil 6-palmitat (Rudan-Tasič, 2000).



Slika 4: L-askorbinska kislina (Rudan-Tasič, 2000)

2.5.2 Vitamin E (α-tokoferol)

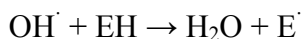
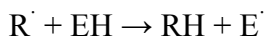
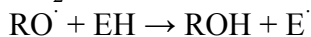
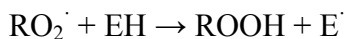


Spojina	R ₁	R ₂	R ₃
α-tokoferol	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β-tokoferol	CH ₃	H	CH ₃
γ-tokoferol	H	CH ₃	CH ₃
δ-tokoferol	H	H	CH ₃

Slika 5: Strukture tokoferolov (Bramley in sod., 2000)

V naravi je med najbolj razširjenimi sestavinami α-tokoferol, ki je tudi glavna aktivna sestavina vitamina E, zaradi tega je α-tokoferol sinonim vitaminu E. Kemijsko je vitamin E zmes med seboj podobnih spojin, ki so metilni derivati tokoferola in se razlikujejo le po položaju in številu metilnih skupin na benzenovem obroču. Tako ločimo α, β, γ, δ tokoferole in α, β, γ, δ tokotrienole, ki oboji izkazujejo antioksidativne lastnosti in so znani po tem, da ščitijo nenasičene maščobne kisline pred oksidacijo.

Vitamin E je kot celični antioksidant nujno potreben za žive organizme, saj preprečuje spontano oksidacijo močno nenasičenih maščobnih kislin v lipidnih membranah ter ščiti pred oksidacijo še druge biološko aktivne spojine, kot so vitamin A, ubikinon, hormoni in encimi. Med procesom oksidativnih sprememb v maščobah tvori fenoksilne radikale (E[•]), ki zaključujejo radikalno reakcijo.



(RO₂[•] + E[•] → stabilne spojine) (Rudan-Tasič, 2000).

Vir naravnih tokoferolov so rastlinska olja – sojino olje, palmino olje ter olje pšeničnih kalčkov. Živalske maščobe in ribje olje praktično ne vsebujejo tokoferolov, zaradi česar so veliko manj obstojne v primerjavi z rastlinskimi maščobami (Skvarča, 2000). Da pa bi živalskim maščobam preprečili oksidacijo in podaljšali rok uporabe, se dodaja α-tokoferol v dodatku s sinergisti. Dokazano je da na tak način lahko npr. podvojimo rok uporabe svinjske masti (zmes α-tokoferola, askorbil palmitata in citronske kisline) (Rudan-Tasič, 2000).

3 MATERIALI IN METODE DELA

3.1 MATERIAL IN NAČRT DELA

Osnovni material za izvedbo poskusa so bile paštete, narejene z različnimi dodatki CoQ₁₀, α-tokoferola in askorbinske kisline (preglednica 2). Na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil smo v štirih serijah izdelali dvaintrideset eksperimentalnih skupin jetrnih pašet. Osnovne sestavine za proizvodnjo pašet so bile prašičje meso, jetra, voda, maščoba, začimbe in nitritna sol. Torej, uporabili smo prašičje pleče brez kosti, slanino in prašičja jetra iz podjetja Mesnine Štajerske d.o.o., CoQ₁₀ iz Kemijskega inštituta v Ljubljani ter antioksidanta, askorbinsko kislino (Riedel-de Haën, 33034) in α-tokoferol (Fluka, 95240).

Preglednica 2: Skupine jetrnih pašet na osnovi različnih dodatkov

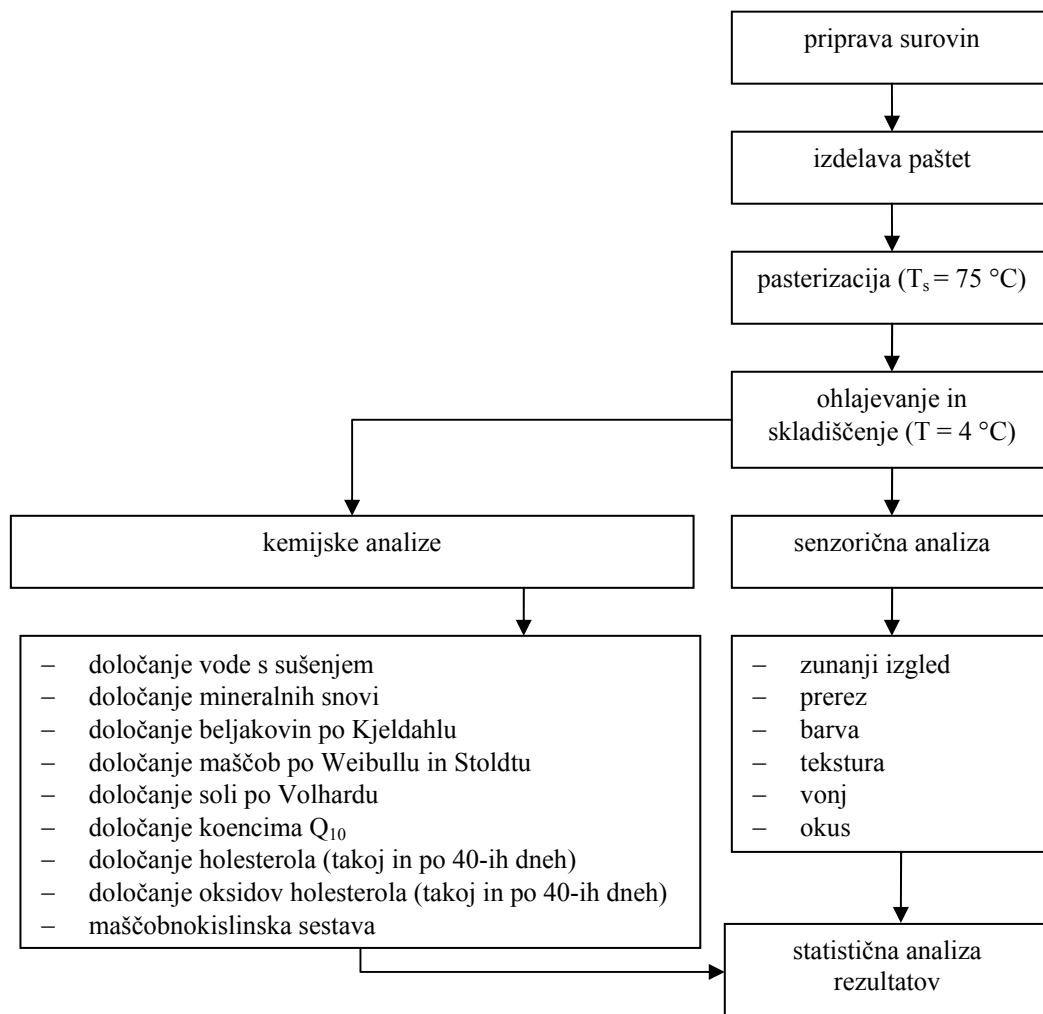
Oznaka pašet	Dodatki in njihova količina
kontrola	ni dodatkov
AA	askorbinska kislina 2g/kg
Q	CoQ ₁₀ 200 mg/kg
α-t	α-tokoferol 200 mg/kg
AA+Q	askorbinska kislina 2g/kg + CoQ ₁₀ 200 mg/kg
α-t+Q	α-tokoferol 200 mg/kg + CoQ ₁₀ 200 mg/kg
α-t+AA	α-tokoferol 200 mg/kg + askorbinska kislina 2g/kg
α-t+AA+Q	α-tokoferol 200 mg/kg + askorbinska kislina 2g/kg + CoQ ₁₀ 200 mg/kg

Jetrne paštete so bile izdelane po recepturi iz učbenika Tehnologije mesa in mesnin I. (Gašperlin in Polak, 2010), razvidni iz preglednice 3.

Preglednica 3: Receptura za izdelavo jetrne pašetete

Osnovne sestavine	delež (%)
maščoba	12,92
prašičje meso	34,45
prašičja jetra	21,54
voda	25,8
aditivi	
nitritna sol	1,33
Na-kazeinat	1,70
mleko v prahu	0,95
začimbe	
majaron	0,14
začimbna mešanica	0,19
pražena čebula	0,95

Po polnjenju pašetne mase v steklene kozarce je sledila pasterizacija pašet do središčne temperature 75 °C ter ohlajevanje in skladiščenje pri temperaturi 4 °C. Na pašetah smo opravili vrsto kemijskih analiz, pri čemer smo določili vsebnost CoQ₁₀, holesterola in oksidov holesterola, maščobnokislinsko sestavo ter osnovno kemijsko sestavo jetrne pašetete (slika 6). Senzorične lastnosti je s skrajšanim analitičnim testom ocenil štiričlanski panel izkušenih preizkuševalcev. Vsebnost holesterola in oksidov holesterola smo določili še po 40-tih dneh skladiščenja. Vrednosti, ki smo jih dobili v poskusu, smo uredili in statistično analizirali.



Slika 6: Shematski prikaz načrta poskusa

3.2 TEHNOLOGIJA IZDELAVE JETRNIH PAŠTET

3.2.1 Priprava mase za pašteto

Pašteto smo izdelali v štirih proizvodnih ponovitvah s končno maso 6 kg.

Odtehtane surovine – meso, vodo ter polovico nitritne soli smo dali v lonec ter ob stalnem mešanju, s katerim smo preprečili lokalno pregretje, segreli do temperature 80 °C. Posebej smo segreli tudi slanino in vse segrete surovine prenesli v kuter (Fotosa, Tip C-20-T, Španija), dodali še ostale dodatke (Na-kazeinat, mleko v prahu in začimbe) ter ob mešanju spremljali temperaturo.

Jetra, ki smo jih pred tem razdeli in premešali z drugo polovico nitritne soli, smo dodali mesni masi šele, ko je dosegla temperaturo 40 °C ter še dalje homogenizirali približno 4 minute, da smo dosegli enakomerno porazdelitev ter homogeno maso.



Slika 7: Kuter (Fotosa, Tip C-20-T, Španija)

3.2.2 Priprava skupin

Po končani pripravi osnovne mase, smo le-to razdelili na osem delov po 0,75 kg, v katere smo dodali dodatke/antioksidante po navodilih iz preglednice 2.

Prva skupina je bila kontrolna skupina oz. slepi poskus (v nadaljevanju kontrola), ki je bila narejena brez dodatkov/antioksidantov: iz kutra smo vzeli 0,75 kg mesne mase, jo prenesli v mešalnik (Stephan UMC5 electronic) in dodali 35 g maščobe. Maso smo dve minuti homogenizirali, prenesli v steklene kozarčke, ki smo jih zatesnili s pokrovčki in ustrezno označili. Pri pašteti z dodano askorbinsko kislino (oznaka AA) je bil postopek enak, le da smo skupaj z maščobo dodali tudi askorbinsko kislino. Dodatke smo dodajali skupinam paštet kot je prikazano v preglednici 2.

Napolnjene in označene kozarčke smo toplotno obdelali s postopkom pasterizacije v konvektomatu (Rational Selfcooking Center) do središčne temperature 75°C. Po toplotni obdelavi smo paštete ohladili do sobne temperature, sledilo pa je shranjevanje v hladilniku na 4 °C za 24 ur. Nato smo paštete senzorično in kemijsko analizirali.

3.3 METODE

3.3.1 Določanje vsebnosti CoQ₁₀ v pašteti

Za določanje CoQ₁₀ smo uporabili modificirano metodo po Polak in sod. (2011).

Ekstrakcija

Odtehtali smo 2 g (\pm 0,001 g) vzorca paštete v 50 ml centrifugirko (Sarstedt, 62.548.004) in dodali 15 ml vode. Centrifugirke z vsebino smo 5 min močno stresali, nato smo jih za 15 min prenesli na ultrazvočno kopel (Bransonic 3510E-DTH, Branson, Nemčija). Potem smo v vsako centrifugirko (Sarstedt, 62.548.004) dodali 25 ml organskega topila dietiletra (Merck, 1.00921), ponovno stresali 5 min in prenesli za 15 min na ultrazvočno kopel (Bransonic 3510E-DTH, Branson, Nemčija).

Nato smo s centrifugiranjem (Eppendorf, centrifuge 5810) pri 1750 \times g in času 6 min ločili organsko in vodno fazo. 20 ml organske faze smo prenesli v 100 ml steklene bučke z okroglim dnom (Lenz, 3.0014.37). V centrifugirke (Sarstedt, 62.548.004) s preostalo vsebino smo ponovno dodali 25 ml dietiletra (Merck, 1.00921) in celoten postopek

ekstrakcije ponovili. 20 ml organske faze smo ponovno prenesli v bučke k organski fazi prve ekstrakcije.

Odporevanje topila

Po končani ekstrakciji smo na vakuumskem rotavaporju (Büchi, Rotavapor R-114 Vac[®] V-500, Švica) topilo odporevali (program dietileter, pogoji: 636 mbar, 43 °C, 15 min). Suh preostanek v bučki smo raztopili v 2 ml heksana (Merck, 1.04371) in tako pripravili vzorec za ekstrakcijo s trdno fazo (Solid Phase Extraction – SPE).

SPE postopek

Za SPE smo uporabili kolono Supelclean[™] ENVI[™] Florisil (Supelco, 57053), ki smo jo najprej kondicionirali s 3 ml heksana (Merck, 1.04371) (eluat zavržemo). Nato smo na kolono uvajali predhodno pripravljen vzorec s hitrostjo približno 2 ml/min (eluat zavržemo), sledilo je izpiranje s 3 ml heksana (Merck, 1.04371) (eluat zavržemo). V naslednji fazi pa sledi zbiranje eluata v čisto epruveto, in sicer s spiranjem kolone s 5 ml raztopine heksan (Merck, 1.04371) : dietileter (Merck, 1.00921) (3 : 1). Kolono smo na koncu osušili v pretoku zraka.

Redčenje

Epruvete z vzorci smo prepihali z dušikom in v suhi ostanek dodali 5 ml 2-propanola (Merck, 1.00998). Vsebino smo temeljito premešali na stresalniku (IKA minshaker MS2). Sledilo je redčenje (R = 50). 20 μ l pripravljenega vzorca smo prenesli v majhne vialo in dodali 980 μ l 2-propanola (Merck, 1.00998). Tako smo vzorce pripravili za nadaljnjo analizo s tekočinsko kromatografijo sklopljeno z masnim spektrometrom (LC-MS).

Pogoji določanja CoQ₁₀ z LC-MS

Vsebnost CoQ₁₀ smo določili s HPLC sistemom Agilent 1100, sestavljenim iz gradientne črpalke (Agilent 1100, G1312A), vakuumskega razplinjevalnika (Agilent 1100, G1379A), avtomatskega podajalnika (Agilent 1100, G1330B) in termostata za kolono (Agilent 1100, G1316A). Pri tem smo uporabili kolono Gemini C18 (3 μ m, 150 mm \times 2 mm i. d.) firme Phenomenex (Torrance, CA, ZDA, 00F-4439-BO).

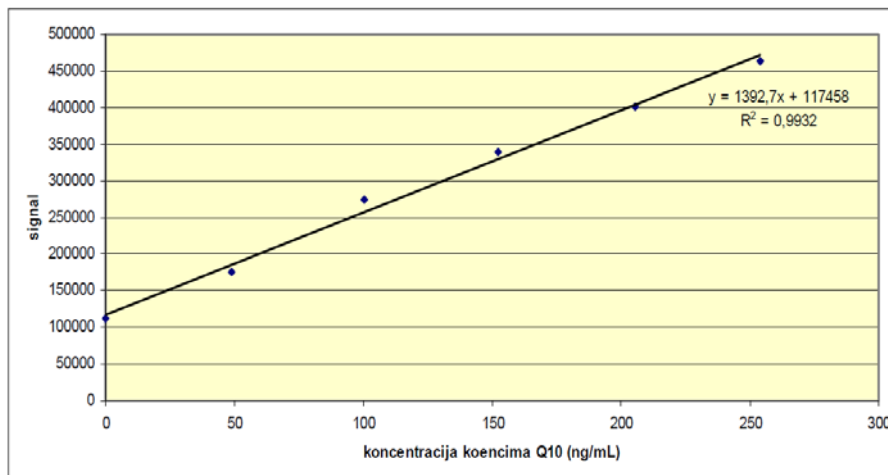
Vsebnost CoQ₁₀ smo določili s primerjavo retenzijskega časa in m/z ([M+H]⁺ = 864,4) standarda CoQ₁₀ (Sigma, C9538). Kromatografski pogoji so bili naslednji: pretok 0,25 ml/min; izokratsko z mešanico mobilne faze acetonitril (Merck, 1.000309): 2-propanol (Merck, 1.00998) (60 : 40), volumen iniciranja pa je bil 15 μ l. Temperatura, pri kateri je kromatografija potekala, je bila 25 °C.

Kot detektor smo uporabili masni spektrometer (Micromass Quattro micro[®] API, Waters, ZDA) z elektrorazpršilno ionizacijo (Electrospray Ionization – ESI). Deloval je pri napetosti vhodne leče 63 V, temperaturi izvora 120 °C in napetosti kapilare 4,0 kV v pozitivnem načinu ionizacije (ESI⁺). Razpršilni plin dušik, je imel temperaturo 350 °C in pretok 400 l/h. Plin vhodne leče (dušik) je imel pretok 50 l/h. Detekcija na masnem detektorju je potekala v SIR (Selected Ion Recording) načinu pri m/z = 864,4 [M + H].

Priprava umeritvene krivulje

Za kvantitativno določanje CoQ₁₀ smo uporabili standard Sigma (C9538). V 10 ml bučko smo odtehtali 4,9 mg (± 0,01 mg) standarda CoQ₁₀ (Sigma, C9538) in s heksanom dopolnili do oznake. Tako smo pripravili standardno raztopino.

Za umeritveno krivuljo smo uporabili metodo standardnega dodatka. V izbrani vzorec paštete smo odpipetirali različne volumne (0, 100, 200, 300, 400 in 500 µl) predhodno pripravljene standardne raztopine CoQ₁₀ in naprej postopali enako kot z vzorci.



Slika 8: Umeritvena krivulja za določanje CoQ₁₀ v pašteti (Koren, 2009)

Izračun vsebnosti koencima Q₁₀

$$C_{Q_{10}} (\mu\text{g} / \text{g}) = \frac{A_{Q_{10}}}{F_{um} \times m_{vz}} \times 100$$

...(2)

A_{Q₁₀} = površina pod vrhom za koencim Q₁₀

F_{um} = faktor naklona umeritvene krivulje

m_{vz} = masa vzorca (pašteta) v g

3.3.2 Določanje vsebnosti oksidov holesterola in holesterola v pašteti

Uporabili smo modificirano metodo po Ubhayasekera in sod. (2004). Metodo sestavlja faza hladne sponifikacije, ekstrakcije, postopek SPE in ločbe oksisterolov z tekočinsko kromatografijo s tandemskim masnim spektrometrom (LC-MS/MS).

Sponifikacija

V elenmajerice s teflonskim pokrovčkom (Lenz, 3.0251.37) smo odtehtali 2 g (±0,001 g) paštete. Dodali smo 3 ml metilen klorida (CH₂Cl) (Merck, 1.06044) in 7 ml 1 M raztopine KOH (Merck, 1.05033) v 96 % etanolu (Merck, 1.00971). Vsebino smo temeljito premešali in jo nato pustili mešati na magnetnem mešalu še 18-20 ur pri sobni temperaturi.

Ekstrakcija

Ves pripravljen vzorec smo prenesli v 50 ml centrifugirke (Sarsted, 62.548.004) in dodali 10 ml destilirane vode in 10 ml dietiletera (Merck, 1.00921). Vsebinsko smo temeljito premešali in dali za 15 min na ultrazvok (Bransonic 3510E – DTH, Branson, Nemčija) in nato na centrifugo (Eppendorf, centrifuge 5810) ($1700 \times g$ za 6 min). Polarna in nepolarna faza se ločita. Spodnjo polarno fazo smo v večji meri odstranili. V organsko fazo, ki je ostala v centrifugirki, smo dodali 5 ml 0,5 M KOH (Merck, 1.05033) v destilirani vodi, temeljito premešali in ponovno tretirali na ultrazvoku in centrifugi pri enakih pogojih. Ob ločitvi obeh faz smo ponovno odstranili spodnjo polarno fazo in v ostanek dodali 5 ml destilirane vode. Premešali smo in ponovno tretirali na ultrazvoku in centrifugi. Po ločitvi faz smo previdno odpipetirali 5 ml zgornje organske faze v temne vialice in vsebinsko preprihali z dušikom, da smo odparili topilo. Suh preostanek smo raztopili v 1 ml raztopine heksan (Merck, 1.04371) : dietileter (Merck, 1.00921) (75 : 25) in tako smo vzorec pripravili za postopek ločevanja s SPE postopkom.

SPE postopek

Uporabili smo kolono Strata SI-1 (Silica, 8B-S012-HBJ). Najprej smo kolono kondicionirali z 2,5 ml heksana (Merck, 1.04371) (eluat zavržemo), nato smo na kolono uvajali ves predhodno pripravljen vzorec in pazili, da je zaradi boljše vezave holesterola in oksidov holesterola počasi potoval skozi kolono (eluat zavržemo). Nato smo kolono izpirali z 2,5 ml heksana (Merck, 1.04371) in 2,5 ml raztopine heksan (Merck, 1.04371) : dietileter (Merck, 1.00921) (90 : 10), da smo izprali neželene komponente (eluat zavržemo). Nato smo kolono osušili v pretoku zraka. Sledila je zadnja faza, kjer smo kolono spirali z 2 ml mobilne faze heksan (Merck, 1.04371) : dietileter (Merck, 1.00921) (60 : 40) in eluat lovili v epruveto.

Pogoji določanja z LC-MS/MS

Vsebnost holesterola in hidroksisterolov smo določili s HPLC sistemom Agilent 1100, sestavljenim iz binarne gradientne črpalke (Agilent 1100, G1312A), vakuumskega razplinjevalnika (Agilent 1100, G1379A), avtomatskega podajalnika (Agilent 1100, G1330B) in termostata za kolono (Agilent 1100, G1316A). Uporabili smo kolono Kinetex C18 (2,6 μm, 100 mm × 2,1 mm i.d.) firme Phenomenex. Vsebnost oksisterolov smo določili s primerjavo retencijskih časov in prehodov posameznih standardov: holesterol (Merck, C-8667) (7,81 min; 369.18 >147.22), 25-hidroksiholesterol (Sigma, H-1015) (2,75 min; 367.22 >147.15), 5α-holesten (Merck, 8.41513) (8,32 min; 371.27 >149.26), 7β-hidroksiholesterol (Sigma, H6891) (3,90 min; 367.22 >145.15) in 20α-hidroksiholesterol (Sigma, H6378) (3,13 min; 367.22 >147.15).

Kromatografija je potekala z gradientom pri pretoku 0,40 ml/min. Mobilni fazi sta bili A: H₂O in B: acetonitril (Merck, 1.00030). Volumen injiciranja je bil 10 μl.

Kot detektor smo uporabili masni spektrometer (Micromass Quattro micro® API, Waters, ZDA) z elektrorazpršilno ionizacijo (ESI). Deloval je pri naslednjih pogojih: napetost vhodne leče 30 V, temperatura izvora 120 °C in napetost kapilare 3,2 kV v pozitivnem načinu ionizacije (ESI⁺). Razpršilni plin dušik je imel temperaturo 350 °C in pretok 400 l/h. Plin vhodne leče (dušik) je imel pretok 50 l/h. Detekcija na masnem detektorju je potekala v MRM (angl.: *Multi Reaction Monitoring*) načinu pri napetosti trkalne celice 30 V in tlaku argona 3×10^{-3} mbar.

Obdelava podatkov je sledila v programu Quantify v MassLynx™ V4.0.

Izračun

Vsebnost holesterola in posameznih hidroksisterolov (mg_i/100 g vzorca) smo izračunali iz njihovih površin kromatografskih vrhov ter mase holesterola (masa, ki smo jo določili s LC-MS/MS analizo za posamezen vzorec) in faktorja odzivnosti za posamezen hidroksisterol.

Vsebnost holesterola in hidroksisterolov smo računali po naslednji formuli:

$$m_{hs} = \frac{A_{hol} \times m_{hol}}{A_{hs} \times F} \quad \dots(3)$$

A_{hol} površina hromatografskega vrha holesterola
m_{hol} masa holesterola, ki smo jo določili s HPLC
A_{hs} površina kromatografskega vrha oksidov holesterola
F faktor odzivnosti

3.3.3 Določanje maščobnokislinske sestave

Maščobnokislinsko sestavo paštete smo določili z metodo modificirano po Park in Goinsu (1994).

Odtehtali smo 0,2 (0,001 g) vzorca paštete v epruvete s pokrovčki na ovoj (Assistent, 976). Sledil je dodatek 200 µl metilen klorida (CH₂Cl₂) (Merck, 1.06044) in 3 ml 0,5 M sveže pripravljene natrijevega hidroksida (NaOH; Merck, 1.06498) v metanolu (Merck, 1.06007). Epruvete smo tesno zaprli s teflonskimi pokrovčki in jih dobro premešali. Vzorce smo 15 minut segrevali v termobloku (VLM EC1) pri 90 °C ter jih vmes večkrat premešali. Po segrevanju je sledilo hlajenje v ledeni vodni kopeli. Ohlajeni zmesi smo dodali 3 ml 14 % BF₃ (Sigma, B1252) v metanolu (Merck, 1.06007), dobro premešali in ponovno segrevali v termobloku (VLM EC1) 15 minut pri 90 °C. Sledilo je hlajenje na sobno temperaturo (23 °C). Nato smo dodali 3 ml destilirane vode in 2 ml heksana (Merck 1.04371). Epruvete smo nato močno stresali 1 minuto, da je prišlo do čim boljše ekstrakcije metilnih estrov maščobnih kislin (MEMK) iz vodne v nepolaro heksansko fazo. Sledilo je centrifugiranje (Eppendorf, centrifuge 5810) 10 min pri 2000 × g. Po centrifugiranju smo previdno odpipetirali zgornjo heksansko fazo v penicilinke in 1 µl vzorca injicirali v plinski kromatograf s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID).

Plinska kromatografija

Vsebnost in delež posameznih maščobnih kislin (MK) smo določili s plinsko kromatografijo na plinskem kromatografu Agilent Technologies 6890, s plamensko ionizacijskim detektorjem (FID). Uporabili smo kapilarno kolono SP™-2380 (Supleco, 24111) (60m × 0,25mm × 0,2 µm).

Ločevanje in detekcija maščobnih kislin sta potekali po sledečem temperaturnem programu: 150 °C (4 min), 4 °C/min do 180 °C (5 min), 3 °C/min 240 °C (2 min). Ostali pogoji so bili:

- temperatura injektorja: 250 °C
- temperatura detektorja FID: 280 °C
- injektor: split:splitless: 1:30, volumen 1,0 μl
- nosilni plin: He 2,3 ml/min
- maskirni plin: N₂ 45 ml/min
- plin detektorja H₂ 40 ml/min
- sintetični zrak (21% O₂) 450 ml/min

Za določitev in ovrednotenje rezultatov smo uporabili naslednje standarde metilnih estrov maščobnih kislin (MEMK): standardno mešanico NuChehk 85 Prep. Inc, standardno mešanico NuChehk 68 D Prep. Inc in standardno mešanico FAME Mix C4-C24 (Supelco, 18919-1AMP).

Določanje faktorja odzivnosti (Rf) plamensko ionizacijskega detektorja (FID)

Faktor odzivnosti detektorja (Rf) je potrebno določiti za natančno kvantitativno ovrednotenje kromatogramov. Določimo ga s standardno mešanico (Nu Check 85 Prep. Inc), kjer so znani utežni % posameznih MK.

$$Rf = \frac{ut.\%_{posam.MEMK} \times \sum_{i=1}^n A_i}{A_i \times 100 ut.\%} \quad \dots(4)$$

A_i = površina posameznega MEMK-standarda

ut. % posameznih MEMK v Nu Check 85 Prep. Inc znaša 3,03, razen za metilne estre heksadekanojske (palmitinske) MK, kjer znaša 6,06.

Določanje konverzijskega faktorja (FA_i) za posamezno MK

Faktor za pretvorbo MEMK v MK (FA_i) smo določili po sledeči formuli

$$FA_i = \frac{MrMK_i}{MrMEMK_i} = \frac{MrMK_i}{MrMK_i + 14} \quad \dots(5)$$

MrMK_i = molska masa posamezne maščobne kisline

MrMEMK_i = molska masa posameznega metilnega estra maščobnih kislin, ki se od MrMK_i razlikuje za Mr (CH₂) skupine = 14

Izračun utežnih deležev maščobnih kislin (ut. %)

Utežni delež MK v vzorcu smo izračunali iz relativne površine vrha posamezne MK na kromatogramu (A_i), z upoštevanjem faktorja odzivnosti detektorja (Rf_i) ter konverzijskega faktorja (FA_i) pretvorbe MEMK v MK.

$$ut.\% MK = \frac{(Rf_i \times FA_i \times A_i)}{\sum_{i=1}^n (Rf_i \times FA_i \times A_i)} \times 100 \quad \dots(6)$$

A_i = površina posamezne maščobne kisline

Rf_i = faktor odzivnosti detektorja za posamezno maščobno kislino

FA_i = konverzijski faktor za posamezno maščobno kislino

3.3.4 Določanje vsebnosti maščobe v pašteti in mesu po Weibullu in Stoldt

Vsebnost maščob smo določili po uradnem postopku opisanem v AOAC Official Method 991.361 Fat (Crude) in Meat and Meat Product (AOAC 991.361, 1997).

3.3.5 Določanje vsebnosti beljakovin v pašteti in mesu po Kjeldahlu

Vsebnost beljakovin smo določili po uradnem postopku, ki je opisan v AOAC Official Method 928.08 Nitrogen in Meat Kjeldahl Method (AOAC 928.08, 1997).

3.3.6 Določanje vsebnosti vode v pašteti in mesu s sušenjem

Vsebnost vode smo določili po uradnem postopku opisanem v AOAC Official Method 950.46 Moisture in Meat (AOAC 950.40, 1997).

3.3.7 Določanje vsebnosti skupnih mineralnih snovi v pašteti in mesu

Vsebnost skupnih mineralnih snovi smo določili po uradnem postopku opisanem v AOAC Official Method 920.153 Ash of Meat (AOAC 920.153, 1997).

3.3.8 Določanje vsebnosti soli v pašteti in mesu po Volhardu

Približno 10 g ($\pm 0,01$ g) zmlatega in homogeniziranega vzorca zatehtamo v 100 ml erlenmajerico z obrusom. Dodamo 50 ml destilirane vode in magnet za magnetno mešalo. Erlenmajerico brez zamaška postavimo na magnetno mešalo za 20 minut in segrevamo pri temperaturi 80 °C (mešanje hitrost 7, segrevanje 9). Po ohladitvi pobereemo magnetni mešalček, ga speremo z destilirano vodo ter dodamo po 10 ml Carrezove raztopine I in II (Merck, 1.08883), da se beljakovine oborijo, nato dopolnimo do 100 ml in premešamo. Ko se oborina sesede, jo filtriramo skozi nagubani filtrirni papir (Satorius, tefnični filter papir, 388). Filtriramo ves vzorec. Nekaj prvih ml filtrata odstranimo, 10,0 ml popolnoma bistrega filtrata pa s pipeto odpipetiramo v 250 ml erlenmajerico, dodamo 20,0 ml natančno odmerjene 0,1 M raztopine srebrovega nitrata (Merck, 1.09081), 10 ml 10 % dušikove(V) kisline (Carlo Embra, 408022) in 5 ml etra (Merck, 1.00921). To premešamo in ko se tekočina zbistri, dodamo 5 ml raztopine amonijevega ferisulfata (Merck, 1.03776), ostanek srebrovega nitrata pa titriramo z 0,1 M raztopino amonijevega tiocianata (NH₄CNS) (Merck, 1.01213), dokler se ne pokaže obstojna rdečkasta barva. Iz oborjene množine srebrovega nitrata izračunamo vsebnost natrijevega klorida.

Slepi poskus: V erlenmajerico odmerimo 10 ml destilirane vode, dodamo 20 ml natančno odmerjene 0,1 M raztopine srebrovega nitrata (Merck, 1.09081), 10 ml 10 %-ne dušikove kisline (Carlo Embra, 408022) in 5 ml dietiletra (Merck, 1.00921). To premešamo in ko se tekočina zbistri, dodamo 5 ml raztopine amonijevega ferisulfata (Merck, 1.03776), ostanek srebrovega nitrata pa titriramo z 0,1 M raztopino amonijevega tiocianata (NH₄CNS) (Merck, 1.01213), dokler se ne pokaže obstojna rdečkasta barva.

$$w_{NaCl} = \frac{(V_a - V_b) \times c_{NH_4SCN} \times 58,46}{masa\ vzorca} \dots(7)$$

W_{NaCl} masni delež natrijevega klorida (%)

V_a volumen raztopine NH₄CNS (ml) za titracijo slepega vzorca

V_b volumen raztopine NH₄CNS (ml) za titracijo vzorca

c_{NH_4SCN} molarna koncentracija NH₄CNS (mol/l)

Srebrovi in kloridni ioni reagirajo z množinskim razmerjem 1 : 1; zato 1 ml 0,1 M AgNO₃ odgovarja 0,005846 g NaCl (Ag⁺ + Cl⁻ → AgCl_(s))

3.3.9 Senzorična analiza

Strokovna komisija je s skrajšanim analitičnim testom, z 20-točkovnim ocenjevalnim zapisnikom za klobase s sistemom odbitnih točk, ocenila jedilne lastnosti vzorcev pašet. Pri tem lahko določen vzorec dobi največ 20 točk. Ocenjujemo zunanji izgled, sestavo prereza, barvo prereza, teksturo, vonj in okus. Pri tem sistemu ocenjevanja dobi zlato priznanje izdelek z najmanj 19 točkami, srebrno izdelek z 18 točkami in bronasto priznanje izdelek s 17 točkami (Karas, 2001). Tak ocenjevalni zapisnik največkrat uporabljamo pri ocenjevanju klobas in salam na raznih sejmih in tekmovanjih.

3.4 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Vrednosti opazovanih parametrov, smo vnesli v računalnik s programom Microsoft Excel 2000, nato smo s programskim paketom SAS/STAT (SAS Software, 1999) izračunali osnovne statistične parametre, kot so povprečje, standardni odklon, najmanjša in največja vrednost ter statistično obdelali podatke za posamezno opazovano lastnost. Za obdelavo podatkov z normalno porazdelitvijo po spodaj navedenem statističnem modelu smo uporabili postopek PROC GLM (General linear models). Za vrednotenje vpliva skladiščenja na vsebnost holesterola in oksidov holesterola pa smo uporabili postopek PROC TTEST (*t*-test v paru).

Za ugotavljanje vpliva dodatkov CoQ₁₀, askorbinske kisline in α-tokoferola (S) na kemijske, fizikalno-kemijske, instrumentalne in senzorične parametre pašet smo uporabili naslednjo relacijo:

$$y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + e_{ijk} \dots(8)$$

y_{ijk} – *ijk*-to opazovanje; μ – povprečna vrednost; S_i – vpliv dodatkov CoQ₁₀, askorbinske kisline in α-tokoferola; P_j – vpliv ponovitve; e_{ijk} – ostanek.

Srednje vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z Duncanovim testom in so primerjane pri 5 % tveganju. Pearsonovi korelacijski koeficienti med senzoričnimi in instrumentalnimi parametri so bili izračunani s postopkom PROC CORR (SAS Software, 1999).

4 REZULTATI

V nadaljevanju so podane preglednice z rezultati fizikalno-kemijske in senzorične analize s pripadajočimi komentarji statistične obdelave.

4.1 OSNOVNA KEMIJSKA SESTAVA

Rezultati kemijskih analiz v svinjski jetrni pašteti so prikazani v preglednici 4. Podane so povprečne vrednosti dveh ponovitev in dveh paralelnih določitev, intervali oziroma najmanjša in največja vrednost, standardni odkloni in koeficienti variabilnosti. Vsebnost CoQ₁₀ je bila določena v štirih paralelnih določitvah, maščoba pa v eni. Poleg kemijsko analiziranih sestavin (vode, maščob, beljakovin in skupnih mineralnih snovi) vsebuje preglednica še vsebnosti NaCl in CoQ₁₀. 100 g paštete vsebuje povprečno 64,4 g vode, 5,11 g mineralnih snovi, 15,78 g maščob in 13,81 g beljakovin. Najmanjše in največje vrednosti kažejo, da so analizirani vzorci pašet med seboj dokaj homogeni. Izjema je le CoQ₁₀, ki izkazuje največjo variabilnost (KV je 94 %), to je posledica različnih dodatkov te komponente v vzorce in ne naravne prisotnosti v surovini.

Preglednica 4: Rezultati kemijskih analiz pašet, izdelanih z različnimi dodatki antioksidantov, z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

Parameter	n	Vrednost			so	KV(%)
		povprečna	najmanjša	največja		
voda (%)	32	64,4	59,5	70,2	0,3	5
maščobe (%)	6	15,78	14,92	16,34	0,6	3,5
beljakovine (%)	32	13,81	12,71	14,91	0,7	5,3
skupne mineralne snovi (%)	32	5,11	4,86	5,84	0,2	4,6
NaCl (%)	32	1,54	1,48	1,6	0,03	2
CoQ ₁₀ (mg/100g)	64	9,82	0,59	31,17	9,18	94

n – število obravnavanj v poskusu, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.

V preglednici 5 je podrobneje razčlenjen vpliv dodatka antioksidantov na kemijske parametre pašet. Na splošno lahko rečemo, da dodatek antioksidantov vpliva značilno le na vsebnost vode ($p \leq 0,05$) in CoQ₁₀ ($p \leq 0,001$). Značilno največja vsebnost vode je bila v skupini pašet Q (v katero smo dodali CoQ₁₀), nekoliko manjšo (neznačilno) vsebnost smo določili v skupinah α -t+AA+Q, α -t+AA ter α -t+Q in AA, značilno najmanjšo pa v kontrolnem vzorcu in vzorcih α -t in AA+Q. Vsebnost CoQ₁₀ je statistično značilno najmanjša v skupinah brez dodanega CoQ₁₀: kontrolni skupini ter skupinah AA in α -t+AA, največja pa v skupinah z dodanim CoQ₁₀: Q, AA+Q, α -t+Q in α -t+AA+Q.

Preglednica 5: Vpliv dodatka antioksidantov na kemijske parametre jetrnih paštēt (Duncanov test, α = 0,05)

Dodatek	Parameter (%)					
	voda	maščobe	beljakovine	skupne mineralne snovi	NaCl	CoQ ₁₀ (mg/100 g)
kontrola	62,4 ±0,20bc	16,13 ±0,24	13,88 ±0,52	5,11 ±0,19	1,53 ±0,02	2,39±1,55b
AA	65,1 ±0,36abc	15,63 ±1,00	13,66 ±0,79	5,02 ±0,12	1,56 ±0,02	2,58±1,54b
Q	67,3 ±0,28a	15,57 ±0,27	13,74 ±0,71	5,05 ±0,11	1,55 ±0,03	16,89±9,27a
α-t	61,5 ±0,17c		14,18 ±0,85	5,23 ±0,28	1,56 ±0,03	2,63±1,36b
AA+Q	61,3 ±0,20c		13,58 ±0,62	5,28 ±0,42	1,53 ±0,01	16,67±8,97a
α-t+Q	64,7 ±0,20abc		13,87 ±1,00	5,02 ±0,04	1,50 ±0,01	16,87±9,10a
α-t+AA	66,7 ±0,20ab		13,82 ±0,76	5,07 ±0,23	1,53 ±0,04	2,89±1,61b
α-t+AA+Q	66,0 ±0,38ab		13,75 ±1,02	5,12 ±0,32	1,54 ±0,04	16,74±6,11a
značilnost	*	nz	nz	nz	nz	***

značilnost: *** p ≤0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; ** p≤0,01 statistično visoko značilen vpliv; * p ≤0,05 statistično značilen vpliv; nz – p >0,05 statistično neznačilen vpliv; srednje vrednosti z različno črko (a,b,c,d,e,f,g,h,i) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo (p <0,05; značilnost razlik med dodatki antioksidantov). AA – askorbinska kislina, Q – CoQ₁₀, α-t – α-tokoferol, AA+Q – askorbinska kislina + CoQ₁₀, α-t+Q – α-tokoferol + CoQ₁₀, α-t+AA – α-tokoferol + askorbinska kislina, α-t+AA+Q – α-tokoferol + askorbinska kislina + CoQ₁₀.

4.2 VSEBNOST HOLESTEROLA IN OKSISTEROLOV

Rezultati kemijskih analiz vsebnosti holesterola in oksisterolov v svinjski jetrni pašteti so prikazani v preglednici 6. 100 g paštete vsebuje povprečno 60,52 mg holesterola in 12,08 mg oksisterolov. Najmanjše in največje vrednosti kažejo, da so analizirani vzorci paštēt glede vsebnosti holesterola dokaj homogeni, glede oksisterolov pa zelo nehomogeni. To kažejo tudi koeficienti variabilnosti, ki variirajo med 36 in 111 %

Preglednica 6: rezultati določanja vsebnosti holesterola in oksisterolov v jetrnih paštētah, izdelanih z različnimi dodatki antioksidantov, z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

Parameter (mg/100 g)	n	Vrednost			so	KV (%)
		povprečna	najmanjša	največja		
holesterol	119	60,52	55,1	67,8	2,9	4,9
25-hidroksi-holesterol	119	4,29	0	26,43	4,3	100
5α-holesten	119	3,35	0	28,75	3,8	114
7β-hidroksi-holesterol	119	0,83	0,27	1,84	0,3	36
20α-hidroksi-holesterol	119	3,61	0	20,65	4	111
vsota oksisterolov	119	12,08	1,65	42,03	9,4	78
delež (% na SH)	119	15,49	2,63	40,41	9,1	59

n – število obravnavanj v poskusu, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.

Preglednice 7, 8 in 9 prikazujejo vpliv dodanih antioksidantov in skladiščenja na vsebnost holesterola in oksidov holesterola v paštētah. Iz preglednic lahko povzamemo, da dodajanje antioksidantov ne vpliva značilno na vsebnost holesterola in oksisterolov (p >0,05). Skladiščenje pa značilno vpliva na vsebnost nekaterih individualnih oksisterolov (25α-hidroksiholesterol in 20α-hidroksiholesterol) in tudi skupne okside ter delež oksisterolov (preglednica 7 in 8).

Vsebnost skupnih oksisterolov se je v kontrolnem vzorcu v 40 dneh skladiščenja povečala za 2,6-krat, razlika je značilna (preglednica 8). Z dodatki Q in AA+Q se v primerjavi s kontrolno pašteto zmanjša obseg oksidacije – njihova vsebnost se poveča za 2,3-krat. Z dodatkom askorbinske kisline in α -tokoferola se vsebnost skupnih oksisterolov v 40-ih dneh bistveno poveča v primerjavi s kontrolnim vzorcem in sicer se poveča za 4,2- oz. 3,4-krat. Ostali antioksidanti oz. njihove kombinacije so tako rekoč neučinkoviti v primerljivi s kontrolo, ko antioksidantov ni dodanih. Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi, če pogledamo delež oksisterolov glede na skupni holesterol, razlika je le, da v tem primeru dodatka Q in AA+Q ne zmanjšata obsega oksidacije holesterola, ampak sta enako neučinkovita kot vse ostale kombinacije.

Torej, največji učinek antioksidantov na zmanjšanje oksidov holesterola v 40-ih dneh skladiščenja smo ugotovili v paštetah AA+Q in Q. V skupini AA in skupini α -t pride do neželenih rezultatov, kar lahko pripišemo dejstvu, da prevelika količina te-teh antioksidantov lahko deluje kot prooksidant.

Preglednica 7: Vpliv vrste dodanih antioksidantov na vsebnost holesterola, 25 α -hidroksiholesterola in holestana v jetrnih paštetah, takoj po izdelavi in po 40 dneh skladiščenja (Duncanov test, $\alpha = 0,05$)

Parameter (mg/100g)	holesterol		25 α -HC		holestan	
	takoj	40 dni	takoj	40 dni	takoj	40 dni
kontrola	61,00±0,57	60,70±0,54	1,37±0,84	7,71±7,34	2,44±0,94	3,08±2,38
AA	60,26±0,95	60,10±0,57	1,79±0,82	10,95±8,13	1,63±0,56	5,23±4,07
Q	60,39±0,67	59,73±1,81	2,30±1,04	7,62±3,30	1,90±1,68	2,56±2,20
α -t	63,35±3,73	61,86±5,26	1,58±0,51	5,77±2,74	2,27±0,36	8,26±7,19
AA+Q	60,70±3,75	58,90±1,24	1,62±0,80	4,69±3,39	2,16±0,99	3,90±4,70
α -t+Q	61,51±2,91	59,71±4,76	1,51±0,89	5,79±4,58	1,87±0,82	3,48±2,20
α -t+AA	60,89±3,16	56,10±2,30	2,00±0,44	4,65±2,50	1,89±1,04	7,18±8,91
α -t+AA+Q	61,20±5,01	59,30±4,76	1,91±0,66	6,89±4,58	2,36±0,96	3,28±2,20
znač.	nz	nz	nz	nz	nz	nz

Znač: * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; srednje vrednosti z različno črko (A,B) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik izdelavo in po skladiščenju); 25 α -HC – 25 α -hidroksiholesterol; holestan – 5 α -holesten; AA – askorbinska kislina, Q – CoQ₁₀, α -t – α -tokoferol.

Preglednica 8: Vpliv vrste dodanih antioksidantov in časa skladiščenja na vsebnost 7 β -hidroksiholesterola, 20 α -hidroksiholesterola, skupnih oksisterolov in njihov delež, preračunan na skupni holesterol v jetrnih paštetah, takoj po izdelavi in po 40 dnevih skladiščenja (Duncanov test, $\alpha = 0,05$)

Parameter (mg/100 g)	7 β -HC		20 α -HC		vsota oksisterolov		delež (% na SH)	
	takoj	40 dni	takoj	40 dni	takoj	40 dni	takoj	40 dni
kontrola	0,86 \pm 0,53	0,82 \pm 0,27	1,33 \pm 0,63	3,69 \pm 2,48	5,99 \pm 2,74	15,30 \pm 9,16	8,83 \pm 3,57	19,21 \pm 8,80
AA	0,93 \pm 0,40	0,87 \pm 0,25	1,35 \pm 0,63	7,16 \pm 5,43	5,71 \pm 0,97	24,20 \pm 12,30	8,63 \pm 1,34	27,42 \pm 10,42
Q	1,01 \pm 0,45	0,88 \pm 0,27	1,85 \pm 1,20	4,88 \pm 4,62	7,05 \pm 3,93	15,94 \pm 6,98	10,21 \pm 5,15	20,52 \pm 6,31
α -t	0,84 \pm 0,22	0,83 \pm 0,28	1,65 \pm 1,21	6,74 \pm 7,01	6,34 \pm 1,76	21,60 \pm 15,42	9,13 \pm 2,65	23,36 \pm 12,49
AA+Q	0,69 \pm 0,19	0,73 \pm 0,41	1,58 \pm 0,79	4,80 \pm 5,20	6,05 \pm 1,69	14,12 \pm 8,91	9,06 \pm 2,41	18,32 \pm 9,15
α -t+Q	0,73 \pm 0,34	1,00 \pm 0,23	1,17 \pm 0,79	5,67 \pm 3,15	5,28 \pm 0,99	15,94 \pm 9,07	7,88 \pm 1,29	20,31 \pm 7,42
α -t+AA	0,84 \pm 0,21	0,70 \pm 0,14	1,77 \pm 0,59	4,52 \pm 3,25	6,50 \pm 0,97	17,05 \pm 11,27	9,63 \pm 1,14	20,92 \pm 9,86
α -t+AA+Q	0,75 \pm 0,18	0,84 \pm 0,23	1,66 \pm 0,75	7,32 \pm 3,15	6,68 \pm 1,00	18,34 \pm 9,07	9,87 \pm 1,59	22,78 \pm 7,42
znač.	nz	nz	nz	nz	nz	nz	nz	nz

Znač: * $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv; * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz - $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; 7 β -HC – 7 β -hidroksiholesterol; 20 α -HC – 20 α -hidroksiholesterol; SH – skupni holesterol; AA – askorbinska kislina, Q – CoQ₁₀, α -t – α -tokoferol; AA – askorbinska kislina, Q – CoQ₁₀, α -t – α -tokoferol.

Preglednica 9: Vpliv 40-dnevnega skladiščenja na povprečno vsebnost holesterola in oksisterolov v jetrnih paštetah, izdelanih z različnimi vrstami dodanih antioksidantov (t -test v paru)

Parameter (mg/100g)	izračunana razlika med začetno vrednostjo in vrednostjo po 40 dnevem skladiščenju							
	kontrola	AA	Q	α -t	AA+Q	α -t+Q	α -t+AA	α -t+AA+Q
holesterol	-0,3	0,16	0,66	1,49	1,8	-1,8	1,74	1,9
25-hidroksi-holesterol	-6,34*	-9,16*	-5,32**	-4,19**	-3,07*	-4,28***	-2,65*	-4,98*
5 α -holesten	-0,64	-3,6	-0,66	-5,99	-1,74	-1,61	-5,29	-0,92
7 β -hidroksi-holesterol	-0,04	0,07	0,12	0,01	-0,04	0,28*	0,14	-0,09
20 α -hidroksi-holesterol	-2,36*	-5,81*	-3,03	-5,09	-3,22	-4,5	-2,75	-5,66**
vsota oksisterolov	-9,31*	-18,49**	-8,85***	-15,26*	-8,08*	-10,66*	-10,55*	-11,66*
delež (% na SH)	-10,38*	-18,79**	-10,31***	-14,23*	-9,26*	-12,43**	-11,29*	-12,91**

Znač: *** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $p \leq 0,01$ statistično visoko z značilna razlika; * $p \leq 0,05$ statistično značilna razlika; AA – askorbinska kislina, Q – CoQ₁₀, α -t – α -tokoferol; SH – skupni holesterol.

4.3 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA

Preglednica 10: Rezultati maščobnokislinske sestave jetrnih pašet, izdelanih z različnimi dodatki antioksidantov, z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

Parameter (ut.% od SMK)	n	Vrednost			so	KV (%)
		povprečna	najmanjša	največja		
C8:0	64	0,04	0,03	0,04	0	11,2
C10:0	64	0,09	0,08	0,09	0	3,5
C12:0	64	0,32	0,29	0,37	0,03	8
C14:0	64	1,38	1,26	1,44	0,04	3
C14:1	64	0	0	0,01	0	561
C16:0	64	23,47	22,8	24,04	0,41	1,7
C16:1	64	2,25	2,08	2,31	0,05	2,3
C18:0	64	12,68	11,76	13,77	0,67	5,3
C18:1c-11	64	0,07	0	0,09	0,03	40,5
C18:1c-9	64	41,89	40,01	42,58	0,73	1,7
C18:2	64	12,88	11,63	15,74	0,88	6,9
C18:3, n-6	64	0	0	0,03	0,01	391
C20:0	64	0,17	0,16	0,21	0,01	6,1
C18:3, n-3	64	0,83	0,42	1,02	0,13	16
C20:1	64	0,9	0,6	0,97	0,07	8,3
C20:2	64	0,48	0,28	0,53	0,05	11,1
C22:0	64	0,06	0,02	0,16	0,04	75,5
C20:3, n-6	64	0,09	0	0,17	0,06	67,4
C20:3 + C20:4	64	1,13	0,36	1,27	0,17	14,9
C22:1	64	0,04	0	0,76	0,16	455
C20:5	64	0,02	0	0,04	0,02	81,7
C24:0	64	0	0	0,02	0	427
C22:3	64	0,1	0	0,19	0,08	78,8
C24:1 + C22:4	64	0,08	0,02	0,19	0,07	84,4
C22:6	64	0,06	0,04	0,07	0,01	15,8
NMK	64	25,52	24,72	26,17	0,45	1,8
ENMK	64	45,14	42,95	46,49	0,87	1,9
VNMK	64	29,34	27,94	32,33	0,84	2,9
n-6	64	13,15	11,89	16,13	0,89	6,8
n-3	64	2,03	1,33	2,23	0,22	10,8
n-6/n-3	64	6,57	5,39	10,11	1,1	16,8
P/S	64	0,87	0,76	0,93	0,03	3,5
IA	64	0,23	0,21	0,24	0,01	3

n – število obravnavanj v poskusu, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.

V pašteti smo določili 25 maščobnih kislin. Od tega je bilo:

- 9 nasičenih: kapilarna (C8:0), kaprinska (C10:0), lavrinska (C12:0), miristinska (C14:0), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), eikozanojska (C20:0), dokozanojska (C22:0), tetrakozanojska (C24:0) MK;
- 7 enkrat nenasičenih: miristooleinska (C14:1), palmitooleinska (C16:1), oleinska (C18:1n-9C), vakcenska (C18:1n-11C), gadoleinska (C20:1), eruka (C22:1) in nevronska (C24:1);

- 9 večkrat nenasičenih: linolna (C18:2), γ-linolenska (C18:3n6C), α-linolenska (C18:3n-3C), eikozadienojska (C20:2), eikozatrienojska (C20:3n-6C), arahidonska (C20:4), eikozapentaenojska-EPK (C20:5), dokozatrienojska (C22:3), dokozaheksaenojska kislina-DHK (C22:6).

Preglednica 11: Vpliv vrste dodanih antioksidantov na maščobnokislinsko sestavo lipidov v jetrnih pašetah, izdelanih z različnimi vrstami dodanih antioksidantov (Duncanov test, α = 0,05)

Parameter (ut.% od SMK)	skupina								
	kontrola	AA	Q	α-t	AA+Q	α-t+Q	α-t+AA	α-t+AA+Q	z.
C8:0	0,04a	0,04ab	0,04b	0,04ab	0,04b	0,04ab	0,04b	0,04ab	*
C10:0	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	nz
C12:0	0,32	0,31	0,32	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32	nz
C14:0	1,39	1,38	1,38	1,37	1,39	1,39	1,37	1,38	nz
C16:0	23,62a	23,54ab	23,50ab	23,31bc	23,55ab	23,51ab	23,24c	23,49ab	*
C16:1	2,25	2,26	2,26	2,23	2,25	2,26	2,23	2,25	nz
C18:0	12,82	12,61	12,77	12,6	12,66	12,71	12,57	12,69a	nz
C18:1c-11	0,08a	0,08ab	0,06abc	0,08ab	0,08ab	0,05bc	0,06abc	0,04c	**
C18:1c-9	41,88	42,05	41,81	41,84	41,94	41,89	41,74	41,96ab	nz
C18:2	12,60c	12,76bc	12,78bc	13,25ab	12,73bc	12,76cb	13,39a	12,75bc	*
C18:3, n-6	0	0	0	0	0	0,01	0	0	nz
C20:0	0,16	0,17	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,16	nz
C18:3, n-3	0,83	0,77	0,85	0,84	0,84	0,83	0,82	0,85	nz
C20:1	0,9	0,89	0,9	0,9	0,88	0,91	0,89	0,91	nz
C20:2	0,46	0,47	0,49	0,46	0,49	0,49	0,49	0,49	nz
C22:0	0,04	0,05	0,04	0,09	0,04	0,06	0,07	0,07	nz
C20:3, n-6	0,1	0,09	0,11	0,03	0,1	0,08	0,09	0,08	nz
C20:3 + C20:4	0,99	1,03	1,17	1,17	1,15	1,16	1,17	1,17	nz
C22:1	0,19	0,09	0	0	0	0	0	0	nz
C20:5	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	nz
C24:0	0	0	0	0	0	0	0,01	0	nz
C22:3	0,04	0,13	0,13	0,06	0,1	0,14	0,12	0,11	nz
C24:1 + C22:4	0,13	0,06	0,06	0,11	0,08	0,05	0,06	0,08	nz
C22:6	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	nz
NMK	25,66	25,59	25,53	25,37	25,59	25,57	25,29	25,55abc	nz
ENMK	45,3	45,37	45,04	45,05	45,14	45,12	44,92	45,17abc	nz
VNMK	29,04c	29,04c	29,43abc	29,58ab	29,27bc	29,31bc	29,79a	29,28bc	**
n-6	12,87c	13,04bc	13,07bc	13,46ab	13,02bc	13,03bc	13,66a	13,01bc	*
n-3	1,90bc	1,88c	2,10a	2,08ab	2,07ab	2,08ab	2,07ab	2,10ab	*
n-6/n-3	7,05	7,19	6,26	6,53	6,32	6,3	6,67	6,24a	nz
P/S	0,88a	0,88a	0,87abc	0,86bc	0,87ab	0,87ab	0,85c	0,87ab	*
IA	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23ab	nz

značilnost: ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv; * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; srednje vrednosti z različno črko (a,b,c,d,e,f,g,h,i) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med dodatki antioksidantov). AA – askorbinska kislina, Q – CoQ₁₀, α-t – α-tokoferol, AA+Q – askorbinska kislina + CoQ₁₀, α-t+Q – α-tokoferol + CoQ₁₀, α-t+AA – α-tokoferol + askorbinska kislina, α-t+AA+Q – α-tokoferol + askorbinska kislina + CoQ₁₀.

Iz preglednice 10 je razvidno da ENMK predstavljajo največji delež MK v paštet, kar 45,14 ut. % vseh MK, sledijo VNMK z 29,34 ut. % ter NMK z 25,52 ut. %.

Med ENMK ima največji delež oleinska kislina C18:1c-9 z 41,9 %, sledi NMK palmitinska kislina C16:0 z 23,5 %, od VNMK ima največji delež linolna kislina C18:2 z 12,9 %.

P/S in IA razmerje sta prikazana v preglednici 10 in sta odvisna od maščobnokislinske sestave maščob. Razmerje P/S med VNMK in NMK nam pove ali so maščobe primerne za prehrano ljudi in naj ne bi bilo manjše od 0,5. V našem primeru je razmerje P/S znašalo 0,87. Medtem ko IA (indeks aterogenosti) upošteva vpliv specifičnih MK, naj bi bil manjši od 0,5. V našem primeru je ugoden in znaša 0,23.

V preglednici 11 je prikazan vpliv dodatka antioksidantov na maščobnokislinsko sestavo paštete. Statistično visoko značilno vplivajo na delež VNMK. Najvišjo vrednost smo določili v skupini, kjer sta bila dodana askorbinska kislina ter α -tokoferol, in sicer 29,79 ut. %. Najnižja vrednost je bila v kontrolni skupini ter v skupini z askorbinsko kislino in je zanašala 29,04 ut. %.

Med posameznimi VNMK posebej izstopa linolna kislina (C18:2), na vsebnost katere dodatki statistično značilno vplivajo. Najnižjo vrednost smo določili pri kontrolnem vzorcu in sicer 12,60 ut. %, sledi vzorec AA+Q z 12,73 ut. %. Najvišjo vrednost pa ima vzorec α -t+AA z 13,39 ut. %.

Kljub temu, da na skupne NMK in ENMK dodatek antioksidantov ne vpliva značilno, pa lahko pri nekaterih posameznih maščobnih kislinah opazimo določene razlike (preglednica 11). Antioksidanti značilno vplivajo na ENMK, katerih največji delež pripada vakcenski kislini (C18:1c-11), med NMK pa kapilarni kislini (C8:0) ter palmitinski kislini (C16:0).

4.4 SENZORIČNA ANALIZA S SKRAJŠANIM ANALITIČNIM TESTOM

Preglednica 12: Rezultati senzorične analize jetrnih pašt, izdelanih z različnimi dodatki antioksidantov, z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

Lastnost	n	Vrednost			so	KV(%)
		povprečna	najmanjša	največja		
zunanji izgled (2 točki)	32	1,36	1	1,5	0,2	16,8
sestava prerez (3 točke)	32	2,27	2	2,5	0,3	11,2
barva prereza (3 točke)	32	3	3	3	0	0
tekstura (4 točke)	32	3,3	3	3,5	0,2	7,6
vonj (3 točke)	32	2,97	2,5	3	0,1	4,1
okus (5 točk)	32	4,08	3,5	4,5	0,4	9,9
skupaj (20 točk)	32	16,97	16,5	17,5	0,4	2,1

n – število obravnavanj v poskusu, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.

Strokovna komisija, ki so jo sestavljali zaposleni na Biotehniški fakulteti, je ocenjevala vzorce pašt s skrajšanim analitičnim testom, z 20-točkovnim ocenjevalnim zapisnikom za klobase s sistemom odbitnih točk (priloga A). Ocenjevali so zunanji izgled (0-2 točki),

sestavo prereza (0-3 točke), barvo prereza (0-3 točke), teksturo (0-4 točke), vonj (0-3 točke) in okus (0-5 točk).

Rezultate senzorične analize smo statistično obdelali in predstavili v preglednicah 12 in 13. Iz preglednice 12 je razvidno, da je najbolj variabilna senzorična lastnost zunanji izgled, koeficient variabilnosti je kar 16,8 %, kar je posledica izločanja maščobe in oksidirana barva površine pri nekaterih vzorcih. Med dokaj variabilni lastnosti lahko štejemo tudi sestavo prereza in okus vzorcev, koeficient variabilnosti je bo med 11,2 in 9,9 %. Razlog za nehomogeno sestavo prereza je v luknjičavosti prereza, ki pa ni posledica dodatka antioksidantov, ampak ročnega polnjenja pašetne mase (rešitev bi bila uporaba vakuumske polnilke). Ocene za okus pa variira predvsem iz enega razloga – pojava kislega priokusa v primeru uporabe askorbinske kisline.

Preglednica 13: Vpliv vrste dodanih antioksidantov na senzorično kakovost jetrnih paštet, izdelanih z različnimi vrstami dodanih antioksidantov (Duncanov test, $\alpha = 0,05$)

Dodatek	Lastnost (točke)						
	zunanj izgled (2)	sestava prereza (3)	barva prereza (3)	tekstura (4)	vonj (3)	okus (5)	skupaj (20)
kontrola	1,50±0a	2,25±0,3	3,00±0	3,00±0c	3,00±0	4,50±0a	17,25±0,3
AA	1,50±0a	2,25±0,3	3,00±0	3,38±0,3ab	2,88±0,3	4,00±0bc	17,00±0,4
Q	1,00±0b	2,25±0,3	3,00±0	3,38±0,3ab	2,88±0,3	4,50±0a	17,00±0
α -t	1,38±0,3a	2,38±0,3	3,00±0	3,25±0,3abc	3,00±0	4,38±0,3ba	17,38±0,3
AA+Q	1,25±0,3ab	2,38±0,3	3,00±0	3,50±0a	3,00±0	3,63±0,3c	16,75±0,3
α -t+Q	1,38±0,3a	2,13±0,3	3,00±0	3,50±0a	3,00±0	3,75±0,3c	16,75±0,3
α -t+AA	1,38±0,3a	2,25±0,3	3,00±0	3,13±0,3bc	3,00±0	4,00±0,6bc	16,75±0,3
α -t+AA+Q	1,50±0a	2,25±0,3	3,00±0	3,25±0,3abc	3,00±0	3,88±0,3c	16,88±0,5
značilnost	*	nz	nz	*	nz	***	nz

značilnost: *** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv; ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv; * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; srednje vrednosti z različno črko (a,b,c,d,e,f,g,h,i) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med dodatki antioksidantov). AA – askorbinska kislina, Q – CoQ₁₀, α -t – α -tokoferol, AA+Q – askorbinska kislina + CoQ₁₀, α -t+Q – α -tokoferol + CoQ₁₀, α -t+AA – α -tokoferol + askorbinska kislina, α -t+AA+Q – α -tokoferol + askorbinska kislina + CoQ₁₀.

V preglednici 13 lahko vidimo kako vrsta dodanih antioksidantov vpliva na senzorično kakovost paštet. In sicer, dodatek različnih antioksidantov značilno vpliva na zunanji izgled, teksturo in okus, ne vpliva na sestavo prereza, barvo, vonj ter skupno oceno. Po zunanjem zgledu je najslabše ocenjena pašeta Q (1 točka), predvsem zaradi oksidirane barve površine in izločanja maščobe na površini. Tudi ostale skupine paštet niso dosegle optimalne ocene za zunanji izgled (pod 1,5 točke). Glede teksture pa lahko povzamemo iz preglednice 13, da so vsi vzorci dobili višjo oceno kot kontrolni vzorec (nad 3 točke), le da v primeru vzorcev α -t, α -t+AA in α -t+AA+Q razlike niso statistično značilne. Vrsta dodanih antioksidantov pa vpliva statistično zelo visoko značilno na oceno okusa pašete, in sicer so ocenjevalci najboljše ocenili kontrolni vzorec in vzorec Q, slabše pa predvsem vzorce z dodano askorbinsko kislino (AA, AA+Q, α -t+Q, α -t+AA in α -t+AA+Q).

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Namen diplomskega dela je bil ugotoviti vpliv dodatka različnih antioksidantov – koencima Q₁₀, askorbinske kisline in α -tokoferola, samih ali v kombinaciji, na vsebnost oksisterolov v jetrni pašteti takoj po izdelavi in po 40-dnevnem skladiščenju. Prav tako smo preverili morebitne spremembe v vsebnosti holesterola in maščobnokislinski sestavi.

Potrošniki imamo veliko izbiro na področju ponudbe paštet, narejenih iz različnega mesa in z različnimi dodatki. Glede na veliko popularnost koencima Q₁₀ ter njegovo funkcijo pri preprečevanju oksidacije, je primeren funkcionalen dodatek k pašteti. Da bi si zagotovili tehnološko in senzorično kakovosten izdelek, smo uporabili lasten recept, ki upošteva zakonske predpise o minimalni vsebnosti jeter v končnem izdelku, ki mora biti nad 15 % (Polak in sod., 2011).

Oksidi holesterola lahko slabo vplivajo na zdravje ljudi, saj povzročajo civilizacijske bolezni, kot so ateroskleroza in rakasta obolenja. S tem, da preprečimo oksidacijo izdelkov, dobimo boljše obstojnost in višjo hranilno vrednost izdelka. Naš namen je bil v čim večji meri ohraniti vsebnost CoQ₁₀ med postopkom izdelave paštete, zato smo ji dodali antioksidanta askorbinsko kislino in/ali α -tokoferol. Vsi trije dodatki niso topni v maščobah in odstranjujejo proste radikale (Kagan in sod., 1998; Lass in Sohal, 1998; Shiin sod., 1999; Lass in Sohal, 2000; Navas in sod., 2007).

Predvideva se, da α -tokoferol neposredno reagira z lipidnimi peroksidnimi radikali, ob tem se tvorijo α -tokoferil radikali. Ti se v nadaljevanju reducirajo s koencimom Q₁₀H₂ (ubiquinol), ob tem pa se regenerira α -tokoferol. Znano je, da je regeneracija α -tokoferola brez koencima Q₁₀ lahko škodljiva za celice, kajti α -tokoferol se lahko delno nadomešča z ubikinolom iz elektronske transportne verige (Li in May, 2003). Sočasnega delovanja koencima Q₁₀ in α -tokoferola v našem poskusu nismo dokazali, kar je v skladu z ugotovitvami Polaka in sod. (2011), ki enako ugotavlja za pasterizirane piščančje paštete.

Kot smo že omenili zgoraj, antioksidanti, ki odstranjujejo proste radikale ne delujejo le individualno ampak tudi v kombinaciji, včasih sinergistično z drugimi antioksidanti. Najbolj znana je interakcija med askorbinsko kislino in α -tokoferolom. V vodni fazi askorbinska kislina zelo učinkovito reducira α -tokoferolil radikale v membranah in delce LDL, regenerira α -tokoferol in tudi inhibira iniciacijo verižne reakcije z α -tokoferil radikali. Zato askorbinska kislina in α -tokoferol sinergistično inhibirata peroksidacijo lipidov. Znano pa je tudi, da ubikinol reducira α -tokoferil radikale (Mukai in sod., 1990). Pri redukciji α -tokoferil radikalov sodelujeta oba, ubikinol in askorbinska kislina. Koliko komponenti posamezno prispevata k tej redukciji je odvisno od pogojev reakcije (Niki, 1997).

Največji učinek dodanih antioksidantov na zmanjšanje celokupnih oksidov holesterola med 40 dnevnim skladiščenjem smo ugotovili v pašteti, v katero smo dodali mešanico askorbinske kisline in CoQ₁₀ (povečajo se iz 6,05 \pm 1,69 mg/100 g na 14,12 \pm 8,91 mg/100 g), in v pašteti, v katero smo dodali samo CoQ₁₀ (povečajo se iz

7,05±3,93 mg/100 g na 15,94±6,98 mg/100 g), najmanjši učinek pa v pašteti z dodano askorbinsko kislino (povečajo se iz 5,71 ±0,97 mg/100 g na 24,20 ±12,30 mg/100 g). V naši nalogi kombinacija CoQ₁₀ in askorbinske kisline najbolj zmanjša nastanek oksidov holesterola v pasterizirani pašteti, kar je v skladu z ugotovitvami Polaka in sod. (2011), ki jih je pridobil na piščančji jetrni pašteti. Že Niki (1997) je ugotovil, da askorbinska kislina in ubikinol v kombinaciji delujeta neodvisno in se njun učinek sešteva.

Treba je poudariti, da smo v paštete dodali koencim Q₁₀ v oksidirani obliki (ubikinon). Očitno v paštetnem matriksu obstojajo zelo učinkoviti reducirajoči mehanizmi, ki koencim Q₁₀ ohranjajo v aktivni obliki (ubikinol), v kateri obliki sodeluje pri regeneraciji α-tokoferola iz α-tokoferil radikalov.

Nekatere študije so vrednotile vpliv toplotne obdelave mesa na nastanek oksidov holesterola in ugotovili, da sta najpomembnejša neposredno delujoča dejavnika čas in temperatura (Kesava-Rao in sod., 1996, Grau in sod., 2001). Povečanje vsebnosti oksidov holesterola med toplotno obdelavo je verjetno posledica pospešene peroksidacije lipidov (Engeseth in Gray, 1994). V literaturi pa najdemo zelo različne podatke o vsebnosti oksidov holesterola v živilih, razlogi so v metodah določanja in dodanih motečih snovi. Tako Baggio in Bragagnolo (2006) v predelanih piščančjih izdelkih (hamburgerji, klobase, hrenovke) nista določila oksidov holesterola, ne v surovih in ne v toplotno obdelanih. Razlog je bila prisotnost konzervansa natrijevega eritorbata (INS 360) in začimb, ki po njunem mnenju delujejo antioksidativno. Nasprotno smo ugotovili v naši nalogi pa tudi Rodriguez-Estrada in sod. (1997) v svoji študiji. Tudi ionizirajoče sevanje (Lee in sod., 2001) in dodatek α-tokoferola med pripravo lahko povzročita nastanek oksidov holesterola (Galvinin sod., 1998; Grau in sod., 2001).

Naša pašteta v povprečju vsebuje 605,2 mg/kg holesterola in dodatek antioksidantov ni značilno zmanjšal vsebnosti te komponente. Vicente in Torres (2007) ugotavljata, da do zmanjšanja holesterola v toplotno obdelanih živilih lahko pride zaradi izceje holesterola skupaj z maščobo med predelavo, razpada zaradi toplote, in/ali interakcije z drugimi molekulami, ali kar je še verjetneje, zaradi kombinacije vseh teh dejavnikov. V našem primeru izceja maščobe iz paštete ni možna, ker smo paštetno maso polnili v kozarčke in jih hermetično zaprli pred toplotno obdelavo.

Sprejemljiv dnevni vnos (acceptable daily intake - ADI) za koencim Q₁₀ je 30 mg/dan in je izračunan iz vnosa, ki za posledico nima neželenih učinkov (no-observed-adverse-effect level - NOAEL) in je 720 mg/dan za osebo, ki tehta 60 kg (Hidaka in sod., 2008). Ocene tveganja za koencim Q₁₀ na podlagi različnih podatkov iz kliničnih raziskav kažejo, da je varen vnos (observed safety level - OSL) za koencim Q₁₀ 1200 mg/dan/osebo (Hidaka in sod., 2008; Hathcock in Shao, 2006). Z 50 g paštete (obogatene z 0,2 g koencima Q₁₀/kg) tako zaužijemo dnevno 10 mg koencima Q₁₀, kar je sicer manjši vnos od ADI, vendar je bistveno nad 3-5 mg/dan v danski prehrani (Weber in sod., 1997) ali 5,4 mg/dan (moški) oziroma 3,8 mg/dan (ženske) v finski prehrani (Mattila in Kumpulainen, 2001). Vsekakor je pašteta obogatena s koencimom Q₁₀ lahko pomemben vir koencima Q₁₀ v vsakodnevni prehrani. Nedavne študije so pokazale, da je dnevni vnos koencima Q₁₀ iz hrane danes bistveno nižji zaradi spremenjene prehrane ali zaradi zdravstvenih razlogov (izogibanje maščob, ki vsebujejo živila, predvsem mesu in ribam, ter povečana poraba sadja in

zelenjave in vlaknine, revnih s CoQ₁₀; Mattila in Kumpulainen, 2001), ali uporabe različnih preparatov za zniževanje telesne mase ali krvnega holesterola (statini blokirajo sintezo drugih esencialnih komponent, kot je koencim Q₁₀) (Bliznakov in Wilkins, 1998).

Cilj naloge ni bil samo ovrednotiti vpliv dodanih antioksidantov na vsebnost oksisterolov, temveč nas je zanimala tudi senzorična kakovost paštet obogaten z omenjenimi antioksidanti. Take paštete bi namreč bile potencialno zanimive tudi končnim potrošnikom. Senzorično oceno paštet je podal panel izkušenih senzoričnih ocenjevalcev z dolgoletnimi izkušnjami na področju senzorične analize mesa in mesnih izdelkov. dodatek različnih antioksidantov značilno vpliva na zunanji izgled, teksturo in okus, ne vpliva na sestavo prereza, barvo, vonj ter skupno oceno. Razlog za nehomogeno sestavo prereza in razlike v sestavi prereza paštet je v luknjičavosti prereza, ki pa ni posledica dodatka antioksidantov, ampak ročnega polnjenja paštetne mase (rešitev bi bila uporaba vakuumske polnilke). Ocene za okus pa variirajo predvsem iz enega razloga – kislega priokusa v primeru uporabe askorbinske kisline.

5.2 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko oblikujemo naslednje sklepe:

- razvili smo lastno recepturo za jetrno pašteto z dodanimi antioksidanti, askorbinsko kislino (2 g/kg), α -tokoferolom (200 mg/kg) in koencimom Q₁₀ (200 mg/kg), dodanimi posamično ali v kombinaciji;
- 100 g paštete povprečno vsebuje 64,4 \pm 0,3 g vode, 5,11 \pm 0,2 g mineralnih snovi, 15,78 \pm 0,6 g maščob, 13,81 \pm 0,7 g beljakovin, 1,54 \pm 0,03 g soli in 9,82 \pm 9,18 mg CoQ₁₀;
- dodatek antioksidantov v paštetni nadev vpliva na vsebnost vode ($p \leq 0,05$) in CoQ₁₀ ($p \leq 0,001$) v jetrni pašteti, ne vpliva pa vsebnost maščob, beljakovin, skupih mineralnih snovi in NaCl;
- dodatek CoQ₁₀ poveča njegovo vsebnost v pašteti (iz 23,9 \pm 15,5 mg/kg v kontroli na 168,9 \pm 92,7 mg/kg v pašteti z dodanim CoQ₁₀ v koncentraciji (200 mg/kg);
- značilno največja vsebnost vode je bila v skupini paštete, v katero smo dodali CoQ₁₀ (kontrola: 62,4 \pm 0,20 %; dodatek CoQ₁₀: 67,3 \pm 0,28 %);
- 100 g paštete vsebuje povprečno 60,52 \pm 2,9 mg holesterola in 12,08 \pm 9,4 mg oksisterolov (od tega je 25-hidroksi-holesterola 4,29 \pm 4,3 mg/100 g, 5 α -holestena 3,35 \pm 3,8 mg/100 g, 7 β -hidroksi-holesterola 0,83 \pm 0,3 mg/100 g in 20 α -hidroksi-holesterola 3,61 \pm 4 mg/100 g);
- dodatek antioksidantov v paštetni nadev ne vpliva značilno na vsebnost holesterola in oksisterolov ($p > 0,05$) v izdelani pašteti;
- 40-dnevno skladiščenje značilno vpliva na vsebnost nekaterih individualnih oksisterolov (25 α -hidroksiholesterola in 20 α -hidroksiholesterola) ter na skupne okside in delež oksisterolov;
- največji učinek dodanih antioksidantov na zmanjšanje celokupnih oksidov holesterola v 40-ih dneh skladiščenja smo ugotovili v pašteti, v katero smo dodali mešanico askorbinske kisline in CoQ₁₀ (povečajo se iz 6,05 \pm 1,69 mg/100 g na 14,12 \pm 8,91 mg/100 g), in v pašteti, v katero smo dodali samo CoQ₁₀ (povečajo se iz 7,05 \pm 3,93 mg/100 g na 15,94 \pm 6,98 mg/100 g), najmanjši učinek pa v pašteti z dodano askorbinsko kislino (povečajo se iz 5,71 \pm 0,97 mg/100 g na 24,20 \pm 12,30 mg/100 g);
- dodatek antioksidantov v paštetni nadev vpliva na maščobnokislinsko sestavo paštete, v primerjavi s kontrolo se v pašteti z dodano askorbinsko kislino in α -tokoferom poveča delež VNMK;
- dodatek različnih antioksidantov v paštetni nadev značilno vpliva na senzorično ocenjen zunanji izgled, teksturo in predvsem okus, ne vpliva na sestavo prereza, barvo, vonj ter skupno oceno paštete;
- ocenjevalci so najboljše ocenili okus kontrolne paštete in paštete z dodanim CoQ₁₀, slabše pa predvsem paštete z dodano askorbinsko kislino.

6 POVZETEK

Današnji stil življenja in prehranjevanja nam povzroča težave pri skrbi za zdravo in uravnoteženo prehrano. Prav zaradi tega med potrošniki narašča povpraševanje po različnih prehranskih dopolnilih, učinkovit in prijazen način, ki lahko prispeva k ohranjanju zdravja in krepitvi organizma. Zadnjih nekaj let eno od vlog vse bolj uspešno opravlja naravna substanca, imenovana koencim Q₁₀. Koencim Q ali ubikinon je naravna, vitaminom podobna spojina, prisotna v vsaki živi celici. Primarno se nahaja na notranji mitohondrijski membrani, kjer ima ključno vlogo pri prenosu elektronov v transportni verigi in tvorbi energije v obliki ATP v procesu oksidativne fosforilacije. Poznan je tudi kot močan maščobotopni antioksidant, ki ščiti celice pred poškodbami, nastalih zaradi delovanja prostih radikalov, tudi pred nastankom oksidov holesterola (oksisterolov). Poleg koencima Q₁₀ so za preprečevanje tvorbe oksisterolov učinkoviti tudi drugi antioksidanti, kot sta to askorbinska kislina in α -tokoferol.

Namen naloge je bil raziskati, v kolikšni meri z dodatkom koencima Q₁₀, askorbinske kisline in α -tokoferola, skupaj ali posamično, lahko zmanjšamo oz. preprečimo oksidacijo lipidov in posledično holesterola (nastanek oksisterolov) takoj ob izdelavi in ob koncu roka uporabnosti pasterizirane jetrne paštete iz prašičjega mesa. Z dodatkom koencima Q₁₀, ki pokrije dnevne potrebe po njem (20 mg koencima Q₁₀/100 g živila), smo želeli tudi prispevati k funkcionalnosti izdelka jetrne paštete.

Tako smo na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil razvili lastno recepturo za (prašičjo) jetrno pašteto in izdelali osem eksperimentalnih skupin (1 – kontrola, 2 – AA, 3 – Q, 4 – α -t, 5 – AA+Q, 6 – α -t+Q, 7 – α -t+AA in 8 – α -t+AA+Q) jetrnih paštete v štirih proizvodnih ponovitvah. Na dvaintridesetih vzorcih paštete smo opravili vrsto kemijskih analiz, pri čemer smo določili vsebnost CoQ₁₀, holesterola in oksidov holesterola, maščobnokislinsko sestavo ter osnovno kemijsko sestavo jetrne paštete. Senzorične lastnosti je s skrajšanim analitičnim testom ocenil štiričlanski panel izkušenih preizkuševalcev. Vsebnost holesterola in oksidov holesterola smo določili še po 40-tih dneh skladiščenja.

V poskusu smo prišli do naslednjih zaključkov. 100 g paštete povprečno vsebuje 64,4 \pm 0,3 g vode, 5,11 \pm 0,2 g mineralnih snovi, 15,78 \pm 0,6 g maščob, 13,81 \pm 0,7 g beljakovin, 1,54 \pm 0,03 g soli in 9,82 \pm 9,18 mg CoQ₁₀. Na podlagi dobljenih rezultatov ugotavljamo, da dodatek antioksidantov v paštetni nadev vpliva na vsebnost vode ($p \leq 0,05$) in CoQ₁₀ ($p \leq 0,001$) v končnem izdelku, ne vpliva pa vsebnost maščob, beljakovin, skupih mineralnih snovi in NaCl. Dodatek CoQ₁₀ poveča njegovo vsebnost v pašteti (iz 23,9 \pm 15,5 mg/kg v kontroli na 168,9 \pm 92,7 mg/kg v pašteti z dodanim CoQ₁₀ v koncentraciji (200 mg/kg). Značilno največja vsebnost vode je bila v skupini paštete, v katero smo dodali CoQ₁₀ (kontrola: 62,4 \pm 0,20 %; dodatek CoQ₁₀: 67,3 \pm 0,28 %). 100 g paštete vsebuje povprečno 60,52 \pm 2,9 mg holesterola in 12,08 \pm 9,4 mg oksisterolov (od tega je 25-hidroksi-holesterola 4,29 \pm 4,3 mg/100 g, 5 α -holestena 3,35 \pm 3,8 mg/100 g, 7 β -hidroksi-holesterola 0,83 \pm 0,3 mg/100 g in 20 α -hidroksi-holesterola 3,61 \pm 4 mg/100 g). Dodatek antioksidantov v paštetni nadev ne vpliva značilno na vsebnost holesterola in oksisterolov ($p > 0,05$) v izdelani pašteti, pač pa 40-dnevno skladiščenje značilno vpliva na vsebnost nekaterih individualnih oksisterolov (25 α -hidroksi-holesterola in 20 α -hidroksi-

holesterola) ter na skupne okside in delež oksisterolov. Tako smo ugotovili največji učinek dodanih antioksidantov na zmanjšanje celokupnih oksidov holesterola v 40-ih dneh skladiščenja v pašteti, v katero smo dodali mešanico askorbinske kisline in CoQ₁₀ (povečajo se iz $6,05 \pm 1,69$ mg/100 g na $14,12 \pm 8,91$ mg/100 g), in v pašteti, v katero smo dodali samo CoQ₁₀ (povečajo se iz $7,05 \pm 3,93$ mg/100 g na $15,94 \pm 6,98$ mg/100 g), najmanjši učinek pa v pašteti z dodano askorbinsko kislino (povečajo se iz $5,71 \pm 0,97$ mg/100 g na $24,20 \pm 12,30$ mg/100 g). Dodatek antioksidantov v paštetni nadev nekoliko spremeni maščobnokislinsko sestavo paštete, v primerjavi s kontrolo se v pašteti z dodano askorbinsko kislino in α-tokoferom poveča delež VNMK. Dodatek različnih antioksidantov v paštetni nadev značilno vpliva tudi na senzorično ocenjen kakovost izdelka, zunanji izgled, teksturo in predvsem okus, ne vpliva na sestavo prereza, barvo, vonj ter skupno oceno paštete. Pri tem je potrebno poudariti, da so ocenjevalci najboljše ocenili okus kontrolne paštete in paštete z dodanim CoQ₁₀, slabše pa predvsem paštete z dodano askorbinsko kislino.

7 VIRI

- AOAC Official Method 920.153. Ash of meat. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Cunnif P. (ed.). Washington, AOAC International, Chapter 39: 4-4
- AOAC Official Method 928.08. Nitrogen in meat Kjeldahl Method. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Cunnif P. (ed.). Washington, AOAC International, Chapter 39: 5-5
- AOAC Official Method 950.46. Moisture in meat. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Cunnif P. (ed.). Washington, AOAC International, Chapter 39: 1-1
- AOAC Official Method 991.36. Fat (crude) in meat and meat product. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Cunnif P. (ed.). Washington, AOAC International, Chapter 39: 2-2
- 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: 36-42
- Bliznakov E.G., Wilkins D.J. 1998. Biochemical and clinical consequences of coenzyme Q₁₀ biosynthesis by lipid-lowering HMG-CoA reductase inhibitors (statins): A critical review. *Advances in Therapy*, 15, 4: 218–228
- Boselli E., Velazco V., Caboni M. F., Lercker G. 2001. Pressurized liquid extraction of lipids for the determination of oxysterols in egg-containing food. *Journal of Chromatography A*, 917: 239-244
- Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 634 str.
- Bramley P.M., Elmadfa I., Kafatos A., Kelly F.J., Manios Y., Roxborough H.E., Schuch W., Sheehy P.J.A., Wagner K.H. 2000. Review: Vitamin E. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 913-938
- Cigić B., Rudan Tasič D. 2006. Antioksidanti in prooksidanti. V: *Karcinogene in antikarcinogene komponente v živilih*. 24. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 9. in 10. nov. 2006. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 103-116
- Coenzyme Q₁₀. 2007. *Alternative Medicine Review*, 12, 2: 159-168
<http://www.thorne.com/altmedrev/.fulltext/12/2/159.pdf> (28.03.2012)
- Doljak B. 2002. Koencim Q-10. *Herbika*, 4: 4-6
- Engeseth N. J., Gray J. I. 1994. Cholesterol oxidation in muscle tissue. *Meat Science*, 36, 3: 309–320

- Gallina Toschi T., Caboni M. F. 1992. Cholesterol oxides: Biological behaviour and analytical determination [of oxides properties]. *Italian Journal of Food Science*, 4, 3: 223-228
- Gašperlin L., Polak T. 2010. Tehnologije mesa in mesnin I: drugi učbenik za študente univerzitetnega študija Živilstvo in prehrana pri vajah predmeta Tehnologije mesa in mesnin I. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67 str. http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2752/Tehnologije_mesa_in_mesnin_I.pdf (28.03.2012)
- Grau A., Codony R., Grimpa S., Baucells M. D., Guardiola F. 2001. Cholesterol oxidation in frozen dark chicken meat: influence of dietary fat source, and α -tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Meat Science*, 57, 2: 197–208
- Hathcock J. N., Shao A. 2006. Risk assessment for coenzyme Q₁₀ (Ubiquinone). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, [javascript:PopUpMenu2_Set\(Menu6965\)](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273234806000453);45, 3: 282–288
- Hidaka T., Fuji K., Funahashi I., Fukutomi M., Hosoe K. 2008. Safety assessment of coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀). *BioFactors*, 32, 1–4: 199–208
- Hur S. J., Park G. B., Joo S. T. 2007. Formation of cholesterol oxidation products (COPs) in animal products. *Food Control*, 18: 939-947
- Kagan V. E., Tyurina Y. Y., Witt E. 1998. Role of coenzyme Q and superoxide in vitamin E cycling. *Sub-Cellular Biochemistry*, 30: 491–507
- Karas R. 2001. Ocenjevanje mesnih obrtnikov. *Meso in mesnine*, 2, 2: 54-55
- Kesava-Rao V., Kowale B. N., Babu N. P., Bisht G. S. 1996. Effect of cooking and storage on lipid oxidation and development of cholesterol oxidation products in water buffalo meat. *Meat Science*, 43, 2: 179–185
- Klofutar C. 1992. Fizikalno kemijske lastnosti triacilglicerolov. V: Lipidi. 14. Bitenčevi živilski dnevi '92, Ljubljana, 4.-5. jun. 1992. Klofutar C., Žlender B., Hribar J., Plestenjak A. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-16
- Koren M. 2009. Razvoj funkcionalnega mesnega izdelka – jetrne pašete s koencimom Q₁₀. Diplomsko delo. Ljubljana. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 69 str.
- Kreft I., Škrabanja V., Bonafaccia G. 2000. Temelji prehranskih in biotskih vplivov antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. okt. 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 33-38
- Langsjoen P. 2008. Introduction to coenzyme Q₁₀. Tyler, Trinity Mother Francis Hospital: 13 str. <http://www.grc.com/sr6dev/misc/coq10/Coenzyme%20Q10.pdf> (28.03.2012)

- Lass A., Sohal R. S. 2000. Effect of coenzyme Q₁₀ and alpha-tocopherol content of mitochondria on the production of superoxide anion radicals. *The FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 14, 1: 87–94
- Lass A., Sohal R. S. 1998. Electron transport-linked ubiquinone-dependent recycling of alpha-tocopherol inhibits autooxidation of mitochondrial membranes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 352, 2: 229–236
- Lee J. I., Kang S., Ahn D. U., Lee M. 2001. Formation of cholesterol oxides in irradiated raw and cooked chicken meat during storage. *Poultry Science*, 80, 1: 105–108
- Lercker G., Rodriguez-Estrada M.T. 2000. Cholesterol oxidation: Presence of 7-ketocholesterol in different food products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13: 625-631
- Li X., May J. M. 2003. Location and recycling of mitochondrial α-tocopherol. *Mitochondrion*, 3, 1: 29–38
- Littarru G. P., Langsjoen P. 2007. Coenzyme Q₁₀ and statins: biochemical and clinical implications. *Mitochondrion*, 7, Suppl. S: S168-S174
- Mattila P., Kumpulainen J. 2001. Coenzymes Q₉ and Q₁₀: Contents in foods and dietary intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 4: 409–417
- Mukai K., Kikuchi S., Urano S. 1990. Stopped-flow kinetic study of the regeneration reaction of tocopheroxyl radical by reduced ubiquinone-10 in solution. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1035, 1: 77–83
- Navas P., Villalba J. M., de Cabo R. 2007. The importance of plasma membrane coenzyme Q in aging and stress responses. *Mitochondrion*, 7, Suppl. S: S34–S40
- Nelson D. L., Cox M. M. 2005. *Lehninger principles of biochemistry* 4th ed. New York, W. H. Freeman: 1119 str.
- Niki N. 1997. Mechanisms and dynamics of antioxidant action of ubiquinol. *Molecular Aspects of Medicine*, 18, 1: 63–70
- Park P. W., Goins R.E. 1994. *In situ* preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *Journal of Food Science*, 59: 1262-1266
- Pepe S., Marasco S. F., Haas S. J., Sheeran F. L., Krum H., Rosenfeldt F. L. 2007. Coenzyme Q₁₀ in cardiovascular disease. *Mitochondrion*, 7, Suppl. S: S154-S167
- Polak T., Žlender B., Lušnic M., Gašperlin L. 2011. Effects of coenzyme Q₁₀, α-tocopherol and ascorbic acid on oxidation of cholesterol in chicken liver pâté. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1052-1058
- Pravilnik o kakovosti mesnih izdelkov. 2012. Uradni list Republike Slovenije, 22, 59:

6097-6105

- Raspor P., Kovač B., Batič M., Berglez D. 2000. Bioproceni pridobivanja antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. okt. 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 53-66
- Razzazi-Fazeli E., Kleineisen S., Luf W. 2000. Determination of cholesterol oxides in processed food using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionisation. *Journal of Chromatography A*, 896, 1-2: 321-334
- Rodriguez-Estrada M. T., Penazzi G., Caboni M. F., Bertacco G., Lercker G. 1997. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburgers. *Meat Science*, 45, 3: 365–375
- Rudan-Tasič D. 2000. Vitamini C, E in Q₁₀. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. okt. 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 39-52
- Rus P., Rus R. R. 2008. Koencim Q₁₀. *Zdravstveno Varstvo*, 47: 89-98
- Salobir K. 1997. Prehransko fiziološki pomen mesa v uravnoteženi prehrani. V: Meso v prehrani in zdravje. Posvet posvečen 50. obletnici Biotehniške fakultete. Radenci, 20. in 21. novembra 1997. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 161-170
- Salobir K. 2001. Prehransko fiziološka funkcionalnost maščob. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. nov. 2001. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 121-137
- SAS Software. Version 8.01. 1999. Cary, SAS Institute Inc.: software
- Sheppard A. J., O'Dell R. G., Pennington J. A. T. 2003. Cholesterol – properties and determination. V: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Vol. 2. 2nd ed. Caballero B., Trugo C.L., Finglas M.P. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 1220-1221
- Shi H., Noguchi N., Niki E. 1999. Comparative study on dynamics of antioxidative action of alpha-tocopheryl hydroquinone, ubiquinol, and alpha-tocopherol against lipid peroxidation. *Free Radical Biology & Medicine*, 27, 3–4: 334–346
- Tai C. 1999. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: an overview (Part I). *Journal of Food and Drug Analysis*, 7: 243-257
- Ubhayasekera S. J. K. A., Verleyen T., Dutta P. C. 2004. Evaluation of GC and GC-MS methods for the analysis of cholesterol oxidation products. *Food Chemistry*, 84, 1: 194-157
- Vicente S. J. V., Torres E. A. F. S. 2007. Formation of four cholesterol oxidation products

and loss of free lipids, cholesterol and water in beef hamburgers as a function of thermal processing. *Food Control*, 18, 1: 63–68

Weber C., Bysted A., Hølmer G. 1997. Coenzyme Q₁₀ in the diet-daily intake and relative bioavailability. *Molecular Aspects of Medicine*, 18, Suppl. S: S251–S254

WHO. 1994. Fats and oils in human nutrition: Report of joint expert consultation. 1994. Rome, WHO, Food and Agriculture Organization of the United Nations : 147 str.

Žlender B. 2000. Postopki za zmanjšanje oksidativnega kvara maščob v mesu in mesnih izdelkih. V: Meso in mesnine za kakovostno prehrano. 2. posvet o vlogi in pomenu mesa v normalni - zdravi in dietni prehrani. Portorož, 10. in 11. februar 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 153-159

Žmitek J., Žmitek K. 2009. Koencim Q₁₀ kot prehransko dopolnilo in zdravilo. *Farmacevtski vestnik*, 60: 150-157

ZAHVALA

Za vso pomoč in strokoven pregled diplomske naloge bi se najlepše zahvalila mentorju prof. dr. Lei Demšar.

Zahvalila bi se tudi recenzentu doc. dr. Blažu Cigiću za hiter in skrben pregled diplomskega dela.

Za vso pomoč in nasvete tekom nastajanja diplome tako v laboratoriju kot izven njega, bi se zahvalila somentorju dr. Tomažu Polaku in Mateji Lušnic Polak.

Za pomoč se zahvaljujem celotnemu osebju Katedre za tehnologijo mesa in vrednotenje živil ter knjižnici Oddelka za živilstvo.

Hvala podjetju Mesnine Štajerske d.o.o. za material iz katerega paštete ne bi mogla narediti.

Moji družini, hvala za razumevanje, potrpežljivost ter stalno podporo ob izdelavi tega dela. Posebej še mami in atju, ki sta mi študij sploh omogočila in me skozi celoten proces finančno podprla.

Zahvalila bi se tudi Katji za vso pomoč pri fotokopiranju in vezavi ter za vse »čveke« ob kavici ter spodbudne besede tekom celotnega študija.

Na koncu se zahvaljujem tudi sošolcem, ki so pripomogli k temu da so bila leta v Ljubljani čudovita in da jih ne bom nikoli pozabila.

PRILOGE

Priloga A: Ocenjevalni zapisnik

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta

OCENJEVALNI ZAPISNIK 1 Klobase - sausages

Izdelek (product): _____

Datum (date of estimating): _____

Lastnost (property)	Ocene (scores)										
1. zunanji izgled (external appearance)	2	1,5	1	0,5	0						
2. sestava prereza (cross-section composition)	3	2,5	2	1,5	1	0,5	0				
3. barva prereza (colour of cross-section)	3	2,5	2	1,5	1	0,5	0				
4. tekstura (texture)	4	3,5	3	2,5	2	1,5	1	0,5	0		
5. vonj (smell)	3	2,5	2	1,5	1	0,5	0				
6. okus (taste)	5	4,5	4	3,5	3	2,5	2	1,5	1	0,5	0

Skupaj točk (sum of scores): _____

Opombe za lastnost (notes for property):

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.

Podpis (signature):
