

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Maja KOREN

**RAZVOJ FUNKCIONALNEGA MESNEGA IZDELKA – JETRNE
PAŠTETE S KOENCIMOM Q₁₀**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL MEAT PRODUCT - LIVER
PATE WITH COENZYME Q₁₀**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2009

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.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Božidarja Žlendera, za somentorja dr. Tomaža Polaka in za recenzenta doc. dr. Blaža Cigića.

Mentor: prof. dr. Božidar Žlender

Somentor: dr. Tomaž Polak

Recenzent: doc. dr. Blaž Cigić

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Maja Koren

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 637.52 + 664.931: 637.54: 612.35(043) = 163.6
KG	mesni izdelki/funkcionalna živila/razvoj novega izdelka/paštete/perutninska jetrna pašteta/živilski dodatki/koencim Q ₁₀ /askorbinska kislina/ α -tokoferol
AV	KOREN, Maja
SA	ŽLENDER, Božidar (mentor)/POLAK, Tomaž (somentor)/CIGIČ, Blaž (recenzent)
KZ	SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2009
IN	RAZVOJ FUNKCIONALNEGA MESNEGA IZDELKA – JETRNE PAŠTETE S KOENCIMOM Q ₁₀
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	IX, 69 str., 16 pregl., 18 sl., 77 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Namen diplomskega dela je bil razviti funkcionalni mesni izdelek, pašteto, z dodanim koencimom Q ₁₀ (CoQ ₁₀). Izdelali smo lastno recepturo za pašteto, ki po energijskem vnosu hranil ustreza smernicam uravnotežene prehrane, ima ugodno maščobnokislinsko sestavo in primerno senzorično kakovost. Cilj raziskave je bil preveriti obstojnost CoQ ₁₀ med postopkoma pasterizacije in sterilizacije pašet ter vpliv dodanih antioksidantov, askorbinske kisline in α -tokoferola, na njegovo zaščito. Z analizo oksidov holesterola smo spremljali tudi stopnjo oksidacije izdelka. Vsebnost CoQ ₁₀ smo določili s tekočinsko kromatografijo, vsebnost oksidov holesterola s plinsko kromatografijo in maščobnokislinsko sestavo z metodo modificirano po Park in Goinsu (1994). Senzorična kakovost paštete je bila iz vrednotena z analitičnim deskriptivnim testom. Razvili smo funkcionalni izdelek – perutninsko jetrno pašteto s CoQ ₁₀ . Vsebnost CoQ ₁₀ se pri pasterizaciji najbolje ohrani, če je izdelku dodana askorbinska kislina. Pri sterilizirani paštetih pa se za najboljšo kombinacijo zaščite CoQ ₁₀ obnese kombinacija askorbinske kisline in α -tokoferola. Vsebnost oksidov holesterola je pri postopku pasterizacije ob dodatku askorbinske kisline pod mejo detekcije; pri steriliziranih paštetah je najnižja koncentracija oksidov holesterola (pod mejo detekcije) ugotovljena v skupini pašet z dodano askorbinsko kislino in α -tokoferolom.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC UDC 637.52 + 664.931: 637.54: 612.35(043) = 163.6

CX meat products/functional foods/development of new products /pates/poultry liver pate/food supplements/coenzyme Q₁₀/ascorbic acid/ α -tocopherol

AU KOREN, Maja

AA ŽLENDER, Božidar (supervisor)/POLAK, Tomaž (co-advisor)/CIGIČ, Blaž (reviewer)

PP SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology

PY 2009

TI DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL MEAT PRODUCT - LIVER PATE WITH COENZYME Q₁₀

DT Graduation thesis (University studies)

NO IX, 69 p., 18 tab., 16 fig., 77 ref.

LA sl

AL sl/en

AB The main aim of this study was to develop a functional meat product (pâté) with the addition of coenzyme Q₁₀. We have prepared our own recipe, which corresponds to the guidelines of a balanced diet according to the energy intake of nutrients and favorable fatty acid composition. The main goal of our research was to verify the stability of coenzyme Q₁₀ during the process of pasteurization and sterilization and also to check the effect of antioxidants, ascorbic acid and α -tocopherol on its protection. In addition we have also monitored the oxidation of the product with the determination of cholesterol oxides. We have determined the content of coenzyme Q₁₀ by using liquid chromatography, the cholesterol oxides content by using gas chromatography and fatty acids content by a method modified by Park and Goins (1994). Sensory analysis of pâté was made by four evaluators. Analysis has shown, that during the process of pasteurization the highest content of coenzyme Q₁₀ was retained in the presence of ascorbic acid, whereas during the process of sterilization, the highest content was retained when both ascorbic acid and α -tocopherol are presented. Under the same conditions the content of cholesterol oxides is below the limit of detection.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	IX
1 UVOD 1	
1.1 NAMEN	2
1.2 HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 OPREDELITEV POJMA FUNKCIONALNA ŽIVILA	3
2.1.1 Delitev funkcionalnih živil	4
2.1.2 Najpogostejše učinkovine v funkcionalnih živilih	4
2.1.3 Meso kot funkcionalno živilo	6
2.2 SMERNICE ZDRAVE PREHRANE	7
2.2.1 Pomen maščob in njihove kakovosti	7
2.3 TOPLOTNO OBDELANA ŽIVILA	9
2.3.1 Pasterizacija in sterilizacija	9
2.4 SPLOŠNE ZNAČILNOSTI COQ ₁₀	11
2.4.1 Odkritje CoQ ₁₀	11
2.4.2 Splošne značilnosti CoQ ₁₀	11
2.4.3 Viri CoQ ₁₀ za človeka	12
2.4.4 Biološka vloga CoQ ₁₀ v celici	13
2.4.5 CoQ ₁₀ kot prehranski dodatek	18
2.5 VPLIV OKSIDACIJE NA MESO IN MESNE IZDELKE	21
2.5.1 Prosti radikali	21
2.5.2 Antioksidanti dodani mesu in mesnim izdelkom z višjo vsebnostjo maščob	22
2.5.3 Oksidacija mesa	25
2.6 HOLESTEROL IN OKSIDI HOLESTEROLA	26
2.6.1 Biosinteza holesterola	27
2.6.2 Oksidi holesterola	28
3 MATERIALI IN METODE DELA	30
3.1 MATERIAL IN POTEK DELA	30

3.2	TEHNOLOGIJA IZDELAVE JETRNIH PAŠTET.....	30
3.2.1	Predpoizkus.....	30
3.2.2	Glavni poizkus izdelave paštete.....	31
3.2.3	Postopek izdelave paštete.....	32
3.3	KEMIJSKE METODE.....	33
3.3.1	Določanje vsebnosti CoQ ₁₀ v pašteti.....	33
3.3.2	Določanje vsebnosti oksidov holesterola v pašteti	36
3.3.3	Določanje maščobnokislinske sestave	39
3.3.4	Določanje vsebnosti maščobe v pašteti in mesu po Weibull-u in Stoldt-u.....	41
3.3.5	Določanje vsebnosti beljakovin v pašteti in mesu po Kjeldahlu.....	41
3.3.6	Določanje vsebnosti vode v pašteti in mesu s sušenjem.....	41
3.3.7	Določanje vsebnosti skupnih mineralnih snovi v pašteti in mesu	41
3.3.8	Določanje vsebnosti soli v pašteti in mesu po Volhard-u	41
3.3.9	Določanje pH.....	42
3.4	INSTRUMENTALNE IN SENZORIČNE METODE.....	42
3.4.1	Merjenje barve.....	42
3.4.2	Merjenje teksturnih lastnosti.....	42
3.4.3	Senzorična analiza	43
3.5	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	43
4	REZULTATI.....	45
4.1	PREDPOSKUS	45
4.2	OSNOVNA KEMIJSKA SESTAVA MESA IN PAŠTETE	45
4.3	MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA PAŠTETE	47
4.4	INSTRUMENTALNE IN SENZORIČNE LASTNOSTI PAŠTETE.....	49
4.5	VSEBNOST C _o Q ₁₀ , HOLESTEROLA IN OKSIDOV HOLESTEROLA V PAŠTETI.....	53
5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	56
5.1	RAZPRAVA	56
5.2	SKLEPI.....	61
6	POVZETEK	62
7	REFERENCE.....	64

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Priporočen energijski dnevni vnos (WHO, 1990; WHO, 1994).	8
Preglednica 2: Vsebnost CoQ ₁₀ v živilih (Higdon, 2003).	13
Preglednica 3: Vpliv naravnih antioksidantov in antioksidativnih sestavin, dodanih <i>post mortem</i> , na oksidativne procese v mesnih izdelkih (Žlender, 2000).	24
Preglednica 4: Skupine paštete na osnovi različnih dodatkov.	30
Preglednica 5: Vsebnosti dodane askorbinske kisline v posamezne skupine paštete.....	31
Preglednica 6: Receptura (količin osnovnih surovin in aditivov) za izdelavo paštete.	31
Preglednica 7: Povprečna hranilna vrednost za SIM podana na 100 g živila.	46
Preglednica 8: Povprečna hranilna vrednost paštete podana na 100 g in na porcijo 30 g.....	46
Preglednica 9: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave paštete v ut. % od skupnih maščobnih kislin.	47
Preglednica 10: Instrumentalni in senzorični parametri kakovosti pasteriziranih paštete.	50
Preglednica 11: Instrumentalni in senzorični parametri kakovosti steriliziranih paštete.	51
Preglednica 12: Testiranje razlik med skupinami pasteriziranih in steriliziranih paštete v danih parametrih.....	52
Preglednica 13: Primerjava vsebnosti CoQ ₁₀ , holesterola in oksidov holesterola v petih skupinah pasteriziranih paštete.	53
Preglednica 14: Primerjava vsebnosti CoQ ₁₀ , holesterola in oksidov holesterola v petih skupinah steriliziranih paštete.....	54
Preglednica 15: Vpliv postopkov toplotne obdelave paštete na analizirane parametre.	54
Preglednica 16: Energijska vrednost posameznih hranil in skupna energijska vrednost polnozrnatega kruha in paštete (obrok) ter priporočila svetovne zdravstvene organizacije (WHO) o energijskem dnevnem vnosu hranil.	57

KAZALO SLIK

Slika 1: Funkcionalna hrana (Cherl-ho Lee, 2001).....	4
Slika 2: Različne vrste mesa (Wikipedia, 2006).....	7
Slika 3: Kemijska struktura CoQ ₁₀ (Littarru in Langsejoen, 2007).....	11
Slika 4: Redoks oblike koencima Q. Črka n predstavlja število ponavljajočih se enot izoprena v izoprenski verigi in s tem njeno dolžino. (Rudan-Tasič, 2000).....	14
Slika 5: Antioksidativno in prooksidativno delovanje ubikinona (Rudan-Tasič, 2000).....	15
Slika 6: Prikaz poteka prenosa elektronov iz kompleksa I in II na kompleks III in IV s posredovanjem CoQ ₁₀ (Nelson in Cox, 2005).....	16
Slika 7: Biosinteza CoQ ₁₀ in holesterola (Rus P. in Rus R. R., 2008).....	17
Slika 8: Strukturna formula holesterola (Boyer, 2005).....	27
Slika 9: Strukturne formule nekaterih najpogostejših oksisterolov v živilih: a) 7β-hidroksiholesterol, b) 25-hidroksiholesterol, c) 7α-hidroksiholesterol (Bush in King, 2009).....	28
Slika 10: Kuter (Fatosa, Tip C-20-T, Španija).....	32
Slika 11: Aparatura za izvedbo SPE postopka.....	34
Slika 12: Umeritvena krivulja za določanje CoQ ₁₀ v pašteti.....	36
Slika 13: Vpliv dodajanja askorbinske kisline (g/100g) na pH paštete.....	45
Slika 14: Deleži posameznih komponent paštete.....	46
Slika 15: Deleži posameznih skupin maščobnih kislin (NMK, VNMK in ENMK) v pašteti prikazanih v odstotkih.....	49
Slika 16: Vsebnost oksidov holesterola (7α-HC – 7α-hidroksiholesterol; 7β-HC – 7β-hidroksiholesterol; 20α-HC – 20α-hidroksiholesterol; 25α-HC – 25α-hidroksiholesterol) v pasteriziranih in steriliziranih paštetah.....	58
Slika 17: Vsebnost CoQ ₁₀ v pasteriziranih in steriliziranih paštetah.....	59
Slika 18: Prikaz vseh petih pasteriziranih (P) skupin paštete tretje (III) serije, kjer sta skupini Q10C (III3P) in Q10CE (III5P) bistveno svetlejši od kontrolne skupine (III1P), skupine Q10 (III2P) in skupine Q10E (III4P).....	60

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

α 20-HC	20 α - hidroksi holesterol
α 25-HC	25 α - hidroksi holesterol
α 7-HC	7 α - hidroksi holesterol
α -TO \cdot	α -tokoferoksilni radikal
α -TOH	α -tokoferol
β 7-HC	7 β - hidroksi holesterol
A	L-dehidroksiaskorbinska kislina
ATP	adenozintrifosfat
B	beljakovine
BHA	butil hidroksi anisol
BHT	butil hidroksi toluen;
CoA	acetilkoencim A
CoQ ₁₀	koencim Q ₁₀ , ubikonon
CoQH ₂	reducirana oblika koencima (ubikinol)
DNK	deoksiribonukleinska kislina
ENMK	enkrat nenasičene maščobne kisline
FA _i	konverzijski faktor
GC	plinska kromatografija
H ₂ A	reducirana oblika askorbinske kisline
H ₂ O ₂	vodikov peroksid
HC	oksid holesterola (hidroksi holesterol)
HCA	heterociklični amini
HDL	lipoproteini velike gostote (high density lipoproteins)
HMG-CoA	3-hidroksi-3-metilglutaril-koencim A
HPLC	visokotlačna tekočinska kromatografija
IA	indeks aterogenosti
LC-MS	tekočinska kromatografija sklopljena z masnim spektrometrom
LDL	lipoproteini majhne gostote (low density lipoproteins)
M	maščobe
Mb	reducirana oblika mioglobina ali deksimioglobin
MbO ₂	oksidirana oblika mioglobina ali oksimioglobin
MEMK	metilni estri maščobne kisline (FAME – Fatty Acid Methyl Ester)
MetMb	oksidirana oblika mioglobina ali metmioglobin
MK	maščobne kisline
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NMK	nasičene maščobne kisline
NOC	N-nitrozo spojine
\cdot O ₂	superoksidni anionski kisikov radikal
³ O ₂	tripletni kisik (kisikov radikal)

OH [•]	hidroksilni radikal
OH	ogljikovi hidrati
P/S	razmerje med vsoto vseh VNMK in vsoto vseh NMK
PAH	policiklični aromatski ogljikovodiki
PG	propil galat; E310
Q	ubikonon
Q ₁₀ [•]	ubisemikinon
R [•]	alkilni radikal
Rf	Faktor odzivnosti detektorja (Response factor)
ROO [•]	peroksilni radikal
ROOH	hidroperoksid
SIM	strojno izkoščeno meso
SPE	ekstrakcija s trdno fazo (Solid Phase Extraction)
TBHQ	terc-butil hidrokinon
TO	toplotna obdelava
VNMK	večkrat nenasičene maščobne kisline

1 UVOD

V splošnem razvoju znanosti postaja tudi vedenje o zdravem načinu življenja iz dneva v dan pomembnejše. Tu ima pomembno mesto tudi hrana. Zaradi vse zahtevnejših delovnih urnikov in hitrega načina življenja, je časa namenjenega kuhanju in pripravi sveže hrane, vse manj. Od tod vse večja potreba po hitro pripravljeni hrani. Dejstvo je, da so metode sodobnega kmetijstva naravnane na doseganje čim večjega hektarskega donosa in to v čim krajšem času ter na pridelavo očem čim bolj vsečnih pridelkov. Zato prihajajo na trg z vitamini in minerali osiromašena živila. To velja predvsem za sadje in zelenjavo ter posledično izdelke iz njih.

Za optimalno fizično in psihično delovanje telesa, potrebujemo poleg virov energije (ogljikovi hidrati, maščobe, beljakovine), gradbenih enot (beljakovine), dobrega spanca in občasnih sprostitev tudi vitamine in minerale, ki pa jih v današnji prehrani, zaradi prej omenjenih razlogov, primanjkuje. Seveda v pravih razmerjih. Pomanjkanje ali neravnovesje med naštetimi elementi ljudje občutijo kot utrujenost, razdražljivost, psihično napetost, izpadanje las, debelost, neurejeno prebavo in nenazadnje slabo imunsko odpornost. Ljudje poskušajo te težave rešiti z uporabo prehranskih dodatkov, kot so npr. vitaminske tablete, kapsule in z njimi uravnovežiti porušeno razmerje.

Zdrav odnos do hrane naj ne bi temeljil na uživanju tablet (te naj ostajajo le kot izhod v sili), temveč na uravnoveženi prehrani. Prav zato se živilska industrija odloča dopolnjevati izbor svojih izdelkov s funkcionalnimi živil. To so živila, ki poleg osnovnih komponent vsebujejo še dodatne sestavine, ki ugodno vplivajo na zdravje ljudi. To so bodisi sveža živila (npr. brokoli, tuna, laneno olje) ali pa izdelki (npr. probiotični jogurti, z vitamini obogateni napitki, žitni ali mlečni izdelki z dodanimi vlakninami).

Vse pogosteje lahko opazimo tudi živila in prehranska dopolnila z dodanim koencimom Q₁₀ (CoQ₁₀). V zadnjih letih so raziskave pokazale ugoden vpliv te substance na človeški organizem. CoQ₁₀ naj bi ugodno vplival na več različnih funkcij v telesu. Poleg svoje primarne vloge, kjer kot pomožen substrat respiratorne verige prejema in oddaja elektrone in kot biološki antioksidant, je koristen tudi na drugih področjih. Dokazano je, da ohranja vitalnost vezivnega tkiva, krepi imunsko odpornost, pomaga pri mišični utrujenosti, izboljšuje psihofizične lastnosti organizma, pospešuje učinkovitost celične presnove... Novejše raziskave pa dokazujejo, da je vpliv CoQ₁₀ pomemben tudi v medicini, saj naj bi pripomogel k zmanjšanemu tveganju pri nekaterih boleznih in naj bi imel pozitiven učinek pri zdravljenju.

Meso je pomembno živilo. Poleg enostavne in relativno hitre priprave, kar je za sodobni čas bistvenega pomena, je v zmernih količinah zdravo živilo (s prehranskega stališča to velja za pusto oz. manj mastno meso), saj je pomemben vir železa in esencialnih

aminokislin. Izdelki iz mesa so pri ljudeh zelo priljubljeni. Prehrambeni svetovalci pa jih velikokrat vrednotijo drugače, saj so pogosto premastni ali vsebujejo veliko aditivov, kot so Na-glutaminat, razna barvila, nitriti... Tako ostaja mesni predelovalni industriji še veliko odprtih možnosti, saj je izbira mesnih izdelkov, z vidika zdravih ali celo funkcionalnih živil, sorazmerno majhna.

1.1 NAMEN

Glavni namen naloge je bil razvoj mesnega funkcionalnega izdelka - paštete, ki naj bi v čim večjem merilu ustrezal smernicam uravnotežene prehrane. Njegov glavni funkcionalni del je dodan CoQ₁₀ in tega smo želeli z dodatkom askorbinske kisline in α -tokoferola zaščititi pred razpadom. S spremljanjem oksidov holesterola smo želeli ugotoviti, v kolikšni meri je obstojnost CoQ₁₀, med postopki toplotne obdelave, odvisna od oksidacije. Izdelku smo kot dodatno maščobo dodali repično olje, da bi dobili ugodno razmerje med ω -6 in ω -3 maščobnimi kislinami. Pri pripravi recepture smo upoštevali tako senzorične kot tudi prehrabne zahteve po kakovostnem izdelku. S prilagajanjem surovin smo želeli doseči primerno ravnotežje pri vnosu beljakovin, maščob in ogljikovih hidratov; seveda s predpostavko, da pašteto uživamo na kruhu, po možnosti polnozrnatemu, saj bi s tem zaužili tudi vlaknine.

1.2 HIPOTEZE

Predvidevali smo, da bosta askorbinska kislina in α -tokoferol s preprečevanjem oksidacije vplivala na manjšo tvorbo oksidov holesterola in povečala obstojnost CoQ₁₀.

Predpostavili smo, da se bo pašteta zelo približala smernicam o uravnoteženemu vnosu hranil (ob predpostavki, da jo jemo s kruhom). Z dodanim repičnim oljem pa naj bi dosegli ugodno maščobnokislinsko sestavo in optimalno razmerje med ω -6 in ω -3 maščobnimi kislinami.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OPREDELITEV POJMA FUNKCIONALNA ŽIVILA

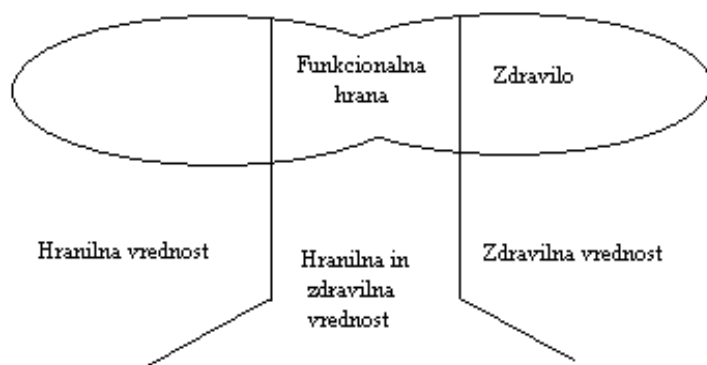
Funkcionalna hrana je pojem, ki se ga uporablja za širok spekter živil - ta naj bi ugodno vplivala na zdravje potrošnika. Pojem se je prvič pojavil na Japonskem in se preko Amerike razširil tudi v Evropo. V zadnjih letih pa je vedno bolj aktualen tudi v Sloveniji. (Salobir, 2001).

Definicij, ki opisujejo kaj je funkcionalna hrana, je veliko. V glavnem pa novejšje definicije poudarjajo predvsem dokazane pozitivne fiziološke učinke. Zato lahko najenostavneje opišemo funkcionalna živila kot živila, za katera je dokazano, da imajo poleg svoje hranilne vrednosti še dodaten, ugoden vpliv na počutje in zdravje človeka. Tako živilo mora vplivati na vsaj kakšno, ali na več telesnih ali duševnih funkcij, v smislu izboljšanja zdravja in počutja ali na zmanjšanje tveganja za določene bolezni (Salobir, 2001).

Ko govorimo o funkcionalnih živilih, moramo vedeti, da je to pojem v okviru širšega pojma tako imenovanih varnih živil. To so živila, ki morajo biti proizvedena v proizvodnih pogojih, ki preprečujejo ali zmanjšujejo nastanek nekaterih potencialno škodljivih sestavin. Vključevati morajo nekatere želene, naravno prisotne ali dodane, sestavine z zdravilnim učinkom, ter morajo vsebovati veliko količino in/ali boljšo razpoložljivost aktivnih snovi (Gašperlin in Žlender, 2001).

Če se odločamo, da bomo naš jedilnik dopolnili s funkcionalnimi živili, ali pa se odločamo za proizvodnjo funkcionalnega živila, moramo ugoditi trem osnovnim za to določenim zahtevam:

- Prvi pogoj je, da je to živilo naravnega izvora. Torej ni zdravilo ali kateri drugi farmacevtski izdelek (npr. tablete, praški...), pa čeprav ta vsebuje komponente, ki se kot priznane učinkovine uporabljajo tudi v funkcionalnih živilih.
- Drugi pogoj je ta, da je živilo vključeno v vsakodnevno prehrano in ob običajnih količinah tudi učinkovito.
- Tretji pogoj je, da učinkovine zaužitega živila uravnavajo določene zanj značilne procese (preprečevati ali zdraviti določene bolezni, vzdrževati psihično in fizično kondicijo, izboljšati biološke obrambne mehanizme, zavirati procese staranja...) (Diplock in sod., 2000; Gašperlin in Žlender, 2001; Jimenez-Colmenero in sod., 2001).



Slika 1: Funkcionalna hrana (Cherl-ho Lee, 2001).

2.1.1 Delitev funkcionalnih živil

Funkcionalna živila lahko razdelimo v dve osnovni skupini (Braun in sod., 2002). To so naravna, nepredelana živila (kot so npr. nekatero sveže sadje in zelenjava) in predelana živila. V skupini predelanih živil ločimo še dve podskupini in sicer živila, ki jim je bila s predelavo kakšna (škodljiva) snov odstranjena in živila z dodano naravno funkcionalno učinkovino. Tako lahko živilom odstranimo komponente, za katere je dokazano, da povzročajo neželene učinke (alergeni proteini, holesterol, nasičene maščobe...); dodamo sestavine, ki izboljšujejo izkoristek drugih komponent v živilih (npr: vitamini, za boljšo adsorpcijo mineralov v črevesju) ali pa dodamo sestavine za katere je dokazano, da ugodno vplivajo na človeka (antioksidanti, vlaknine, probiotiki...) (Plestenjak in Požrl, 2001).

2.1.2 Najpogostejše učinkovine v funkcionalnih živilih

V kemijskem smislu obravnavana funkcionalnost živil pomeni, da vsebujejo neko učinkovino, zaradi katere pozitivno delujejo na organizem. Zato se funkcionalnost živil lahko določa na osnovi učinkovitosti posamezne sestavine, to je učinkovina z neko biološko aktivnostjo, ali na osnovi aktivnosti živila kot celote (Raspor in Rogelj, 2001).

Cilj uživanja take hrane je vedno osredotočen na boljše psihično in/ali fizično stanje potrošnika. V svetu se ljudje srečujejo z različnimi problemi, ki so vezani na življenjski slog. V razvitem svetu (primer Evrope) vse večji problem predstavljajo tako imenovane bolezni sodobnega časa, kot so debelost, sladkorna bolezen, bolezni srca in ožilja in tudi rak. Področja proučevanja funkcionalne hrane pa niso vezana le na bolezni temveč tudi na področja kot so rast in razvoj dojenčkov in mladostnikov, podhranjenost pri starejših ljudeh, treningi in prehrana športnikov in nenazadnje tudi na vlogo antioksidantov ali drugih učinkovin pri preprečevanju bolezni. Od tu je znova razvidno, da so področja funkcionalne prehrane široka in da se prepletajo s farmacevtsko stroko. Zato lahko v prihodnosti pričakujemo tesnejše sodelovanje živilske in farmacevtske stroke (Raspor in Rogelj, 2001).

Vedno več je komponent, oziroma biološko aktivnih učinkovin, ki jih vključujemo v proizvodnjo funkcionalnih živil. Njihova skupna lastnost je ta, da imajo znanstveno podlago, da na nek način prispevajo k boljšemu zdravstvenemu stanju ali počutju. V uporabi je dvanajst obsežnih skupin, ki so pokazale tovrstne učinke: vlaknine, oligosaharidi, sladkorni alkoholi, glukozi, aminokisliline, peptidi in alkoholi, izopreni in vitamini, holin, mlečnokislinske bakterije, nenasičene maščobne kisline, minerali in druge kategorije, med katerimi se najbolj uporablja antioksidante (Jimenez-Colmenero in sod., 2001).

2.1.2.1 Prehranska vlaknina

Prehranska vlaknina je kot učinkovina funkcionalne prehrane, uvrščena na seznam zaradi specifičnih ugodnih učinkov v prebavi in presnovi. Njena funkcionalnost se kaže v povečanem občutku sitosti zaradi počasnejšega praznjenja želodca, topne vlaknine prispevajo k manjšemu glikemičnemu indeksu zaužitega obroka, ugodno vplivajo na koncentracijo lipidov v krvi in zmanjšujejo raven LDL holesterola. Povečan vnos vlaknin vpliva tudi na zmanjšano koncentracijo malondialdehida v krvnem serumu in na zmanjšanje poškodb na DNK. Prav tako ugodno deluje na absorpcijo v maščobi topnih vitaminov. Pozitivno vpliva tudi na količino blata, ga mehča in preprečuje zaprtje (Salobir, 2001).

2.1.2.2 Maščobne kisline

Kljub dejstvu, da so maščobe za zdravje pomembne, je splošno mnenje o njih negativno. To seveda velja, če njihov vnos presega potrebe organizma, oziroma če uživamo prevelike količine maščob, ki vsebujejo veliko zdravju škodljivih maščobnih kislin. Funkcionalna živila, katerih funkcionalnost temelji na maščobnokislinski sestavi delimo v dve skupini. V eno skupino lahko uvrstimo živila, ki so sicer bogata z zdravju manj primernimi maščobnimi kislinami, kot sta npr. meristinska in palmitinska kislina, ampak so te bile iz njih odstranjene. V drugo skupino pa vključujemo živila bogata z maščobnimi kislinami z ugodnim vplivom na fiziološke funkcije in na zdravje. To so predvsem ω -3 maščobne kisline, ki jih je danes v hrani običajno premalo (Salobir, 2001).

2.1.2.3 Antioksidanti

To so molekule, ki preprečujejo oksidativni stres, do katerega pride, če se poruši ravnotežje med prostimi radikali in antioksidanti. Antioksidanti ravnotežje vzdržujejo z lovljenjem prostih radikalov, s keliranjem kovinskih ionov, z odstranjevanjem in/ali popravitom oksidativno poškodovanih molekul (Korošec, 2000).

2.1.2.4 Vitamini

Vitamini so substance, ki so telesu nujne za pravilno delovanje. Ker jih sami ne moremo sintetizirati, smo odvisni od vnosa s hrano. V skupino vitaminov uvrščamo 13 spojin in jih delimo na vodotopne in maščobotopne. Vsak vitamin ima v telesu specifično vlogo. Tako najdemo vitamine z antioksidativno vlogo, kot sta vitamin C in E; vitamine, ki sodelujejo v presnovi, kot so folna kislina, vitamin C, B₁. Vitamin A ima vlogo pri vidu, vitamin K sodeluje pri strjevanju krvi, vitamin D sodeluje pri adsorpciji kalcija in razvoju kosti ter vsak drugi vitamin ima svojo pomembno vlogo pri normalnem delovanju organizma (Kač, 2001). Ker je hrana danes vse bolj osiromašena, se vitamini kot dodatek pogosto pojavljajo v raznih živilih.

2.1.2.5 Minerali

Uporaba mineralov se je v sklopu funkcionalne hrane začela povečevati, saj se pojavlja vse večji problem pomanjkanja le-teh, zaradi osiromašene zemlje in načina predelave hrane. Pomen mineralov je telesu velik, ker so vitamini in aminokislina brez njih neučinkoviti, saj so minerali vključeni v encimsko aktivnost. Enako kot velja za vitamine, velja tudi za minerale, da ima vsak svojo specifično vlogo. V glavnem pa so pomembni za vzdrževanje ravnotežja celičnih tekočin, nastanek krvnih in kostnih celic, pravilno delovanje živčevja, reguliranje mišičnega tonusa in aktivnost mišic... (Paš, 2001).

2.1.3 Meso kot funkcionalno živilo

Meso je pomemben del vsakodnevne prehrane. Posebno pozornost si zasluži predvsem zaradi velike izkoristljivosti nekaterih mineralov, predvsem železa, cinka in selena. Znano je, da je meso najboljši vir železa za človeško telo, to pa zaradi oblike v kateri je železo vezano v hemoglobin. Poleg tega je meso eno najpomembnejših virov vitaminov B kompleksa, predvsem tiamina B₁, riboflamina B₂, piridoksina B₆ in vitamina B₁₂. Prav tako je meso bogat vir esencialnih aminokislin, ki so bistvene za izgradnjo lastnih beljakovin (Gašperlin in Žlender, 2001).

V zadnjem času poskušajo izboljšati meso predvsem z vidika hranilne vrednosti. To poskušajo doseči že s prirejeno krmo. Z dodatkom vodotopnih vitaminov se količina le-teh v mesu sicer ne poveča, lahko pa s krmo vplivamo na maščobnokislinsko sestavo. Cilji animalne proizvodnje so čim bolj približati razmerje ω -3 in ω -6 maščobnih kislin na 1:1 s ciljno prehrano obogateno z lanenim semenom, oljno repico, ribjim oljem in drugimi viri ω -3 maščobnih kislin (Gašperlin in Žlender, 2001).

V mesni industriji velik del proizvodnje predstavljajo tudi mesni izdelki. Ti so pomembni tudi z vidika funkcionalne hrane, predvsem zaradi možnosti dodajanja funkcionalnih sestavin. Vlakinine iz ovsca, sladkorne repe, soje imajo pomembno tehnološko vlogo kot

maščobni nadomestek pri izdelkih z manj maščob. Poleg tega pa imajo pozitiven fiziološki vpliv na potrošnika. Podobno kot maščobne nadomestke, se v mesnopredelovalni industriji uporabljajo tudi proteini rastlinskega izvora, ki prav tako vsebujejo zdravju koristne sestavine. V proizvodnji fermentiranih klobas se lahko uporabi tudi nekatere mlečnokislinske bakterije. S posebnimi postopki priprave klobas lahko ohranimo mikrobo aktivnost, ki med prebavo prispeva k manjši adsorpciji holesterola in pospeši presnovo hranil (Gašperlin in Žlender, 2001). Tako lahko povzamemo, da je meso zdravo živilo, če ga pravilno uživamo.



Slika 2: Različne vrste mesa (Wikipedia, 2006).

2.2 SMERNICE ZDRAVE PREHRANE

Na naše zdravje vpliva cela kopica dejavnikov, ki jih poleg genov narekujejo družbene, ekonomske, socialne in kulturne značilnosti okolja v katerem živimo. Način življenja v zahodni družbi je obremenjujoč in povprečen človek ima vse manj časa zase, kar vpliva na njegovo psihično in fizično počutje. Posledica je stres, premalo gibanja in malomaren odnos do hrane, ki se kaže predvsem v povečani uporabi hitro pripravljene in hranilno prazne hrane. Način hranjenja je torej le eden od dejavnikov, ki vplivajo na zdravje, vendar ga z lastno voljo lahko uspešno nadzorujemo. Zaščitni dejavniki v prehrani lahko omilijo tveganje za prezgodnjo obolevnost in smrt. obroki hrane, ki poleg esencialnih in energetskih hranil vsebujejo še različno količino vitaminskih (vitamin C, vitamin E) in nevitaminskih (CoQ₁₀, fenoli) antioksidantov, mineralov ter drugih snovi, ki ugodno vplivajo na delovanje organizma, imajo zaščitno ali celo zdravilno vrednost pri ohranjanju in krepitvi zdravja ter pri preprečevanju in celo zdravljenju bolezni. Kljub dejstvu, da je smrt neizogibna, je uspeh zdravega načina življenja, dočakati jo v dolgem in kvalitetnem življenju (Lee, 2001; Pokorn, 2001).

2.2.1 Pomen maščob in njihove kakovosti

Vsako živilo ima svojo energijsko vrednost, ki je odvisno od njegove sestave. Glavne energijske komponente so maščobe, ogljikovi hidrati in beljakovine. V okviru zdrave

prehrane je razmerje med njimi pomembno. Poleg osnovnih hranil se v okviru zdrave prehrane pogosto omenja še količino zaužitega holesterola, ki naj ne bi bila višja od 300 mg na dan in prehranskih vlaknin, katerih naj bi zaužili 27-40 g dnevno (WHO, 1990). Kot je bilo že omenjeno so maščobe nepogrešljive hranljive snovi. Njihova prehransko fiziološka kakovost pa je različna in vpliva na zdravje. Zato je potrebno poskrbeti za pravilno sestavo zaužitih maščob (Salobir, 2001).

Preglednica 1: Priporočen energijski dnevni vnos (WHO, 1990; WHO, 1994).

Vrsta hranila	Energijski delež na dan
Ogljikovi hidrati	55-70 %
Beljakovine	10-15 %
Maščobe	< 30 %
od tega:	
- nasičene maščobne kisline	0-10 %
- večkrat nenasičene maščobne kisline	3-7 %

Najtežje kontroliramo maščobe, ki so najbolj koncentriran vir energije. Brez njih težko pokrijemo dnevne potrebe po energiji, a paziti moramo, da jih ne zaužijemo preveč. Energijski delež nasičenih maščobnih kislin (NMK) (predvsem lavrinska, miristinska, palmitinska) naj ne bi bil večji od 10 %, ker so aterogene in povišujejo koncentracijo holesterola v krvi in tako vodijo do tveganja za bolezni srca in ožilja. Priporočljiv delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin (VNMK) (vsaj 3 %) je osnovan na potrebah po esencialnih maščobnih kislinah. Njihova omejitev (do 7 %) pa je povezana z nastajanjem škodljivih peroksidov, katerim so te maščobe podvržene. Preostali energijski delež naj bi pokrile enkrat nenasičene maščobne kisline (ENMK), kot je oleinska kislina, ki so manj podvržene peroksidaciji, znižujejo skupni in LDL holesterol ter zvišujejo HDL holesterol v krvi (Salobir, 2001).

Kakovost maščob je torej odvisna od maščobnokislinske sestave. Pomemben pokazatelj sestave maščobnih kislin so izračunani indeksi. Med pomembnejše sodi razmerje med ω -6 in ω -3 maščobnimi kislinami. Obe vrsti sta esencialni (linolna in α -linolenska), potrebni pri izgradnji in delovanju celičnih membran in kot predstopnja tkivnih hormonov. Le ti morajo biti med seboj v ravnotežju in to ravnotežje je odvisno od ravnotežja oskrbe telesa z omenjenimi kislinami (gibalo naj bi se med 5 : 1 do največ 10 : 1 v korist ω -6 maščobnim kislinam). Previsoka koncentracija ω -6 maščobnih kislin lahko privede do previsoke stimulacije imunskega odziva organizma in pospešuje vnetne procese. Tako porušeno

razmerje lahko pomembno vpliva na pojav bolezni, ki so posledica neuravnotežene sinteze tkivnih hormonov (Salobir, 2001).

V zadnjih 100 letih se je razmerje močno porušilo in sodobna hrana vsebuje preveliko količino ω -6 maščobnih kislin, zato je težnja k zmanjšanju tega razmerja več kot upravičena. Poleg tega pa ima oskrba z manjšim razmerjem še druge ugodne učinke kot so, znižanje lipidov v krvi, znižanje krvnega tlaka, boljše reološke lastnosti krvi, blaženje vnetnih procesov, zmanjšanje pogostosti alergij (Connor, 2000).

Razmerje med VNMK in NMK označimo kot P/S indeks. Živila, ki imajo razmerje nižje od 0,5 so manj primerna saj povečujejo tveganje za kardiovaskularna in druga obolenja. Vendar je P/S indeks nekoliko neuporaben, saj ne upošteva razlik med posameznimi skupinami znotraj nenasičenih in nasičenih maščobnih kislin. Prav zaradi tega razloga so vpeljali za oceno maščob nov indeks, to je indeks aterogenosti (IA). Ta upošteva specifičen vpliv posamezne maščobne kisline. S prehranskega stališča ugodne maščobe so tiste, ki imajo vrednost IA manjšo od 0,5 (Ulbricht in Southgate, 1991; Salobir, 2001).

2.3 TOPLOTNO OBDELANA ŽIVILA

V živilstvu so postopki toplotne obdelave zelo pomembni. Uporabljajo se za podaljšanje obstojnosti živil in za pripravo gotovih jedi. Z njimi poleg mikrobiološke varnosti dosežemo tudi višjo prehransko kakovost oz. prebavljivost (npr: beljakovin) in vplivamo na razvoj številnih senzoričnih lastnosti, kot so aroma, barva, tekstura. Poleg pozitivnih lastnosti, ki jih prinese toplotna obdelava, se v živilih lahko pojavljajo tudi škodljive snovi. Pri mesu so to policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH), N-nitrozo spojine (NOC) (predvsem pri razsoljenem mesu) in heterociklični amini (HCA). Na njih v določeni meri lahko vplivamo z izbiro toplotnega postopka. Količino teh spojin lahko zmanjšamo z izbiro vlažnih postopkov toplotne obdelave, pri nižjih temperaturah in krajšim časom obdelave (Ramaswamy in Marcotte, 2006; Rajar in sod., 2006).

Toplotna obdelava in njen čas vplivata tudi na oksidacijo lipidov, njen obseg pa je povezan predvsem z lipidno sestavo, vsebnostjo antioksidantov, prooksidantov, površino izpostavljeno kisiku, vodno aktivnostjo in drugo. Po toplotni obdelavi nastajajo škodljivi lipidni peroksidi, hidroksi maščobne kisline, karbonilne spojine (malonaldehid), oksidirani steroli in drugi. Vendar se škodljivost oksidiranih lipidov v hrani navezuje predvsem na termooksidirane maščobe po cvrtju (Skvarča in sod., 2004).

2.3.1 Pasterizacija in sterilizacija

Postopka pasterizacije in sterilizacije sta bistvenega pomena pri doseganju daljše obstojnosti širokega spektra živil. Po določenem času pri ustrezni temperaturi, dosežemo

uničenje bakterij in encimov, ki povzročajo kvar živil ter okužbe in zastrupitve pri ljudeh. Pasterizirani izdelki so, toplotno obdelani do središčne temperature največ 100 °C, sterilizirani izdelki pa do središčne temperature nad 100 °C (Pravilnik o perutninskih mesnih izdelkih, 2002; Ramaswamy in Marcotte, 2006).

Pasterizacija

Pri pasterizaciji ne govorimo o popolnem uničenju mikroorganizmov. Neučinkovita je predvsem za spore. Bistvo pasterizacije je zmanjšanje ali uničenje potencialno patogenih mikroorganizmov, ki so prisotni v živilu. Temperatura in čas pasterizacije sta odvisni od lastnosti živila, vrednosti pH, občutljivosti na temperaturo in na vrsto potencialno prisotnih mikroorganizmov ali encimov. Običajno se uporablja segrevanje do središčne temperature v območju med 60 in 80 °C. Medtem, ko pasterizacija tekočih živil večinoma poteka v toplotnih izmenjalnikih, se netekoča oz. trda živila pasterizira v embalaži, kar zahteva daljši čas obdelave, kar vpliva na senzorične lastnosti živila. Trajnost pasteriziranih živil je različna in je omejena na nekaj dni (mleko), do nekaj mesecev (sadni sokovi). Pogosto moramo imeti taka živila celo v hladilniku. (Ramaswamy in Marcotte, 2006).

Sterilizacija

Sterilizacija je postopek, pri katerem gre za popolno uničenje mikroorganizmov. Stanje sterilnosti je potemtakem stanje brez navzočnosti živih mikroorganizmov sposobnih rasti in reprodukcije, sem prištevamo tudi spore. Sterilnost lahko dosežemo na več načinov: s kemijskimi agensi, fizikalnimi metodami, kot so različne filtracije in s toploto. Sterilizacije se poslužujemo pri zagotavljanju sterilnosti tako živil, kot tudi zraka, steklovine in drugih materialov. Za živila se najpogosteje uporablja toplotna sterilizacija, ki jo delimo na dolgotrajno sterilizacijo ali sterilizacijo v hermetično zaprti embalaži (stekleni embalaži ali pločevinkah), ki poteka pri povečanem tlaku v avtoklavih do središčne temperature 110-121 °C, ki jo moramo vzdrževati 10-40 min. Kratkotrajna sterilizacija ali sterilizacija v kontinuiranem pretoku, je lahko direktna ali indirektna. Pri direktni sterilizaciji po predhodni toplotni obdelavi z direktnim vbrizgavanjem pare v delčku sekunde segrejemo živilo na temperaturo 135 do 150 °C. Na tej temperaturi ga zadržujemo 4 - 8 sekund, nato ga ohladimo ter aseptično prenesemo v embalažo. Pri indirektnem postopku pa živilo segrejemo na temperaturo sterilizacije v ploščnih ali cevni izmenjevalcih toplote. Tako steriliziramo tekoča živila, najpogosteje mleko. Živila, ki so prešla postopek sterilizacije, imajo lahko trajnost celo nekaj let (Radež, 1996; Gobrovšek, 1999; Ramesh, 2007).

2.3.1.1 Perutninska jetrna pašteta

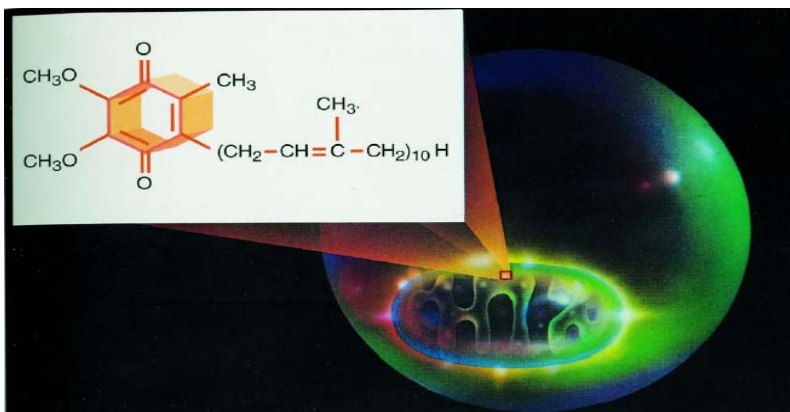
Pašteta je mesni izdelek, ki ga lahko pripravljamo tako v pasterizirani kot sterilizirani obliki. Da izdelek lahko definiramo kot perutninska jetrna pašteta, mora biti izdelan iz perutninskega mesa, strojno izkošččenega perutninskega mesa, kože, masti, rastlinskih

masti, mastnine, rastlinskih olj, juhe, bujona, vode, beljakovinskih preparatov, dodatnih surovin, začimb in aditivov in mora vsebovati vsaj 15 % jeter. Pripravljen nadev (emulzija) se polni v naravne ali umetne ovitke ali v drugo embalažo. Biti mora homogena, brez izločene maščobe ali želeja, mazave teksture, skladnega vonja in okusa. Perutninska pašteta lahko vsebuje največ 35 % maščob (Pravilnik o perutninskih mesnih izdelkih, 2002).

2.4 SPLOŠNE ZNAČILNOSTI CoQ₁₀

2.4.1 Odkritje CoQ₁₀

CoQ₁₀ so prvič izolirali leta 1957. Izoliran je bil iz mitohondrijev govejega srca. Njegovo kemijsko strukturo 2,3-dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil-1,4-benzokinon, pa je leta 1958 s pomočjo sodelavcev določil Karl Folkers (Langsjoen, 1994; Bhagavan in sod., 2007).



Slika 3: Kemijska struktura CoQ₁₀ (Littarru in Langsejoen, 2007).

2.4.2 Splošne značilnosti CoQ₁₀

CoQ₁₀ je rumena, v maščobi topna spojina. Čeprav je po svoji kemijski strukturi podobna vitaminu K, se od njega razlikuje po tem, da ga je naše telo sposobno sintetizirati samo. Sestavljena je iz benzokinonskega obroča in dolge lipidne stranske verige z desetimi izoprenskimi enotami (v eni izoprenski enoti je po 5 ogljikovih atomov). Koncentracije so v različnih tkivih različne. Medtem, ko je v plazmi njegova koncentracija nižja od koncentracije vitamina C in E, je v metabolno zelo aktivnih tkivih njegova koncentracija praviloma višja. Najvišjo koncentracijo so določili v organih kor so srce, jetra, ledvica, mišice in v možganih; na mikroskopski ravni pa v mitohondriju oz. njegovi membrani, Golgijevem aparatu in v lizosomih. To je seveda povezano z njegovimi poglavitnimi funkcijami, ki jih ima CoQ₁₀ v celici (Stocker, 2002; Nekajima in sod., 2008).

CoQ ni vezan le na človeka, ampak se nahaja tudi v drugih organizmih. Vrsta organizma pogojuje sintezo izoprenske verige. Za bakterije je značilen ubikinon z osmimi izoprenskimi enotami, za kvasovke s šestimi, za sesalce pa z devetimi in desetimi. Pri človeku, kot je bilo že omenjeno, prevladuje ubikinon z desetimi izoprenskimi enotami, kar mu daje tudi ime, CoQ₁₀. Prisoten pa je tudi v rastlinskem svetu (Navas in sod., 2007; Nekajima in sod., 2008).

2.4.3 Viri CoQ₁₀ za človeka

Glavni vir CoQ₁₀ je za človeka endogena biosinteza, saj ga lahko sami proizvajamo. Druga oz. dodatna pot pa je preko hrane. Do tridesetega leta telo v večji meri samo zagotovi zadostne količine tega koencima, po tridesetem letu pa začne njegova sinteza upadati. V tem obdobju dobi hrana bogata s CoQ₁₀ večji pomen (Langsjoen, 1994).

Biosinteza

Biosinteza CoQ₁₀ je vezana na različna človeška tkiva, v glavnem pa poteka v mitohondrijih. V procesu nastajanja tega koencima sodeluje sedem vitaminov (vitamin B₂, vitamin B₃, vitamin B₆, vitamin B₁₂, folna kislina, pantotenska kislina in vitamin C), aminokislini fenilalanin ali tirozin ter številni elementi v sledovih (Langsjoen, 1994; DiMauro, 2007).

Čeprav je sinteza kompleksna, vsebuje namreč 17 stopenj, v grobem poteka v treh osnovnih korakih (Higdon, 2003):

- sinteza benzokinona iz aminokislin tirozina ali fenilalanina;
- sinteza izoprenske stranske verige iz acetil-koencima A (CoA) iz mevalonata;
- povezava oziroma kondenzacija teh dveh struktur.

Pomembno vlogo pri sintezi CoQ₁₀ igra encim HMG (hidroksimetilglutaril) - CoA reduktaza, ki sodeluje tudi pri sintezi holesterola.

Eksogeni viri CoQ₁₀

Dodaten vir je prehrana. Hrana bogata s CoQ₁₀ je predvsem meso, perutnina in ribe. Hrana rastlinskega izvora, ki vsebuje večje količine CoQ₁₀ je soja, orehi in lešniki. Sadje, zelenjava, mlečni izdelki in jajca pa so njegov skromen vir. Vsebnost CoQ₁₀ se s pripravo hrane in s skladiščenjem le delno izgublja, kar kaže na njegovo relativno dobro termostabilnost in fotostabilnost. Študije so pokazale, da se pri kuhanju vsebnost res bistveno ne zmanjšuje, pri pečenju jajc in zelenjave pa njegoa vsebnost pade za 14 - 32 %. Vsebnost CoQ₁₀ v nekaterih živilih, v srovih ali pripravljenih, je prikazana v preglednici št. 2 (Kamei in sod., 1986; Weber in sod., 1997; Mattila in sod., 2001).

Preglednica 2: Vsebnost CoQ₁₀ v živilih (Higdon, 2003).

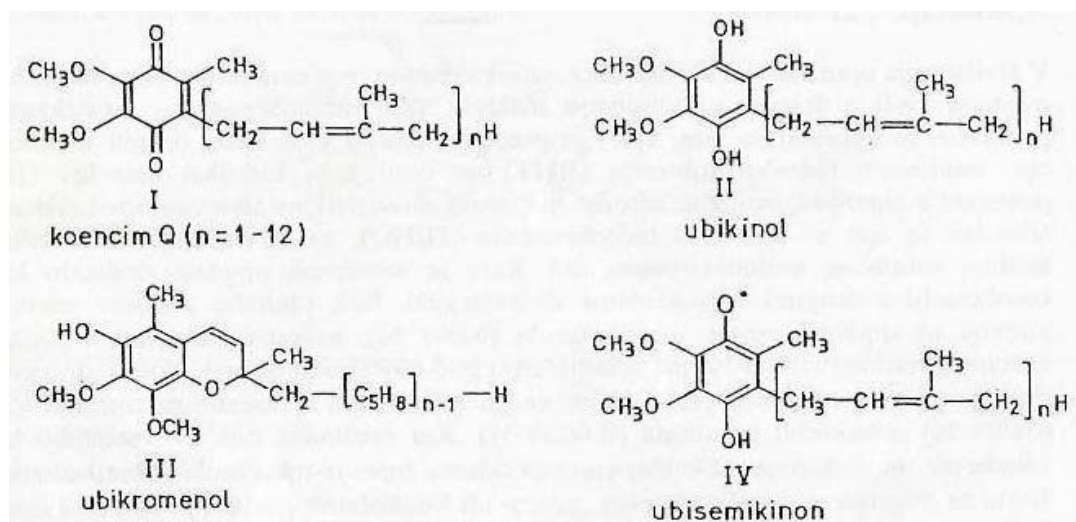
Vrsta hrane	Način priprave	Vsebnost (mg /100g)
Prašičja srčna mišica	pečenje	20,3
Govedina	pečenje	3,05
Kokoš	pečenje	1,66
Slanik	mariniran	2,70
Postrv	v pari kuhana	1,06
Riž	kuhan	0,02
Brokoli	kuhan	0,66
Paradižnik	/	0,02
Krompir	kuhan	0,05
Korenje	kuhano	0,021
Korenje	/	0,024
Pomaranče	/	0,22
Jabolka	/	0,11
Jogurt	/	0,12
Jajca (kokošja)	/	0,15

2.4.4 Biološka vloga CoQ₁₀ v celici

Ker je izredno topen v maščobah, je prisoten v vseh celičnih membranah, kjer lebdi v fosfolipidnem dvosloju. Njegovi glavni funkciji v celici sta vloga biološkega antioksidanta in sodelovanje v respiratorni verigi, kjer je udeležen pri oksidaciji reduciranih kofaktorjev (Brea-Calvo in sod., 2006).

2.4.4.1 Antioksidativna funkcija

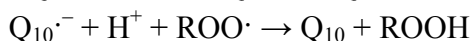
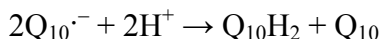
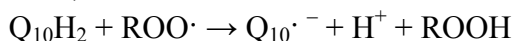
Antioksidativna aktivnost CoQ₁₀ ni odvisna le od njegove koncentracije, temveč predvsem od njegovega redoks stanja. V celicah je v različnih oksidativnih stanjih, za antioksidativno delovanje pa je pomembna predvsem njegova reducirana oblika. Znano je, da sta v tkivih stalno prisotna oksidirana oblika (ubikinon) in reducirana oblika (ubikinol) CoQ₁₀, vendar je njuni koncentraciji težko določiti, saj med pripravo vzorcev reducirana oblika zelo hitro oksidira. Poleg v popolnoma oksidirani ali reducirani obliki se CoQ₁₀, ko prejme en elektron, nahaja v obliki radikalskega aniona (ubisemikinon, Q₁₀^{•-}) (Tang in sod., 2004).



Slika 4: Redoks oblike koencima Q. Črka n predstavlja število ponavljajočih se enot izoprena v izoprenski verigi in s tem njeno dolžino. (Rudan-Tasič, 2000).

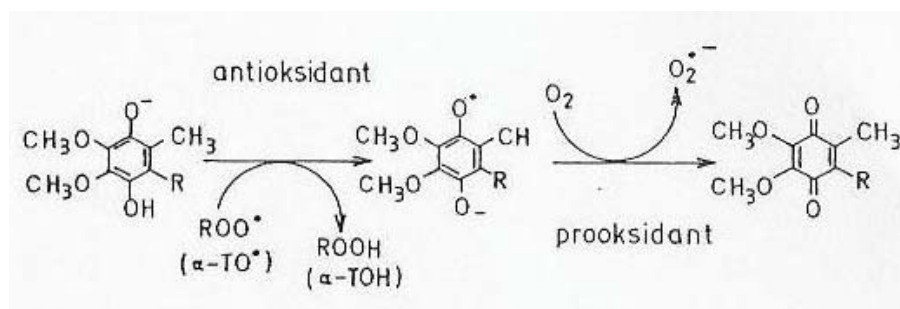
Da CoQ₁₀ ohrani antioksidativno delovanje v celici, se mora iz oksidirane oblike pretvarjat v reducirano. To se dogaja ob prisotnosti določenih substanc, kot je vitamin C in encimov, ki so sposobni redukcije oksidiranega CoQ₁₀ nazaj v reducirano obliko, CoQH₂ (Rudan-Tasič, 2000; Bhagavan in sod., 2007).

CoQ₁₀ kot antioksidant neposredno deluje na zaščito maščob s preprečevanjem peroksidacije. To doseže z redukcijo lipidnih alkilperoksidnih radikalov (Rudan-Tasič, 2000):



Na preprečevanje oksidacije pa deluje tudi posredno z regeneracijo drugih antioksidantov, kot je na primer vitamin E. ($\alpha\text{-TO}\cdot \rightarrow \alpha\text{-TOH}$). Zanimivo je tudi dejstvo, da je ubikinol, v primerjavi z vitaminom E, kljub nižji koncentraciji v plazmi vseeno prvi antioksidant, ki vstopa v reakcije za zaščito celice (De Cabo in sod., 2004; Ruiz-Jimenez in sod., 2007).

Pri antioksidativnem delovanju gre torej za prehod ubikinol \leftrightarrow ubisemikinon ($Q_{10}H\cdot \rightarrow Q_{10}\cdot^-$), medtem ko redukcija O₂ predstavlja prooksidativno delovanje in je povezana s prehodom ubisemikinon \leftrightarrow kinon ($Q_{10}\cdot^- \rightarrow Q_{10}$). (Rudan-Tasič, 2000).

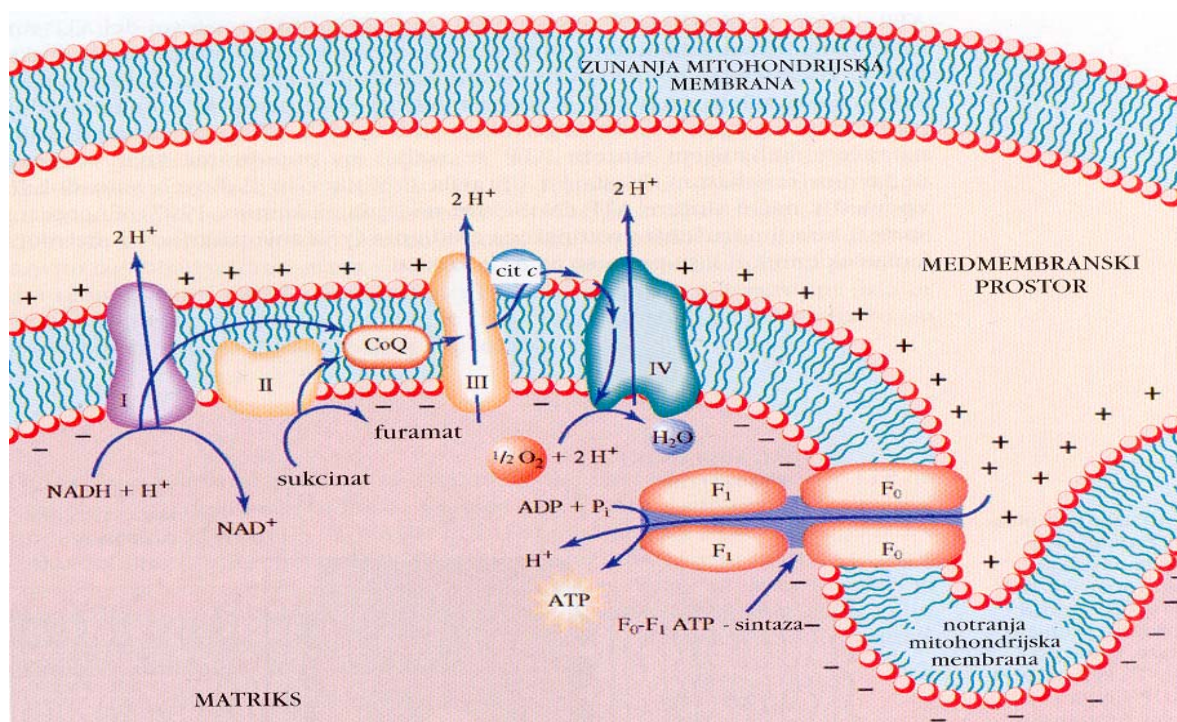


Slika 5: Antioksidativno in prooksidativno delovanje ubikinona (Rudan-Tasič, 2000).

2.4.4.2 Dihalna veeriga

CoQ₁₀ ima pomembno vlogo v respiratornem metabolizmu kot prenašalec elektronov in protonov v dihalni verigi v mitohondrijih. Pretvorba energije iz ogljikovih hidratov in maščob v ATP (adenozin trifosfat), obliko energije za celice, zahteva prisotnost CoQ₁₀, ki je ključni del tega celičnega mehanizma in tako priskrbi energijo za življenjsko potrebne funkcije. Največji del proizvodnje ATP-ja se odvija na notranji membrani mitohondrijev, kjer se CoQ₁₀ tudi nahaja. Njegova funkcija je prenos elektronov iz kompleksa I in II na kompleks III (Ishii in sod., 2004; Bera- Calvo in sod., 2006).

Najprej kompleks I (NADH-dehidrogenaza) od NADH prejme dva elektrona, ki jih odda CoQ₁₀. Hkrati se prenesejo protoni v medmembranski prostor. Prav tako CoQ₁₀ elektrone iz sukcinata (FADH₂) odda tudi kompleks II (sukcinat dehidrogenaza). V naslednjem delu se elektroni prenesejo iz ubikinola na kompleks III (citokrom c reduktaza). Elektroni, ki prek CoQH₂ vstopajo v kompleks III, se zato razdelijo na dve ločeni, a vseeno povezani poti, ki sestavljata t.i. Q cikel. Pot elektronov prek tega dela dihalne verige je zapletena, rezultat pa preprost: CoQH₂ se oksidira, citokrom pa se reducira. Tudi kompleks III deluje kot protonska črpalka, saj se energija, sproščena pri oksidaciji CoQH₂ v CoQ, porabi z črpanje protonov v medmembranski prostor in tako ustvarjanje protonskega gradienta. Kompleks IV sestavlja citokrom oksidaza, kjer se izvede 4-elektronska redukcija O₂ v H₂O. Tudi kompleks IV deluje kot protonska črpalka (Naoaki in sod., 2003; Galinier in sod., 2004; Boyer, 2005).



Slika 6: Prikaz poteka prenosa elektronov iz kompleksa I in II na kompleks III in IV s posredovanjem CoQ₁₀ (Nelson in Cox, 2005).

2.4.4.3 Lizosomska funkcija

Lizosomi so organeli, ki so v celici specializirani za razgradnjo snovi, ki jih celice ne potrebujejo več. Prebavni encimi v lizosomih delujejo optimalno pri kislem pH. Membrane lizosomov vsebujejo relativno visoko koncentracijo CoQ₁₀, ki igra pomembno vlogo v transportu protonov čez lizosomsko membrano in tako vzdržuje optimalni pH (Higdon, 2003).

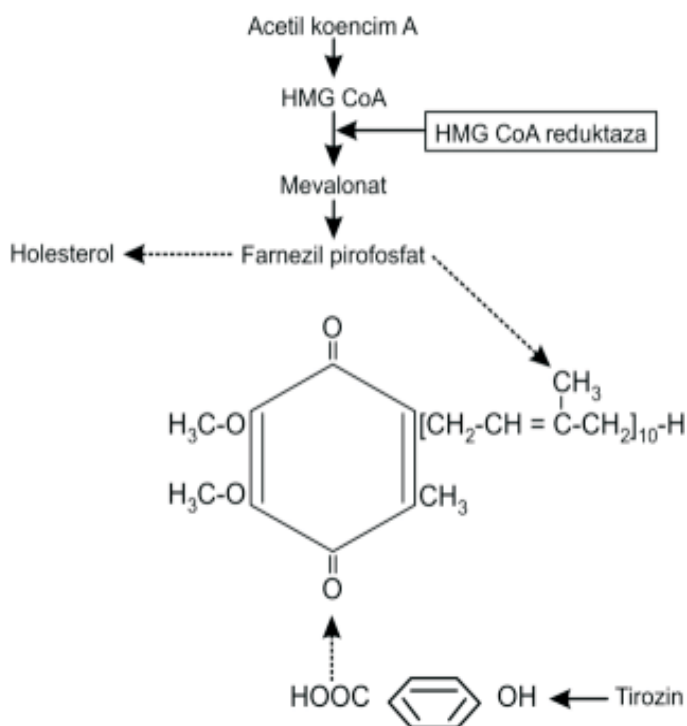
2.4.4.4 Vsebnosti CoQ₁₀ v telesu in njegovo pomanjkanje

Zdrav človeški organizem proizvede do približno 300 mg ubikinona na dan. S hrano pa ga povprečno zaužijemo veliko manj. Skupna količina CoQ₁₀ v odraslem človekovem telesu se giblje okoli 1-2 g. V povprečju je serumska koncentracija CoQ₁₀ pri moških višja kot pri ženskah (Kaikkonen in sod., 1999).

Koncentracije CoQ₁₀ so najvišje v tkivih z visoko stopnjo metabolizma. Tukaj presežejo koncentracije antioksidantov, kot je vitamin E, medtem ko je v plazmi koncentracija vitamina E in C višja. V eritrocitih, ki mitohondrijev nimajo, je zaznaven le v sledovih (Pavlin, 2008). Želene povprečne koncentracije CoQ₁₀ v plazmi se gibljejo med 0,7-1,0 µg/ml. Po tridesetem letu starosti pa začne endogena raven upadati in postane eksogeni vnos CoQ₁₀ večjega pomena. V povprečju ga s prehrano zaužijemo le 3 do 5 mg/dan. Za

vzdrževanje normalne serumske koncentracije je tako priporočeno jemanje dodatnih 20 do 60 mg CoQ₁₀ na dan, odvisno od starosti. Višje doze, 100-200 mg dnevno, pa povišajo koncentracijo v plazmi na 2 do 3 µg/ml, kar pa ima že terapevtske učinke in se uporabljajo pri zdravljenju (Higdon, 2003; Shnide in sod., 2005).

Poleg padca endogene sinteze lahko na pomanjkanje vpliva tudi stres, veliki telesni napor in neuravnotežena prehrana, v kateri primanjkuje elementov, ki sodelujejo pri biosintezi. Tudi statini, zdravila za zniževanje holesterola, prispevajo k zmanjšani biosintezi. CoQ₁₀ in holesterol se v organizmu sintetizirata iz iste substance – mevalonata. Zdravila iz skupine statinov (simvastatin, atorvastatin...) znižujejo raven holesterola z inhibicijo njegove sinteze, preko inhibicije HMG-CoA reduktaze, istočasno pa znižujejo tudi raven CoQ₁₀, pri čigar sintezi sodeluje isti encim (Shnide in sod., 2005). Do pomanjkanja pa lahko pride tudi zaradi motene biosinteze. To je izredno redka motnja, kjer pride do mutacije genov za biosintezo CoQ₁₀ in posledica je njegovo veliko pomanjkanje v telesu. Taki ljudje ga morajo v celoti nadomesti s prehrabnimi dodatki (DiMauro, 2007).



Slika 7: Biosinteza CoQ₁₀ in holesterola (Rus P. in Rus R. R., 2008).

2.4.5 CoQ₁₀ kot prehranski dodatek

2.4.5.1 Doziranje in biološka izkoristljivost

CoQ₁₀ dosega v zadnjih letih kot prehransko dopolnilo veliko popularnost. Brez recepta in v različnih oblikah je dosegljiv v lekarnah in tudi samopostrežnih prodajalnah. Proizvajalci priporočajo uživanje 30-100 mg/dan. To je bistveno več, kot ga lahko vnesemo s hrano. Večje doze pa imajo že terapevtske učinke. V primerih, ko jemljemo več kot 100 mg/dan je priporočljivo, da ga razdelimo v tri dnevne doze (Hidgon, 2003; Bhagavan in sod., 2007).

CoQ₁₀ je topen v maščobah, zato se najbolje absorbira v prisotnosti maščob. Hrana bogata z maščobami poveča njegovo absorpcijo. Zato je pomembno upoštevati to dejstvo tudi pri izbiri prehranskih dodatkov. Uživanje CoQ₁₀, raztopljenega v oljni osnovi, ima prednost pred uživanjem koencima v dodatkih, kjer se nahaja v prahu, v kristalinični obliki. To je pokazala tudi študija opravljena na 60 zdravih moških starih od 18 do 55 let. Razdelili so jih v 3 skupine, kjer je prva skupina jemala oljne kapsule, v katerih je bil raztopljen CoQ₁₀, druga kapsule napolnjene s CoQ₁₀ v kristalinični obliki in tretja placebo. Rezultat je pokazal povišanje serumske koncentracije CoQ₁₀ pri prvih dveh skupinah, in sicer 3 - 10 krat, pri čemer je višjo raven dosegla skupina, ki je jemala v olju raztopljen CoQ₁₀ (Singh in sod., 2005). Če uživamo CoQ₁₀ v prahu, je priporočljivo pred tem zaužiti nekaj maščob, da se v njih raztopi. Iz tankega črevesa se CoQ₁₀ absorbira vgrajen v hilomikrome in potuje do jeter od koder se v kri sprosti skupaj z lipoproteini (Kaikkonen in sod., 2002). Ker lipofilna narava preprečuje enostavno absorpcijo, je bilo razvitih več oblik vodotopne oblike CoQ₁₀, ki se bolje absorbirajo in s tem povečujejo biološko razpoložljivost. Ker se CoQ₁₀ za povišanje prehranske vrednosti lahko dodaja v živila, je vodotopna oblika omogočila dodatek tudi v živila z manj maščobami kot so mleko in jogurti. (Terao in sod., 2006).

Prevzem CoQ₁₀ poteka v krvi, limfnih žilah, jetrih in vranici, v drugih tkivih pa večinoma ne. Črevesna absorpcija običajno predstavlja manj kot 10 % dnevno potrebnega CoQ₁₀, ostalo je produkt endogene sinteze. Opazili pa so, da se sprejem iz zunanjih virov CoQ₁₀ opazno poveča, ko zaradi različnih vzrokov pride do pomanjkanja. To je potrdila študija na podganah, ki so dva meseca prejemale povečane koncentracije CoQ₁₀. Starejšim podganam, ki so imele pred jemanjem dodatka CoQ₁₀ nižjo koncentracijo CoQ₁₀, se je koncentracija CoQ₁₀ v mišicah in možganih povišala, pri mladih podganah pa bistvenega povišanja niso zaznali (Stocker, 2002; Hidgen, 2003).

2.4.5.2 Stranski učinki in vzajemno delovanje z zdravili

CoQ₁₀ se že vsaj dvajset let uporablja tudi v medicini. Za terapevtske namene se uporabljajo različne koncentracije, vendar kljub temu ni bilo zaznati stranskih učinkov, tudi pri 16 mesečnem jemanju 1200 mg CoQ₁₀/dan (Shults in sod., 2002). Prav tako pri testiranju kliničnih odmerkov o obsegu 1200 do 3000 mg dnevno, niso poleg redkih, ampak izredno blagih gastrointestinalnih simptomov opazili nobenih neželenih pojavov (Pavlin, 2008).

Vitamin K in CoQ₁₀ imata podobno strukturo, z avoljo katere lahko hkratna uporaba warfarina (antikoagulant) in dodatkov CoQ₁₀ zmanjšuje antikoagulativne učinke warfarina. Posameznik, ki jemlje warfarin, naj ne bi užival dodatkov CoQ₁₀ brez posvetovanja z zdravnikom, ki mu je predpisal antikoagulativno terapijo. Nasprotno pa je jemanje dodatkov priporočljivo za ljudi, ki jemljejo statine, inhibitorje HMG-CoA reduktaze, ki omejuje njegovo biosintezo (Shnide in sod., 2005; Stocker in sod., 2006).

2.4.5.3 Zdravljenje in preprečevanje bolezni s CoQ₁₀

CoQ₁₀ že nekaj časa uporabljajo tudi v klinične namene, kjer kaže spodbudne rezultate. Vendar še vedno preučujejo področja njegove uporabnosti. Preizkušajo ga pri različnih boleznih, kot so rak, arteroskleroza in aids, vendar jasnih rezultatov še ni (Pavlin, 2008).

2.4.5.4 Primeri uspešne uporabe CoQ₁₀ v klinični rabi

Bolezni srca

Sem sodijo sami začetki uporabe CoQ₁₀ v zdravstvene namene. Že leta 1974 so ga Japonci začeli uporabljati pri srčnem popuščanju. Danes je uporaba razširjena in kaže uspešne rezultate pri bolnikih, ki so ga jemali pred transplantacijo srca in bolnikih, ki so ga jemali pred drugimi operacijami srca. Upoštevati pa je potrebno dejstvo, da je v takih primerih učinkovit, ko doseže trikratno plazemsko koncentracijo in je zato potrebno natančno določati odmerke (Pavlin, 2008).

Bolezni srca in ožilja ter povišan krvni tlak

Številne klinične študije potrjujejo, da dodatni vnos CoQ₁₀ lahko vpliva na zdravljenje pacientov s kardiovaskularnimi boleznimi. Dokazujejo, da CoQ₁₀ zmanjšuje verjetnost za pojav bolezni srca in ožilja ter pomaga pri samem delovanju srca. Oksidativna modifikacija LDL v stenah arterij naj bi bil zgoden znak razvoja ateroskleroze; reducirana oblika CoQ₁₀ pa zavira oksidacijo LDL *in vitro* in sodeluje z α -tokoferolom pri preprečevanju oksidacije LDL (Hidgen, 2003). Spodbudna so tudi poročila o zniževanju povišanega krvnega tlaka. Za pozitivne učinke ga je potrebno jemti vsaj 4 do 12 tednov (Pavlin, 2008).

Migrena

Pozitivne učinke kaže tudi pri migrenah. Čeprav raziskave še vedno potekajo, so nekatere študije potrdile njegovo uspešno delovanje. Po treh mesecih jemanja CoQ₁₀, trikrat na dan po 100 mg, je slaba polovica bolnikov poročala o zmanjšanju pogostosti napadov v primerjavi s skupino placeba, kjer je bil odstotek 14 % (Sander in sod., 2005). V drugem primeru so skupini bolnikov dodajali 150 mg CoQ₁₀ na dan. Po prvem mesecu so poročali o 13 % upadu, po treh mesecih pa o 55 % upadu migrenskih napadov (Rozen in sod., 2003).

Degeneracija makule

Raziskava na tem področju je pokazala izboljšanje vidnega polja in ostrine vida pri bolnikih, ki so se 12 mesecev zdravili s CoQ₁₀ in dodatkom karnitina in ω -3 maščobnih kislin (Feher in sod., 2005).

Neploidnost moških

Pri neplodnih moških so opazili zmanjšanje koncentracije CoQ₁₀ v seminalni plazmi in spermijih. Študije so pokazale, da se z jemanjem povišanih koncentracij CoQ₁₀, 200 mg/dan v šestmesečnem obdobju, stanje izboljša. Seminalna analiza je pokazala pomemben porast CoQ₁₀ tako v seminalni plazmi, kot v spermijih in hkrati pokazala tudi bistveno povečanje gibljivosti spermijev (Khan in sod., 2007).

Parkinsonova bolezen

Parkinsonova bolezen je bolezen centralnega živčnega sistema, pri čemer noben način zdravljenja ni pokazal, da bi se napredovanje bolezni zaustavilo. Strokovnjaki so v različnih študijah ugotavljali vpliv CoQ₁₀ na upočasnitev znakov Parkinsonove bolezni. Rezultati so zelo spodbudni in veliko zdravnikov uspešno uporablja ta način zdravljenja. Pogoji za uspešno zdravljenje so izredno visoki odmerki, ki se gibljejo od 1200 do 3000 mg/dan. Najboljše rezultate so dosegli pri odmerku 2400 mg/dan. Pri tej koncentraciji se je plazemska koncentracija ustalila in se s povečevanjem odmerkov ni več povečevala. Pogosto vzporedno s CoQ₁₀ dodajajo tudi vitamin E. Zanimivo je tudi dejstvo, da se s povečevanjem odmerkov stranski učinki niso stopnjevali. Poleg blagih in redkih prebavnih težav pri nekaterih bolnikih, pri odmerkih nad 1200 mg dnevno, ni bilo opaziti nobenih stranskih učinkov. Bolniki pa so z višanjem odmerkov (do koncentracije 2400 mg/dan) dosegali večje izboljšanje (Shnide in sod., 2005; Pavlin, 2008).

2.5 VPLIV OKSIDACIJE NA MESO IN MESNE IZDELKE

Na obstojnost živil velikokrat vpliva oksidacija, zato njeno preprečevanje oz. zaviranje podaljšuje obstojnost izdelka, tako v senzoričnem kot v zdravstvenem smislu. Za zmanjšanje oksidacije v živilih se v živilstvu poslužujejo antioksidantov, ki jih dodajajo v živila. Poleg tega pa poskušajo, če je mogoče, ugoditi še drugim dejavnikom, kot so:

- način pakiranja (vakuumsko pakiranje, pakiranje v kontrolirano atmosfero, ki izključuje kisik ali v inertne pline)
- način skladiščenja (hlajenje, zmrzovanje) (Skvarča, 2000).

Pomembno vlogo pri kvarjenju hrane ima avtooksidacija ali spontana neencimska oksidacija maščob, ki so izpostavljene zraku. Gre za reakcije s prenosom enega elektrona, kar je osnova antioksidativnega delovanja. Proces je sestavljen iz treh korakov (inicijacije, propagacije in terminacije). V prvem koraku se tvorijo prosti radikali ($R\cdot$, $H\cdot$), ki nastanejo kot posledica različnih dejavnikov, kot so svetloba, toplota in prisotnost določenih kovin. Od vrste prostega radikala je odvisno, kako bo potekla oksidacija maščob in katere maščobe bodo vanjo vključene (proste maščobne kisline, fosfolipidi, trigliceridi, estri holesterola). Sledi faza verižnih reakcij, kjer nastajajo vedno novi lipidni radikali ($R\cdot$), alkilperoksidni radikali ($ROO\cdot$) in lipidni hidroperoksidi ($ROOH$), to so razgradni produkti maščobnih kislin. Pri tem prihaja do poškodb vedno novih molekul maščob. Vendar tudi ta reakcija ne more potekati neskončno, saj ima človeški organizem zaščitne mehanizme, ki to preprečujejo. Tu odigrajo svojo vlogo antioksidanti, ki so del tretjega koraka avtooksidacije in prekinejo verižno reakcijo. Temu sledi nastanek stabilnih spojin. Antioksidanti z vključitvijo v ta proces prav tako tvorijo radikale, vendar so ti stabilni in veliko manj reaktivni (Ingold in sod., 1993; Rudan-Tasič, 2000).

2.5.1 Prosti radikali

Prosti radikali so rezultat normalne celične presnove, v okviru celičnega dihanja. Poleg tega so lahko posledica tudi dejavnikov okolja, kot so toplota, UV in gama žarki, kajenje onesnaženost okolja, prisotnost alkohola ali snovi iz nekaterih zdravil, kot so analgetiki, anestetiki in drugi. So visoko reaktivne molekule ali ioni z vsaj enim elektronom brez para. Nastajajo pri cepitvi kovalentne vezi. Velik pomen dobijo predvsem pri staranju, raku, zmanjšani imunski odpornosti, degenerativnih in drugih boleznih, ko telesu primanjkuje naravnih antioksidantov (Korošec, 2000).

Najpomembnejši kisikovi prosti radikali so: superoksidni anion ($\cdot O_2$), tripletni kisik (3O_2), hidroksilni radikal ($\cdot OH$), vodikov peroksid (H_2O_2), radikal dušikovega oksida ($NO\cdot$) in peroksidni radikal ($ROO\cdot$). Prosti radikali delujejo znotraj celic in izven njih in so v splošnem za celico škodljivi. Učinki prostih radikalov so različni glede na mesto delovanja (Korošec, 2000):

- Delovanje na lipide povzroča peroksidacijo maščob, in pojav toksičnih produktov. To vpliva tudi na poškodbe membrane, kar se kaže v spremenjeni prepustnosti (ionski transport).
- Z delovanjem na proteine povzročijo oksidacijo SH – skupin, kar poškoduje encime, vplivajo npr. na aktivacijo encima kolagenaze in inaktivacijo encima α_1 -antitripsinazo.
- Delovanje na DNK povzroči njene poškodbe, kot je cepljenje verige, vplivajo tudi na nukleinske kisline, kar se v končni obliki odraža na poškodbi celic.

2.5.2 Antioksidanti dodani mesu in mesnim izdelkom z višjo vsebnostjo maščob

Glavni mehanizem poslabšanja kakovosti mesa in še posebej mesnih izdelkov je oksidacija maščob. Zato se v mesnopredelovalni industriji pogosto uporablja antioksidante. Učinek antioksidantov v maščobah je različen in je odvisen predvsem od (Gunstone, 1996):

- vrste olja ali maščobe glede na vsebnost nenasičenih maščobnih kislin
- mešanice antioksidantov in sinergistov;
- porazdelitve antioksidantov med vodno in maščobno fazo;
- temperature, ki vpliva na mehanizem oksidacije in razgradnjo primarnih oksidacijskih produktov (hidroperoksidov) ali sekundarnih produktov (karbonilne spojine in/ali hlapne komponente).

Poleg tega mora vsak antioksidant slediti osnovnim zahtevam (Coppen, 1994):

- biti mora varen za uporabo;
- ne sme imeti neželenih vonjev, okusov in barve;
- prenesti mora postopke toplotne obdelave, skozi katere gre izdelek;
- učinkovit mora biti pri nizkih koncentracijah;
- dostopen mora biti po nizkih cenah.

Za stabilizacijo maščob se uporablja tako naravne kot sintetične antioksidante. Najpomembnejši naravni antioksidanti za te namene so ekstrakti nekaterih začimb (žajbelj, rožmarin), tokoferoli, askorbinska kislina (Skvarča, 2000):

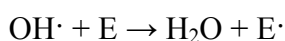
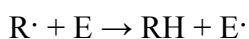
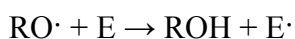
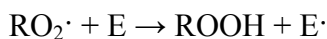
L-askorbinska kislina

Askorbinska kislina je zaradi svoje široke uporabnosti (kot konzervans, ki ohranja barvo, aromo in izboljša splošno obstojnost izdelkov) dobila v živilstvu pomembno vlogo. Za antioksidativno zaščito maščob in olj se zaradi boljše topnosti uporabljajo predvsem estri L-askorbinske kisline (npr. L-askorbil 6-palmitat). Kot dodatek razsoljenim mesninam z redukcijo dušikove (III) kisline močno zmanjša nastanek nitrozaminov. Pomembna je tudi pri redukciji drugih antioksidantov, kot je npr. CoQ₁₀. Najvažnejša kemijska lastnost vitamina C je njen reverzibilni oksidacijsko - redukcijski proces med L-askorbinsko kislino

(H₂A) in L-dehidroaskorbinsko kislino (A). Ta sposobnost oksidacije H₂A, s prenosom enega ali dveh elektronov, je tako v živalskem in rastlinskem organizmu, kot tudi v živilski industriji tista uporabna lastnost, zaradi katere je L-askorbinska kislina tako pomemben aditiv. Poleg tega ima tudi status GRAS (Rudan-Tasič, 2000).

α-tokoferoli

α-tokoferol je sinonim za vitamin E, saj je njegova glavna aktivna sestavina in je v naravi med tokoferoli najbolj razširjena. Sicer pa je vitamin E zmes kemijsko med seboj podobnih spojin (α, β, γ, δ tokoferole in α, β, γ, δ tokotrienoli). Je nujno potreben celični antioksidant, saj preprečuje spontano oksidacijo močno nenasičenih maščobnih kislin v lipidnih membranah in 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).

Tudi v živilski industriji ima pomembno vlogo, saj njegovo dodajanje prispeva tako k višji prehranski vrednosti kakor povečani obstojnosti živil. Uporaba tokoferolov kot antioksidantov je omejena predvsem na področje olj, masti in živil z višjo vsebnostjo maščob. Za povečevanje učinkovitosti pa se jih dodaja v kombinaciji s sinergisti. Na tak način lahko npr. podvojimo rok uporabe svinjske masti (zmes α-tokoferola, askorbil palmitata in citronske kisline). Vpliv sinergistov se pokaže tudi pri segrevanju rastlinskih olj na 150 °C (Rudan-Tasič, 2000).

Med sintetičnimi antioksidanti pa se najpogosteje uporabljajo:

- BHA (butil hidroksi anisol; E320), ki se dobro topi v maščobah. Je bolj učinkovit v animalnih kot v rastlinskih maščobah. Dobro prenaša procese toplotne obdelave živil;
- BHT (butil hidroksi toluen; E321), ki je v maščobah nekoliko slabše topen od BHA - ja. Je zelo učinkovit v živalskih maščobah in se uporablja v izdelkih z nižjo vsebnostjo maščob in ribjih izdelkih;
- PG (propil galat; E310), ki je sicer slabše topen v oljih in maščobah kot BHA in BHT, vendar zelo učinkovit antioksidant za mesne izdelke;
- TBHQ (terc-butil hidrokinon), ki je novejši antioksidant. Zelo je učinkovit pri rastlinskih oljih in stabilen pri visoki temperaturah (Skvarča, 2000).

Preglednica 3: Vpliv naravnih antioksidantov in antioksidativnih sestavin, dodanih *post mortem*, na oksidativne procese v mesnih izdelkih (Žlender, 2000).

Antioksidanti/ antioksidativne sestavine	Izdelek	Pogoji skladiščenja	Vpliv na:		
			stabil. barve	oksidac. lipido	holester. oksid.
α-tokoferol	TO puran. ekljanci	Aer., 4 °C, 9 dni	+	+	-
	TO sv./perut. klobase	Aer., 4 °C, 8 ted.	+	+	-
	TO gov. sekljanci	Vak., 5 °C, 30 dni	-	+	-
	Svinjska pečenka	Aer./vak., 4 °C, 8dni/8ted.	-	+	-
Na-laktat +GDL	TO svinj. emulzija	MAP, 5 °C, 4 ted	+	+	-
Na-laktat	TO svinj. sekljanci	Aer., -18 °C, 14 ted	+	+	-
Na-polifosfat	TO svinj. sekljanci	Aer., -18 °C, 14 ted	+	+	-
Askorbil palmitat	TO gov. sekljanci	Vak., 5 °C, 30 dni	-	+	-
β-karoten	TO gov. sekljanci	Vak., 5 °C, 30 dni	-	+	-
Majaron, curry, ingver, timijan, žajbelj, cimet, kumina, menta, bazilika	Mleto pišč. meso	Aer., -18 °C, 6 mes.	-	+	-
	Mleta svinjina	ali 4 °C, 7 dni	-	+	-
	TO svinjina		-	+	-
Rožmarin	Sterilizirana svinjina	Aer., 20 °C, 8 ted.	-	+	-
	TO pišč. meso	Aer., 4 °C, 4 dni	-	+	-
Sezamovi olje, rutin, kvercetin, rožmarinov oleorezin	Svinj. Sekljanci	Aer., 4 °C, 7 dni	+	+	-
	TO svinj. sekljanci	Aer., 4 °C, 7 dni	-	+	-
Češnje	Gov. sekljanci	Aer., 4 °C, 9 dni	-	+	+/-
	TO gov. sekljanci	Aer., 4 °C, 4 dni	-	+	+
Poper	TO mleto govedina	Aer., 4 °C, 8 dni	-	+	-
Karnizin	TO pišč. sekljanci	Aer., 4 °C, 7 dni	-	+	+/-
	Pišč. sekljanci	Aer., 4 °C, 10 dni			

TO – toplotna obdelava, Aer. – pakiranje v za zrak prepustno folijo, MAP – 80 % N₂ in 20 % CO₂, GDL-glukono-delta-lakton, (+) – vpliv prisoten, (-) – ni vpliva.

Na intenzivnost oksidacije membranskih lipidov ima vpliv tudi sol. Pri visokih koncentracijah soli v izdelku, je intenzivnost oksidacije obratno sorazmerna koncentraciji NaCl. Prav tako ima tudi razsoljevanje pozitiven učinek na izdelke, ki so bolj stabilni na oksidacijo (Žlender, 2000).

Pogosto je kombinacija dveh ali več različnih antioksidantov bolj učinkovita, kot če bi uporabljali posamezni antioksidant ločeno. Številne kisle komponente, kot so citronska, fosforna ali askorbinska kislina pomagajo kot sinergisti pri podaljšanju maščobni obstojnosti (Skvarča, 2000).

Temperatura in čas toplotne obdelave, prisotnost kisika, maščobnokislinska sestava, koncentracija mikroelementov s prooksidativnim in antioksidativnim delovanjem in vsebnost antioksidantov so dejavniki, ki pomembno vplivajo na oksidacijsko stabilnost maščob (Gustafsson in sod., 1993).

2.5.3 Oksidacija mesa

Meso je kot sveže živilo oksidacijsko dokaj stabilno. S postopki obdelave, kot so toplotna obdelava, zamrzovanje, tajanje, razdevanje, izpostavljanje svetlobi, pa oksidacijo pospešujemo. Njen pojav vpliva na spremembo barve, vonja in okusa, kar je s senzoričnega stališča nezaželeno. Prisotnost toksičnih snovi, ki pri tem nastanejo, pa omejuje uporabnost živila tudi iz zdravstvenega vidika (Žlender, 2000).

Oksidabilni substrati v mišicah so proteini, pigmenti in lipidi (fosfolipidi, trigliceridi, holesterol). V mesu so prooksidanti prisotni (kovine kot so Fe, Cu, proteini z železom, encimi), prav tako pa so navzoči tudi endogeni antioksidanti, ki ga pred njimi ščitijo. Endogene antioksidante delimo na topne v maščobi (α -tokoferol, karotenoidi, koencim Q), topne v vodi, ki se nahajajo predvsem v citosolu (askorbinska kislina, karnozin, sečna kislina, glutation, poliamini) in encimske antioksidante (superoksid dismutaza, glutation peroksidaza in katalaza) (Žlender, 2000).

1. $2\text{O}_2\cdot^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
2. $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
3. $2\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{GSSG}$

Kataliza reakcij endogenih antioksidantov v mišicah: 1 - reakcija superoksid dismutaze, 2 - reakcija glutation peroksidaze, 3 - reakcija katalaze (Korošec, 2000).

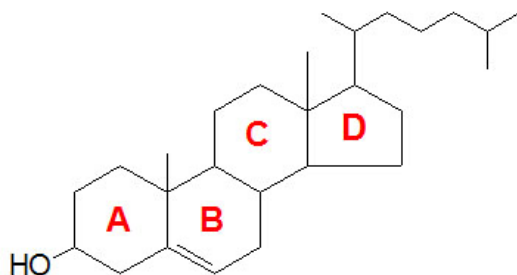
Na večjo oksidacijsko stabilnost mesa lahko vplivamo že s krmo živali. Vitamina E in karotenoidov klavne živali ne morejo sintetizirati, dobijo jih s hrano. Študija kaže, da imajo majhni dodatki β -karotena (15 ppm) v krmo antioksidativen učinek na meso, medtem ko se pri večjih odmerkih (50 ppm) učinek spreobrne in deluje prooksidativno (Žlender, 2000). Dodatek vitamina E v dnevni obrok krme govedu (3,5 mg/kg mesa) pa zmanjšuje oksidacijo lipidov in zavira oksidacijo pigmentov. Prav tako je bilo ugotovljeno, da je

endogeni vitamin E veliko bolj učinkovit kot eksogeni, ki se ga *post mortem* nanese na meso (Gašperlin, 2000).

S senzoričnega stališča sta najpomembnejši oksidacija maščob in oksidacija barve. Prva zaradi zdravstvenega vidika in arome, druga pa zaradi izgleda mesa. Oksidirane maščobe prepoznamo po značilni aromi, žarkosti, ki se odraža tako v vonju kot okusu. Primarni produkti oksidacije, hidroperoksidi, so sicer brez vonja, vendar se v procesu sekundarne oksidacije razgradijo v številne hlapne in nehlapne komponente kot so furani, alkoholi, karbonili in aldehidi, ki najbolj prispevajo k žarki aromi. Na aromo toplotno obdelanega mesa vpliva tudi interakcija med produkti oksidacije lipidov in Maillardove reakcije (Žlender, 2000). Barva mesa pa je odvisna od oksidacijskega stanja pigmenta, njegove koncentracije in fizikalnih lastnosti mesa. Reducirana oblika mioglobina ali deoksimioglobin (Mb) daje mesu purpurno rdečo barvo. V navzočnosti kisika pa se spremeni v dva druga pigmenta: pri nizkem parcialnem tlaku kisika (pod 0,005 bar) se oblikuje metmioglobin (MetMb) ali oksidirana oblika, pri višjem tlaku pa v oksimioglobin (MbO₂) ali oksigenirana oblika mioglobina. Svetlo rdeči oksimioglobin se oblikuje na površini mišic, kjer je veliko kisika in sega v notranjost do koder sega tudi kisik. V navzočnosti reducirajočih agensov se lahko kot rezultat oksidacije mioglobina pojavita tudi zelena pigmenta, koleglobin in sulfmioglobin. Mioglobin reagira poleg s kisikom tudi z ogljikovim monoksidom in dušikovim oksidom. Na spontano neencimsko oksidacijo (avtooksidacijo mioglobina) vplivajo številni dejavniki. Pospešujejo jo kovinski ioni (Cu, Fe), nizek pH mišičnine in prisotnost soli. Prav tako so dejavniki, ki vplivajo na barvo mesa tudi pakiranje, temperatura, zmrzovanje in skladiščenje zamrznjenega mesa, svetloba, prisotnost mikroorganizmov, tehnološka obdelava (mleto meso, narezano meso...) in dodatek antioksidantov (Gašperlin, 2000).

2.6 HOLESTEROL IN OKSIDI HOLESTEROLA

Holesterol je nenasičeni policiklični alkohol (kemijska formula C₂₇H₄₆O), ki ga kemijsko uvrščamo med lipide in sicer v skupino steroidov. Zanje je značilen sistem kondenziranih obročev, ki ga sestavljajo trije šestčlenski in en petčlenski obroč. Med seboj se razlikujejo po položaju in številu dvojnih vezi v obročih in po stranski verigi. Molekula holesterola ima na več mestih vezane verige ogljikovodikov, na drugem obroču (B) ima dvojno vez in na prvem (A) obroču hidroksilno skupino (skupino –OH). Ta mu daje lastnost polarnosti, saj predstavlja polarno glavo na obširnem hidrofobnem območju (kondenzirani obroči in ogljikovodikovi repi) (Razzazi-Fazeli in sod., 2000; Boyer, 2005).



Slika 8: Strukturna formula holesterola (Boyer, 2005).

Holesterol je zelo pomembna molekula, ki v organizmu ljudi in živali sodeluje na več različnih področjih. Bistven je za izgradnjo in vzdrževanje celičnih membran, kjer uravnava njihovo fluidnost in je izhodna spojina za številne pomembne molekule, kot so žolčne kisline, steroidni hormoni (kortizol, aldosteron, spolni hormoni) in vitamin D. Je ena glavnih sestavin živčnih ovojnic, kjer predstavlja do 40 % vseh lipidov, pomembno vlogo pa igra tudi pri uravnavanju eksocitoze (Boyer, 2005; Chang in sod., 2009).

Čeprav je holesterol v laični javnosti znan predvsem kot zdravju škodljiva molekula, je njegova prisotnost v telesu nujna. Do zdravstvenih težav, povezanih s povišano koncentracijo, lahko pride zaradi dolgoletne nezdrave prehrane, neučinkovitega prenosa ali drugih motenj v metabolizmu. Holesterol ni esencialna molekula in se lahko v zadostnih količinah sintetizira v jetrih in sicer od 800 do 1000 mg dnevno. V kolikor pa ga zaužijemo s hrano, se njegova biosinteza temu primerno zmanjša (Boyer, 2005).

2.6.1 Biosinteza holesterola

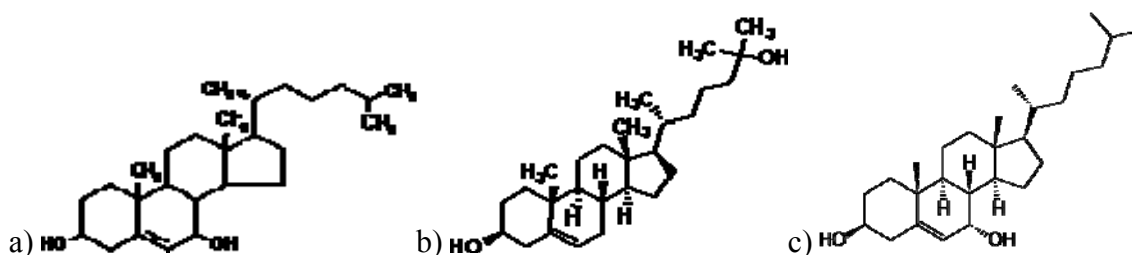
Holesterol se lahko sintetizira v vseh celicah, najbolj intenzivno pa njegova biosinteza poteka v jetrih. Sinteza se začne z zaporedjem reakcij, kjer se tri molekule acetyl-CoA združijo in se preko 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA, z uporabo NADPH kot koencima in s posredovanjem HMG-CoA-reduktaze, pretvorijo v L-mevalonat. HMG-CoA-reduktaza je pomemben encim, saj presežni holesterol, pridobljen preko hrane, inhibira njegovo delovanje. Ta mehanizem je glavna stopnja uravnavanja biosinteze holesterola. Sledijo reakcije, ki mevalonat (6C) pretvorijo v intermediat s petimi C atomi (3-izopentelinpirofosfat ↔ dimetilalilpirofosfat), ki spada v skupino izoprenov. Nato poteče zaporedna kondenzacija šestih izoprenskih enot, vse do oblikovanja skvalena, molekule s 30 C atomi. V zadnji fazi pride do ciklizacije skvalena in preko serije reakcij dobimo holesterol (Boyer, 2005).

2.6.2 Oksidi holesterola

Oksidi holesterola so produkti oksidacije holesterola, pri čemer oksidirana molekula vsebuje dodatno funkcionalno skupino – hidroksilno ali epoksilno. Oksidacija holesterola poteka podobno kot oksidacija 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 VNМК (sojino, sončnično, ribje olje) kot ob prisotnosti nasičenih maščob. Holesterol v ribjem olju se razgradi že po eni uri segrevanja. Holesterol se torej v živilih oksidira v prisotnosti maščob (Toschi in Caboni 1992; Lercker in sod., 2000).

Danes je poznanih že več kot 60 različnih oksidacijskih produktov holesterola. V živilih so najbolj razširjeni 6-ketoholesterol, 7-ketoholesterol, 7 α -hidroksiholesterol, 7 β -hidroksiholesterol, 5,6 α -epoksiholesterol, 5,6 β -epoksiholesterol, 20-hidroksiholesterol, 25-hidroksiholesterol in holestanol (Boselli in sod., 2001; Boselli in sod., 2005).

Njihova kvantitativna analiza v glavnem temelji na ekstrakciji lipidov, hladni saponifikaciji, SPE - postopku in analizi na plinskem kromatogramu (GC) ali na HPLC. Pri dobljenih rezultatih pa moramo upoštevati tudi možnost, da so ti lahko višji kot je dejanska vsebnost v živilu, saj lahko oksisteroli v manjši meri nasajajo tudi med pripravo vzorca (Boselli in sod., 2001). Težavo pri kvantitativni določitvi predstavlja tudi zelo podobna kemijska struktura oksisterolov in bistveno višje vsebnosti drugih lipidov (holesterola, triacilglicerolov, fosfolipidov...) v živilih, zato je njihovo popolno ločitev izredno težko doseči (Razzazi-Fazeli in sod., 2000; Azadmard-Damirchi in Dutta, 2009).



Slika 9: Strukturne formule nekaterih najpogostejših oksisterolov v živilih:

a) 7 β -hidroksiholesterol, b) 25-hidroksiholesterol, c) 7 α -hidroksiholesterol (Bush in King, 2009).

Oksidi holesterola so toksični produkti in jih v telo lahko vnesemo s hrano ali pa nastajajo *in vivo* s peroksidacijo holesterola. Prisotni so v živilih, ki vsebujejo holesterol, kot so mleko in mlečni izdelki, meso in mesni izdelki, jajca ter morska hrana. Vendar so koncentracije v svežih, toplotno neobdelanih živilih zelo nizke. Pri živilih, ki pa so bila izpostavljeni visokim temperaturam, pa se vsebnost oksisterolov poveča (Boselli in sod., 2001; Boselli in sod., 2008).

Raziskave so pokazale, da oksisteroli lahko izzovejo različne kronične in degenerativne bolezni (rak, pospešeno staranje, arteroskleroza), so citotoksični in tudi mutageni, kar se je pokazalo tako na *in vitro* kot tudi *in vivo* študijah. Ker pa je produktov oksidacije holesterola veliko so lahko tudi njihovi vplivi na zdravje različni. Študije kažejo, da imata 25-hidroksiholesterol in holestantriol večji vpliv na pojav arteroskleroze, medtem ko sta 5,6 α -epoksiholesterol in 5,6 β -epoksiholesterol možni kancerogeni komponenti (Razzazi-Fazeli in sod., 2000; Boselli in sod., 2005; Boselli in sod., 2008).

3 MATERIALI IN METODE DELA

3.1 MATERIAL IN POTEK DELA

Naše delo je temeljilo na izdelavi funkcionalnega živila - perutninske jetrne paštete s CoQ₁₀. Poizkus je bil razdeljen na tri dele in sicer na tehnološki, kemijski in senzorični del. Poizkus smo v celoti opravili v treh ponovitvah. Pred tem pa smo izvedli še predpoizkus.

Osnova poizkusa je bila priprava petih skupin pašet. Vse skupine so bile pripravljene iz iste mase, razlikovale so se le po vsebnosti dodatkov, ki so bili temelj poizkusa.

Preglednica 4: Skupine pašet na osnovi različnih dodatkov.

Oznaka skupin pašet	Dodatki in njihova količina
Kontrola	Ni dodatkov
Q10	CoQ ₁₀ (20mg/100g)
Q10C	CoQ ₁₀ (20mg/100g), askorbinska kislina (200mg/100g)
Q10E	CoQ ₁₀ (20mg/100g), α-tokoferol (20mg/100g)
Q10CE	CoQ ₁₀ (20mg/100g), askorbinska kislina (200mg/100g), α-tokoferol (20mg/100g)

Ko so bile paštete narejene smo jih naplnili v steklene kozarce in toplotno obdelali, polovico pasterizirali, polovico sterilizirali in jih nato shranili v hladilnik. 24 ur smo jih pustili mirovati, nato pa je sledila senzorična analiza. Po dveh dneh smo pričeli tudi s kemijsko analizo in jo končali v roku štirih dni. Vse tri serije pašet smo analizirali v enakem časovnem razmaku.

Za uspešno izpeljavo poizkusa smo uporabili strojno izkoščeno meso (SIM) piščančjih prsnic in piščančja jetra iz Pivke perutninarstvo, CoQ₁₀ iz Kemijskega inštituta v Ljubljani ter antioksidanta, askorbinsko kislino (Riedel-de Haën, 33034)) in α-tokoferol (Fluka, 95240).

3.2 TEHNOLOGIJA IZDELAVE JETRNIH PAŠTET

3.2.1 Predpoizkus

Predpoizkus je bil namenjen testiranju recepture (s tehnološkega in senzoričnega vidika) in določitvi meje najvišje dodane koncentracije askorbinske kisline, s senzoričnega stališča (ne sme se čutiti kislina nota, zaželeno pa je čim višja koncentracija zaradi antioksidativnih lastnosti). Pripravili smo pašteto po okvirni recepturi in maso razdelili na 5 delov. Tako smo pripravili pet skupin. V vsako skupino smo dodali različno koncentracijo askorbinske

kislina in paštete pasterizirali. Postopek izdelave paštete je opisan v glavnem poizkusu. Po 24 urah je sledilo merjenje pH in senzorična analiza sprejemljivosti izdelka s poudarkom na kislosti.

Preglednica 5: Vsebnosti dodane askorbinske kisline v posamezne skupine paštete.

Skupine predpoizkusa	Dodatek askorbinske kisline (g/100g)
1	0,1
2	0,2
3	0,3
4	0,5
5	1,0

Za senzorično sprejemljivi sta se izkazale skupine 1 in 2, zato smo za nadaljnje delo izbrali koncentracijo askorbinske kisline skupine 2, to je 0,2g/100g paštete.

3.2.2 Glavni poizkus izdelave paštete

Preglednica 6: Receptura (količin osnovnih surovin in aditivov) za izdelavo paštete.

OSNOVNE SESTAVINE	DELEŽ (%)	MASA ZA 1 kg (g)	MASA ZA 6 kg (g)
Olje	15	150	900
SIM piščančji	50	500	3000
Jetra	15	150	900
Voda	20	200	1200
ADITIVI			
Nitritna sol	1,4	14	84 (2 × 42)
Na-kazeinat	1,8	18	108
Mleko v prahu	1,0	10	60
Askorbinska kislina	0,2	2	2×2
Začimbe:			
Majaron	0,15	1,5	9
Česen	0,2	2,0	12
Čebula	1,0	10,0	60
Poper	0,2	2,0	12
Meta	0,1	1,0	6
Muškat	0,05	0,5	3

Kot glavno surovino smo uporabili SIM iz prsnic, piščančja jetra in repično olje. Poleg ostalih aditivov smo masi dodali mešanico začimb, ki smo jo sami pripravili. Preglednica 6

prikazuje surovine za pripravo paštete. Recept je bil sestavljen na podlagi več poskusov priprave paštete in sprotnega senzoričnega ocenjevanja.

3.2.3 Postopek izdelave paštete

Ponovitve

Celoten postopek izdelave paštete smo ponovili v treh šaržah v razmaku enega tedna. V tednu, ki je sledil vsaki šarži, smo izvedli senzorično in kemijsko analizo, vsakič na isti dan, tako da smo dobili tri primerljive ponovitve.

Priprava mase za pašteto

Pripravili smo maso za 6 kg paštete. Nato smo naredili 5 skupin po 1 kg. V skupine smo dodajali dodatke po navodilih preglednice 4.

Natanko odtehtano SIM, vodo in polovično količino nitritne soli smo dali v lonec ter ob stalnem mešanju (da ne pride do lokalnega pregretja) segreli do temperature 80 °C. Na enako temperaturo smo segreli tudi olje. Segrete surovine smo stresli v kuter (Fatoso, Tip C-20-T, Španija), dodali še ostale aditive (Na-kazeinat, mleko v prahu, začimbe) in ob mešanju spremljali temperaturo. Ko je temperatura padla na 40 °C smo dodali jetra, katera smo predhodno skupaj z drugo polovico nitritne soli zmiksali. Mešali smo še približno 3 - 4 minute, da smo dobili homogeno maso.



Slika 10: Kuter (Fatoso, Tip C-20-T, Španija).

Priprava skupin

Sledilo je pripravljanje petih skupin, katerih masa je znašala po 1 kg paštete. Prva skupina je bila kontrolna skupina, oziroma slepi poizkus, in je bila narejena brez dodatkov. Iz kutra (Fatos, Tip C-20-T, Španija) smo vzeli 1 kg mase, ga dali v mešalnik (Stephan UMC5 electronic) in mu dodali le 35 g olja. Maso smo 2 min mešali, da smo jo homogenizirali in nato natočili v steklene kozarčke, ki smo jih zatesnili s pokrovčki. Za skupino dve (Q10) je bil postopek enak, le da smo v 35 g dodanega olja raztopili CoQ₁₀. Prav tako smo naredili tudi skupino tri (Q10C), le da smo tu poleg v olju raztopljenega CoQ₁₀, dodali še askorbinsko kislino. V četrto skupino (Q10E) smo dodali olje, v katerem smo raztopili CoQ₁₀ in α -tokoferol, v zadnjo, peto skupino (Q10CE) pa smo dodali poleg v olju raztopljenega CoQ₁₀ in α -tokoferola, še askorbinsko kislino.

Pokrovčke smo opremili z oznakami, ki so omogočale prepoznati posamezno šaržo, skupino in način toplotne obdelave. Šarže smo označili z rimskimi številkami od ena do tri (I, II, III), skupine smo označili s števili od ena do pet (1, 2, 3, 4, 5), način toplotne obdelave pa smo označili s P za pasterizirane paštete in s S za paštete, ki so bile sterilizirane.

Toplotna obdelava

Iz vsake skupine smo pripravili po 4 (200 ml) velike in 8 (20 ml) majhnih kozarčkov. Sledila je toplotna obdelava. Po 2 velika in 4 majhne kozarčke smo dali na pasterizacijo v konvektomat (Rational Selfkooking Center) (do središčne temperature 80°C), ostalo polovico pa na sterilizacijo v avtoklav (Tuttnauer 5075 Elvc) (na središčno temperaturo 121°C za 15 min).

Po končani toplotni obdelavi je sledilo počasno ohlajanje na sobno temperaturo, nato pa smo paštete shranili v hladilnik (4 °C za 24 ur), kjer so počakale na senzorično in kemijsko analizo.

3.3 KEMIJSKE METODE

3.3.1 Določanje vsebnosti CoQ₁₀ v pašteti

Za določanje CoQ₁₀ smo uporabili modificirano metodo po Lušnic (2008).

Ekstrakcija

Odtehtali smo 3 g (\pm 0,001 g) vzorca paštete v 50 ml centrifugirko (Sarstedt, 62.548.004) in dodali 15 ml vode s temperaturo 40 °C. Centrifugirke z vsebino smo 5 min močno stresali, nato smo jih za 15 min prenesli na ultrazvočno kopel (Bransonic 3510E – DTH, Branson, Nemčija) pri 40 °C. 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 pomočjo centrifuge (Eppendorf, centrifuge 5810) pri $1700 \times g$ 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.

Odparevanje topila

Po končani ekstrakciji smo na vakuumskem rotavaporju (Büchi, Rotavapor R-114 Vac® V-500, Švica) topilo odparevali v dveh stopnjah (pogoji: 689 mbar, 45 °C, 10 min; 20 mbar, 45 °C, 5 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 naš 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 heksan (Merck, 1.04371) : dietileter (Merck, 1.00921) (3 : 1). Kolono smo na koncu osušili v pretoku zraka.



Slika 11: Aparatura za izvedbo SPE postopka.

Redčenje

Epruvete z vzorci smo prepihali z dušikom in v suhi ostanek dodali 5 ml 2-propanola (Merck, 1.00998). Vsebinsko smo temeljito premešali na stresalniku (IKA minshaker MS2). Sledilo je redčenje ($R = 50$). 20 μ l pripravljenega vzorca smo prenesli v majhne vialne 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).

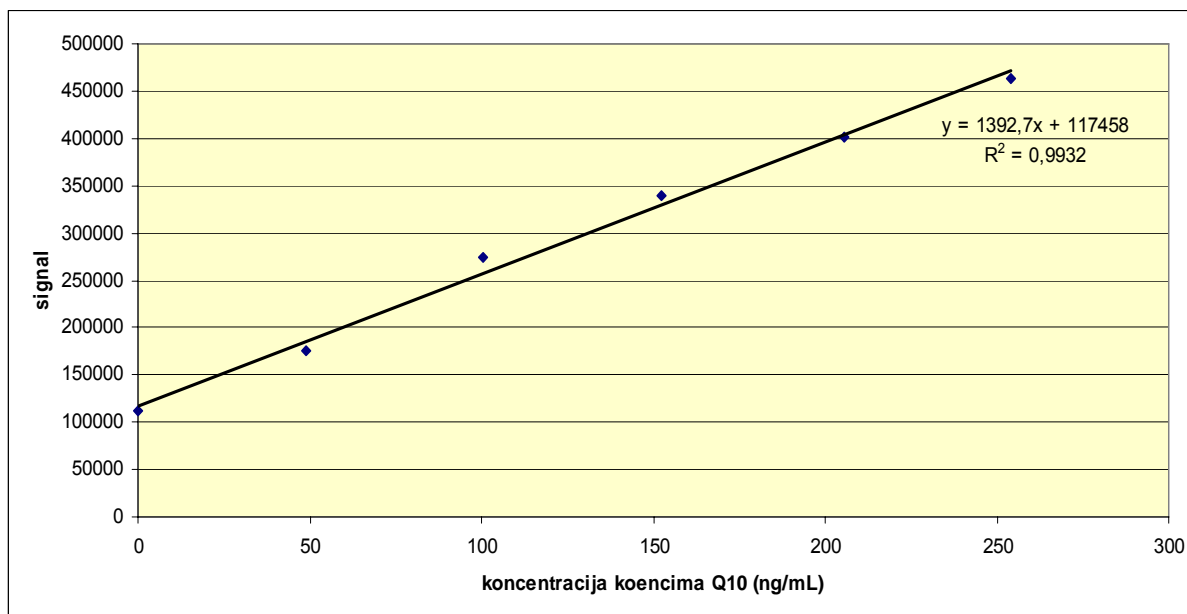
Vsebnost CoQ₁₀ smo določili s primerjavo retenzijskega časa in m/z ($[M+H]^+$ = 864,4) standarda CoQ₁₀ (Sigma, C9538). Kromatografski pogoji so bili naslednji: pretok 0,25 ml/min; izokrasko z mešanico mobilne faze acetonitril (Merck, 1.000309) : 2-propanol (Merck, 1.00998) (60 : 40), volumen iniciranja 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 $m/z = 864,4 [M + H]$.

3.3.1.1 Priprava umeritvene krivulje

Za kvantitativno določanje CoQ₁₀ smo uporabili standard Sigma (C9538). V 10 ml bučko smo odtehtali 4,9 mg (\pm 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, 500 μ l) predhodno pripravljene standardne raztopine CoQ₁₀ in naprej postopali enako kot z vzorci.



Slika 12: Umeritvena krivulja za določanje CoQ₁₀ v pašteti.

Izračun vsebnosti koencima Q₁₀

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

$A_{Q_{10}}$ = površina pod vrhom za koencim Q₁₀

F_{um} = faktor naklona umeritvene krivulje

m_{vz} = masa vzorca (pašteta) v g

Ponovljivost med paralelkami

Ponovljivost med paralelkami smo določili tako, da smo v naključno izbranem vzorcu paštete določili vsebnost koencima Q₁₀ v šestih paralelkah.

3.3.2 Določanje vsebnosti oksidov holesterola v pašteti

Za določanje oksidov holesterola smo uporabili modificirano metodo po S.J.K.A. Ubhayasekera (2004). Metodo sestavlja faza hladne saponifikacije, ekstrakcije, SPE postopka, derivatizacije do trimetil etra (TMS-eter) ter določanje vsebnosti oksidov holesterola (HC) s plinsko kromatografijo (GC).

Priprava internega standarda za določanje oksisterolov

Kot inertni standard smo uporabili 5 α -Cholestan-3 η -ol (Merck, 8.41513) in z njim pripravili raztopino internega standarda. V 10 ml bučko smo odtehtali 14,77 mg inertnega

standarda in s heksanom (Merck, 1.04371) dopolnili bučko do oznake. Masa raztopine je znašala 6,49419 g.

Saponifikacija

V erlenmajerice s teflonskim pokrovčkom (Lenz, 3.0251.37) smo odtehtali 2 g ($\pm 0,001$ g) paštete in dodali 100 μ l raztopine inertnega standarda. Nato smo dodali 3 ml metilen klorida (CH₂Cl₂) (Merck, 1.06044) in 7 ml 1M raztopine KOH (Merck, 1.05033) v 96% etanolu (Merck, 1.00971). Vsebinsko smo temeljito premešali in jo nato pustili mešati na magnetnem mešalu še 18 – 20 ur pri sobni temperaturi.

Ekstrakcija holesterola

Ves pripravljen vzorec smo prenesli v 50 ml centrifugirke (Sarsted, 62.548.004) in dodali 10 ml dietiletra (Merck, 1.00921) in 10 ml destilirane vode. 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. Najprej smo kolono kondicionirali z 2,5 ml heksana (Merck, 1.04371) (eluat zavržemo), nato smo na kolono uvajali 1 ml predhodno pripravljenega vzorca 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) (75:25), 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 acetonitrila (Merck, 1.00030) : izopropanola (Merck, 1.00998) (55:45) in eluat lovili v epruveto.

Derivatizacija

Vsebinsko epruvet, ki smo jih dobili pri SPE postopku, smo preprihali z dušikom do suhega. Ostanek smo raztopili v 150 μ l SI-reagenta (100 μ l heksametildisilana ((Merck, 8.18889)/ 50 μ l klorometilsilana (Merck, 1.02333)). Epruvete smo nato 45 minut segrevali pri temperaturi 60 °C. Po segrevanju smo vsebinsko ponovno preprihali z dušikom in preostanek

raztopili v 300 µl heksana (Merck, 1.04371). Produkt smo prenesli v temne penicilinke. Tako je bil vzorec pripravljen za analizo na plinskem kromatografu.

Pogoji za določanje oksidov holesterola

Okside holesterola smo določili s pomočjo plinske kromatografije, z uporabo plinskega kromatografa Agilent Technologies 6890, s plamensko ionizacijskim detektorjem (FID) in kapilarno kolono DB-SMS (25 × 0,2 × 0,33 µm).

Ločevanje in detekcija oksidov holesterola sta potekali po sledečem temperaturnem programu: 290 °C (10 min), 3 °C/min do 310 °C, 310 °C (0 min). Ostali pogoji so bili:

- temperatura injektorja: 290 °C
- temperatura detektorja: 310 °C
- injektor: split:splitless: 1:30, volumen 0,5µl
- nosilni plin: He 1,5 ml/min
- maskirni plin: N₂ 45 ml/min
- plin skozi detektor H₂ 40 ml/min
- sintetični zrak (21 % O₂) 450 ml/min

Določanje vsebnosti oksidov holesterola v pašteti

Okside holesterola smo določili s primerjavo retenzijskih časov komponent standarda (holesterola in štirih oksidov holesterola), ki smo ga predhodno pripravili, ga vodili na proces derivatizacije ter identificirali s plinsko kromatografijo.

Vsebnost oksidov holesterola smo izračunali po naslednji formuli

$$C_{OHi} (mg / kg) = \frac{F_i \times A_i \times m_{is}}{A_{is} \times m_{vz}} \times 1000$$

F_i = faktor odzivnosti

A_i = površina kromatografskega vrha posameznega oksida holesterola

A_{is} = površina kromatografskega vrha inertnega standarda

m_{is} = masa internega standarda (mg)

m_{vz} = masa vzorca (g)

3.3.3 Določanje maščobnokislinske sestave

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

Odtehtali smo 0,2 (0,001g) vzorca paštete v epruvete s pokrovčki na ovoj (Assistent, 976). Sledil je dodatek 200 μ l 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) 10 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 \times g. Po centrifugiranju smo previdno odpipetirali zgornjo heksansko fazo v penicilinke in 1 μ l 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 SPTM-2380 (Supleco, 24111) (60m \times 0,25mm \times 0,2 μ m).

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 μ l
- 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.

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

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

$$FA_i = \frac{MrMK_i}{MrMEMK_i} = \frac{MrMK_i}{MrMK_i + 14}$$

$MrMK_i$ = molska masa posamezne maščobne kisline

$MrMEMK_i$ = molska masa posameznega metilnega estra maščobnih kislin, ki se od $MrMK_i$ razlikuje za $Mr(CH_2)$ 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.

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

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 Weibull-u in Stoldt-u

Vsebnost maščob smo določili po uradnem postopku opisanem v AOAC Official Method 991.361 (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 Volhard-u

V 100 ml erlenmajerico z obrusom smo odtehtali približno 10 g ($\pm 0,01$ g) homogeniziranega vzorca SIM-a in paštete. Dodali smo 50 ml destilirane vode in magnetni mešalček. Erlenmajerico smo postavili za 20 min na magnetno mešalo, s katerim smo vsebino tudi rahlo segrevali. Po ohladitvi smo dodali 10 ml Carrezove raztopine I (Merck, 1.04984) in nato še 10 ml Carrezove raztopine II (Merck, 1.08883). Ko so se balastne snovi sesedle smo dopolnili do 100 ml in premešali. Nato smo ves vzorec prefiltrirali skozi naguban filter papir (Satorius, tefnični filter papir), pri čemer smo prvih nekaj ml tiltrata zavrgli. Nato smo 10 ml popolnoma bistrega filtrata odpipetirali v čisto erlenmajerico in dodali 20 ml 0,1 M raztopine srebrovega nitrata (Merck, 1.09081), 10 ml 10 % dušikove kisline (Carlo Embra, 408022) in 5 ml dietiletra (Merck, 1.00921). Vsebinsko smo premešali. Ko se je tekočina zbistrila, smo dodali še 5 ml raztopine amonijevega ferisulfata (Merck, 1.03776). Nato smo titrirali z 0,1 M raztopino amonijevega rodanida (NH₄CNS) (Merck, 1.01213) do obstojne rdečkaste barve.

Vzporedno smo pripravili še slepi vzorec, kjer smo v erlenmajerico odmerili 10 ml destilirane vode in dodali še 20 ml 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). Vsebinsko smo premešali in ko se je tekočina zbistrila, smo dodali še 5 ml raztopine amonijevega ferisulfata (Merck, 1.03776). Nato smo titrirali z 0,1 M raztopino amonijevega rodanida (NH₄CNS) (Merck, 1.01213) do obstojne rdečkaste barve.

$$\% \text{ soli} = (a - b) \times M \times 58,46 \div \text{masa vzorca (g)}$$

$$C(g/100g) = \frac{(a-b) \times M \times 58,46}{m_{vz}}$$

a = ml NH₄CNS porabljeni za titracijo slepega vzorca

b = ml NH₄CNS porabljeni za titracijo vzorca

M = molarnost NH₄CNS

3.3.9 Določanje pH

Merjenje pH smo izvedli z direktno metodo. Uporabili smo pH meter z vbojno kombinirano stekleno gelsko elektrodo tipa 03 (Testo pH elektroda), priključeno na pH meter (Testo 230, Testo, Italija) in opremljeno s temperaturnim tipalom (Testo, 0613 2211). Pred uporabo smo pH meter umerili v pufrih s pH 4,00 in pH 7,00. Natančnost merjenja je bila ± 0,01 enote.

3.4 INSTRUMENTALNE IN SENZORIČNE METODE

3.4.1 Merjenje barve

Barvo smo določali instrumentalno s kromometrom Minolta CR 200b (Minolta, Japonska). Pred merjenjem smo aparat umerili na belem standardu ($L^* = 92,8$; $a^* = 0,3136$; $b^* = 0,3196$). Meritve smo izvedli v štirih paralelkah. Aparat poda barvo v treh koordinatah (L^* , a^* in b^*). Vrednost L^* opisuje svetlost barve, pri čemer višje vrednosti pomenijo svetlejšo barvo vzorca, nižje vrednosti pa temnejšo barvo vzorca. Vrednost a^* določa intenziteto rdeče barve v pozitivnem območju (rdeča barva je odvisna od prisotnosti barvila mioglobina) in zelene barve (samo v primeru diskoloracij na površini mesa) v negativnem območju. Vrednost b^* pa predstavlja intenziteto rumene barve v pozitivnem območju (rumena barva je povezana s stopnjo oksigenacije mesnega barvila) in modre (samo v primeru diskoloracij na površini mesa) v negativnem območju.

3.4.2 Merjenje teksturnih lastnosti

Teksturne lastnosti smo določili instrumentalno, pri čemer smo uporabili instrument za mehanično testiranje TA - XT plus texture analyser (Stable Micro Systems, VB). Uporabili smo kombinacijo penetracije in povratne ekstruzije. Pašteto smo, že v proizvodnem postopku, pakirali v 20 ml steklene kozarčke premera 4 cm, ki so bili tako kot ostali vzorci toplotno obdelani in ohlajeni. Po 48 urah shranjevanja v hladilniku (4 °C) smo na njih izvedli analizo v štirih paralelkah. Uporabili smo nastavek P/36, pri testni hitrosti 15 mm/s, ki je prodril 8,25 mm (10 %) v globino vzorca. Silo, ki je bila potrebna za strig valja, smo izrazili v N (Newton).

3.4.3 Senzorična analiza

Senzorično ocenjevanje je bilo opravljeno v senzoričnem laboratoriju Katedre za tehnologijo mesa na Biotehniški fakulteti. Ocenjevanje je izvedel panel, ki so ga sestavljali štiri izkušeni preizkuševalci. Uporabili so test točkovanja lastnosti iz skupine deskriptivnih testov in to z nestukturirano točkovno lestvico (od 1 do 7 točk). Za senzorično analizo smo uporabili dva dni stare paštete, ki smo jih hranili v hladilniku. Vzorci so bili šifrirani.

Panel je ocenjeval naslednje lastnosti:

- Odtенок barve paštete (1 – 7 točk), kjer ena točka predstavlja sivorjavo barvo, sedem točk pa rožnato.
- Intenzivnost barve (1 – 7 točk), kjer ena točka pomeni bledo, sedem točk pa temno barvo.
- Tekstura (1 - 4 - 7), kjer ena točka pomeni mehko teksturo, štiri točke optimalno, sedem točk pa čvrsto teksturo.
- Vonj (1 – 7 točk), kjer ena točka pomeni neznačilen vonj, sedem točk pa značilnega.
- Aroma (1 – 7 točk), kjer ena točka pomeni neznačilno aromo, sedem točk pa značilno aromo.
- Kislost (1 – 7 točk), kjer ena točka pomeni, da živilo ni kislo, sedem točk pa, da je izrazito kislo.

3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Vrednosti, ki smo jih dobili za posamezne opazovane parametre, smo vnesli v računalnik s programom Microsoft Excel 2000. S programskim paketom SAS/STAT (SAS Software, 1999) smo 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 načina postopka na opazovane parametre 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 paštete smo uporabili naslednjo relacijo:

$$y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + e_{ijk}$$

y_{ijk} – ijk -to opazovanje; μ – povprečna vrednost; S_i – vpliv dodatkov CoQ₁₀, askorbinske kisline in α-tokoferola; P_j – vpliv ponovitve (1-3); e_{ijk} – ostanek.

Za ugotavljanje vpliva načina postopka na opazovane parametre smo uporabili spodnjo enačbo.

$$y_{ijk} = \mu + SP_i + P_j + e_{ijk}$$

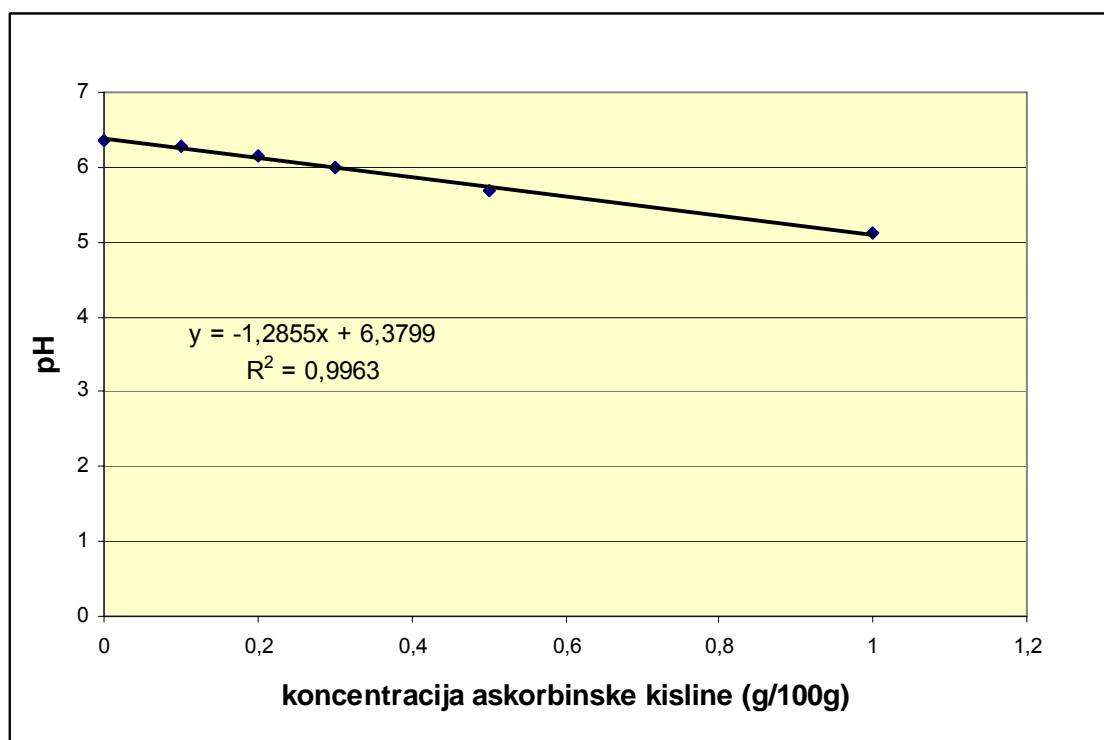
y_{ijk} – ijk -to opazovanje; μ – povprečna vrednost; SP_i – vpliv postopka (pasterizacija in sterilizacija); P_j – vpliv ponovitve (1-3); e_{ijk} – ostanek.

Povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa 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

4.1 PREDPOSKUS

Želen rezultat predpoizkusa je bil določen s pomočjo senzoričnega ocenjevanja. Panel štirih senzoričnih ocenjevalcev je določil, da se za glavni poizkus vzame skupina 2, kjer je bilo dodane 0,2 g askorbinske kisline na 100 g izdelka. Čeprav je bila senzorično sprejemljiva tudi skupina 3 (0,3g/100g), se je v okusu zaznala kislja komponenta, kar pa je bilo v našem primeru nezaželeno. Ob tem so podali tudi svoje splošno mnenje o pašteti, katerega smo upoštevali pri končni sestavi recepture.



Slika 13: Vpliv dodajanja askorbinske kisline (g/100g) na pH paštete.

4.2 OSNOVNA KEMIJSKA SESTAVA MESA IN PAŠTETE

Na SIM-u in pašteti smo opravili analize za določitev deleža vode, maščobe, beljakovin, soli in pepela. V analizo smo vzeli sveže meso in parametre določili v dveh ponovitvah. Za analizo paštete smo vzeli kontrolno skupino in jo analizirali v treh ponovitvah. Kot rezultat smo podali povprečne vrednosti vseh analiz. Za izračun energijske vrednosti mesa in paštete smo uporabili delež beljakovin, delež maščob, delež ogljikovih hidratov ter njihovo energijsko vrednost na 100 g. Energijska vrednost čistih beljakovin in ogljikovih hidratov je 4 kcal/g oz. 17 kJ/g, energijska vrednost čistih maščob pa 9 kcal/g oz. 37 kJ/g. Rezultati so v obliki deklaracije prikazani v preglednicah 7 in 8.

Vsebnost ogljikovih hidratov (OH) izračunamo po formuli:

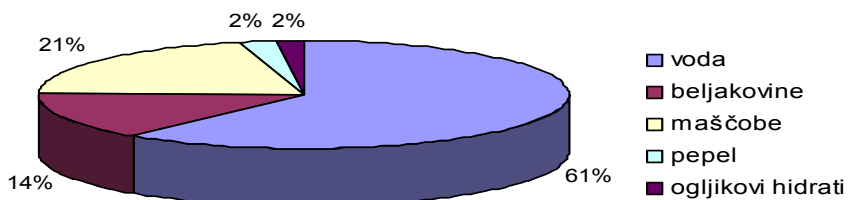
$$\text{OH (\%)} = 100 - \text{B (\%)} + \text{M (\%)} + \text{voda (\%)} + \text{pepel (\%)}$$

Preglednica 7: Povprečna hranilna vrednost za SIM podana na 100 g živila.

Energijska vrednost	675 kJ (162 kcal)
Beljakovine	19,2 g
Ogljikovi hidrati	1,2 g
Maščobe	8,9 g
Voda	69,4 g
Pepel	1,3 g
Sol	/

Preglednica 8: Povprečna hranilna vrednost paštete podana na 100 g in na porcijo 30 g.

	na 100 g paštete	na 30 g paštete oz. na porcijo
Energijska vrednost	1035 kJ (249 kcal)	310,5 kJ (74,7 kcal)
Beljakovine	14,0 g	4,2 g
Ogljikovi hidrati	1,6 g	0,5 g
Maščobe	20,8 g	6,5
od tega:		
- NMK	3,2 g	1,0 g
- ENMK	11,6 g	3,5 g
- VNMK	6,0 g	1,8 g
Voda	61,2 g	18,4 g
Pepel	2,4 g	0,7 g
Sol	1,6 g	0,5 g



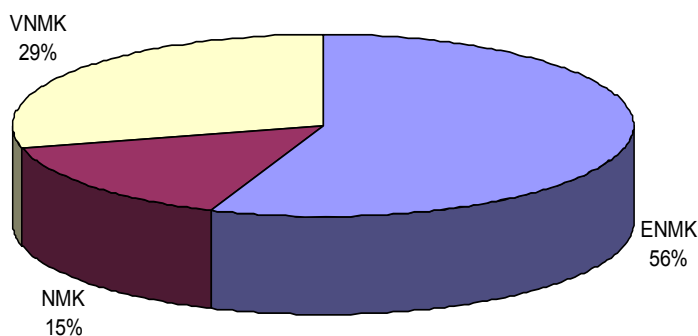
Slika 14: Deleži posameznih komponent paštete.

Nadaljevanje preglednice 9: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave paštete v ut. % od skupnih maščobnih kislin.

Vrsta MK	1P	2P	3P	4P	5P	6P	Povprečje (ut. %)	SD	KV
C20:5 n-3	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,00	8,26
C22:2 cc	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,00	10,10
C24:0	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,00	2,98
C24:1	0,18	0,18	0,20	0,19	0,19	0,19	0,19	0,01	4,07
C22:5 n-3	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,00	12,25
C22:6 n-3	0,05	0,06	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,00	8,65
NMK	15,92	15,33	15,50	15,20	14,63	15,18	15,29	0,42	2,78
ENMK	54,78	55,24	56,98	55,75	56,01	55,66	55,74	0,75	1,34
VNMK	29,30	29,43	27,52	29,05	29,36	29,16	28,97	0,72	2,50
n-6	23,85	24,04	22,01	23,67	23,80	23,63	23,50	0,75	3,17
n-3	5,45	5,39	5,51	5,38	5,56	5,53	5,47	0,07	1,37
n6/n3	4,38	4,46	3,99	4,40	4,28	4,27	4,30	0,17	3,84
P/S	1,84	1,92	1,78	1,91	2,01	1,92	1,90	0,08	4,19
IA	0,15	0,15	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,00	3,27

1P, 2P, 3P, 4P, 5P, 6P – paralelke (ut. % od skupnih MK); MK – maščobna kislina; SD – standardna deviacija; KV – koeficient variabilnosti (%); nasičene maščobne kisline – MK: C6:0, C8:0, C10:0, C11:0, C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C22:0, C24:0; enkrat nenasičene maščobne kisline – ENMK: C14:1, C15:1c-5, C15:1c-10, C16:1t-9, C16:1c-9, C17:1t-10, C17:1c-10, C18:1t-9, C18:1c-9, C24:1, C22:1, C20:1c-11; večkrat nenasičene maščobne kisline – VNMK: C18:2t-9,12, C18:2cc-9,12, C18:3ccc-6,9,12, C22:5n-3, C20:2cc-11,14, C20:3n-6, C20:4n-6, C20:5n-3, C22:2cc, C22:6n-3, C18:3ccc-9,12,15. NMK- nasičene maščobne kisline, ENMK – enkrat nasičene maščobne kisline, VNMK – večkrat nasičene maščobne kisline; ω_6/ω_3 – razmerje med ω_6 in ω_3 maščobnimi kislinami; P/S = VNMK/NMK; indeks aterogenosti – IA = $(C10:0 + 4 \times C14:0 + C16:0) / (\omega_3 + \omega_6 + C18:1c-9 + \text{druge ENMK})$ (Ulbrich in Southgate, 1991).

Iz preglednice 9 je razvidno, da največji delež MK v pašteti predstavljajo ENMK in sicer 55,74 ut. % vseh MK, medtem VNMK predstavljajo 28,97 ut. %, NMK pa 15,29 ut. % skupnih MK, kar nazorneje prikazuje slika 15. Glede posameznih MK, kar je prav tako razvidno iz preglednice 9, je med NMK najbolj zastopana palmitinska kislina (C 16:0), ki predstavlja 10,14 ut. % skupnih MK. Med ENMK je najbolj zastopana oleinska (C 18:1 c-9) z 52,53 ut. %, med VNMK pa linolna (C 18:2 cc-9,12) z 22,91 ut. % skupnih MK.



Slika 15: Deleži posameznih skupin maščobnih kislin (NMK, VNMK in ENMK) v pašteti prikazanih v odstotkih.

Pomembno vlogo pri analizi maščobnih kislin predstavlja tudi razmerje med ω -6 in ω -3 maščobnimi kislinami. S prehranskega vidika je to razmerje zelo pomembno in naj bi se gibalo do 5 : 1 v korist ω -6 maščobnim kislinam. Z današnjo prehrano pa pogosto močno presežemo to mejo in dosegamo tudi razmerja 10 : 1 in v skrajnih primerih tudi 20 : 1 v korist ω -6 maščobnim kislinam. V našem izdelku smo določili zelo ugodno razmerje in sicer 4,30.

V preglednici 9 sta predstavljena tudi IA in P/S razmerje, ki sta odvisna od maščobnokislinske sestave maščob. IA, ki upošteva specifičen vpliv posamezne MK na koncentracijo holesterola v krvi oz. je pokazatelj kakovosti maščob z vidika zdravja, znaša 0,14, zgornja še sprejemljiva meja pa je 0,5, kar kaže na zelo ugodno maščobnokislinsko sestavo paštete. Podoben rezultat dobimo tudi pri P/S razmerju, kjer je vrednost paštete 1,90. Pri P/S razmerju se za zdravju sprejemljive izdelke šteje tiste z razmerjem nad 0,5.

4.4 INSTRUMENTALNE IN SENZORIČNE LASTNOSTI PAŠTETE

Rezultate instrumentalne analize barve, teksture in vrednosti pH ter rezultate senzoričnih lastnosti, določenih s pomočjo panela senzoričnih ocenjevalcev, smo določali v skupinah pasteriziranih in steriliziranih pašet. Rezultate smo statistično obdelali in so predstavljeni v preglednicah 10 in 11. V preglednici 12 pa so predstavljeni rezultati primerjave med skupinami pasteriziranih in steriliziranih pašet, ki smo jih prav tako statistično obdelali.

Preglednica 10: Instrumentalni in senzorični parametri kakovosti pasteriziranih paštet.

Parametri	Kontrola	Q10	Q10C	Q10E	Q10CE	Znač.
pH	6,4 ± 0,0 ^a	6,4 ± 0,0 ^a	6,2 ± 0,0 ^b	6,4 ± 0,0 ^a	6,2 ± 0,0 ^b	***
Barva:						
L* vrednost	49,3 ± 1,4 ^a	48,4 ± 1,0 ^b	49,5 ± 0,7 ^a	48,7 ± 0,7 ^b	48,8 ± 0,8 ^b	***
a* vrednost	6,3 ± 0,7 ^{bc}	6,2 ± 0,8 ^c	6,9 ± 0,6 ^a	5,8 ± 0,5 ^d	6,6 ± 0,5 ^{ab}	***
b* vrednost	9,5 ± 0,3 ^b	9,8 ± 0,6 ^b	10,6 ± 0,3 ^a	9,5 ± 0,2 ^b	10,5 ± 0,5 ^a	***
Teksturne lastnosti:						
Sila (N)	6,7 ± 0,5 ^a	6,5 ± 0,9 ^a	5,7 ± 1,0 ^c	6,2 ± 1,1 ^b	5,8 ± 1,0 ^c	***
Površina (Ns)	57,5 ± 3,9 ^a	54,5 ± 7,2 ^b	47,0 ± 7,0 ^d	51,7 ± 8,0 ^c	46,6 ± 8,1 ^d	***
Senzorične lastnosti (točke):						
Odtенок barve (1-7)	5,8 ± 0,2 ^b	5,8 ± 0,3 ^b	6,1 ± 0,2 ^a	6,0 ± 0,3 ^{ab}	6,0 ± 0,1 ^{ab}	*
Intenz. barve (1-7)	6,0 ± 0,3 ^{bc}	6,2 ± 0,3 ^{ab}	6,2 ± 0,3 ^{abc}	6,3 ± 0,2 ^a	6,0 ± 0,1 ^{bc}	**
Tekstura (1-4-7)	3,3 ± 0,3 ^a	3,3 ± 0,3 ^a	3,4 ± 0,4 ^a	3,3 ± 0,4 ^a	3,5 ± 0,3 ^a	nz
Vonj (1-7)	5,8 ± 0,2 ^b	5,9 ± 0,3 ^{ab}	5,9 ± 0,3 ^{ab}	5,8 ± 0,3 ^b	6,1 ± 0,2 ^a	*
Aroma (1-7)	5,9 ± 0,3 ^a	5,9 ± 0,3 ^a	5,7 ± 0,2 ^b	5,8 ± 0,3 ^{ab}	5,8 ± 0,3 ^{ab}	nz
Kislost (1-7)	1,0 ± 0,1 ^b	1,3 ± 0,4 ^{ab}	1,5 ± 0,4 ^a	1,2 ± 0,3 ^{ab}	1,3 ± 0,4 ^{ab}	nz

Znač. – 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; skupini z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujeta; < 0,01 pod mejo detekcije; sila (N) – penetracijska trdota; N – Newton; Ns – Newton sekunda; (1-7) – število točk.

V preglednici 10 so prikazani rezultati za pasterizirane paštete. Razvidno je, da dodatki antioksidantov vplivajo na barvo paštete. Rezultati kažejo, statistično zelo velike razlike med skupinami v L*, a* in b* vrednostih. Kontrolna skupina in skupina Q10C sta svetlejši od ostalih (višja L* vrednost). a* vrednosti, ki določajo intenziteto rdeče in zelene barve in vrednosti b*, ki predstavljajo intenziteto rumene in modre barve, se prav tako statistično zelo visoko razlikujejo (P ≤ 0,001). Skupini Q10C in Q10CE imata višjo intenziteto tako rdeče kot tudi rumene barve naproti ostalim skupinam. Prav tako je statistično zelo visoko značilna razlika med skupinami pri penetracijski trdoti in pH vrednosti. Skupini Q10C in Q10CE imata po pričakovanjih zaradi dodatka askorbinske kisline nižji pH in zaradi istega razloga tudi nižjo silo, saj kislo okolje vpliva na slabšo emulzivno sposobnost. Pri senzorični analizi pa ni bilo zelo velikih razlik med skupinami.

Preglednica 11: Instrumentalni in senzorični parametri kakovosti steriliziranih pašt.

Parametri	Kontrola	Q10	Q10C	Q10E	Q10CE	Znač.
pH	6,4 ± 0,0 ^a	6,4 ± 0,0 ^a	6,2 ± 0,0 ^b	6,4 ± 0,0 ^a	6,1 ± 0,0 ^b	***
Barva:						
L* vrednost	49,1 ± 0,7 ^a	48,3 ± 0,9 ^c	48,9 ± 1,0 ^{ab}	48,6 ± 0,8 ^{bc}	49,0 ± 0,8 ^{ab}	**
a* vrednost	6,5 ± 0,4 ^a	6,5 ± 0,4 ^a	6,6 ± 0,7 ^a	6,1 ± 0,3 ^b	6,5 ± 0,4 ^a	*
b* vrednost	10,3 ± 0,5 ^b	10,6 ± 0,4 ^{ab}	10,8 ± 0,5 ^a	10,4 ± 0,4 ^b	10,8 ± 0,3 ^a	**
Teksturne lastnosti:						
Sila (N)	7,3 ± 0,6 ^a	7,4 ± 1,4 ^a	6,5 ± 1,0 ^b	7,2 ± 0,7 ^a	6,4 ± 0,8 ^b	***
Površina (Ns)	60,2 ± 5,4 ^a	59,0 ± 8,4 ^{ab}	51,3 ± 9,8 ^c	55,6 ± 4,7 ^b	48,3 ± 7,1 ^c	***
Senzorične lastnosti (točke):						
Odtенок barve (1-7)	6,0 ± 0,3 ^{abc}	5,9 ± 0,2 ^{bc}	6,1 ± 0,2 ^a	5,8 ± 0,2 ^c	6,1 ± 0,3 ^{ab}	*
Intenz. barve(1-7)	6,0 ± 0,4 ^{bc}	6,3 ± 0,4 ^a	5,9 ± 0,3 ^c	6,2 ± 0,3 ^{ab}	5,9 ± 0,3 ^c	**
Tekstura (1-4-7)	3,8 ± 0,3 ^a	3,7 ± 0,2 ^a	3,5 ± 0,3 ^{ab}	3,4 ± 0,3 ^b	3,6 ± 0,3 ^{ab}	*
Vonj (1-7)	6,0 ± 0,3 ^a	5,7 ± 0,4 ^a	5,9 ± 0,2 ^a	5,9 ± 0,3 ^a	5,9 ± 0,5 ^a	nz
Aroma (1-7)	5,9 ± 0,2 ^a	5,8 ± 0,3 ^a	5,8 ± 0,2 ^a	5,8 ± 0,4 ^a	5,6 ± 0,6 ^a	nz
Kislost (1-7)	1,2 ± 0,3 ^a	1,3 ± 0,5 ^a	1,3 ± 0,3 ^a	1,1 ± 0,3 ^a	1,4 ± 0,5 ^a	nz

Znač – 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; skupini z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujeta; < 0,01 pod mejo detekcije; sila (N) – penetracijska trdota; N – Newton; Ns – Newton sekunda; (1-7) – število točk.

Iz preglednice 11, kjer so predstavljene razlike med skupinami steriliziranih pašt, je razvidno, da vrednosti L*, a* in b* niso več statistično zelo visoko značilno odvisne od dodatka antioksidantov. Pri L* in b* vrednosti pa še vedno ostaja visoko značilna razlika. Pašteta kontrolne skupine je še vedno najsvetlejša, sledita pa ji skupini Q10C in Q10CE. Prav tako imata skupini Q10C in Q10CE še vedno najbolj izrazit rumen odtенок. Vrednost a* za odtенок rdeče barve kaže le na drugačnost odenka skupine Q10E. Tudi pri steriliziranih paštetah dodatki antioksidantov niso imeli statistično zelo značilnega vpliva nasenzorično kakovost. Na intenzivnost barve je dodatek antioksidantov vplival statistično visoko značilno, skupini Q10C in Q10CE sta tudi senzorično ocenjeni kot svetlejši. Statistično značilen vpliv se je pokazal tudi pri parametrih odenka barve in teksture, medtem ko se aroma, vonj in kislost statistično ne razlikujejo. Tako kot pri pasteriziranih, tako tudi pri steriliziranih paštetah, dodatek askorbinske kisline vpliva na penetracijsko trdoto, ki je v skupinah Q10C in Q10CE po pričakovanjih nižja. Enako velja tudi za vrednost pH.

Preglednica 12: Testiranje razlik med skupinami pasteriziranih in steriliziranih pašet v danih parametrih.

Razlika med pasterizacijo (80 °C) in sterilizacijo (121 °C)					
Parametri	Kontrola	Q10	Q10C	Q10E	Q10CE
pH	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Barva:					
L* vrednost	0,3	0,1	0,6**	0,1	-0,2
a* vrednost	-0,3	-0,3	0,3*	-0,4	0,1
b* vrednost	-0,9***	-0,8***	-0,2	-0,9***	-0,3
Teksturne lastnosti:					
Sila (N)	-0,6**	-0,9**	-0,9***	-0,9***	-0,6**
Površina (Ns)	-2,7	-4,6*	-4,3*	-4,0*	-1,6
Senzorične lastnosti (točke):					
Odtенок barve (1-7)	-0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
Intenz. barve(1-7)	0,0	-0,1	0,3	0,1	0,0
Tekstura (1-4-7)	-0,4***	-0,3*	-0,1	-0,1	-0,1
Vonj (1-7)	-0,2	0,2	0,0	-0,1	0,3
Aroma (1-7)	0,0	0,1	-0,2	0,0	0,2
Kislost (1-7)	-0,1	0,0	0,2	0,1	0,0

*** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $p \leq 0,05$ statistično značilna razlika; $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv; sila (N) – penetracijska trdota; N – Newton; ; Ns – Newton sekunda; (1-7) – število točk.

Iz preglednice 12 je razvidno, da ima temperatura obdelave največji vpliv na teksturo paštete. Pri vseh skupinah je penetracijska trdota steriliziranih pašet višja kot pri pasteriziranih. To je bilo tudi pričakovano. Odtenci barve kontrolne skupine ter skupin Q10 in Q10E so se nagnili k bolj modremu spektru, medtem ko na barvo skupin Q10C in Q10CE temperatura ni imela statistično značilnega vpliva. Skupina Q10C pa je pokazala statistično značilno odvisnost od temperature pri L* in a* vrednosti. Pasterizirana pašteta skupine Q10C je bila svetlejša in je imela tudi bolj rdeč odtенок od sterilizirane. Pri senzoričnem ocenjevanju je bila statistično značilno odvisna od temperature le tekstura. Pri kontrolni skupini je razlika statistično zelo visoko značilna ($p \leq 0,001$), pri skupini Q10 pa statistično značilna ($p \leq 0,05$). V obeh primerih je sterilizirana pašteta bolj čvrsta.

4.5 VSEBNOST CoQ₁₀, HOLESTEROLA IN OKSIDOV HOLESTEROLA V PAŠTETI

V preglednicah 13 in 14 so prikazani statistično obdelani rezultati vsebnosti CoQ₁₀, holesterola in štirih oksidov holesterola (7 α -hidroksiholesterol, 7 β -hidroksiholesterol, 20 α -hidroksiholesterol, 25 α -hidroksiholesterol.), v skupinah pasteriziranih in steriliziranih paštet. Primerjava med obema postopkoma toplotne obdelave v istih parametrih, pa je prikazana v preglednici 15.

Preglednica 13: Primerjava vsebnosti CoQ₁₀, holesterola in oksidov holesterola v petih skupinah pasteriziranih paštet.

Parametri	Kontrola	Q10	Q10C	Q10E	Q10CE	Znač.
CoQ ₁₀ (mg/100 g)	3,7 ± 0,2 ^d	11,7 ± 6,2 ^c	21,9 ± 3,5 ^a	16,8 ± 3,5 ^b	17,6 ± 3,1 ^{ab}	***
HOL (mg/100g)	61,2 ± 1,2 ^b	59,1 ± 0,7 ^c	60,2 ± 0,3 ^b	62,4 ± 0,9 ^a	59,1 ± 0,8 ^c	***
Oksidi holesterola:						
7 α -HC (mg/kg)	0,56 ± 0,5 ^a	0,64 ± 0,6 ^a	< 0,01 ^b	0,46 ± 0,5 ^a	< 0,01 ^b	**
7 β -HC (mg/kg)	1,09 ± 0,3 ^a	1,21 ± 0,6 ^a	< 0,01 ^c	0,71 ± 0,5 ^b	< 0,01 ^c	***
20 α -HC (mg/kg)	0,79 ± 0,5 ^a	0,63 ± 0,5 ^a	< 0,01 ^b	0,46 ± 0,4 ^a	< 0,01 ^b	***
25 α -HC (mg/kg)	0,81 ± 0,6 ^a	0,38 ± 0,4 ^b	< 0,01 ^c	0,50 ± 0,5 ^{ab}	< 0,01 ^c	***

*** 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; skupini z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujeta; < 0,01 pod mejo detekcije; HOL – holesterol; 7 α -HC – 7 α -hidroksiholesterol; 7 β -HC – 7 β -hidroksiholesterol; 20 α -HC – 20 α -hidroksiholesterol; 25 α -HC – 25 α -hidroksiholesterol.

Glavni namen naloge je bil zmanjšati oksidacijo paštete z dodatkom antioksidantov (askorbinske kisline in/ali α -tokoferola) in s tem zaščititi CoQ₁₀ pred razpadom. Oksidacijo smo spremljali preko oksidov holesterola. Iz preglednice 13 je razvidno, da imajo v pasteriziranih paštetah dodatki antioksidantov, predvsem askorbinske kisline, statistično značilen vpliv (P ≤ 0,001) na tvorbo vseh analiziranih oksidov holesterola. V skupinah Q10C in Q10CE je vsebnost oksidov holesterola izrazito nižja, kot v ostalih skupinah, saj je njihova koncentracija pod mejo detekcije. Njihova vsebnost v skupinah Q10 in Q10E, pa je podobna kot v kontrolni skupini. Dodatek antioksidantov, tako askorbinske kisline kot α -tokoferola, statistično zelo visoko značilno vpliva tudi na vsebnost CoQ₁₀. Najvišje koncentracije smo dosegli v skupinah Q10C in Q10CE, kjer je bila dodana askorbinska kislina. Najvišja vsebnost CoQ₁₀ je bila v skupini Q10C in sicer 21,9 ± 3,5 mg/100g. Njegova bistveno nižja vsebnost v skupini Q10, kjer antioksidanti niso bili dodani, je izrazita. Najvišjo vsebnost holesterola smo določili v skupini Q10E, najnižjo pa v skupinah Q10 in Q10CE.

Preglednica 14: Primerjava vsebnosti CoQ₁₀, holesterola in oksidov holesterola v petih skupinah steriliziranih pašt.

Parametri	Kontrola	Q10	Q10C	Q10E	Q10CE	Znač.
CoQ ₁₀ (mg/100 g)	3,6 ± 0,3 ^d	13,9 ± 2,2 ^c	19,1 ± 3,5 ^{ab}	17,4 ± 5,1 ^b	21,9 ± 1,0 ^a	***
HOL (mg/100 g)	62,6 ± 1,7 ^a	59,8 ± 0,3 ^a	61,4 ± 3,1 ^a	61,9 ± 0,5 ^a	61,9 ± 1,8 ^a	nz
Oksidi holesterola						
7α-HC (mg/kg)	1,00 ± 0,6 ^a	0,70 ± 0,5 ^{ab}	0,44 ± 0,4 ^b	0,34 ± 0,2 ^{bc}	< 0,01 ^c	***
7β-HC (mg/kg)	2,42 ± 0,6 ^a	1,68 ± 0,8 ^b	0,70 ± 0,6 ^c	1,43 ± 0,5 ^b	< 0,01 ^d	***
20α-HC (mg/kg)	1,11 ± 0,6 ^a	0,45 ± 0,4 ^b	0,29 ± 0,3 ^{bc}	0,24 ± 0,4 ^{bc}	< 0,01 ^c	***
25α-HC (mg/kg)	0,63 ± 0,6 ^b	1,11 ± 0,7 ^a	0,53 ± 0,5 ^b	0,54 ± 0,5 ^b	< 0,01 ^c	***

*** 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; skupini z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujeta; < 0,01 pod mejo detekcije; HOL – holesterol; 7α-HC – 7α-hidroksiholesterol; 7β-HC – 7β-hidroksiholesterol; 20α-HC – 20α-hidroksiholesterol; 25α-HC – 25α-hidroksiholesterol.

Iz preglednice 14 je razvidno, da na vsebnost oksidov holesterola v steriliziranih paštetah statistično značilno (P ≤ 0,001) vpliva dodatka antioksidantov. Največ oksidov holesterola vsebujeta kontrolna skupina in skupina Q10, skupini Q10C in Q10E pa nekoliko manj, medtem, ko je koncentracija oksidov holesterola v skupini Q10CE pod mejo detekcije. V tem primeru se je kombinacija dodanih antioksidantov, askorbinske kisline in α-tokoferola, izkazala za najuspešnejšo. Pozitiven vpliv sinergističnega delovanja antioksidantov lahko potrdimo tudi za vsebnost CoQ₁₀. Skupina Q10CE vsebuje značilno najvišjo koncentracijo CoQ₁₀ (21,9 ± 1,0 mg/100g). Sledita ji skupini Q10C (19,1 ± 3,5 mg/100g) in Q10E (17,4 ± 5,1 mg/100g).

Preglednica 15: Vpliv postopkov toplotne obdelave pašt na analizirane parametre.

Parametri	Δ(P-S) ^a				
	Kontrola	Q10	Q10C	Q10E	Q10CE
CoQ ₁₀ (mg/100 g)	0,04	-2,17	2,71	-0,62	-4,37 ^{**}
HOL (mg/100 g)	-1,41	-0,69	-1,21	0,54	-2,76 ^{**}
Oksidi holesterola					
7α-HC (mg/kg)	-0,44 ^{**}	-0,07	-0,44 [*]	0,12	0
7β-HC (mg/kg)	-1,33 ^{***}	-0,48	-0,70 [*]	-0,72 ^{**}	0
20α-HC (mg/kg)	-0,31 [*]	0,18	-0,29	0,22	0
25α-HC (mg/kg)	0,18	-0,72 [*]	-0,53 [*]	-0,04	0

*** p ≤ 0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; ** p ≤ 0,01 statistično visoko značilna razlika; * p ≤ 0,05 statistično značilna razlika; p > 0,05 statistično neznačilen vpliv; HOL – holesterol; 7α-HC – 7α-hidroksiholesterol; 7β-HC – 7β-hidroksiholesterol; 20α-HC – 20α-hidroksiholesterol; 25α-HC – 25α-hidroksiholesterol; Δ(P-S)^a – Razlika med pasterizacijo (80 °C) in sterilizacijo (121 °C).

Iz preglednice 15 je razvidno, da postopek konzerviranja vpliva na vsebnost oksidov holesterola, ki se je med sterilizacijo v glavnem povečala. Najvišji porast koncentracije oksidov holesterola smo ugotovili v kontrolni skupini, brez dodanih antioksidantov in v skupini Q10C (pri postopku sterilizacije si je koncentracija dvignila nad mejo detekcije). V ostalih skupinah paštete ni bilo značilnih razlik. Največje povečanje koncentracije med sterilizacijo sem ugotovila za 7 β -hidroksiholesterol. Na skupino Q10CE temperatura konzerviranja ni vplivala, ker sta dodana antioksidanta pri obeh postopkih toplotne obdelave zavrla (preprečila) nastanek oksidov holesterola. Postopek konzerviranja je vplival tudi na vsebnosti CoQ₁₀ in sicer le v skupini Q10CE, koder se je po sterilizaciji njegova koncentracija dvignila. Po postopku sterilizacije smo, razen pri skupini Q10E, določili višje vsebnosti holesterola kot pri postopku pasterizacije.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Meso in mesni izdelki so pomemben del vsakodnevne prehrane. Ponudba je na slovenskem trgu velika in potrošniki se lahko odločajo med pestro izbiro, tako mesa kot mesnih izdelkov različnih kategorij. V zadnjih letih se na področju mesnih izdelkov pojavljajo tudi živila, ki bi jih lahko uvrščali med funkcionalna, a je ta izbor zaenkrat še zelo ozek. Zato je bil naš namen razviti tovrsten funkcionalni izdelek in sicer pašteto s CoQ₁₀. Naš glavni namen je bil ohraniti čim višjo vsebnost CoQ₁₀ (z dodajanjem antioksidantov), kot funkcionalnega dodatka in hkrati zadostiti tudi drugim zahtevam zdrave prehrane. V ta namen smo pripravili recepturo, s katero smo se poskušali čim bolj približati priporočenemu energijskemu razmerju med posameznimi hranili in pripraviti izdelek s čim ugodnejšo maščobnokislinsko sestavo. Ob tem smo spremljali tudi stopnjo oksidacije z določanjem oksidov holesterola, ki so nastali pri postopku izdelave paštete. Poleg teh zahtev smo posebno pozornost namenili tudi sensoriki, saj smo želeli narediti izdelek, ki bi bil tehnološko in senzorično kakovosten.

S pomočjo panela senzoričnih ocenjevalcev smo razvili lastno recepturo in jo kar najbolj prilagodili tako prehrabnim smernicam, kot tudi čim boljši senzorični sprejemljivosti. Pri izbiri glavne surovine smo se odločili za piščančje meso zaradi nizke vsebnosti maščob in za repično olje zaradi visoke vsebnosti ω -3 maščobnih kislin. S to kombinacijo smo želeli čim bolj optimizirati kakovost maščob v izdelku, saj je ta poleg količine zaužitih maščob bistvenega pomena v človeški prehrani. Med pomembnejše pokazatelje kakovosti maščob sodi razmerje med ω -6 in ω -3 maščobnimi kislinami, ki naj bi se gibali do 5 : 1. V našem izdelku smo dosegli razmerje 4,3, kar je za funkcionalni mesni izdelek lahko velikega pomena. P/S indeks je v naši pašteti dosegel vrednost 1,90, IA pa 0,14, kar prav tako kaže na izredno ugodno maščobnokislinsko sestavo z vidika zdravja (po priporočilih zdrave prehrane naj bi vrednost P/S indeksa znašala nad 0,4 (Enser in sod., 2001), IA naj bi bil nižji od 0,5 (Ulbricht in Southgate, 1991)). Poleg tega je med vsemi maščobnimi kislinami najbolj zastopana oleinska kislina z 52,53 ut. %. Prehransko ugodna maščobnokislinska sestava lahko pašteti prispeva še dodatno funkcionalno vrednost.

Prav tako smo se zelo približali smernicam o priporočenem vnosu hranil. Če predpostavimo, da ima večji kos polnozrnatega kruha 100 g in nanj namažemo 30 g paštete, lahko izračunamo, da se z vnosom hranil zelo približamo priporočilom svetovne zdravstvene organizacije (WHO), kar ponazarja tudi preglednica 16.

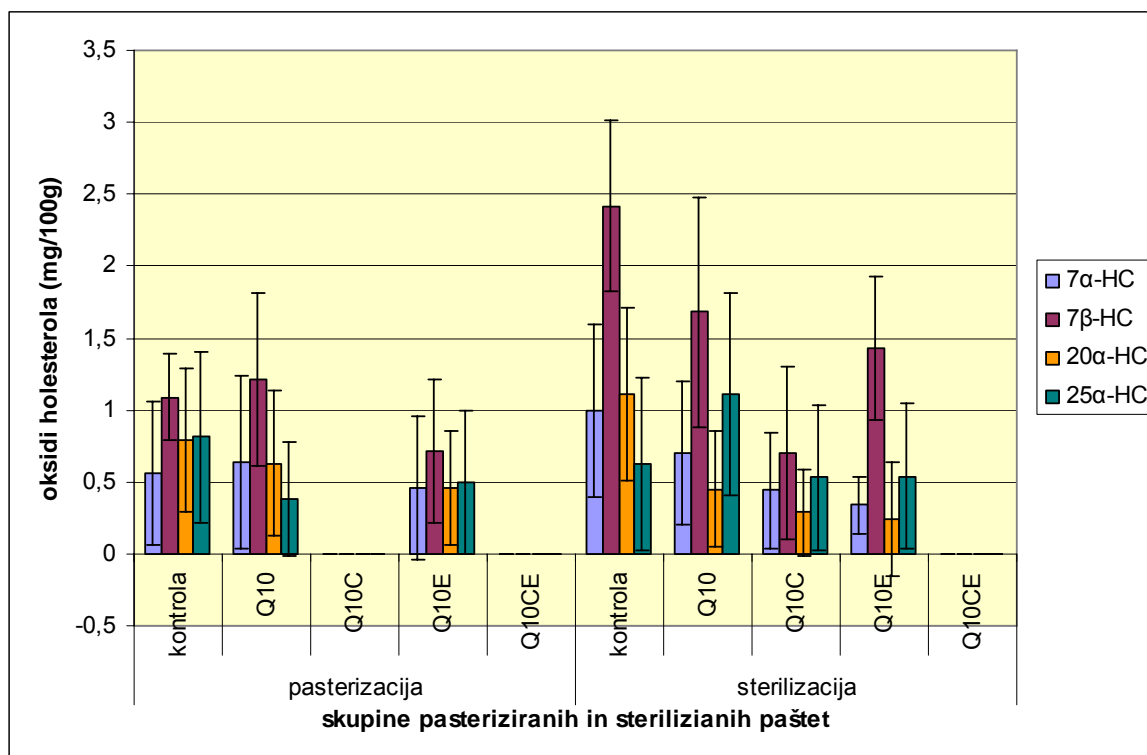
Preglednica 16: Energijska vrednost posameznih hranil in skupna energijska vrednost polnozrnatega kruha in paštete (obrok) ter priporočila svetovne zdravstvene organizacije (WHO) o energijskem dnevnem vnosu hranil.

Hranilo	Kruh (kcal/100g)	Pašteta (kcal/30g)	Pašteta s kruhom (obrok) (kcal/130g)	Delež hranil v obroku (%)	Priporočen energijski dnevni vnos (%) (WHO, 1990)
B	28	16,8	44,8	14	10-15
OH	200	1,8	201,8	64	55-70
M	14	56,1	70,1	22	< 30
Skupaj	242	74,7	316,7	100	

B – beljakovine; OH – ogljikovi hidrati; M – maščobe; Energijska vrednost kruha ustreza energijski vrednosti polnozrnatega kruha pekarnice Grosuplje.

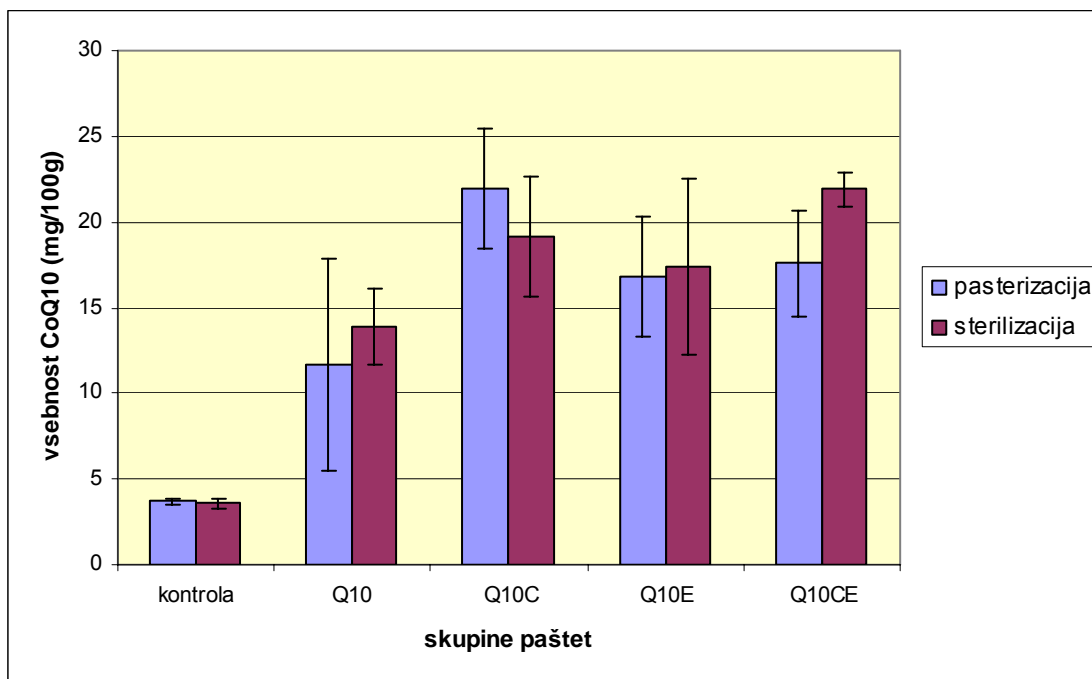
Oksidacija je v živilstvu pomemben dejavnik kakovosti. Vpliva tako na senzorične kot na zdravstvene (zdravju škodljivi oksidacijski produkti) lastnosti izdelka. Z zaščito izdelkov pred oksidacijo dosežemo boljšo obstojnost komponent, ki so podvržene oksidaciji in na ta način ohranimo živilu višjo hranilno vrednost. V našem poizkusu smo s preprečitvijo oksidacije, med postopkom priprave paštete, želeli ohraniti čim višjo raven dodanega CoQ₁₀. V ta namen smo ji dodajali antioksidanta, askorbinsko kislino in/ali α -tokoferol. Preko oksidov holesterola smo želeli pokazati, da oksidacija vpliva na obstojnost CoQ₁₀ med postopki toplotne obdelave. Po pričakovanjih smo dobili višje vsebnosti oksidov holesterola pri steriliziranih paštetah, saj njihova koncentracija močno narašča z višanjem temperature (Boselli in sod., 2008). Vsebnosti štirih analiziranih oksidov holesterola, je prikazani na sliki 16.

V pasteriziranih paštetah je bila vsebnost oksidov holesterola v skupinah Q10C in Q10CE pod mejo detekcije, pri steriliziranih paštetah pa se je za najprimernejšo izkazala kombinacija askorbinske kisline in α -tokoferola, kjer je tudi po sterilizaciji vsebnost oksidov holesterola pod mejo detekcije. Iz podatkov iz literature lahko sklepamo, da so ti rezultati smiselni, saj je CoQ₁₀ dober antioksidant le ob prisotnosti substance, ki ga regenerira in to je tudi askorbinska kislina (Frei in sod., 1990) in je tako k boljši oksidativni stabilnosti lahko pripomogel tudi CoQ₁₀. Nekoliko nižjo vsebnost oksidov holesterola, od določene, smo pričakovali tudi v skupini Q10E, vendar α -tokoferol kot samostojen antioksidant ni pokazal učinka.



Slika 16: Vsebnost oksidov holesterola (7α-HC – 7α-hidroksiholesterol; 7β-HC – 7β-hidroksiholesterol; 20α-HC – 20α-hidroksiholesterol; 25α-HC – 25α-hidroksiholesterol) v pasteriziranih in steriliziranih paštetah.

Rezultati analiz CoQ₁₀ so potrdili naša predvidevanja. V skupinah paštetah, z najnižjo stopnjo oksidacije, je bila vsebnost CoQ₁₀ najvišja. Če primerjamo koncentracije oksidov holesterola (slika 16) in koncentracije CoQ₁₀ (slika 17) lahko potrdimo, da se je kot najboljše zaščita pred oksidacijo, pri pasteriziranih paštetah izkazala askorbinska kislina, pri steriliziranih paštetah pa sinergistično delovanje askorbinske kisline in α-tokoferola.



Slika 17: Vsebnost CoQ₁₀ v pasteriziranih in steriliziranih paštetah.

Sinergistično delovanje askorbinske kisline in CoQ₁₀ je bilo pričakovano, saj ga potrjujejo že predhodne raziskave (Frei in sod., 1990). Analiza je pokazala visoko termostabilnost CoQ₁₀ ob prisotnosti askorbinske kisline in nekoliko nižjo ob prisotnosti α -tokoferola. Ob tem lahko sklepamo, da je CoQ₁₀ ob prisotnosti kisika veliko bolj občutljiv na visoke temperature in ob njih hitreje razpada. Pri steriliziranih paštetah je kombinacija obeh dodanih antioksidantov dala najvišje vrednosti CoQ₁₀, pri čemer lahko sklepamo, da se je askorbinska kislina, kot bolj termolabilen antioksidant, začela razpadati in je glavno funkcijo prevzel α -tokoferol.

Uspešnost delovanja askorbinske kisline v skupinah Q10C in Q10CE je poleg kemijskih analiz pokazala tudi barva paštet, ki so bile nekaj dni odprte in izpostavljene sobni temperaturi in svetlobi, kar je s prostim očesom razvidno tudi iz slike 18.

Senzorična analiza je dala zelene rezultate, saj se parametri kislosti, arome, vonja, teksture in odtenka barve med posameznimi skupinami bistveno ne razlikujejo. Enako velja tako za pasterizirane kot za sterilizirane paštete. Na podlagi teh rezultatov lahko brez pomislekov izberemo za končni izdelek pašteto, ki smo jo izbrali na podlagi najugodnejših kemijskih analiz, saj parametri le teh na senzorično sprejemljivost izdelka nimajo velikega vpliva.



Slika 18: Prikaz vseh petih pasteriziranih (P) skupin paštete tretje (III) serije, kjer sta skupini Q10C (III3P) in Q10CE (III5P) bistveno svetlejši od kontrolne skupine (III1P), skupine Q10 (III2P) in skupine Q10E (III4P).

Čeprav senzorična analiza ni pokazala očitnih razlik pri teksturi, je vpliv nižjega pH nanjo pokazala instrumentalna analiza teksture paštete. Skupini Q10C in Q10CE, z dodano askorbinsko kislino sta bili mehkejši (skupina Q10C: $(5,7 \pm 1,0)$ N in skupina Q10CE: $(5,8 \pm 1,0)$ N za pasterizirane ter skupina Q10C: $(6,5 \pm 1,0)$ N in skupina Q10CE: $(6,4 \pm 0,8)$ N za sterilizirane paštete) od ostalih skupin (kontrolna skupina: $(6,7 \pm 0,5)$ N, skupina Q10: $(6,5 \pm 0,9)$ N in skupina Q10E: $(6,2 \pm 1,1)$ N za pasterizirane ter kontrolna skupina: $(7,3 \pm 0,6)$ N, skupina Q10: $(7,4 \pm 1,4)$ N in skupina Q10E: $(7,2 \pm 0,7)$ N za sterilizirane paštete). S tem lahko potrdimo učinek nižjega pH na slabšo emulzivno sposobnost. Prav tako je razviden tudi vpliv temperature na teksturo.

Izdelek, ki smo ga razvili za namen diplomskega dela, ustreza zahtevam, ki ga Uradni list republike Slovenije določa za perutninsko jetrno pašteto. Prav tako ustreza priporočilom Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) o priporočenem vnosu hranil, če ga uživamo s polnozrnatim kruhom in ima ugodno maščobnokislinsko sestavo. Na podlagi teh podatkov lahko trdimo, da predstavlja uravnotežen dnevni obrok. Vsebnost CoQ₁₀, ki ga pašteta vsebuje (ob predpostavki, da izberemo skupino z najvišjo vrednostjo CoQ₁₀, to je $(21,9 \pm 3,5)$ mg/100g pri pasterizirani in $(21,9 \pm 1,0)$ mg/100g pri sterilizirani pašteti) pa ji daje še funkcionalno vrednost, saj koncentracija močno presega povprečen dnevni vnos. Ker je pašteta živilo naravnega izvora, ni farmacevtski izdelek, je lahko vključena v vsakodnevno prehrano in vsebuje substanco (v dovolj visoki koncentraciji) z dokazano pozitivnim učinkom na človeka, lahko trdimo, da smo razvili funkcionalni izdelek – perutninsko jetrno pašteto s CoQ₁₀.

5.2 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko oblikujemo naslednje sklepe:

- Razvili smo funkcionalni izdelek – perutninsko jetrno pašteto s CoQ₁₀ (21 mg/100g).
- Razmerje hranil v pašteti je ob predpostavki, da jo jemo na polnozrnatem kruhu, v skladu s priporočili o razmerju hranil v obroku.
- Razvili smo lastno recepturo za pašteto, ki je kakovostna tako s senzoričnega kot tehnološkega vidika.
- Obstojnost CoQ₁₀ je med toplotno obdelavo odvisna od stopnje oksidacije medija v katerem se nahaja.
- Vsebnost CoQ₁₀ se pri pasterizaciji paštete najbolje ohrani, če je izdelku dodana askorbinska kislina, pri sterilizirani pašteti pa se za najboljšo kombinacijo zaščite CoQ₁₀ obnese kombinacija askorbinske kisline in α -tokoferola.
- Vsebnost oksidov holesterola je pri postopku pasterizacije pod mejo detekcije ob dodatku askorbinske kisline; pri steriliziranih paštetah pa je najnižja koncentracija oksidov holesterola (pod mejo detekcije) ugotovljena v skupini pašteta, z dodano askorbinsko kislino in α -tokoferolom.
- Dodatek repičnega olja pomembno vpliva na maščobnokislinsko sestavo paštete in z njegovo pomočjo je bilo doseženo zelo ugodno razmerje med ω -6 in ω -3 maščobnimi kislinami (4,1), ugodno P/S razmerje (1,9) in IA (0,14).

6 POVZETEK

Funkcionalna hrana postaja v sodobnem življenju vse bolj nepogrešljiva. Vpliv množične proizvodnje prazne, z vitamini in minerali revne hrane in pomanjkanje časa za pripravo zdravih obrokov, je pripeljal do pomanjkanja določenih hranil. Ta lahko uspešno nadomestimo z uživanjem funkcionalne hrane. Pašteta, bi bila kot funkcionalni izdelek, korak bliže k pestrejši ponudbi funkcionalnih mesnih izdelkov.

V ta namen smo razvili lastno recepturo za perutninsko jetrno pašteto z dodanim CoQ₁₀ (naš glavni funkcionalni dodatek), ki jo je za senzorično sprejemljivo potrdil panel senzoričnih ocenjevalcev. CoQ₁₀ je edini v maščobah topni antioksidant, ki ga je naše telo sposobno proizvajati samo, vendar se njegova endogena sinteza po 30 letu močno zmanjša. Tako se pri starejših ljudeh ter ljudeh, ki so izpostavljeni velikim fizičnim in psihičnim naporom, pogosto pojavi pomanjkanje tega koencima. V organizmu je CoQ₁₀ nujen za njegovo normalno delovanje, saj sodeluje pri procesu oksidativne fosforilacije, kjer kot kofaktor omogoča prenos elektronov v dihalni verigi in s tem tvorbo ATP. Druga pomembna funkcija je njegovo antioksidativno delovanje (reducirana oblika), s čimer zavira staranje in preprečuje z njim povezane bolezni. Prav tako se ga uspešno uporablja tudi pri zdravljenju raznih bolezni.

Glavni cilj našega poizkusa je bil razviti funkcionalno živilo z vsebnostjo CoQ₁₀, ki bi pokrila večji del dnevne potrebe po njem (priporočen dnevni vnos: 20 mg CoQ₁₀/100 g živila). Enako koncentracijo smo masi za pašteto tudi dodajali in ob postopku priprave izdelka smo jo želeli ohraniti. V ta namen smo za zaščito CoQ₁₀ dodajali antioksidanta, askorbinsko kislino in α -tokoferol – skupaj in ločeno vsakega posebej. Ugotovili smo, da se pri pasteriziranih paštetah, kot antioksidant, najbolj obnese askorbinska kislina samostojno, medtem ko je pri sterilnih paštetah najvišje koncentracije pokazala kombinacija obeh dodanih antioksidantov. V obeh primerih se je vsebnost gibala okoli 21,9 mg/100 g.

Zaradi visokih temperatur, katerim je pašteta izpostavljena med postopkom obdelave, smo z analizo oksidov holesterola preverili tudi stopnjo oksidacije holesterola. Rezultati so ponovno pokazali veliko učinkovitost askorbinske kisline pri postopku pasterizacije in kombinacijo askorbinske kisline in α -tokoferola pri postopku sterilizacije. V obeh omenjenih primerih je bila vsebnost oksidov holesterola pod mejo detekcije. Iz teh rezultatov lahko sklepamo, da je obstojnost CoQ₁₀ med postopkom toplotne obdelave v veliki meri odvisna od oksidacije.

Glede na to, da smo razvijali funkcionalni izdelek, smo upoštevali tudi smernice uravnotežene prehrane. V ta namen smo pri pripravi recepture pazili na energijsko vsebnost hranil in s končno analizo dobili sledeče rezultate: maščobe 75 %, beljakovine 22

%, ogljikovi hidrati 3 %. Ob upuštevanju dejstva, da se pašteto običajno uživa s kruhom (cca. 30 g paštete in 100 g polnozrnatega kruha (da zadostimo potrebam po vlakninah)), da izračun rezultate, ki ustezajo priporočilom o uravnoveženem vnosu hranil: maščobe 22 %, beljakovine 14 %, ogljikovi hidrati 64 %. Z analizo maščobnih kislin smo določili še ugodno razmeje med ω -6 in ω -3 maščobnimi kislinami, ki znaša 4,3, ugoden P/S indeks z vrednostjo 1,90 ter ugoden IA, ki znaša 0,14.

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko naš izdelek, perutninsko jeterno pašteto s CoQ₁₀, uvrstimo med funkcionalna živila.

7 REFERENCE

- AOAC Official Method 920.153. Ash of meat. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Cunniff P. (ed.). Washington, AOAC International: 39-4
- AOAC Official Method 928.08. Nitrogen in meat Kjeldahl Method. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Cunniff P. (ed.). Washington, AOAC International: 39-5
- AOAC Official Method 950.46. Moisture in meat. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Cunniff P. (ed.). Washington, AOAC International: 39-1
- AOAC Official Method 991.36. Fat (Crude) in meat and meat product. 1997. V: Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Cunniff P. (ed.). Washington, AOAC International: 39-2
- Azadmard-Damirchi S., Dutta P.C. 2009. A single solid-phase extraction method for complete separation of sterol oxidation products in food lipids. *Journal of Chromatography A*, 1216: 36-42
- Bhagavan H.N., Chopra R.K., Craft N.E., Chitchumroonchokchai C., Failla M.L. 2007. Assessment of coenzyme Q10 absorption using an *in vitro* digestion-Caco-2 cell model. *International Journal of Pharmaceutics*, 333: 112-117
- Boselli E., Rodriguez-Estrada M.T., Fedrizzi G., Caboni F.C. 2008. Cholesterol photosensitized oxidation of beef meat under standard and modified atmosphere at retail conditions. *Meat Science*, 81: 224-229
- Boselli E., Valazco 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
- Boselli E., Caboni M.F., Rodriguez-Estrada M.T., Toschi T.G., Daniel.M., Lercker G. 2005. Photooxidation of cholesterol and lipid of turkey meat during storage under commercial retail conditions. *Food Chemistry*, 91: 705-713
- Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 450-460
- Brea-Calvo G., Rodrigues-Hernandes A., Fernandes-Ayala D., Navas P., Sanchez-Alcazar J. 2006. Chemotherapy induces an increase in coenzyme Q₁₀ levels in cancer cell lines. *Free Radical & Medicine*, 40: 1293-1302
- Busch T.P., King A.J. 2009. Artifact generation and monitoring in analysis of cholesterol oxide products. *Analytical Biochemistry*, 388: 1-14
- Chang J., Kim S., Lu X., Su Z., Kim S.K., Shin Y. 2009. Fusion step-specific influence of cholesterol on SNARE-mediated membrane fusion. *Biophysical Journal*, 96: 1839-1846
- Cherl-ho Lee. 2001. Harmonization of eastern and western food system. V: The International Symposium on Lycium and Anti-aging Agents, 6 - 9 august 2001. Ninxia, The Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Science: 22-24. Cit po: Pokorn D. 2001. Trendi zdrave prehrane. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi

živilski dnevi 2001, Portorož 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 15-24

Connor W.E. 2000. Importance of ω -3 fatty acids in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 171S- 175S

Coppen P.P. 1994. The use of antioxidants. V: Rancidity in foods. Allen J.C., Hamilton R.Y. (ed.). London. Blackie Academic & Professional, 5: 84-103

De Cabo R., Cabello R., Rios M., Lopez-Lluch G., Ingram D.K., Lane M.A., Navas P. 2004. Calorie restriction attenuates age-related alteration in the plasmamembrane antioxidant system in rat liver. *Experimental Gerontology*, 39: 297-304

DiMauro S., Quinzii C.M., Hirano M. 2007. Mutations in coenzyme Q₁₀ biosynthetic genes. *Journal of Clinical Investigation*, 117,3: 587-589

Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M., Bornet F., Fern E.B., Roberfroid M.B. 2000. Scientific concepts of functional foods in Europe. V: Functional foods II. Claims and evidences. Buttriss J., Saltmarsh M (ed.). Cambridge, The Royal Society of Chemistry: 8-59

Feher J., Kovacs B., Kovacs I. 2004. Improvement of visual functions and fundus alterations in early age-related macular degeneration treated with a combination of acetyl-L-carnitine, n-3 fatty acids and coenzyme Q₁₀. *Ophthalmologia*, 215: 154-166

Frei B., Kim M.C., Ames B.N. 1990. Ubicolin-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87: 4879-4883

Gabrovšek M. 2007. Dezinfekcija in sterilizacija v zdravstvu. *Obzornik zdravstvene nege*, 33: 263-267

Galinier A., Carriere A., Fernandez Y., Bessac A.M., Caspar-Bauguil S., Periquet B., Comtat M., Thouvenol J.P., Casteila L. 2004. Biological validation of coenzyme Q redox state by HPLC-EC measurement: relationship between coenzyme Q redox state and coenzyme Q content in rat liver. *FEBS Letters*, 578: 53-57

Gašperlin L., Žlender B. 2001. Meso kot funkcionalno živilo. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001, Portorož 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 253-266

Gašperlin L. 2000. Oksidacija pigmenta in barva mesa. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 139-150

Golob T., Stibij V., Žlender B., Doberšek U., Jamnik M., Polak T., Salobir J., Čandek-Potokar M. 2006. Slovenske prehranske tabele – meso in mesni izdelki. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 159-163

Gustafsson I.B., Haglund A., Johansson L. 1993. The taste of dietary fat based on rapeseed oil was superior to the based on sunflower oil when used for frying and baking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62: 273-281

- Gustone F.D. 1996. Fatty acid and lipid chemistry. London, Blackie Academic & Professional: 173-180
- Higdon J. 2003. Coenzyme Q₁₀. Oregon, Linus Pauling Institute at Oregon State University, Micronutrient Research for Optimum Health (april, 2009) <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/othernuts/coq10/> (23.4.2009): 10 str.
- Ingold K.U., Bowry V.W., Stocker R., Walling C. 1993. Autoxidation of lipids and antioxidation by α -tocopherol and ubiquinol in homogeneous solution and in aqueous dispersions of lipids: Unrecognized consequences of lipid particle size as exemplified by oxidation of human low density lipoprotein. *Medical Sciences*, 90: 45-49
- Ishii N., Senoo-Matsuda N., Miyake K., Yasuda K., Ishii T., Hartman P., Furukawa S. 2004. Coenzyme Q₁₀ can prolong *C. elegans* lifespan by lowering oxidative stress. *Mechanisms of Ageing and Development*, 125: 41-46
- Jimenez-Colmenero F., Carballo J., Cofrades S. 2001. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59: 5-13
- Kač M. 2001. Vitamini – nekatere kemijsko in živilsko zanimive opombe. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001, Portorož 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 79-88
- Kaikkonen J., Nyysoönen K., Tuomainen T., Ristonmaa U., Salonen J.T. 1999. Determinants of plasma coenzyme Q₁₀ in humans. *FEBS Letters*, 443: 163-166
- Kamei M., Fujita T., Kanbe T., Sasaki K., Oshiba K., Otani S., Matsui-Yuasa I., Morisawa S. 1986. The distribution and content of ubiquinone in foods. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 56,1: 57-63
- Khan M., Gross J., Haupt H. 2007. A pilot clinical trial of the effects of coenzyme Q₁₀ on chronic tinnitus aurium. *Otolaryngology*, 136: 72-77
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21
- Langsjoen P.H. 1994. Introduction to Coenzyme Q₁₀. Texas, University of Texas Medical Branch at Galveston <http://faculty.washington.edu/ely/coenzq10.html> (25.4.2009): 14 str.
- 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
- Littaru G.P., Langsjoen P. 2007. Coenzyme Q₁₀ and statins: Biochemical and clinical implications. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: 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

- Nakajima Y., Inokuchi Y., Nishi M., Shimazawa M., Otsubo K., Hara H. 2008. Coenzyme Q₁₀ protects retinal cells against oxidative stress *in vitro* and *in vivo*. *Brain Research*, 1226: 226-233
- Navas P., Villalba J.M., Cabo R. 2007. the importance of plasma membrane coenzyma Q in aging and stress responses. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S34-S40
- Nelson D.L., Cox M.M. 2005. *Lehninger principles of biochemistry*. 4th ed. New York, W. H. Freeman: 1119 str.
- Paš M. 2001. Minerali v funkcionalnem prehranjevanju. V: *Funkcionalna hrana*. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001, Portorož 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67-78
- Pavlin R. 2008. Koencim Q₁₀ - Klinična raba. *Zdravstveni vestnik*, 77: 159-162
- Pravilnik o perutninskih mesnih izdelkih. 2002. Uradni list Republike Slovenije, 39, 59: 6151
- Radež I. 1996. Sterilizacija substratov in opreme. V: *Biotehnologija. Osnovna znanja*. Raspor P. (ur.). Ljubljana: 383-396
- Rajar A., Gašperlin L., Žlender B. 2006. Karcinogene komponente v predelanih in toplotno obdelanih živilih. V: *Karcinogene in antikarcinogene komponente v živilih*. 24. Bitenčevi živilski dnevi 2006, Ljubljana, 9. in 10. november 2006. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 89-101
- Ramaswamy H.S., Marcotte M. 2006. *Food processing: principles and applications*. Boca Raton, CRC Taylor and Francis: 67-83
- Raspor P., Rogelj I. 2001. Funkcionalna hrana – definicije. V: *Funkcionalna hrana*. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001, Portorož 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 25-36
- 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: 321-334
- Romesh M. N. 2007. *Canning and sterilization of foods*. V: *Handbook of food preservation*. 2nd ed. Rahman S.M. (ed.). Boca Ration, CRC Press: 585-623
- Rozen T.D., Oshinsky M.L., Gebeline C.A., Bradely K.C., Young W.B., Shechter A.L. 2003. Open label trial of coenzyme Q₁₀ as migraine preventive. *Cephalalgia*, 2:137-141
- Rudan-Tasič D. Vitamin C, vitamin E in koencim Q₁₀. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 39-51
- Ruiz-Jimenez J., Priego-Capote F., Mata-Granados J.M., Qesada J.M., Luque de Castro M.D. 2007. Determination of the ubiquinol-10 and ubiquinone-10 (coenzyme Q₁₀) in human serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry to evaluate the oxidative stress. *Journal of Chromatography A*, 1175: 242-248
- Rus P., Rus R.R. 2008. Koencim Q₁₀. *Zdravstveno Varstvo*, 47: 89-98

- Salobir J., Salobir B. 2001. Funkcionalnost prehranske vlaknine. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001, Portorož 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 51-65
- Salobir K. 2001. Prehransko fiziološka funkcionalnost maščob. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001, Portorož 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 121-135
- Sander P.S., Clemente L., Coppola G. 2005. Efficacy of coenzyme Q₁₀ in migraine prophylaxis: a randomised controlled trial. *Neurology*, 64: 713-715
- SAS Softwear Version. 1999. Cary, SAS Institute Inc.
- Shinde S., Patil N., Tendolkar A., 2005. Coenzyme Q₁₀: A review of essential functions. *The Internet Journal of Nutrition and Wellness*, <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijnw/vol1n2/q10.xml> (23.4.2009): 17 str.
- Shults CW., Oakes D., Kieburtz K., Beal M.F., Haas R., Plumb S., Juncos J.L., Nutt J., Shoulson I., Carter J., Kompoliti K., Perlmutter J.S., Reich S., Stern M., Watts R.L., Kurlan R., Molho E., Harrison M., Lew M. 2002. Effect of coenzyme Q₁₀ in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline. *Archives of Neurology*, 59,10: 1541-1550
- Singh R.B., Niaz M.A., Kumar A. 2006. Effect on absorption and oxidative stress of different oral Coenzyme Q₁₀ dosages and intake strategy in healthy men. *Biofactors*, 25: 219-224.
- Skvarča M. Učinek antioksidantov na kakovost maščob. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 179-190
- Skvarča M., Polak T., Abram V. 2004. V: Varnost živil. 22. Bitenčevi živilski dnevi 2004, Radenci, 18. in 19. marec 2004. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 205-220
- Stocker R. 2002. Possible Health Benefits of Coenzyme Q₁₀. Sidney, University of New South Wales (november 2002) <http://lpi.oregonstate.edu/f-w02/coenzymeq10.html> (10.4.2009): 4 str.
- Stocker R., Pollicino C., Gay C.A., Nestel P., Colquhoun D., Whiting M., Tonkin A., Sullivan D., Simes J. 2006. Neither plasma coenzyme Q₁₀ concentration, nor its decline during pravastatin therapy, is linked to recurrent cardiovascular disease events: A prospective case-control study from the LIPID study. *Atherosclerosis*, 187: 198-204
- Tang P.H., Miles M.V., Miles L., Quinlan J., Wong B., Wenisch A., Bove K. 2004. Measurement of reduced and oxidized coenzyme Q₉ and Q₁₀ levels in mouse tissues by HPLC with coulometric detection. *Clinica Chimica Acta*, 341: 173-184
- Terao K., Nakata D., Fukumi H., Schmid G., Arima H., Hirayama F., Uekama K. 2006. Enhancement of oral bioavailability of coenzyme Q₁₀ by complexation with γ -cyclodextrin in healthy adults. *Nutrition Research*, 26:503-508

- Toschi T.G., Caboni M.F., 1992. Cholesterol oxides: biological behaviour and analytical determination. *Italian Journal of Food Science*, 4: 223-228
- Ulbricht T.L.V., Southgate D.A.T. 1991. Coronary heart-disease – 7 dietary factors. *Lancet*, 338: 985-992
- Weber C., Bysted A., Holmer G. 1997. Coenzyme Q₁₀ in the diet-daily intake and relative bioavailability. *Molecular Aspects of Medicine*, 18: 251-254
- WHO. 1990. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva, World Health Organization: 203 str.
- WHO. 1994. Fats and oils in human nutrition. Report of a joint expert consultation. Rome, WHO, Food and Agriculture Organization of the United Nations: 9-24
- Žlender B. 2000. Oksidacija in stabilnost mesa in mesnin. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 129-138
- Wikipedia prosta enciklopedija. 2006. Wikipedia: Meso (Februar 2006) <http://sl.wikipedia.org/wiki/Meso> (20.4.2009): 1str.

ZAHVALA

Ob tej priložnosti bi se rada zahvalila mentorju prof. dr. Božidarju Žlendru za strokoven pregled diplomskega dela.

Posebno velika zahvala gre somentorju dr. Tomažu Polaku za strokovno in prijateljsko pomoč, nasvete in vso potrpežljivost, ki jo je pokazal tekom nastajanja diplome. Tomaž hvala.

Hvala recenzentu doc. dr. Blažu Cigiću za skrben pregled diplomskega dela.

Hvala doc. dr. Lei Gašperlin za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Hvala tudi dr. Tomažu Polaku, doc. dr. Lei Gašperlin, mag. Marleni Skvarča in mag. Alenki Rajar za izvedbo senzoričnega ocenjevanja.

Zahvaljujem se univ. dipl. ing. živil. tehnol. Ivici Hočevnar za pregled diplomskega dela.

Hvala tudi Pivki Perutninarstvo d.d. in tamkajšnji tehnologinji Ani Penko za materialno pomoč pri izvedbi diplomskega dela.

Mateja, hvala tudi tebi za strokovno pomoč in prijetno vzdušje v laboratoriju ter predvsem za prijateljstvo.

Zahvaljujem se tudi Milki Glavini za lektorski pregled diplomskega dela.

Hvala Erik tudi tebi, ki si mi bil tekom študija vedno najbližji in tako sva se z roko v roki prebijala skozi težke pa tudi lepe trenutke. Upam, da bo v bodoče tudi tako.

Največja zahvala pa gre moji družini, predvsem vama, draga mama in očka, ki sta mi šolanje sploh omogočila, me finančno in moralno podpirala in me vzgojila v človeka, ki spoštuje in ima rad sebe in življenje. Enako zahvalo bi izrekla tudi svoji noni in nonotu.

Na koncu bi se rada zahvalila še vam, dragi prijatelji, brez katerih študentsko življenje ne bi imelo pravega pomena.