Oksidacijska stabilnost lipida i proteina mišićnog tkiva kokoši Hrvatica iz slobodnog uzgoja

Rakitić, Stjepan

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:534790

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za biologiju
Preddiplomski studij biologije

Stjepan Rakitić

OKSIDACIJSKA STABILNOST LIPIDA I PROTEINA MIŠIĆNOG TKIVA KOKOŠI HRVATICA IZ SLOBODNOG UZGOJA

Završni rad

Mentor: Valentina Pavić, doc.dr.sc.

Osijek, 2016. Godina

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski studij biologije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

OKSIDACIJSKA STABILNOST LIPIDA I PROTEINA MIŠIĆNOG TKIVA KOKOŠI HRVATICA IZ SLOBODNOG UZGOJA

Stjepan Rakitić

Rad je izrađen: na Zavodu za biokemiju i ekofiziologiju biljaka

Mentor: doc. dr. sc. Valentina Pavić

Kratak sažetak: Kokoš Hrvatica je izrazito otporna autohtona hrvatska pasmina, prilagođena slobodnom sustavu držanja, koji je u najvećoj mjeri u skladu s dobrobiti i zdravljem životinja. Životinje u slobodnom sustavu držanja imaju veću mišićnu masu i smanjen udio masti zbog mogućnosti slobodnog kretanja i povećane fizičke aktivnosti. Zbog povećane fizičke aktivnosti proizvodi se više slobodnih radikala, te zato dolazi do oksidacije lipida i proteina. Oksidacija lipida i proteina rezultira gubitkom okusa, sastava, čvrstoće, izgleda i hranjive vrijednosti mesa. Dodavanjem antioksidativnih suplemenata prehrani može se poboljšati oksidacijska stabilnost lipida i proteina u mišićnom tkivu.

Broj stranica: 16

Broj slika: 1

Broj tablica: 0

Broj literaturnih navoda: 35

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: oksidacijska stabilnost, lipidi, proteini, antioksidansi, slobodan uzgoj

Datum ocjene:

Rad je pohranjen u: knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final thesis

Josip Juraj Strossmayer University of Osijeku

Department of Biology

Undergraduate Study of Biology

Scientific Area: Natural science

Scientific Field: Biology

OXIDATION STABILITY OF LIPIDS AND PROTEINS IN MUSCLE TISSUE OF FREE RANGE RAISED HRVATICA HENS

Stjepan Rakitić

Thesis performed at: Subdepartment of Plant Ecophysiology and Biochemistry

Supervisior: Valentina Pavić, Assistant Professor

Short abstract: Hrvatica hen is extremely resistant native Croatian breed, and well adapted to free-range farming which is beneficial for its health. Free-range raised animals have a larger muscle mass and reduced fat content due to the possibility of free movement and increased physical activity. The increased physical activity results in a larger production of free radicals, which lead to oxidation of lipids and proteins. Oxidation of lipids and proteins results in loss of taste, composition, rigidity, appearance and nutritional value of the meat. Oxidative stability of lipids and proteins in the muscle tissue can be improved by adding dietary antioxidative supplements.

Number of pages: 16

Number of figures: 1

Number of tables: 0

Number of references: 35

Original in: Croatian

Key words: oxidative stability, lipids, proteins, antioxidants, free-range farming

Date of grading:

Thesis deposited in: Library of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in National university library in Zagreb in electronic form. It is also available on the web site of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. OSNOVNI DIO 2

2.1. Kokoš Hrvatica 2

2.2. Karakteristike kvalitete mesa 2

2.3. Oksidativna stabilnost lipida i proteina mišićnog tkiva 4

2.3.1. Slobodni radikali 4

2.3.2. Mehanizam lipidne oksidacije 4

2.3.2 Produkti lipidne peroksidacije 6

2.3.3. Detekcija i kvantifikacija produkata lipidne peroksidacije 6

2.3.4. Mehanizam oksidacije proteina 7

2.3.5. Detekcija i kvantifikacija produkata oksidacije proteina 7

2.4. Antioksidansi 7

2.4.1. Membranski antiosidansi 7

2.4.2. Unutarstanični antioksidansi 8

2.4.3. Izvanstanični antioksidansi 8

2.5. Utjecaj prehrane na oksidacijsku stabilnost 8

2.6. Oksidacija proteina i lipida u mesu i mesnim proizvodima 10

2.7. Slobodni uzgoj 11

3. ZAKLJUČAK 12

4. LITERATURA 13

1. UVOD

Proizvodnja mesa peradi u Hrvatskoj najvećim je dijelom organizirana na velikim industrijskim farmama, dok se na obiteljskim gospodarstvima uzgaja samo radi podmirenja vlastitih potreba. Prestanak tradicijskog uzgoja peradi zbog razvoja industrijske proizvodnje, gospodarske situacije, novih pasmina i hibrida, zapostavljanja agrara te neprepoznavanja izvornog proizvoda doveli su do ugroženosti autohtonih pasmina kokoši. Kokoš Hrvatica je primitivna, temperamentna autohtona hrvatska pasmina kombiniranih svojstava. Prilagođena je slobodnom načinu uzgoja, a prema ranijim istraživanjima meso iz takovog uzgoja bolje je kvalitete od mesa iz konvencionalnog uzgoja. Uzgaja se u malim obiteljskim gospodarstvima, a zbog izrazito dobre otpornosti prilagođena je slobodnom sustavu držanja. Držanje peradi u slobodnom sustavu jedan je od najzastupljenijih alternativnih načina držanja peradi u svijetu. Ovakav način uzgoja je u najvećoj mjeri u skladu s dobrobiti i zdravljem životinja.

Kvaliteta mesa peradi ovisi o smještaju peradi, hranidbi, pasmini, postupku prije, tijekom i nakon klanja, sadržaju masti i profila masnih kiselina, gubitka mesnog soka, boje mesa, nježnosti vlakana, mirisa, okusa te oksidativne stabilnosti mesa. Oksidacija lipida i proteina značajan je čimbenik pri procjeni kvalitete i prihvatljivosti mesa. Oksidativni procesi u mesu uzrokuju gubitak nutritivnih i senzornih vrijednosti, kao i nastanak toksičnih komponenti koje smanjuju kvalitetu mesa i rok uporabe.

Zbog velikog sadržaja višestruko nezasićenih masnih kiselina meso peradi je osjetljivo na oksidaciju lipida i proteina čiji nastali produkti utječu na njegovu kvalitetu (teksturu, boju, miris, okus), pohranu i čuvanje, a time izravno mogu utjecati i na zdravlje čovjeka koji ga konzumira.
Jedan od glavnih uzroka kvarenja je užeglost koja dovodi do gubitka okusa, sastava, čvrstoće, izgleda i hranidbene vrijednosti pilećeg mesa. Dodavanjem antioksidanata u krmne smjese za hranidbu pilića i u same mesne proizvode moguće je osigurati oksidativnu stabilnost masti u mesu tijekom klaoničke obrade i čuvanja mesa.

2. OSNOVNI DIO

2.1. Kokoš Hrvatica

Kokoš Hrvatica je kao izvorna pasmina priznata 1937. godine. Nastala je križanjem domaće kokoši s Leghorn pijetlovima, a svoj konačni izgled i odlike dobiva križanjem s pasminom Wellsummer (Janječić, 2007). Pasmina je značajna zbog vrijednosti i jedinstvenosti genoma, dobre prilagodbe i otpornosti. Kokoš Hrvatica je zbog izrazito dobre otpornosti prilagođena slobodnom sustavu držanja. U pogledu korištenja životnog prostora i krmnih resursa, ne predstavlja neposrednog konkurenta drugim pasminama i vrstama domaćih životinja. Odlikuje se skromnošću u hranidbi, dobrom nesivosti (od 200 do 220 jaja godišnje) i ukusnim mesom pri čemu masa odraslih kokoši iznosi 1,6-1,8 kg a pijetlova 2,2-2,6 kg (Janječić i sur., 2007).

2.2. Karakteristike kvalitete mesa

Kvaliteta mesa je širok pojam i ekonomski je vrlo značajan (Kralik i sur., 2008). Podrazumijeva analizu mnogobrojnih pokazatelja, a pod utjecajem je više čimbenika, kao što su pasmina, genotip, spol, hranidba, sustav držanja, postupak s peradi, načini klanja, hlađenje i čuvanje mesa. Kvalitetu mesa određuju i drugi pokazatelji poput sadržaja hranjivih tvari (sadržaj bjelančevina, masti, kolesterola, aminokiselina, masnih kiselina, minerala, vitamina, vode i pepela), tehnoloških svojstava (temperatura, pH vrijednost, električna provodljivost mišićnog tkiva, sposobnost otpuštanja vode „drip loss“, sposobnost vezanja vode) i senzorskih svojstava (miris, okus, čvrstoća ili nježnost mišićnih vlakana). Potrošači kvalitetu mesa procjenjuju i na osnovi boje, pri čemu očekuju da svježe meso prsa ima svijetlu, blijedo ružičastu boju, a meso bataka sa zabatacima tamno ružičastu boju (Janječić, 2006).

Prehrambene preporuke za ljude koje promoviraju manju konzumaciju zasićenih masti dovele su do velikog interesa za meso s većim udjelom nezasićenih masnih kiselina. Konzumacija zasićenih masnih kiselina povezana je sa povećanom razinom serumskog lipoproteina male gustoće i kolesterola, te s povećanim rizikom od koronarnih srčanih bolesti (Realini i sur., 2004).

U suvremenoj proizvodnji mesa nastoji se postići što veći udio proteina u odnosu na masti, a sastav masnog tkiva tako podesiti da sadrži što više nezasićenih masnih kiselina. Uz poželjne rezultate, ova nastojanja imaju i popratne negativne posljedice, poput blijede boje mesa koje veže preveliku količinu vode, snižavanje pH-vrijednosti mesa i promjene nekih drugih parametara, što smanjuje kvalitetu mesa i proizvoda od mesa.

Čimbenici o kojima ovisi rezultat ovih nastojanja su dvojaki: genetski i okolišni (npr., način uzgoja životinja, vrsta i način pripreme hrane za uzgoj). Naime, meso životinja hranjenih ispašom ima povišene razine polinezasićenih masnih kiselina u usporedbi sa mesom životinja hranjenih zrnatom hranom. No, previsoke razine polinezasićenih masnih kiselina uzrokuju sklonost lipidnoj peroksidaciji (Realini i sur., 2004). Sastav polinezasićenih masnih kiselina osim toga ovisi o spolu, prehrani i uvjetima držanja životinja. Ženke svinja uzgajane na otvorenom pokazuju viši sadržaj polinezasićenih masnih kisleina i α-tokoferola od mužjaka (iako kastriranih) na zatvorenom uzgoju (Högberg i sur., 2004) .

Osim toga, čini se da je intenzivni uzgoj životinja u svrhu proizvodnje hrane redovito povezan i s njihovim izlaganjem stresu, što također može biti uzrok promijenjene, često slabije kvalitete konačnog proizvoda. Stanje stresa se danas redovito vezuje uz promijenjen oksido – reduktivni status stanica, tj. uz prisustvo ROS i RNS, kao i mogućnošću njihovog dostatnog uklanjanja zaštitnim enzimatskim sustavima stanica, tkiva i organa.

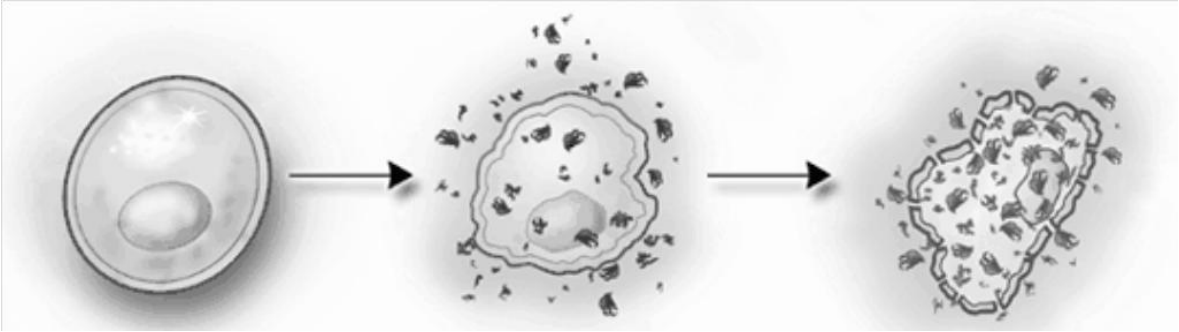
Pileće meso ima povoljan sastav masnih kiselina jer sadrži veći udio višestruko nezasićenih masnih kiselina (VNMK) koje pozitivno utječu na zdravlje ljudi, uglavnom u sprječavanju kardiovaskularnih bolesti. Loše obilježje takvog mesa je to što za vrijeme kuhanja i skladištenja dolazi do razgrađivanja lipidne frakcije, a intenzitet tog procesa je u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem višestruko nezasićenih masnih kiselina. Lipidna oksidacija predstavlja jedan od glavnih uzroka kvarenja mesa, pri čemu dolazi do gubitka okusa, sastava, čvrstoće, izgleda i hranjive vrijednosti mesa. Višestruko nezasićene masne kiseline izrazito su podložne oksidaciji zbog velikog broja dvostrukih veza. Procesi koji uzrokuju oksidacijsko razgrađivanje lipida nazivaju se peroksidacijom lipida, a započinju ih slobodni radikali (Cortinas i sur., 2005).

Akumulacija oksidativno oštećenih biomolekula u stanici, smatra se jednim od odgovornih procesa u starenju. Stanične opne fosfolipida posebno su osjetljive na oksidacijsko oštećenje. Nastali lipidni hidoperoksidi lako se razlažu na aldehide, ketone, alkohole i laktone, koji mogu značajno utjecati na organoleptička svojstva mesa. Stoga se za procjenu kvarenja, odnosno propadanja mesa koristi metoda određivanja malondialdehida (MDA). Intenzivna lipidna peroksidacija u biološkim membranama dovodi do gubitka fluidnosti, opadanja vrijednosti membranskog potencijala, povećanja permeabilnosti prema vodiku i drugim ionima te do moguće rupture stanice i otpuštanja njena sadržaja (Štefan i sur., 2007).

2.3. Oksidativna stabilnost lipida i proteina mišićnog tkiva

2.3.1. Slobodni radikali

Slobodni radikali (SR) su vrlo nestabilne kemijske čestice koje u vanjskoj ljusci imaju nespareni elektron. Nastaju homolitičkim cjepanjem kovalentne veze, pri čemu svaki elektron ostaje vezan u susjednom atomu. Zbog nesparenog elektrona su vrlo reaktivni, a mogu nastati čak i u zdravom organizmu. Sudjeluju u brojnim fiziološkim procesima unutarstanične i izvanstanične signalizacije, genske ekspresije, uklanjanju oštećenih i starih stanica (Stevanović i sur., 2011). Velike količine ili nedovoljno uklanjanje SR, odnosno nedovoljna obrana od SR uzrokuje oksidacijski stres koji može oštetiti biološke makromolekule i uzrokovati metaboličke poremećaje (Slika 1.).



zdrava stanica *stanica napadnuta slobodnim radikalima* *stanica pod oksidacijskim stresom*

Slika 1. Oksidacijski stres

Prisutnost slobodnih radikala može uzrokovati i citotoksično djelovanje, kao i smrt stanice, induciranjem mutacija i kromosomskih aberacija te kancerogenezom (Štefan i sur., 2007.). Potvrđeno je da u organizmu čovjeka sudjeluju u patogenezi nekih bolesti poput šećerne bolesti, HIV infekcija, autoimunih, neurodegenerativnih, srčanih, malignih, plućnih, upalnih i drugih bolesti (Đukić, 2008.).

2.3.2. Mehanizam lipidne oksidacije

Oksidacija lipida jedan je od glavnih faktora koji utječe na kvalitetu mesa i mesnih proizvoda. Ovaj proces rezultira gubitkom boje, lošim mirisom i okusom, te mogućim stvaranjem

otrovnih spojeva. Najvažniji uzrok oksidacije lipida su reaktivne kisikove čestice. One uključuju slobodne radikale s jednim ili više slobodnih elektrona kao što su hidroksilni radikal ($HO^{\bullet}$), superoksidni radikal ($O_2^{-\bullet}$), i radikali organskih spojeva peroksilni ($ROO^{\bullet}$) radikal i alkoksilni ($RO^{\bullet}$) radikal.
Proces lipidne peroksidacije sastoji se od tri stupnja: inicijacija, propagacija i terminacija.

Prvi korak u oksidaciji lipida je uklanjanje vodika sa metilenskog ugljika masne kiseline, a može ga katalizirati hidroksilni, ferilni ili perferilni radikal:

$$RH + HO^{\bullet} \rightarrow R^{\bullet} + H_2O$$

Što je veći broj dvostrukih veza, to je lakše ukloniti vodik. Zbog toga su višestruko nezasićene masne kiseline vrlo podložne oksidaciji.

Slobodni radikal masne kiseline brzo reagira s O_2 te dolazi do stvaranja peroksilnog radikala ($ROO^{\bullet}$):

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$$

Peroksilni radikal je više oksidiran od slobodnog radikala masne kiseline, zbog čega oksidira druge nezasićene masne kiseline i tako dovodi do lančane reakcije (faza propagacije):

$$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

Lipidni hidroksiperoksidi (ROOH) koji nastaju lančanom reakcijom dalje reagiraju s Fe^{2+} i Cu^{+} pri čemu nastaju alkoksilni ($RO^{\bullet}$) i peroksilni ($ROO^{\bullet}$) radikali:

$$Fe^{2+} + ROOH \rightarrow Fe^{3+} + RO^{\bullet} + OH^{-}$$
$$Fe^{3+} + ROOH \rightarrow ROO^{\bullet} + Fe^{2+} + H^{+}$$

Alkoksilni radikali mogu biti degradirani u alkilne radikale i aldehide:

$$RO^{\bullet} \rightarrow R'CH_2^{\bullet} + R''CHO$$

Alkilni radikali zatim mogu reagirati sa proteinima pri čemu nastaju Maillardovi kompleksi (Morrissey i sur., 1998).

Pod djelovanjem iona željeza ili bakra, lipidni peroksidi stvaraju i druge razgradne produkte, kao što su ketoni, ugljikovodici (etan, eten, pentan), epoksidi i aktivni radikali (Štefan i sur., 2007).

2.3.2 Produkti lipidne peroksidacije

Lipidni hidroksiperoksidi se lako raspadaju na aldehide (pentanal, heksanal, 4-hidroksinonenal i malondialdehid), ketone, alkohole i laktone. Neki od njih su potencijalno citotoksični, a njihova akumulacija može značajno utjecati na kvalitativna svojstva mesa peradi (Ruiz i sur., 2001). Lipidni hidroksiperoksidi, peroksilni radikali i hidroperoksidi nastali pri inicijaciji i propagaciji lipidne peroksidacije mogu izazvati daljnje oštećenje proteina i DNK.

Malondialdehid (MDA) koji se stvara tijekom peroksidacije lipida pokazatelj je peroksidacije. Ciljno mjesto napada malondialdehida je gvanin u DNK, što može stvarati mutagena oštećenja. Produkt peroksidacije ω-6 VNMK-e (linoleinske i arahidonske), hidroksialkenal 4-hidroksinonenal (HNE), u većim količinama ima izrazito toksično djelovanje, inhibira stanični rast, sposoban je modificirati lipoproteine, te potaknuti razvoj ateroskleroze (Štefan i sur., 2007).

2.3.3. Detekcija i kvantifikacija produkata lipidne peroksidacije

Najčešće korišteni test kvantifikacije oksidacije lipida u mesu temelji se na određivanju količine malondialdehida (MDA), glavnog sekundarnog međuprodukta oksidacije u uzorku. Malondialdehid je jedan od mnogih krajnjih produkata oksidacije lipidnih hidroksiperoksida niske molekulske mase. MDA tvori 1:2 spoj s tiobarbiturnom kiselinom (TBK) pri niskom pH i visokoj temperaturi. Tiobarbiturna kiselina (TBK) ima široku primjenu jer reagira s karbonilnim spojevima (aldehidi i ketoni), kao i s kiselinama esterima, amidima, šećerima i pirimidinskim spojevima (Galović i sur., 2014). Ova metoda je kritizirana jer nije visoko specifična, ali ima prednost jer je jednostavna i jer daje slične rezultate u usporedbi s drugim metodama koje se koriste za detekciju i kvantifikaciju produkata lipidne peroksidacije. Najbolje ju je koristiti paralelno s drugim metodama radi postizanja pouzdanih informacija o oksidativnom statusu testiranih uzoraka (Fellenberg i Speisky, 2006).

2.3.4. Mehanizam oksidacije proteina

Oksidacija proteina je sporiji proces od peroksidacije lipida. Reaktivne kisikove čestice koje uzrokuju oksidaciju proteina uključuju radikalne čestice kao što su superoksidni ($O_2^{-\bullet}$), hidroksilni ($OH^{\bullet}$), peroksilni ($ROO^{\bullet}$), alkoksilni ($RO^{\bullet}$) i hidroksiperoksilni radikal ($HO_2^{\bullet}$), te neradikalne čestice kao vodikov peroksid (H_2O_2), hipoklorna kiselina (HOCl), ozon (O_3), singletni kisik ($^1O_2$) i peroksinitrit ($ONOO^-$) (Dalle-Donne i sur., 2003).

Glavni oksidacijski proces proteina odvija se Fentonovom reakcijom. Prijelazni metal se spaja sa specifičnim aminokiselinskim ostatkom, te tako omogućuje stvaranje hidroksilnog radikala u prisustvu vodikovog peroksida. Oksidacijom proteina dolazi do modifikacije njihove funkcije (npr. gubitak enzimatske aktivnosti), nutritivne vrijednosti i organoleptičkih svojstava.
Pri oksidaciji proteina nastaju karbonilni derivati, koji su važan produkt za određivanje razine oksidativnog oštećenja (Fellenberg i Speisky, 2006).

2.3.5. Detekcija i kvantifikacija produkata oksidacije proteina

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

2.4. Antioksidansi

2.4.1. Membranski antiosidansi

Važan mehanizam stanične obrane od oksidativnog stresa su i antioksidansi koji prekidaju lančane reakcije. Najveći udio čine vitamin E, vitamin C i β-karoten, membranski antioksidansi koji se integriraju svojim lipofilnim dijelovima.

Vitamin E je najvažniji antioksidativni spoj jer su njegove koncentracije 15 puta veće od ostalih antioksidanasa, te reagira s peroksilnim radikalima brže nego što oni uspijevaju reagirati s nezasićenim masnim kiselinama i proteinima.

Kada vitamin E, u obliku α-tokoferola, dođe u dodir s peroksilnim radikalom, on mu donira vodik pri čemu nastaju hidroksiperoksid i tokoferoksil radikal:

$$TOH + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOH + TO^{\bullet}$$

Tokoferoksilni radikal se zatim vraća u prvobitno stanje tako što ga reduciraju unutarstanični vitamin C, glutation i dihidrolipoat (Morrisey i sur., 1998)

2.4.2. Unutarstanični antioksidansi

Stanična oštećenja nastala zbog lipidne peroksidacije mogu se spriječiti ili smanjiti enzimima koji uklanjaju slobodne radikale i perokside štiteći pri tome stanicu. Glavni enzimi su superoksid dismutaza, katalaza i glutation reduktaza.

Superoksid dismutaza (SOD) regulira unutarstanične koncentracije superoksidnih radikala ($O_2^{-\bullet}$), koji mogu Haber-Weissovom reakcijom dovesti do stvaranja hidroksilnih radikala i lipidne peroksidacije (Bailly i sur., 1996). SOD dismutira superoksidne radikale u vodikov peroksid, koji zatim uklanjaju katalaza ili glutation peroksidaza (Štefan i sur., 2007).
Glutation peroksidaza uklanja vodikov peroksid kroz oksidacijsko-reducirajući ciklus u kojem sudjeluju glutation i vitamin C (Bailly i sur., 1996).

2.4.3. Izvanstanični antioksidansi

Osnovna zadaća izvanstaničnih antioksidansa jest zadržavanje željeza i bakra u nereaktivnim oblicima, te sprečavanje mogućega međudjelovanja s vodikovim peroksidom i superoksidnim radikalom (Štefan i sur., 2007). Transportni proteini i proteini za skladištenje nose prijelazne metale u obliku u kojem oni ne mogu katalizirati stvaranje hidroksilnih radikala. To su transferin, laktoferin, haptoglobin, hemopleksin, albumin ceruloplazmin, metalotionein i karnozin (Morrisey i sur., 1998).

2.5. Utjecaj prehrane na oksidacijsku stabilnost

Dodatak suplemenata u prehranu životinja može značajno povećati oksidacijsku stabilnost njihovog mesa nakon klanja. Vitamin E je jedan od najvažnijih antioksidanasa, koji u kombinaciji sa drugim antioksidansima poput β-karotena, vitamina C, selena, magnezija, α-lipoične kiseline i α-tokoferol acetata poboljšava oksidacijsku stabilnost i kvalitetu mesa (Yasin i sur., 2012).

Selen je uključen u staničnu antioksidativnu obranu preko glutation peroksidaze ovisne o selenu. Dodatkom selena u prehranu dolazi do povećanja aktivnosti te glutation peroksidaze, te samim time do smanjenja u sadržaju malondialdehida nastalog zbog lipidne peroksidacije u mesu. Vitamin E i selen imaju sinergističko djelovanje.

Vitamin C reducira tokoferilne radikale koji nastaju uklanjanjem reaktivnih kisikovih čestica, te tako regenerira vitamin E u aktivni oblik. Dodatak vitamina C poboljšava stabilnost lipida mesa pohranjenog na 4°C na 5 dana (Skřivan i sur. 2012).

Magnezij djeluje kao kofaktor ili aktivator velikog broja enzima u kojima sudjeluje ATP koji opskrbljuju energijom sve važne metaboličke puteve. Kao dodatak prehrani daje se u obliku vezanom za protein ili u oksidnom obliku.

Dodavanjem magnezija u obliku vezanom za protein dolazi do većeg smanjenja formacije nastalih produkata oksidacije lipida i povećanja pH vrijednosti nego kod oksidnog oblika.
Također dolazi do povećanja aktivnosti jetrenih enzima katalaze i superoksid dismutaze.
Vitamin E ne djeluje sinergistički sa magnezijem (Guo i sur., 2003).

α-tokoferol acetat sinergistički djeluje sa α-lipoičnom kiselinom. Životinje koje se dobivaju ova dva spoja kao suplemente dugoročno imaju manju razinu oštećenja oksidacijskim stresom zbog njihovog odlaganja u tkiva. Nakon klanja meso dobiveno od tih životinja ima veću antioksidativnu vrijednost, te ima pozitivan utjecat na zdravlje ljudi koji ga konzumiraju (Yasin i sur., 2012).

α-tokoferol acetat povećava aktivnost superoksid dismutaze i glutation peroksidaze.
Cink u organskom obliku metionin-cinka sinergistički djeluje sa α-tokoferol acetatom kada se daje kao suplement životinjama. Rezultat zajedničkog djelovanja ova dva spoja je smanjena razina stvaranja malondialdehida, te samim time povećana oksidativna stabilnost mesa. Također je utvrđeno da ova kombinacija poboljšava imunosni odgovor, bez da promjene u sastavu masnih kiselina (Kakhki i sur., 2016).

Oksidacijska stabilnost mesa može se poboljšati i uvođenjem jednostruko nezasićenih masnih kiselina (MFA) u prehranu umjesto zasićenih masnih kiselina (SFA).
Ovaj efekt je ograničen i slabi sa povećanjem razine vitamina E u ishrani (Hsieh i sur., 2002).

U ishranu životinja također se mogu dodati drugi prirodni ili sintetički spojevi, kao što su kompleks željezo-glicin, sintetički izoflavonoidi, katehini iz čaja i konjugirana linoleinska kiselina.

Kompleks željezo-glicin kao suplement u prehrani povećava aktivnost antioksidativnih enzima. Također potiče kokoši da jedu više, te tako brže dobivaju na težini, te djeluje pozitivno na imunološki sustav. Ovaj kompleks pokazao se puno korisnijim od tradicionalnog korištenog željezovog sulfata kao izvora željeza u ishrani životinja (Sun i sur., 2015).

Sintetički izoflavonoidi kao dodatak prehrani povećavaju kvalitetu mesa i produljuju rok njegov rok trajanja tako što smanjuju lipidnu peroksidaciju, te potiču aktivnost i gensku ekspresiju antioksidativnih enzima. Meso životinja koje su hranjene uz dodatak sintetičkih izoflavonoida imale su nižu koncentraciju mliječne kiseline i malondialdehida, i povećanu aktivnost superoksid dismutaze. Do najvećeg povećanja aktivnosti došlo je kod životinja hranjenih sa 40-80 mg/kg izoflavonoida (Jiang i sur., 2014).

Katehini iz čaja kao prirodni suplementi u usporedbi sa dodatkom α-tokoferol acetata više smanjuju razine formacije nastalih produkata oksidacije lipida u zabatcima, dok je α-tokoferol acetat efektivniji u zaštiti od oksidacijskog stresa u prsnom mišićju (Tang i sur., 2000).

Konjugirana linoleinska kiselina je naziv za skup geometrijskih izomera linoleinske kiseline (C18:2 ω6). Konjugacija dvostrukih veza je na pozicijama 9 i 11, ili 10 i 12, te može biti *cis* ili *trans*. Ima antikancerogena i hipokolesterolemična svojstva, štiti organizam od ateroskleroze, i stimulira imunološki sustav.

Konjugirana linoleinska kiselina u kombinaciji sa kanola uljem kao dodatak prehrani poboljšava oksidativnu stabilnost mesa koje se zamrzava ili drži pri niskim temperaturama. Sinergističko djelovanje rezultira produljenim rokom trajanja mesa i očuvanjem njegove kvalitete (Zanini i sur., 2006).

2.6. Oksidacija proteina i lipida u mesu i mesnim proizvodima

Oštećenja lipida oksidativnim stresom događaju se i prilikom rukovanja, procesiranja, pohrane i pripremanja mesa termičkom obradom. Tijekom tih radnji željezo se oslobađa iz hemoglobina, mioglobina, feritrina i hemosiderina. To željezo se zatim veže sa aminokiselinama, nukleotidima i fosfatima, tvoreći pri tome kelate. Kelati kataliziraju lipidnu oksidaciju u tkivima, te tako smanjuju kvalitetu mesa. Zbog prekida cirkulacije dolazi do prelaska na anaerobni metabolizam, pri čemu nastaje mliječna kiselina, te se smanjuje pH na oko 5.5.

Također se iz sarkoplazmatskog retikuluma oslobađa kalcij, zbog čega se aktiviraju proteaze ovisne o kalciju koje degradiraju mišićne proteine (Morrissey i sur., 1998).

Kvaliteta mesa i njegova oksidacijska stabilnost može se poboljšati i posebnom obradom nakon klanja životinje.

Ulje sa n-3 višestruko nezasićenim kiselinama i antioksidacijskom kombinacijom aplicirano na meso efektivno minimalizira lipidnu oksidaciju, bez promjena u sastavu masnih kiselina.

Antioksidativna kombinacija sastoji se od gasitelja radikala u obliku ekstrakta ružmarina, stabilizatora u obliku natrijevog citrata i reducensa u obliku natrijavog eritorbata (Lee i sur., 2006).

Inkapsulirani fosfati inhibiraju oksidaciju lipida u mesu peradi. Natrijev tripolifosfat i natrijev pirofosfat štite meso od oksidacije i prije i poslije termičke obrade, zbog čega imaju veliku važnost u industriji mesa koje se prodaje skuhano.
Njihovom primjenom produljuje se rok trajanja mesa (Kılıç i sur., 2014).

Dodavanje probiotika u prehranu ima značajan inhibitorni efekt na lipidnu oksidaciju mesa. U kombinaciji sa brzim zaleđivanjem na -70°C dolazi do prevencije primarne i sekundarne lipidne oksidacije, čime se minimalizira smanjenje oksidativne stabilnosti (Kim i sur., 2016).

2.7. Slobodni uzgoj

Držanje peradi u sustavu slobodnog uzgoja jedan je od najzastupljenijih alternativnih načina držanja peradi u svijetu. Takav način omogućuje uzgoj koji je u najvećoj mjeri u skladu s dobrobiti i zdravljem životinja. Dobrobiti po definiciji predstavlja stanje u kojem se svaka jedinka pokušava nositi sa svojim okolišem (Broom, 2001).

Životinje u slobodnom sustavu držanja imaju veću mišićnu masu i smanjen udio masti zbog mogućnosti slobodnog kretanja i povećane fizičke aktivnosti. Zbog povećane fizičke aktivnosti proizvodi se više slobodnih radikala, te zato dolazi do peroksidativnih procesa (Castellini i sur., 2001).

Kokoš Hrvatica je zbog velike otpornosti prilagođena slobodnom uzgoju (Janječić, 2007). Trupovi pilića kokoši Hrvatica iz slobodnog uzgoja imaju veći udio prsa u odnosu na piliće iz konvencionalnog uzgoja, dok se u drugim djelovima ne razlikuju. Također je utvrđena manja količina vode, više proteina, te manje masti i pepela (Senčić i sur., 2013)

Ranije je utvrđeno da meso peradi uzgojene slobodnim načinom ima bolju kvalitetu mesa. Slobodnim kretanjem na zraku mišići se bolje razvijaju i ne sadrže toliko masti, što rezultira većim udjelom mišićnog tkiva u odnosu na masno tkivo. Meso peradi koja se hrani putem prirodne ispaše sadrži 300 do 500 % više konjugiranih linolnih kiselina u odnosu na perad koja se hrani smjesama u zatvorenom prostoru. Izloženost danjem svjetlu umanjuje potrebe za dodacima vitamina A i D, koji spadaju u antioksidanse, a važni su jer neutraliziraju slobodne radikale koji ubrzavaju starenje i propadanje mesa.

3. ZAKLJUČAK

Kokoš Hrvatica je izrazito otporna pasmina, prilagođena slobodnom sustavu držanja, koji omogućuje slobodni uzgoj koji je u najvećoj mjeri u skladu s dobrobiti i zdravljem životinja. Životinje u slobodnom sustavu držanja imaju veću mišićnu masu i smanjen udio masti zbog mogućnosti slobodnog kretanja i povećane fizičke aktivnosti. Zbog povećane fizičke aktivnosti proizvodi se više slobodnih radikala, te zato dolazi do oksidacije lipida i proteina.

Oksidacija lipida i proteina rezultira gubitkom okusa, sastava, čvrstoće, izgleda i hranjive vrijednosti mesa. Dodavanjem antioksidativnih suplemenata prehrani moguće je poboljšati oksidacijsku stabilnost lipida i proteina u mišićnom tkivu.

Kombinacijom slobodnog uzgoja i dodavanjem antioksidativnih suplemenata prehrani kako može se dobiti izuzetno kvalitetno meso.

4. LITERATURA

Bailly C., Benamar A., Corbineau F., Come D. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathion reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum*, 97:104-110

Broom, D. M. (2001): Coping, stress and welfare. In: Coping with challenge: welfare in animals including humans. (Broom, D. M., ed.). Dahlem University Press. Berlin. pp. 1-9.

Castellini C., Mugnai C., Dal Bosco A. 2001. Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. *Meat Science*, 60:219-225

Cortinas L., Barroeta A., Villaverde C., Galobart J., Guadiola F., Baucells M. D. 2005. Influence of the Dietary Polyunsaturation Level on Chicken Meat Quality: Lipid Oxidation. *Poultry Science*, 84:487-455

Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R. 2003. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta,* 329:23-38

Đukić, M. 2008. Reaktivne hemijske vrste i oksidativni stres. Oksidativni stres-slobodni radikali, prooksidansi i antioksidansi. Mono i Manjana, Beograd, 3-23

Fellenberg M.A., Speisky H. 2006. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. *World's Poultry Science Journal*, 62:53-70

Galović D., Pavić, V., Janječić Z., Margeta V., Radišić Ž. 2014. Oksidacija masti u pilećem mesu. Zbornik radova 49. hrvatskog i 9. međunarodnog simpozij agronoma, 561-565

Guo Y., Zhang G., Yuan J., Nie W. 2003. Effects of source and level of magnesium and Vitamin E on prevention of hepatic peroxidation and oxidative deterioration of broiler meat. *Animal Feed Science and Technology*, 107:143-150

Högberg, A., Pickova, J., Stern, S., Ludström, K., Bylund, A.-C., 2004. Fatty acid composition and tocopherol concentracions in muscle of entire male, castrated male, and female pigs, reared in an indoor and outdoor housing system. *Meat Science*, 68, 659-665

Hsieh H.F., Chiang S.H., Lu M.Y. 2002. Effect of dietary monounsaturated/saturated fatty acid ratio on fatty acid composition and oxidative stability of tissues in broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 95:189-204

Janječić Z. 2007. *Meso*, Vol. IX studeni - prosinac br. 6

Janječić, Z., Mužic, S., Herak-Perković V. 2007. Proizvodnost kokoši Hrvatica. *Praxis veterinaria*, 3:117-124

Jiang S.Q., Jiang Z.Y., Zhou G.L., Lin Y.C., Zheng C.T. 2014. Effects of Dietary Isoflavone Supplementation on Meat Quality and Oxidative Stability During Storage in Lingnan Yellow Broilers. *Journal of Integrative Agriculture*, 132:387-393

Kakhki R.A.M., Bahkshalinejad R., Shafiee M. 2016. Effect of dietary zinc and α-tocopheryl acetate on broiler performance, immune responses, antioxidant enzyme activities, minerals and vitamin concentration in blood and tissues of broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 221:12-26

Kılıç B., Şimşek A., Claus, J.R., Atılgan, E. 2014. Encapsulated phosphates reduce lipid oxidation in both ground chicken and ground beef during raw and cooked meat storage with some influence on color, pH, and cooking loss. *Meat Science*, 97:93-103

Kim H.W., Miller D.K., Yan F., Wang W., Cheng H.W., Kim Y.H.B. 2016. Probiotic supplementation and fast freezing to improve quality attributes and oxidation stability of frozen chicken breast muscle. *LWT - Food Science and Technology*, 75:34-41

Lee S., Faustman C., Djordjevic D., Faraji H., Decker E.A. 2006. Effect of antioxidants on stabilization of meat products fortified with *n*-3 fatty acids. *Meat Science*, 72:18-24

Morrissey P.A., Sheehy P.J.A., Galvin K., Kerry J.P., Buckley D.J. 1998. Lipid Stability in Meat and Meat Products. *Meat Science,* 49:73-86

Realini C.E., Duckett S.K., Brito G.W., Dalla Rizza M., De Mattos D. 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science,* 66:567-677

Realini C.E., Duckett S.K., Windham W.R. 2004. Effect of vitamin C addition to ground beef from grass-fed or grain-fed sources on color and lipid stability, and prediction of fatty acid composition by near-infrared reflectance analysis. *Meat Science,* 68:35-43

Ruiz J.A., Guerrero L., Arnau J., Guardia M.D., Esteve-Garcia E. 2001. Descriptive sensory analysis of meat from broilers fed diets containing vitamin E or beta-carotene as antioxidants and different supplemental fats. *Poultry Science,* 80:976-982

Senčić Đ., Samac D., Kalić G., Baban M. 2013. Kvaliteta trupova i mesa pilića kokoši pasmine hrvatica iz ekološkoga tova. *Meso,* 5, 372-375

Skřivan M., Marounek M., Englmaierová M., Skřivanová E. 2012. Influence of dietary vitamin C and selenium, alone and in combination, on the composition and oxidative stability of meat of broilers. *Food Chemistry,* 130:660-664

Sun J., Liu D., Shi R. 2015. Supplemental dietary iron glycine modifies growth, immune function, and antioxidant enzyme activities in broiler chickens. *Livestock Science,* 176:129-134

Stevanović, J., Borozan, S., Jović, S., Ignjatović, I. 2011. Antioksidativna odbrana. *Veterinarski glasnik,* 65 (3-4) 247-256

Štefan L., Tepšić T., Zavidić T., Urukalo M., Tota D., Domitrović R. 2007. Lipidna peroksidacija – uzroci i posljedice. *Medicina,* 43:84-93

Tang S.Z., Kerry J.P., Sheehan D., Buckley D.J., Morrisey P.A. 2000. Dietary tea catechins and iron-induced lipid oxidation in chicken meat, liver and heart. *Meat Science,* 56:285-290

Yasin M., Asghar A., Anjum F.M., Butt M.S., Khan M.I., Arshad M.S., Shahid M., El-Ghorab A.H., Shibamoto T. 2012. Oxidative stability enhancement of broiler bird meats with a-lipoic acid and α-tocopherol acetate supplemented feed. *Food Chemistry*, 131:768-773

Zanini S.F., Colnago G.L., Bastos M.R., Pessotti B.M.S., Casagrande F.P., Lima V.R. 2006. Oxidative stability and total lipids on thigh and breast meat of broilers fed diets with two fat sources and supplemented with conjugated linoleic acid. *LWT - Food Science and Technology*, 39:717-723