

VSEBNOST SKATOLA V MAŠČOBNEM TKIVU MERJASCEV DOLOČENA S SPEKTROFOTOMETRIČNO METODO¹

Marjeta ŽEMVA², Mojca KOMAN-RAJŠP³, Milena KOVAČ³, Špela MALOVRH³

Delo je prispelo 09. maja 2012, sprejeto 10. junija 2012.
Received May 09, 2012; accepted June 10, 2012.

Vsebnost skatola v maščobnem tkivu merjascev določena s spektrofotometrično metodo

Zaradi težnje po prepovedi kirurške kastracije merjascev, se razmišlja o alternativah, ki vključujejo tudi pitanje merjascev za prirajo mesa. Problem pri porabi merjaščevega mesa predstavlja predvsem neprijeten vonj, za katerega je v veliki meri odgovoren skatol (3-metilindol). V raziskavi smo vpeljali spektrofotometrično metodo za določanje vsebnosti skatola v maščobnem tkivu. Zbrali smo vzorce petih genotipov merjascev iz petih različnih rej, starih med 101 in 310 dni. Ob vpeljavi metode smo analizirali prvo skupino, kasneje dobljene vzorce pa kot drugo skupino. Vpeljana metoda je ponovljiva (koeficient variabilnosti, KV = 13,6), obnovljiva (KV = 21,3) in ima dober izkoristek (96 %). Vsebnost skatola v hrbtnem maščobnem tkivu merjascev pri prvi skupini je bila med 0,01 in 0,62 ppm, v povprečju 0,23 ppm. Druga skupina pa je v povprečju vsebovala 0,71 ppm skatola (med 0,07 in 1,26 ppm). Vpliva genotipa, rejca in starosti na vsebnost skatola nismo zaznali.

Ključne besede: prašiči / merjasci / hrbtno maščobno tkivo / skatol / spektrofotometrična metoda

1 UVOD

Zaradi vedno večjega nagibanja h prepovedi kirurške kastracije merjascev v EU iščemo alternative, med katerimi je tudi pitanje mladih merjascev za prirajo mesa. Tako bi se izognili kastriranju živali, ki je iz etološkega vidika neželjeno. Znano je, da merjasci hitreje rastejo, bolje izkoriščajo krmo in imajo boljše mesnatost kot kastrati (Bonneau, 1998). Najpomembnejšo omejitev za uporabo

Skatole content, determined with spectrophotometric method in fat tissue of boars of different age and three genotypes

Due to tendency for banning surgical castration of boars, alternatives such as fattening of boars for human consumption are being considered. Primary problem in boar's meat consumption is boar's taint, which is to a large extent the result of skatole (3-methyl indole) content. Spectrophotometric method for determination of skatole in fat tissue was introduced. Samples from three genotypes of boars from five different breedings, aged between 101 and 310 days were collected. When introducing the method, the first group of samples was analyzed, the samples that were obtained later represented a second group. Introduced method is repeatable (coefficient of variability, CV = 13.6), reproducible (CV = 21.3) and has good recovery (96%). Skatole content in boar's back fat in first group was between 0.01 to 0.62 ppm, on average 0.23 ppm. The second group contained on average 0.71 ppm skatol (between 0.07 and 1.26 ppm). Effect of genotype, breeder and age on skatole content was not found.

Keywords: pigs / boars / back fat / skatole / spectrophotometric method

merjaščevega mesa predstavlja spolni vonj. Kot glavna povzročitelja se običajno navajata androstenon in skatol. Že Mortensen in Sørensen (1984) diskutirata o močnejši povezavi vonja merjascev s skatolom kot androstenonom. Hansen-Møller in Andersen (1994) sta ugotovila, da vsebnost skatola razloži 58 % sprememb v vonju in okusu, ta naraste na 66 % če upoštevamo interakcijo z androstanonom, medtem ko samo androstenon razloži le 24 % sprememb.

¹ Prispevek je del doktorske disertacije Marjete Žemva »Kakovost mesa in maščobnega tkiva slovenskih lokalnih genotipov prašičev«, mentorica prof. dr. Milena Kovač / This article is a part of the doctoral dissertation »Meat and fat quality of Slovenian local pig genotypes«, issued by Marjeta Žemva, supervisor Prof. Milena Kovač, Ph.D.

² Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, SI-1230 Domžale, Slovenija, e-mail: marjeta.zemva@bf.uni-lj.si

³ isti naslov kot 2

Skatol je razgradnji produkt aminokislina triptofana (slika 1), ki nastane z delovanjem bakterij v debelem črevesu merjascev in se preko krvi prenese v jetra, kjer se presnavlja. Presnovki skatola se izločijo z urinom, skatol pa se nalaga v maščobnem tkivu. Večja količina naloženega skatola, nad 0,20–0,25 ppm (Godt in sod., 1996; Bonneau, 1998), predstavlja neprijeten vonj mesa oziroma maščobe, ki ga imenujemo spolni vonj merjascev. Glede na opisano pot je prisotnost skatola možno določiti v vsebini debelega črevesa (Agergaard in Jensen, 1993), v krvni plazmi (Baek in sod., 1997), jetrih (Babol in sod., 1997), urinu (Baek in sod., 1997) in maščobi (Mortensen in Sørensen, 1984). Mesni izdelki imajo lahko neprijeten vonj zaradi skatola prisotnega v maščobi.

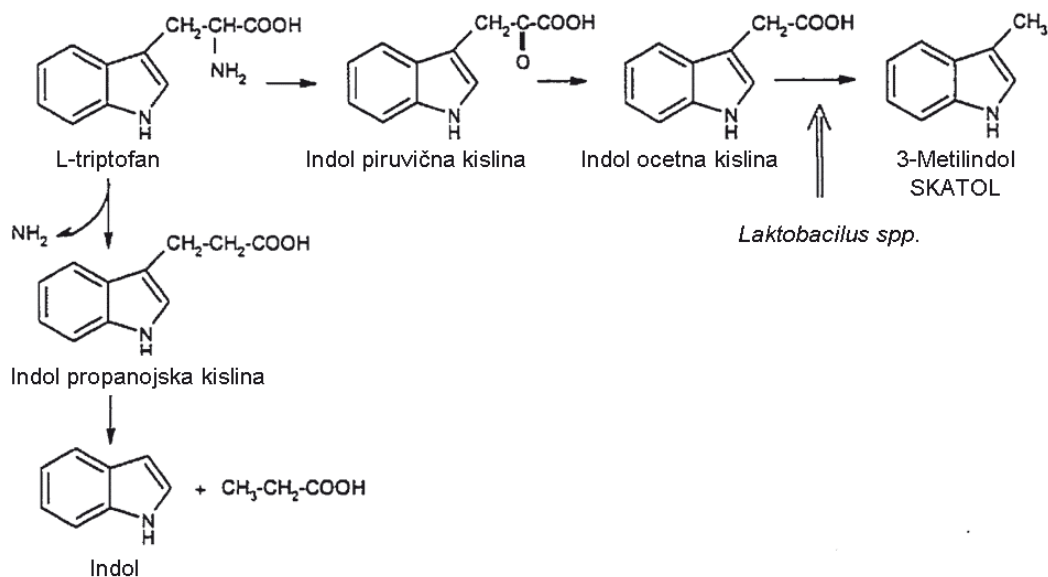
Za določanje vsebnosti skatola v maščobi obstaja več metod, ki jih v splošnem lahko razdelimo na metode, izvedljive na liniji klanja in na laboratorijske metode. Preproste organoleptične metode se izvajajo na liniji klanja (Lawrie, 1998), vendar so subjektivne in s tem manj ponovljive. Zanesljivejša metoda, prav tako izvedljiva pri samem klanju, je elektronski nos (Haugen in Kvaal, 1998), ki pomeni veliko začetno investicijo. Laboratorijske metode zajemajo hitre spektrofotometrične metode na osnovi barvne reakcije (Mortensen in Sørensen, 1984; Hansen-Møller in Andersen, 1994) in kromatografske metode, kjer sta razviti metodi s plinsko (Peleran in Borries, 1985) in visokotlačno tekočinsko kromatografijo (Dehnhard in sod., 1993; Hansen-Møller, 1994; García-Regueiro in Ruis, 1998). Pri kromatografskih metodah pride do časovnega zamika analiz, tako so za razpore-

janje trupov na liniji klanja neuporabne, poleg tega tudi predstavljajo precejšen strošek. Ker obstajajo močne korelacije med meritvami s kromatografskimi metodami in spektrofotometrično metodo (Hansen-Møller in Andersen, 1994; Bonneau in sod., 2000; Chen in sod., 2007), je bila slednja za nas zanimivejša, saj je cenovno ugodnejša in hitreje izvedljiva.

Spektrofotometrična metoda (Mortensen in Sørensen, 1984; Hansen-Møller in Andersen, 1994) se pogosto uporablja za določanje vsebnosti skatola v maščobi. Ta metoda je relativno hitra in poceni, vendar na dan lahko analiziramo le manjše število vzorcev. Največja pomanjkljivost te metode je, da ni specifična. Z njo določamo t.i. "skatol ekvivalente", saj poleg skatola z barvnim reagentom reagirajo še druge spojine (Wirrer, 1993). Med temi določimo tudi nekaj indola, ki je prav tako razgradnji produkt aminokislina triptofana (slika 1).

Prag zaznavanja, ob katerem večina porabnikov že zazna neprijeten vonj maščobe merjascev, je določen med 0,20 in 0,25 ppm (Godt in sod., 1996; Bonneau, 1998), merjeno po danski spektrofotometrični metodi (Mortensen in Sørensen, 1984; Hansen-Møller in Andersen, 1994). Odstotek merjascev, ki presežejo neželeno mejo vsebnosti skatola pri tržni masi, se razlikuje med državami (Babol in Squires, 1995) in se giblje med 5 in 20 %. Problem največje vsebnosti skatola v plazmi merjascev, ki je korelirana z vsebnostjo v maščobi, so Babol in sod. (2004) ugotovili med 200 in 300 dni starosti.

Vsebnost skatola se v maščobi merjascev spreminja zaradi več dejavnikov, kjer Jensen (2006) omenja sestavo



Slika 1: Razgradnja aminokislina triptofana na skatol in indol (Diaz, 2000)

Figure 1: Decomposition of amino acid tryptophan into skatole and indole (Diaz, 2000)

Preglednica 1: Število vzorcev hrbtne maščobe merjascev po rejcih

Table 1: Back fat samples number of boars by breeders

Rejec	Genotip	11	22	44	54	55
A		22	9			
B			3			
C				15		
D					14	13
E				5	9	2

krme, strategijo krmljenja, vnos krme, okoljske faktorje, starost merjascev (puberteta) in genetski vpliv. Vsebnost skatola v maščobnem tkivu je odvisna od njegove razgradnje, ki jo zavira tudi androstenon (Doran in sod., 2002).

Cilj našega dela je bil vpeljati spektrofotometrično metodo za določanje vsebnosti skatola v maščobnem tkivu po Mortensen in Sørensen (1984) ter Hansen-Møller in Andersen (1994) in opraviti analize skatola dobljenih vzorcev hrbtne maščobe merjascev.

2 MATERIAL IN METODE DELA

2.1 ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV

Vzorci maščobe merjascev smo pridobili iz preizkusa na proizvodne lastnosti. Vzorca so bili od petih genotipov merjascev: slovenska landrace – linija 11 (11), slovenski veliki beli prašič (22), pietrain (44), slovenska landrace – linija 55 (55) in hibrid 54. Merjasci so bili rejeni na petih vzrejnih središčih nukleus po Sloveniji (pregl. 1). En genotip je pridobljen od največ dveh rejcev. Test je standardiziran, vsi so rejeni na rešetkah, krma

je predpisana. Krmljenje je bilo po volji. Merjasci so bili stehntani ob odbiri, tako natančne mase ob zakolu nismo mogli pridobiti. Ob izločitvi je bil zabeležen datum zakola in odvzeta vzorca maščobe in mišičnine. Povprečna starost merjascev vseh dobljenih vzorcev je bila 209 dni. Po predpisanem protokolu so bili vzorca hrbtne maščobe in mišice vzeti za zadnjim rebrom. Takoj po odvzemu so jih zapakirali vsakega v svojo v polietilensko vrečko in jih dali v skupno vrečko, h katerim je bila dodana tudi oznaka vzorca. V najkrajšem možnem času so vzorce vrnili kmetu, kjer so jih prenesli v zamrzovalno skrinjo na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorca so bili prevzeti na dan preizkusa in še zamrznjeni pripeljani v zamrzovalno komoro na Biotehniški fakulteti, kjer smo jih hranili do homogenizacije in analiz za skatol.

Iz dobljenih vzorcev smo oblikovali dve skupini. Najprej dobljenih 20 vzorcev merjascev treh genotipov (11, 44 in 54) smo vključili v prvo skupino. Analize smo opravili ob vpeljavi metode. Živali so bile stare med 114 in 298 dnevi (pregl. 2), kjer so bili merjasci genotipa 11 v povprečju 20 dni starejši od ostalih dveh genotipov.

Drugo skupino vzorcev smo pridobivali skozi naslednje leto in jih skladiščili do analiz, ki smo jih opravili sproti – v roku treh mesecev. Ta je zajemala 72 vzorcev vseh petih skupin merjascev (11, 22, 44, 55 in 54). Merjasci v tej skupini so bili iz dveh rej in so bili stari 101 in 310 dni (pregl. 2). V povprečju so bile najstarejše živali skupine 11 in 55. Te so bile 23 dni starejše od skupine 54. Merjasci v tej skupini so bili 17 dni mlajši kot v prvi skupini. Ker smo te vzorce dobili v določenem časovnem obdobju in so predstavljali uravnotežen vzorec v številu merjascev po genotipih, smo jih obdelali ločeno od prve skupine.

Pred homogenizacijo vzorca maščobe smo odstranili mišično tkivo, prisotno kri in druge nečistoče. Vzorce smo nato zamrznili s tekočim dušikom (N_2 , $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Preglednica 2: Opisna statistika za starost merjascev (dni) po genotipih

Table 2: Descriptive statistics for boars age (days) by genotypes

	Genotip	Povprečje	St. odklon	Minimum	Maksimum
Prva skupina	11	234	47	182	278
	44	215	15	208	241
	54	213	54	114	298
	Skupaj	222	44	114	298
Druga skupina	11	213	21	170	248
	22	208	26	161	248
	44	202	37	148	310
	55	213	24	184	278
	54	190	51	101	262
	Skupaj	205	34	101	310

in homogenizirali 10 s na 6000 obratov (Grindomix GM200, Retsch). Tako pripravljene vzorce smo do analize hranili pri -20°C .

2.2 UPORABLJENE KEMIKALIJE IN REAGENTI

Od proizvajalca Merc smo pridobili kemikalije: Tris-(hidroksimetil)-aminometan; žvepova (VI) kislina, 98 %; klorovodikova kislina, 37 %; Brij 35; aceton, Lichrosolv in 3-metilindol (skatol). Od Riedel de Haen pa: natrijev sulfat (IV); 4-dimetilaminobenzaldehid in absolutni etanol.

Pri vsakem sklopu analiz smo sproti pripravili reagente: Tris pufer, pH 7,5; 0,1 M natrijev sulfat (IV); raztopina barvnega reagenta (8 g DMAB v 480 ml abs. etanola + 320 ml 75 % H_2SO_4); 75 % žvepova (VI) kislina; standardne raztopine skatola (0,2 ppm, 0,15 ppm, 0,10 ppm, 0,05 ppm). Vse reagente smo do uporabe hranili v hladilniku.

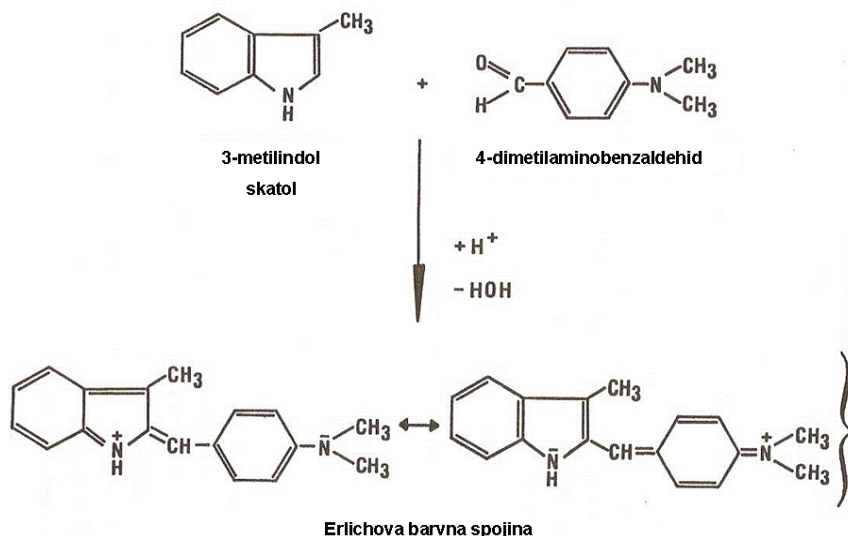
2.3 SPEKTROFOTOMETRIČNA DOLOČITEV VSEBNOSTI SKATOLA

Zatehtali smo 5 g vzorca maščobe in jo utekočinili v mikrovalovni pečici (600 W, 90 s). Pripravili in dodali smo Tris-aceton/HCl pufer in še dodatno homogenizirali z ultraturaksom. Zmes smo ohladili na $+4^{\circ}\text{C}$ in jo filtrirali skozi naguban filtrirni papir. Če določitev nismo

nadaljevali takoj, smo filtrate shranili na -18°C največ do 3 dni.

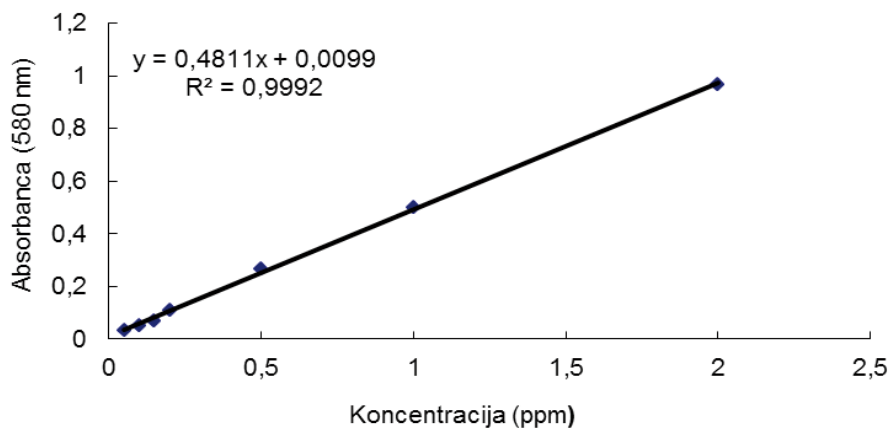
K filtratu smo dodali raztopino barvnega reagenta (DMAB – 3-metilamonibenzaldehid) (0,7 : 1, v/v). Med skatolom in 3-metilaminobenzaldehidom je potekla reakcija (slika 2). Raztopino smo nato prelili v 4 cm kiveto in točno 3 min po dodatku barvnega reagenta izmerili absorbanco pri valovni dolžini 580 nm (Cary 50, Varian). Koncentracijo skatola v raztopini smo odčitali iz umeritvene krivulje (slika 3), pripravljene s standardnimi raztopinami. Umeritveno krivuljo smo pripravili za vsako serijo vzorcev oz. meritev. Upoštevali smo tudi absorbanco slepega vzorca. Absorpcijski maksimum smo preverili s snemanjem absorpcijskega spektra različnih standardov in slepe probe v območju 400 nm–800 nm. Vse analize smo izvedli v dveh paralelkah. Naš podatek je povprečje obeh določitvev, preračunan na μg skatola / g maščobnega tkiva (ppm).

Določili smo natančnost metode (ang. precision), ki zajema ponovljivost (ang. repeatability) in obnovljivost (ang. reproducibility) določenega vzorca (ISO 5725/DIF 4). V analitskem postopku smo uporabili vzorec hrbtno maščobe enega merjasca. Ponovljivost pomeni analizo ene osebe, v enem laboratoriju in na istem aparatu v relativno kratkem času. Obnovljivost zajema merjenje v različnih dneh in vključuje opravljanje meritev različnih operaterjev ali različnih instrumentov ali oboje hkrati. Izkoristek (ang. recovery) metode je bil določen z dodajanjem različnih količin standardnega dodatka k vzorcu maščobe. Dodani sta bili koncentraciji 1 ppm in 2 ppm.



Slika 2: Potek reakcije med skatolom in barvnim reagentom (Wirrer, 1993)

Figure 2: The reaction between skatole and colour agent (Wirrer, 1993)



Slika 3: Primer umeritvene krivulje
Figure 3: Example of calibration line

Analizo smo ponovili 18 krat za dodatek 1 ppm in 18 krat za 2 ppm. Meritve obsegajo razpon od spodnje analitske meje do zgornje, ki naj bi bil čim bližje 100 %.

V laboratoriju dobljene podatke smo statistično obdelali z modelom (1). Kot kvalitativna vpliva smo vključili genotip (G_i) in rejca, ugnezenega znotraj genotipa (R_{ij}). Starost ob zakolu (x_{ij}) smo vključili kot kvantitativni vpliv. Povezavo med vsebnostjo skatola in starostjo merjascev smo opisali z linearno regresijo:

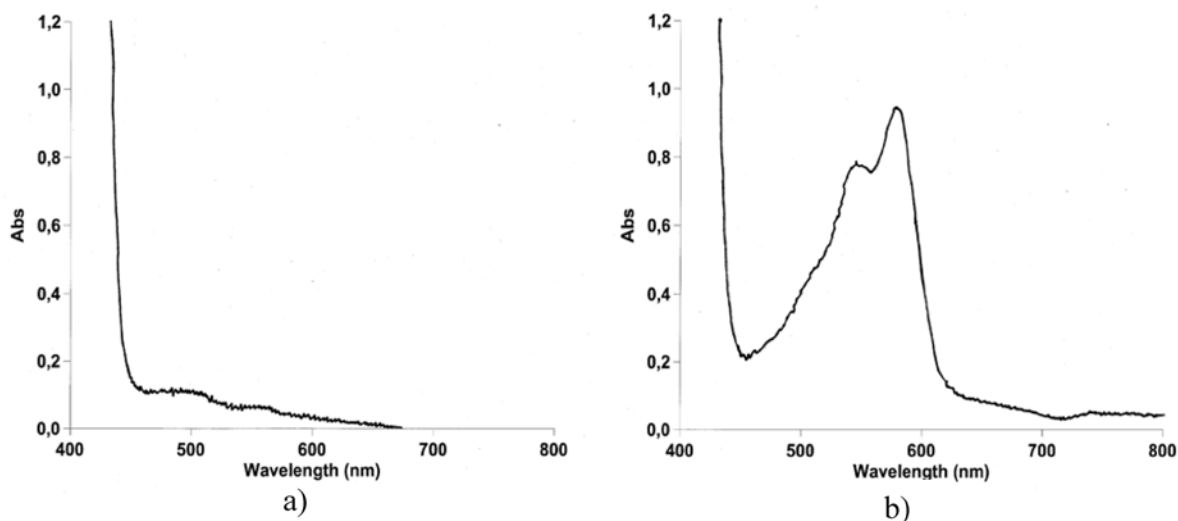
$$y_{ijk} = \mu + G_i + R_{ij} + b(x_{ijk} - \bar{x}) + e_{ijk} \quad (1)$$

Obdelavo smo opravili po metodi najmanjših kvadratov. Uporabili smo proceduro GLM za splošne linear-

ne modele v statističnem paketu SAS/STAT (SAS, 2008). Razlike za vpliv genotipa smo testirali s multiplim testom po Tukeyu.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Poleg vzorcev je bil vedno laboratorijsko analiziran tudi t. i. »slepi vzorec«. Znano je, da nečistoče v reagentih reagirajo z barvnim reagentom (Wirrer, 1993), zato je bila pred vsako analizo preverjena kakovost uporabljenih kemikalij, predvsem acetona. Pri našem delu ni bilo znanih omenjenih interferenc, kar prikazuje posneti absorpcijski spekter slepega vzorca (slika 4a).



Slika 4: Absorpcijskih spekter a) slepega vzorca in b) standarda 2 ppm
Figure 4: Absorption spectrum of a) blind trial and a) standard 2 ppm

Preglednica 3: Rezultati ovrednotenja metode za določanje vsebnosti skatola**Table 3:** Results of validation method for skatole content analysis

	Št. analiz	$\bar{x} \pm SD$	Min	Maks	KV
Ponovljivost	8	0,27 ± 0,04	0,22	0,29	13,6
Obnovljivost	26	0,28 ± 0,06	0,21	0,33	21,3
Izkoristek (%)	36	96	87	105	

KV – koeficient variabilnosti

Absorpcijski maksimum je bil določen s snemanjem spektra v območju 400 nm–800 nm različnih standardov. Iz absorpcijskega spektra standarda 2 ppm (slika 4b) je razvidno, da je absorpcijski maksimum pri valovni dolžini 580 nm. Izmerjeni absorpcijski maksimum se ujema z navedbami v literaturi (Mortensen in Sørensen, 1984; Hansen-Møller in Andersen, 1994). Vse meritve so bile izvedene pri tej valovni dolžini. Koncentracija skatola v vzorcih je bila določena s pomočjo omenjene umeritvene krivulje, ki je bila pripravljena z navedenimi standardi (poglavje 2.2) pri vsaki seriji meritev posebej.

3.2 OVREDNOTENJE ANALITSKE METODE

Natančnost metode smo ovrednotili s ponovljivostjo (znotraj dneva, $n = 8$) in obnovljivostjo (med dnevi, $n = 26$) metode (pregl. 3). Pri ponovljivosti metode je bila povprečna vsebnost skatola 0,27 ppm bil standardni odklon 0,04 ppm in koeficient variabilnosti 13,6 %. Pri obnovljivosti je povprečna vsebnost skatola 0,28 ppm ± 0,06 ppm s koeficientom variabilnosti 21,3 %. Povprečni izkoristek metode je bil 96 % in je znotraj sprejemljivih mej (minimum 87 %, maksimum 105 %).

Preglednica 4: Vsebnost skatola (ppm) po genotipih v obeh skupinah**Table 4:** Skatole content (ppm) by genotypes at both groups

	Genotip	Št. analiz	Povprečje	St. odklon	Minimum	Maksimum
Prva skupina	11	7	0,26	0,18	0,01	0,53
	44	5	0,12	0,11	0,03	0,31
	54	8	0,25	0,19	0,05	0,62
	Skupaj	20	0,23	0,17	0,01	0,62
Druga skupina	11	15	0,83	0,31	0,21	1,26
	22	12	0,76	0,26	0,44	1,22
	44	15	0,59	0,24	0,07	1,07
	55	15	0,70	0,20	0,34	1,04
	54	15	0,67	0,33	0,07	1,10
	Skupaj	72	0,71	0,27	0,07	1,26

3.3 VSEBNOST SKATOLA GLEDE NA GENOTIP MERJASCEV

Maščoba merjascev iz prve skupine je vsebovala povprečno 0,23 ppm skatola (pregl. 4), kar je na meji že zaznanega vonja po merjascu. V tej skupini je imelo 12 vzorcev vsebnost skatola pod mejno vrednostjo (0,25 ppm), ostalih 8 vzorcev pa nad to mejo. Vzorca maščobe iz druge skupine so vsebovali precej večjo vsebnost skatola kot v prvi skupini (pregl. 4). V tej skupini je bilo skupaj v analizo vključenih 72 vzorcev petih genotipov merjascev (11, 22, 44, 55 in 54). Vsak genotip merjascev je bil zastopan s 15 vzorci, razen pasma 22 z 12 vzorci. Povprečna vsebnost skatola pri drugi skupini je precej preseгла mejno vrednost za vonj po merjascu (0,25 ppm). Pri skupinah 22 in 55 sta celo minimalni vsebnosti skatola (0,44 ppm in 0,34 ppm) presegle mejno vrednost. Najnižjo povprečno vsebnost skatola je podobno kot pri prvi skupini imela pasma 44 (0,59 ppm). Sledila je skupina 54 z 0,67 ppm skatola v maščobi.

Pasma slovenska landrace – linija 11 in hibrid 54 sta bila v prvi skupini tik nad mejo sprejemljivosti, medtem ko je imel pietrain (44) precej nižjo vsebnost skatola (0,12 ppm), kar pomeni, da pri pasmi pietrain ni bilo nevarnosti spolnega vonja. Tudi v drugi skupini je bila pri pietrainu zaznana nižja vsebnost skatola (0,59 ppm) od povprečja (0,71 ppm). Eden izmed vzrokov bi lahko bil manjša količina maščobe, saj je pasma pietrain znana kot mesnata pasma. Vzroke bi lahko iskali tudi v slabši plodnosti terminalne pasme piertain, ki proizvajajo manjšo količino semena kot maternalna pasma slovenska landrace, linija 11. Genetski vpliv na razliko v vsebnosti skatola med dvema linijama yorkshire prašičev so omenili že Lundström in sod. (1994). Xue in sod. (1996) navajajo, da maščoba pasme hampshire vsebuje več skatola, določenega po kolorimetrični metodi, kot landrace. Doran

Preglednica 5: Značilnost vplivov za obe skupini**Table 5:** Effect significance for both groups

Prva skupina	Stopinje prostosti	p-vrednost
Genotip	1	0,4645
Rejec ugnezden znotraj genotipa	1	0,1505
Starost (dni)	1	0,1537
Druga skupina	Stopinje prostosti	p-vrednost
Genotip	4	0,1201
Rejec ugnezden znotraj genotipa	3	0,3563
Starost (dni)	1	0,8079

in sod. (2002) pa so ugotovili večjo vsebnost skatola pri enako starih maishan prašičih, ki so bolj zamaščena pa-sma kot large white.

3.4 ZNAČILNOST VPLIVOV

Genotip ni vplival na vsebnost skatola v maščobnem tkivu merjascev (pregl. 5). V analizo smo vključili tudi vpliv rejca, saj je vsebnost skatola v veliki meri odvisna od rejskih razmer. Ta vpliv smo ugnezdili znotraj genotipa, vendar se tudi ta ni bil značilen. Prav tako se vsebnost skatola s starostjo merjascev ni spreminjala v nobeni od skupin. V več raziskavah navajajo spreminjanje vsebnosti skatola s starostjo (Babol in sod., 2004; Zamaratskaia in sod., 2004; Whittington in sod., 2004), vendar vzrokov ni bilo mogoče opredeliti (Zamaratskaia in sod., 2004). Babol in sod. (2004) so v raziskavi povezovali naraščanje vsebnosti skatola in vstop merjascev v puberteto.

Vsebnosti skatola v maščobi merjascev, ki so bile določene v naših poskusih, so bile visoke predvsem pri drugi skupini (pregl. 4). V maščobi je mejna vrednost, da porabnik že zazna vonj po merjascu, nad 0,20–0,25 ppm (Godt in sod., 1996; Bonneau, 1998). V prvi skupini je imelo vsebnost skatola pod mejno vrednostjo 0,25 ppm 12 vzorcev od 20 analiziranih. V drugi skupini je bilo pod to mejo le 8 vzorcev od 72 analiziranih. Tudi Doran in sod. (2002) navajajo, da je večina meishan prašičev, pri povprečni masi trupov 63 kg, presegala mejno vsebnost skatola v hrbtni podkožni maščobi, kjer nekateri presežejo tudi koncentracijo 1,0 ppm. Pri enako starih large white prašičih, ki so dosegli maso trupov ob zakolu 74 kg, je bila vsebnost skatola bistveno manjša in je mejno vrednost presegla le pri štirih merjascih od 53. Whittington in sod. (2004) so ugotovili, da pri meishan × large white prašičih vsebnost skatola v maščobi močno naraste pri starosti merjascev 174 dni. Pri 114 in 144 dni starih merjascih je bila vsebnost skatola pod mejo zaznavanja, medtem ko je pri 174 dneh narasla čez 0,6 ppm. Naši merjasci so bili v večini stari med 180 in 250 dne-

vi, kar bi lahko bil vzrok za visoko vsebnost skatola. Babol in sod. (2004) navajajo najvišje vsebnosti skatola pri merjascih starih med 200 in 300 dnevi, po 300 dneh starosti pa se začne vsebnost skatola zniževati. Tako so imeli 210 dni stari merjasci v povprečju 16,9 mg/L skatola v plazmi, kar ustreza 0,27 ppm v maščobi, pri 314 dni starih pa se je vsebnost skatola v plazmi skoraj za tri krat zmanjšala na 5,9 ppm, to je 0,09 ppm v maščobi. Tudi Zamaratskaia in sod. (2004) navajajo največjo vsebnost skatola v plazmi, ki je močno

korelirana (0,80) s skatolom v maščobi, med 270 in 300 dnevi starosti in manj med 450 in 540 dnevi in 600 in 720 dnevi. Zaradi močne korelacije lahko pričakujemo večjo vsebnost skatola med 270 in 300 dnevi tudi v maščobi merjascev. V našem poskusu smo imeli večino merjascev starih med 170 in 300 dnevi, kar je glede na omenjene vire starost, pri kateri je vsebnost skatola najvišja. V prvi skupini je bil en merjasec genotipa 54 star pod 170 dnevi in je imel vsebnost skatola pod mejno vrednostjo. V drugi skupini pa je bilo zaznani nižje vrednosti pri starosti merjascev pod 150 in nad 250 dnevi. Rezultati so v skladu z zgoraj omenjenimi ugotovitvami, vendar merjascev starih nad 300 dnevi nismo imeli, da bi lahko primerjali vsebnost skatola pri starih merjascih.

Poleg starosti, ki lahko zajema tudi spolno dozorevanje in s tem povečan vpliv androgenona na vsebnost skatola, je možnih več vzrokov za dobljene visoke vsebnosti skatola. Med njimi so pomembni: prisotna kri na površini vzorcev, pakiranje maščobe skupaj z uhlji, različno dolgo skladiščenje vzorcev in mesto odvzema. Kljub posredovanemu protokolu o odvzemu vzorcev so se redki držali vsega napisanega. Problem pri odvzemu je nastopil zaradi izvedbe vzorčenja, ki je bil običajno pri kupcu doma. To v povezavi z nezainteresiranostjo za sodelovanje nam je onemogočalo prisotnost pri zakolih. Zaradi nepravilno odvzetih vzorcev smo morali številne zavreči. Na površini nekaterih vzorcev je bila kri, ki smo jo pred homogeniziranjem odstranili, vendar so sledovi lahko ostali v tkivu. To lahko doprinese k višji vsebnosti nekaterih ekvivalentov skatola določenih s spektrofotometrično metodo, saj plazma vsebuje štirikrat (Whittington in sod., 2004) oziroma 12 krat (Babol in sod., 2004) večjo količino skatola kot maščoba. Nekateri vzorci niso imeli ločeno pakirane maščobe od mišičnine in uhljev. Tako je lahko potekal prenos komponent, ki dajejo barvno reakcijo pri 580 nm, iz kože oziroma ščetin na maščobo. Pri analizi take maščobe je možno, da določimo višjo vsebnost skatol ekvivalentov, kot je v resnici prisotnega skatola. Tudi skladiščenje vzorcev je bilo različno dolgo. Vzorce smo pridobivali postopoma in neenakomerno. Homogenizacijo in s tem čiščenje vzorcev smo izvedli

tik pred analizami. Tako so bili nepravilno odvzeti vzorci različno dolgo skladiščeni na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lawrie (1998) navaja, da nezaželen vonj in okus zamrznjenega mesa med skladiščenjem narasteta zaradi kemijskega kvara na površini, zunanjih vplivov ali tudi mikrobiološke rasti. Če so bili vzorci maščobe v stiku s krvjo ali kožo in niso bili vakuumsko pakirani, je možnost neželenega vonja bistveno večja. Tudi omenjena pomanjkljivost lahko pripomore k višji vsebnosti ekvivalentov skatola. Nujno je tudi, da so vsi vzorci maščobe odvzeti na enakem hrbtnem delu, ker se vsebnost skatola na različnih mestih odvzete maščobe razlikujem, kar navajajo Claus in sod. (2003), ki so ugotovili najvišjo vsebnost skatola pri kontrolni skupini v trebušni podkožni maščobi ($0,24 \pm 0,03\text{ ppm}$), srednjo vrednost v salu ($0,16 \pm 0,03\text{ ppm}$) in najmanj v hrbtni podkožni maščobi ($0,11 \pm 0,02\text{ ppm}$). Ker so imeli nekateri merjasci tanko maščobno tkivo na hrbtu, je bilo težje pridobiti 100 g maščobe na enem mestu, tako so možna odstopanja tudi zaradi mesta odvzema maščobe.

4 ZAKLJUČKI

Odvzem vzorcev na terenu zahteva skrbno ravnanje z vzorci med odvzemom, pakiranjem in shranjevanjem. Če delo opravljajo različni ljudje je še posebej pomembno, da se natančno držijo predloženih navodil.

Vpeljana metoda je natančna in ima dober izkoristek. Je hitra in relativno poceni, tako bi lahko z njo opravljali sprotne analize skatola v maščobi merjascev.

Določena vsebnost skatola oziroma ekvivalentov skatola v hrbtnem podkožnem maščobnem tkivu merjascev je bila v obeh skupinah v povprečju visoka. Interval je zajemal od zelo nizkih do ekstremno visokih vrednosti, za katere vzroke nismo mogli pojasniti.

V analizo vključeni vplivi genotipa, rejca in starosti merjascev, niso vplivali na vsebnost skatola v hrbtnem maščobnem tkivu merjascev.

5 VIRI

Agergaard N., Jensen B.B. 1993. Microbial production of skatole in the digestive tract, absorption to portal vein blood and liver turnover in entire male pigs. V: Proceedings of the 44th EAAP, Denmark, 16.–19. avg. 1993. Sørensen M.R. (ur.). Denmark: 330–331

Babol J., Squires E.J., Lundström K. 1997. Involvement of cytochrome P450IIE1 in hepatic metabolism and clearance of skatole. V: Boar taint in entire male pigs; Proceeding of a meeting of EAAP Working Group on the Production and Utilisation of Meat from Entire Male Pigs, Stockholm, 1.–3. okt. 1997. Bonneau M., Lundström K., Malmfors B. (ur.). Stockholm, Sweden: 49–53

Babol J., Squires J. 1995. Quality of meat from entire male pigs. Food Res. Int., 28: 201–212

Babol J., Zamaratskaia G., Juneja R., Lundström K. 2004. The effect of age on distribution of skatole and indole levels in entire male pigs in four breeds: Yorkshire, Landrace, Hampshire and Duroc. Meat Sci., 67: 351–358

Baek C., Hansen-Møller J., Friis C., Cornett C., Hansen S.H. 1997. Identification of selected metabolites of skatole in plasma and urine from pigs. J. Agr. Food Chem., 45: 2332–2340

Bonneau M. 1998. Use of entire males for pig meat in the European Union. Meat Sci., 49: 257–272

Bonneau M., Kempster A.J., Claus R., Claudi-Magnussen C., Diestre A., Tornberg E., Walstra P., Chevillon P., Weiler U., Cook G.L. 2000. An international study on the importance of androstenone and skatole boar taint: I. presentation of the programme and measurement of boar taint compounds with different analytical procedures. Meat Sci., 54: 251–259

Chen G., Zamaratskaia G., Andersson H.K., Lundström K. 2007. Effect of raw potato starch and live weight on fat and plasma skatole, indole and androstenone levels measured by different methods in entire male pigs. Food Chem., 101: 439–448

Claus R., Lösel D., Lacorn M., Mentschel J., Schenkel H. 2003. Effect of butyrate on apoptosis in the pig colon and its consequences for skatole formation and tissue accumulation. J. Anim. Sci., 81: 239–248

Dehnhard M., Claus R., Hillenbrand M., Herzog A. 1993. High-performance liquid chromatographic method for the determination of 3-methylindole (skatole) and indole in adipose tissue of pigs. J. Chromatogr. B, 616: 205–209

Diaz G.J. 2000. Hepatic *in vitro* metabolism of 3-methylindole in pigs. PhD Dissertation. University of Guelph, The Faculty of Graduate Studies, Guelph: 142 str.

Doran E., Whittington F.W., Wood J.D., McGivan J.D. 2002. The relationship between adipose tissue skatole levels, rates of hepatic microsomal skatole metabolism and hepatic cytochrome P450IIE1 expression in two breeds of pig. Anim. Sci., 74: 461–468

García-Regueiro J.A., Ruis M.A. 1998. Rapid determination of skatole and indole in pig back fat by normal-phase liquid chromatography. J. Chromatogr. A, 809: 246–251

Godt J., Kristensen K., Poulsen C.S., Juhl H.J., Bech A.C. 1996. A consumer study of danish entire male pigs. Fleischwirtschaft, 76: 378–380

Hansen-Møller J. 1994. Rapid high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of androstenone, skatole and indole in back fat from pigs. J. Chromatogr. B, 661: 219–230

Hansen-Møller J., Andersen J.R. 1994. Boar taint – analytical alternatives. Fleischwirtschaft, 74: 963–966

Haugen J.E., Kvaal K. 1998. Electronic Nose and Artificial Neural Network. Meat Sci., 49: 273–286

ISO 5725 / DIF 4. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. 1994: 42 str.

Jensen B.B. 2006. Prevention of boar taint in pig production. Factor affecting the level of skatole. Acta Vet. Scand., 48: S6

- Lawrie R.A. 1998. The eating quality of meat. V: Lawrie's meat science (6th ed.). Cambridge, Woodhead: 212–256
- Lundström K., Malmfors B., Stern S., Rydhmer L., Eliasson-Selling L., Mortensen A.B., Mortensen H.P. 1994. Skatole levels in pigs selected for high lean tissue growth rate on different dietary protein levels. *Livest. Prod. Sci.*, 38: 125–132
- Mortensen A.B., Sørensen S.E. 1984. Relationship between boar taint and skatole determined with a new analysis method. V: 30th European Meeting of Meat Research Workers, Denmark, 9.–14. sept. 1984
- Pelerañ J.C., Bories G.F. 1985. Gas chromatographic determination and mass spectrometric confirmation of traces of indole and 3-methylindole (skatole) in pigs back fat. *J. Chromatogr. A*, 324: 469–474
- SAS. 2008. Statistical Analysis Systems. Version 9.1. Inc., Cary, NC, USA
- Whittington F.M., Nute G.R., Huges S.I., McGivan J.D., Lean I.J., Wood J.D., Doran E. 2004. Relationship between skatole and androstenone accumulation, and cytochrome P4502E1 expression in Meishan × Large White pigs. *Meat Sci.*, 67: 569–576
- Wirrer B. 1993. Die Photometrische Methode zur Analytik von Skatol in Fettgewebsproben von Schweinen: Untersuchungen im Hinblick auf 'On-line-Method' im Schlachtbetrieb Entsprechend der EG-Richtlinie 91/497/EWG. Doctor's dissertation. München, Tierärztlichen Fakultät, der Ludwig-Maximilians-Universität München. 113 str.
- Xue J., Dial G.D., Holton E.E., Vickers Z., Squires E.J., Lou Y., Godbout D., Morel N. 1996. Breed differences in boar taint: relationship between tissue levels boar taint compounds and sensory analysis of taint. *J. Anim. Sci.*, 74: 2170–2177
- Zamaratskaia G., Babol J., Andersson H., Lundström K. 2004. Plasma skatole and androstenone levels in entire male pigs and relationship between boar taint compounds, sex steroids and thyroxine at various ages. *Livest. Prod. Sci.*, 87: 91–98