Određivanje sastava aminokiselina i masnih kiselina u raznim vrstama mesa

Kunčić, Roko

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, University Department for Forensic Sciences / Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel za forenzične znanosti**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:227:457465

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 3.0

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

SVEUČILIŠTE U SPLITU

SVEUČILIŠNI ODJEL ZA FORENZIČNE ZNANOSTI

Repository / Repozitorij:

Repository of University Department for Forensic Sciences

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

SVEUČILIŠNI ODJEL ZA FORENZIČNE ZNANOSTI

FORENZIČNA KEMIJA I MOLEKULARNA BIOLOGIJA

DIPLOMSKI RAD

ODREĐIVANJE SASTAVA AMINOKISELINA I MASNIH KISELINA U RAZNIM VRSTAMA MESA

ROKO KUNČIĆ

Split, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

SVEUČILIŠNI ODJEL ZA FORENZIČNE ZNANOSTI

FORENZIČNA KEMIJA I MOLEKULARNA BIOLOGIJA

DIPLOMSKI RAD

ODREĐIVANJE SASTAVA AMINOKISELINA I MASNIH KISELINA U RAZNIM VRSTAMA MESA

MENTOR: Doc. dr. sc. Ivica Ljubenkov

ROKO KUNČIĆ

Matični broj: 350/2016

Split, rujan 2019. godina

Rad je izrađen **na Odjelu za kemiju, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Splitu** pod nadzorom mentora doc. dr. sc. **Ivice Ljubenkova**

u vremenskom razdoblju **od 1. siječnja 2018. do 1. rujna 2019.**

Datum predaje diplomskog rada: 06. rujna 2019

Datum prihvaćanja rada: 11. rujna 2019.

Datum usmenog polaganja: 17. rujna 2019.

Povjerenstvo:

1. doc dr. sc. Željana Fredotović
2. izv. prof. dr. sc. Željana Bašić
3. doc. dr. sc. Ivica Ljubenkov

SADRŽAJ:

1. UVOD 1
1.1. Meso 1
1.2. Podjela mesa 3
1.3. Masne kiseline i aminokiseline u mesu 7
1.3.1. Masne kiseline 7
1.3.2. Aminokiseline 12
1.4. Kromatografija 19
1.4.1. Plinska kromatografija (GC) 20
1.4.2. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) 24
1.5. Ekstrakcija 28
1.5.1. Soxhlet ekstrakcija 28
2. CILJ ISTRAŽIVANJA 31
3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA 32
3.1. Materijali istraživanja 32
3.1.1. Uzorci 32
3.2. Metode analize 34
3.2.1. Određivanje ukupnih masti u mesu Soxhlet ekstrakcijom 34
3.2.2. Određivanje udjela masnih kiselina plinskom kromatografijom 35
3.2.3. Određivanje udjela pojedinih aminokiselina tekućinskom kromatografijom 36
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA 38
4.1. Rezultati analize masnih kiselina u mesu pomoću Sokslet ekstrakcije 38
4.2. Rezultati određivanja udjela pojedinih masnih kiselina plinskom kromatografijom 39
4.2.1. Svinjetina 41
4.2.2. Junetina 43
4.2.3. Piletina 46
4.2.4. Puretina 49
4.3. Rezultati određivanja udjela pojedinih aminokiselina HPLC tehnikom 50
4.3.1. Svinjetina 52
4.3.2. Junetina 53

4.3.3. Piletina 55
4.3.4. Puretina 57
5. RASPRAVA 58
5.1. Ukupne masnoće u mesu 58
5.2. Udio masnih kiselina ovisno o vrsti mesa 58
5.2.1. Svinjetina 58
5.2.2. Junetina 59
5.2.3. Piletina 60
5.2.4. Puretina 61
5.3. Udio aminokiselina ovisno o vrsti mesa 62
5.3.1. Svinjetina 62
5.3.2. Junetina 62
5.3.3. Piletina 63
5.3.4. Puretina 64
5.4. Nutritivna vrijednost 65
6. ZAKLJUČCI 66
7. LITERATURA 67
8. SAŽETAK 72
9. ABSTRACT 73
10. ŽIVOTOPIS 74
11. POPIS SLIKA 77
12. POPIS TABLICA 78

1. UVOD

1.1. Meso

Meso pripada namirnicama životinjskog podrijetla te zauzima značajno mjesto u ljudskoj prehrani (1). Pod pojmom mesa, u užem smislu riječi, podrazumjevaju se mišići bez kostiju i većih krvnih žila te mišići bez većih naslaga vezivnog i masnog tkiva (2). Pojedine iznutrice ili unutarnji organi poput jetre, bubrega i srca pripadaju posebnoj kategoriji mesa (2). Prema rasponu masenih udjela osnovnih gradivnih tvari u mesu, proteini zauzimaju raspon od 16-20 %, masti 3-30 %, voda 65-75 %, a ekstraktivne tvari s dušikom čine 1-2 % masenog udjela i ostatak predstavljaju enzimi, vitamini, mineralne tvari, organske kiseline i dr. (2, tab. 1).

Tablica 1. Energetska vrijednost i kemijski sastav različitih vrsta mesa (2)

PODRIJETLO	MASENI UDJELI OSNOVNIH GRADIVNIH TVARI (%)				ENERGETSKA VRIJEDNOST (kJ / 100 g)
	VODA	PROTEINI	MASTI	PEPEO	
PURETINA	60,1 – 66,8	19,9 -24,0	8,0 – 19,1	1,1 – 1,2	719 – 1083
PILETINA	67,5 – 72,1	19,8 – 22,8	4,0 – 11,5	1,0 – 1,2	548 – 786
PAČETINA	49,4 -58,4	13,0 – 17,5	22,9 – 37,0	0,6 – 0,9	1191 – 1659
GUŠČETINA	48,9 – 59,4	12,2 – 16,9	28,8 – 38,1	0,8 – 0,9	1174 – 1638
SVINJETINA	49,0 – 71,0	16,0 – 21,0	7,0 – 34,0	0,8 – 1,1	631 – 1597
TELETINA	69,0 – 74,0	19,0 – 22,0	3,1 – 11,0	1,0 – 1,1	493 – 752
GOVEDINA	55,0 -74,0	19,0 – 21,0	4,0 – 25,0	0,9 – 1,1	514 – 1296
OVČETINA	54,0 – 66,0	15,2 – 16,5	15,5 – 30,0	0,8 – 1,0	899 – 1404
MESO KUNIĆA	76,09	20,80	1,82	1,08	427,62
KONJETINA	75,3 – 76,8	19,7 – 21,2	1,9 – 3	-	-

Osnovne gradivne tvari mesa su: proteini, voda, masti, ugljikohidrati i minerali. Kemijski sastav i udio osnovnih gradivnih tvari mesa daje osnovne informacije o energetskoj

vrijednosti mesa, kakvoći i cijeni s obzirom da je tržišno vrijednije meso koje ima veći maseni udio proteina u odnosu na ostale gradivne tvari (3).

Poznate su energetske vrijednosti masti, proteina i ugljikohidrata, prema navedenom (3):

- 1g ugljikohidrata će potpunim izgaranjem dati 17,2 kJ (1 cal = 4,186 J)
- 1 g masti će potpunim izgaranjem dati 38,9 kJ (1 cal = 4,186 J)
- 1 g proteina će potpunim izgaranjem dati 17,2 kJ (1 cal = 4,186 J)

Od vitamina, u mesu prevladavaju topljivi vitamini B-kompleksa koji su termo-rezistentni, što znači da podnose visoke temperature termičke obrade (3). U tablici 2 moguće je vidjeti masene udjele vitamina u mesu.

Tablica 2. Maseni udjeli vitamina u mesu (3)

VITAMINI	**Maseni udio u mg u 100 g mesa**
Tiamin (B1)	0,10-0,30
Riboflavin (B2)	0,13-0,36
Piridoksin (B6)	0,30-0,60
Niacin (B3, PP)	3,90-7,50
Pantotenska kiselina (B5, G)	0,60-2,00
Biotin (H)	3,40-5,50
Para-aminobenzojeva kiselina	0,06-0,08
Folna kiselina	0,01-0,03
Askorbinska kiselina (C)	2,00-4,00
Kobalamin B12	0,09-0,25
Kolin*	80-100
Aksertofol (retinol, A)	cca 0,02
*Kolin- esencijalni spoj sličan vitaminima s ulogom sprječavanja odlaganja masti u jetri	

Također, meso je dobar izvor esencijalnih mikroelemenata (bakar, jod, mangan, selen, željezo, kobalt, barij, cink, kadmij, stroncij, brom, fluor i krom) (3).

1.2. Podjela mesa

- Podjela mesa prema porijeklu:

U divljač se ubraja: meso srne, jelena, divlje svinje, zeca, divokoze, medvjeda, divlje guske, jarebice (trčke), grlice, prepelice, divljih golubova, fazana i divlje patke (3).
U stoku ubrajamo: goveda (uključujući i bivole), ovce, koze, svinje, kuniće i kopitare (konji, magarci, mule i mazge) (3).
U domaću perad ubrajamo različite skupine ptica koje se uzgajaju radi jaja, perja i/ili mesa. U perad ubrajamo biserke, guske, patke, pitome golubove, pure i kokoške (2). Od domaćih peradi najviše se konzumira piletina (zauzima više od 90 % industrijske prerade peradi) (3).
U proizvodnji mesa najčešće se koriste "teške" pasmine, a postoje još kombinirane i lake pasmine.

- Podjela mesa prema starosti

Razlikuje se: teleće, juneće i govеđe meso (3). Za ulazak u kategoriju telećeg mesa, tele ne smije biti starije od 6 mjeseci, niti mlađe od tri tjedna te mora biti mase trupa od 25 do 125 kg (3). Nakon što tele prijeđe gornju granicu, deklarira se kao juneće meso, a meso od još starije životinje se deklarira kao govеđe. Meso goveda možemo prepoznati po tamno crvenoj boji, a što je govedo starije meso će biti tamnije (3).

Razlikujemo janjetinu i jaretinu, odnosno ovčetinu i kozetinu, ovisno o starosti životinje. Životinja od 3 tjedna do 3 mjeseca starosti smatra se mladom janjetinom ako potječe od ovce. Do 9 mjeseci je janjetina, a poslije ulazi u kategoriju ovčetine. Jaretina je od 3 tjedna do 6 mjeseci starosti, a poslije ove dobne granice počinje se nazivati kozetinom (2).

Podjela svinjskog mesa zasniva se na kilaži životinje. Kod svinjskog mesa u promet se stavlja: meso odojaka (masa trupa 5 – 15 kg), prasaca (m. trupa 15,1 – 30 kg), mladih svinja (m. trupa 30,1 – 49,9 kg), svinja za klanje (m. trupa 50 – 120 kg), meso mladih nerasta (m. trupa 50 – 120 kg), meso starijih nerasta i kastrata, meso krmača i meso izrazito mesnatih krmača (m. trupa iznosi više od 120 kg) (3).

Piletina se prema starosti dijeli na (4):

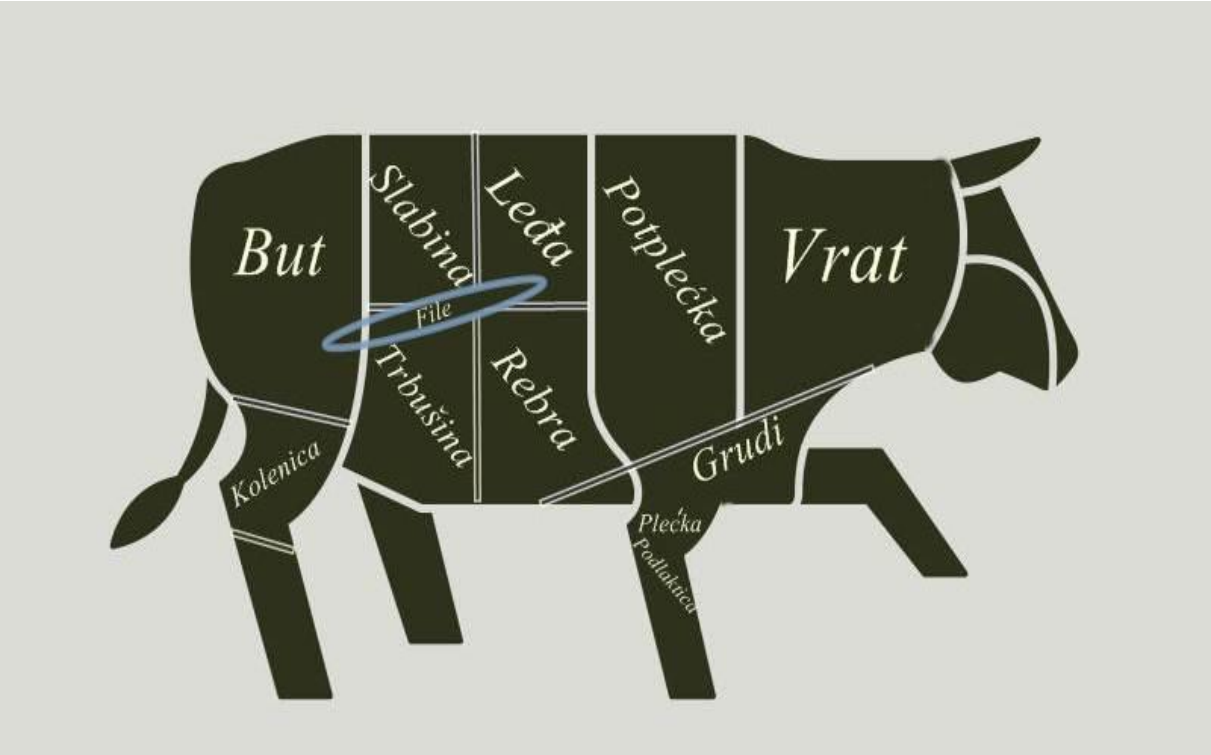
- Mlada piletina (tzv. brojleri), starosti do 2,5 mjeseca (4 do 10 tjedana starosti)
- Piletina starosti 2,5 do 3 mjeseca (10 do 12 tjedana starosti)/ stariji pilići
- Meso mladih kokoši starosti od 3 do 9 mjeseci
- Meso starijih kokoši, među koje spadaju spolno zreli pijetlovi i kokoške koje su već nosile jaja (4)

Na zahtjevnijem tržištu promiče se nova tržišna kategorizacija pilića prema težini i cijeni se takozvani "Free range" ili slobodni tovni uzgoj pilića, jer takvi pilići imaju znatno bolja organoleptička svojstva (3).

- Podjela mesa prema kategorijama

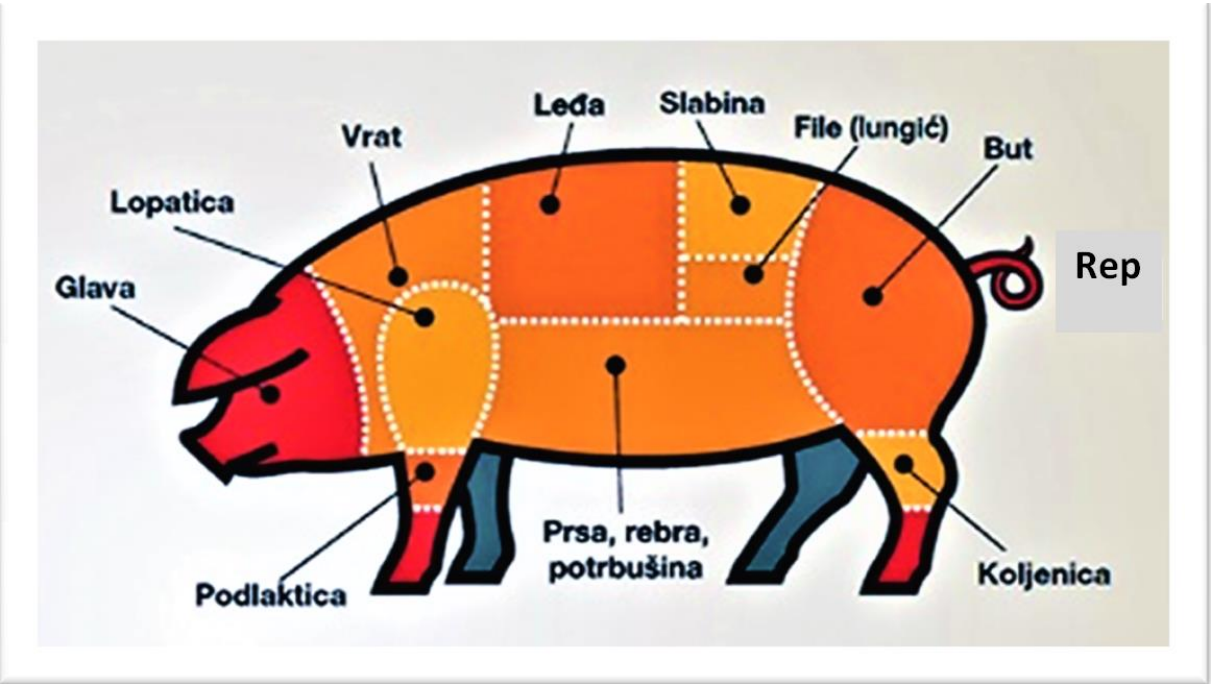
Kod podjele prema kategorijama razlikujemo osnovne dijelove mesa pojedine životinje. Ova podjela mesa vrlo je jednostavna te se kod svih životinja radi na sličan način uz određene minimalne razlike. But i koljenica nalaze se na stražnjem dijelu. Slabina i leđa nalaze se oko gornjeg dijela trupa, dok se potrbušina, trbušina i rebra nalaze u donjem dijelu trupa. Prednji dio pojedine životinje dijeli se na glavu, vrat, lopaticu i podlakticu.

Osnovni dijelovi trupa, polovica i četvrti kod životinja za klanje su: slabine, but, lopatica (plećka), podlopatica, leđa, vrat, rebra, prsa, potrbušina, podlaktica i potkoljenica te se kod pojedinih životinja podrazumijevaju i donji dijelovi nogu i glava (3).



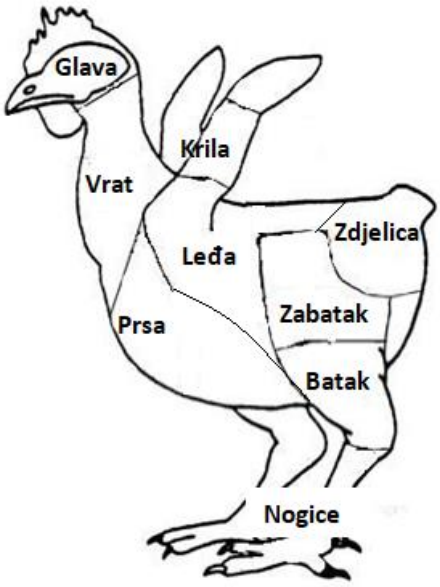
Slika 1. Dijelovi govedine. Dostupno na: https://www.agromedia.rs/agro-teme/prehrambena-industrija/saznajte-sta-jedete-vodic-kroz-sve-delove-govedjeg-mesa; pristupljeno: 10.3.2019.

Za razliku od jarećih, janjećih, ovčjih, kozjih, telećih, junećih, goveđih, bivoljih trupova te trupova kopitara i bivolčadi, gdje se ne podrazumijeva rep kao dio trupa; trupovi svinja, krmača, mladih svinja, prasaca i odojaka podrazumijevaju rep kao dio trupa (3, Slika 2).



Slika 2. Dijelovi svinjetine. Dostupno na: http://www.gospodarski.hr/Publication/2016/22/prilog-broja-uzgoj-svinja-za-preradu-u-domae-proizvode/8626#.XIVZ3bh7mM8; pristupljeno: 10.3.2019.

Trup peradi rasijeca se na: glavu, vrat, krila, leđa, zdjelica, prsa, zabatke, batke i nogice, ali se pod trup zaklane preradi podrazumijeva tijelo peradi očišćeno od perja, bez vrata i glave i bez donjih dijelova nogu (3).



Slika 3. Dijelovi peradi. Dostupno na: *https://www.pinterest.com/pin/505951957927790 67/?lp=true, pristupljeno: 8.8.2019.*

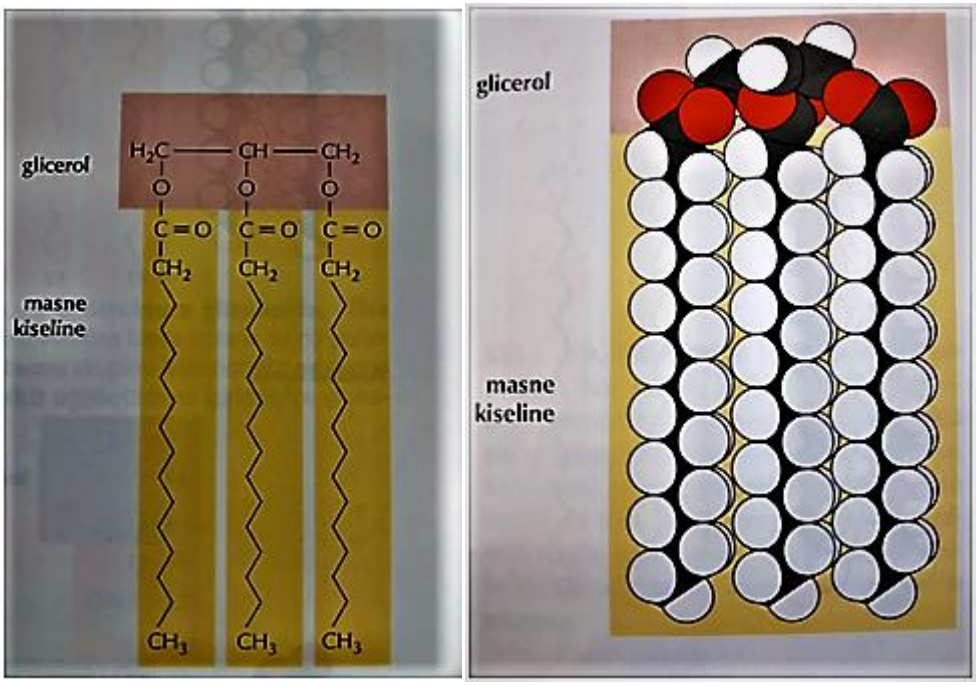
1.3. Masne kiseline i aminokiseline u mesu

1.3.1. Masne kiseline

Lipidi (masti i ulja) predstavljaju jednu od glavnih skupina organskih molekula koje čine stanicu i omogućavaju razumijevanje stanične kemije (5). Lipidi su glavni sastojci staničnih membrana koji osiguravaju pohranu energije i važni su u staničnoj signalizaciji. Mogu se podijeliti prema porijeklu na biljne i životinjske.

Hidrolizom masti i ulja nastaju masne kiseline koje imaju karboksilnu skupinu vezanu za najčešće dugu alkilnu skupinu (6). Pojedine masne kiseline imaju zasićene, a druge nezasićene alkilne lance (6).

Masne kiseline sastoje se od ugljikovodičnih lanaca koji najčešće sadrže 16 ili 18 ugljikovih atoma i na jednom kraju završavaju karboksilnom skupinom (5). Masne kiseline pohranjuju se u obliku masti ili triacilglicerola. Triacilgliceroli sastoje se od molekule glicerola koja je povezana s tri masne kiseline, tj. s tri više masne kiseline koje mogu biti različite ili jednake (5, slika 4. i 5.). Mast predstavlja ester glicerola s tri ekvivalenta masne kiseline (triacilglicerol) koji je pri sobnoj temperaturi čvrste konzistencije. Ulje je također ester triju ekvivalenata masne kiseline s glicerolom (triacilglicerol), ali je pri sobnoj temperaturi u tekućem stanju (6). Višestruka nezasićenost je definirana sa prisutnošću više dvostrukih veza ugljik-ugljik, a pojavljuje se kod biljnih i ribljih ulja koja često sadržavaju nekoliko dvostrukih veza u jednoj trigliceridnoj molekuli (6). Zasićene masti predstavljaju estere glicerola s alifatskim kiselinama, koje sadržavaju zasićene ili imaju malo nezasićenih veza ugljik-ugljik. Primjer za zasićene masti su salo, maslac i loj koji sadržavaju uglavnom zasićene masti (6).



Slika 4. i Slika 5. Struktura triacilglicerola. Dostupno: Cooper, G. M. i R. E. Hausman. "Stanica: molekularni pristup", 47. str.

Triacilgliceroli nisu topljivi u vodi te se u citoplazmi nakupljaju u obliku masnih nakupina koje se po potrebi cijepaju u reakcijama koje proizvode energiju. Masti daju više no dvostruko energije od ugljikohidrata po masi razgrađene tvari i stoga predstavljaju vrlo učinkovit oblik pohrane energije. Ova karakteristika osobito je važna za pokretnost životinja s obzirom da masti omogućuju znajčajno bolje skladištenje energije od ugljikohidrata, štoviše masti zahtijevaju čak upola manje tjelesne težine (5). Također, glavni sastojci staničnih membrana, fosfolipidi, sastoje se od dviju masnih kiselina koje su vezane na jednu polarnu čeonu skupinu. Osim fosfolipida, mnoge stanične membrane sadrže kolesterol i glikolipide. Glikolipidi sadrže dva ugljikovodična lanca koja su vezana na polarne čeone skupine koje sadrže ugljikohidrate. Kolesterol je sastojak staničnih membrana te je amfipatična molekula i preteča steroidnih hormona kao što su estradiol (oblik estrogena) i testosteron. Kolesterol se sastoji od četiri ugljikovodična prstena što predstavlja strukturnu razliku pri usporedbi s fosfolipidima koji sadrže linerarne ugljikovodične lance. Derivati kolesterola (steroidni hormoni, npr. testosteron i estrogen) predstavljaju raznorodnu skupinu kemijskih glasnika (5).

Od masnih kiselina razlikujemo: zasićene (engl. *saturated fatty acid*), polinezasićene (engl. *polyunsaturated fatty acids*) i mononezasićene (engl. *monounsaturated fatty acids*). Svaka masnoća/ulje ima specifičan sastav masnih kiselina. Nakon što se odrede udjeli masnih kiselina može se identificirati vrsta masnoće, budući da su poznati udjeli pojedinih masnih

kiselina u svakoj vrsti masnoće. Prema tome, ova metoda izrazito je značajna u forenzici i prehrambenoj industriji (7).

Udio masti u mesu, struktura masnog tkiva i sastav masnih kiselina utječe na kvalitetu mesa te na njegova organoleptička i nutritivna svojstva. U mesu se uglavnom nalaze masne kiseline koje su sastavljene od 12 – 22 C atoma te se najčešće sastoje od oko 40 % mononezasićenih, 2 – 25 % polinezasićenih i 40 % zasićenih masnih kiselina (8). Sastav masnih kiselina u mesu izrazito ovisi o dobi, hranidbi, tjelesnoj masi, spolu, anatomskoj poziciji, genotipu životinje i naposljetku o samoj obradi, postupku čuvanja mesa i prerade mesa (8).

Molekula zasićenih masnih kiselina uvijek ima jednostruke veze koje povezuju ugljikove atome te su ugljikovi atomi maksimalno popunjeni s vodikovim atomima. Struktura molekule zasićenih masnih kiselina vrlo je stabilna. Masna kiselina kojoj nedostaje jedan par vodikovih atoma, sadrži dvostruku vezu koja povezuje ugljikove atome i naziva se jednostruko ili mononezasićena masna kiselina (7). Ako masna kiselina u ugljikovom lancu sadrži više od jedne nezasićene odnosno dvostruke veze, naziva se višestruko nezasićena ili polinezasićena masna kiselina. Polinezasićene masne kiseline su nestabilnije od zasićenih i mononezasićenih, jer kod polinezasićenih postoji veća mogućnost oksidacije te pucanja dvostrukih veza. S porastom broja dvostrukih veza raste reaktivnost kod polinezasićenih masnih kiselina. Klasifikacija polinezasićenih masnih kiselina vrši se na temelju broja dvostrukih veza, lokacije prve dvostruke veze u ugljikovom lancu i na temelju dužine lanca. Zbog lakše identifikacije polinezasićenih masnih kiselina uveden je ω ili n broj koji predstavlja položaj prve dvostruke veze u ugljikovom lancu s bitnom naznakom da se broji od metilne grupe - CH_3 (jedan atom ugljika koji je vezan s tri atoma vodika) (7). S obzirom na razmeštaj supstituenata na dvostrukoj vezi masne kiseline ona može biti u -cis ili -trans obliku, a za ove oblike koristi se kratica c ili t. Kod dvostrukih veza u -cis obliku vodikovi atomi se nalaze na istoj strani, dok se kod trans oblika oni nalaze na suprotnim stranama dvostruke veze. Trans oblici masnih kiselina loše utječu na ljudsko zdravlje, a mogu nastati prekomjernim zagrijavanjem masti i ulja (8). Oznaka Δ i broj u superskriptu označuju položaj dvostruke veze. Primjerice, -cis -Δ^8 bi označavao postojanje cis-dvostruke veze između ugljikovih atoma na položajima 8 i 9: -trans - Δ^4 bi označavao postojanje trans-dvostruke veze među ugljikovim atomima na položajima 4 i 5 (9).

Tablica 3. Prikaz struktura, tipa i naziva masnih kiselina; Izvor: Hrvatski veterinarski Institut, pregledni članak: http://veterina.com.hr/?p=32109; pristupljeno: 3.2.2019 i L. G. Wade, 2017, "Organska kemija", 938. str.

Struktura	Naziv	Tip
C1:0	Mravlja (metanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C2:0	Octena (etanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C3:0	Propionska (propanska)	Zasićena masna kiselina
C4:0	Maslačna (butanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C6:0	Kapronska (heksanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C8:0	Kaprilna (oktanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C10:0	Kaprinska (dekanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C11:0	Unidekanska kiselina	Zasićena masna kiselina
C12:0	Laurinska (dodekanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C13:0	Tridekanska kiselina	Zasićena masna kiselina
C14:0	Miristinska kiselina	Zasićena masna kiselina
C15:0	Pentadekanska kiselina	Zasićena masna kiselina
C16:0	Palmitinska (heksadekanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C17:0	Heptadekanska kiselina	Zasićena masna kiselina
C18:0	Stearinska (oktadekanska) kiselina	Zasićena masna kiselina
C20:0	Arahidna kiselina	Zasićena masna kiselina
C21:0	Heneikozanoična kiselina	Zasićena masna kiselina
C22:0	Behenska kiselina	Zasićena masna kiselina
C23:0	Trikozanoična kiselina	Zasićena masna kiselina
C24:0	Lignocerinska kiselina	Zasićena masna kiselina
C14:1	Miristoleinska kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina (omega -5)
C15:1	Cis-10-pentadekanska kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina
C16:1	Palmitoleinska kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina (omega -7)
C17:1	Cis-10-heptadekanska kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina
C18:1n9t	Elaidična kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina (omega -9)
C18:1n9c	Oleinska kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina (omega -9)
C20:1	Cis-11-eikozenska kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina

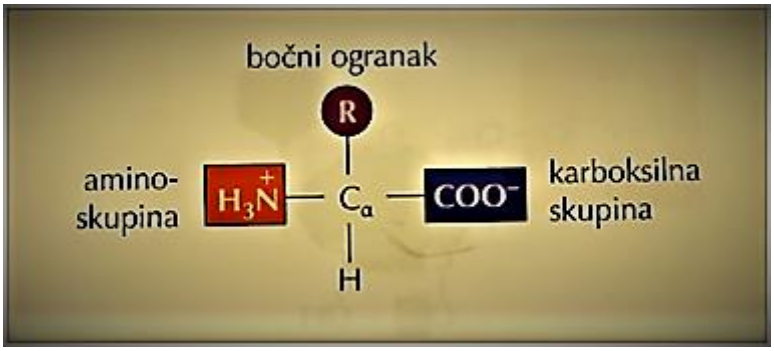
C22:1n9	Eručna kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina (omega -9)
C24:1	Nervonična kiselina	Jednostruko nezasićena masna kiselina
C18:2n6t ili C18:2n6c	Linolna	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -6)
C18:3n6	γ -linolenska kiselina	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -6)
C18:3	Eleostearinska kiselina	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -6)
C20:2n6	Eikozadienska kiselina	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -6)
C20:3n6	Eikozatrienska kiselina	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -6)
C20:4n6	Arahidonska kiselina	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -6)
C22:2	Dokosadienoična kiselina	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -6)
C18:3n3	α-linolenska kiselina	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -3)
C20:3n3	Eikozatrienska kiselina	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -3)
C20:5n3	Eikozapentaenoična kiselina (EPA)	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -3)
C22:6n3	Dokozaheksaenska kiselina (DPA)	Višestrukonezasićena masna kiselina (omega -3)

Osnovni predstavnik skupine omega 3 polinezasićenih masnih kiselina je α-linoleinska kiselina, a u skupini omega 6 polinezasićenih masnih kiselina temeljna je linolna kiselina. Budući da se kod alfa linolenske kiseline dvostruka veza nalazi na trećem ugljikovom atomu, ova masna kiselina naziva se omega-3 masna kiselina. Kod linolne kiseline dvostruka veza nalazi se na šestom ugljikovom atomu stoga se ova masna kiselina naziva omega 6. Čovjek nema potrebne enzime koji bi mu omogućili da sam sintetizira ove masne kiseline, tako da je primoran unositi ove dvije masne kiseline putem hrane stoga ove masne kiseline nazivamo esencijalnim masnim kiselinama (7 i 10). Neesencijane masne kiseline su one masne kiseline koje naš organizam može sintetizirati iz drugih masnih kiselina. α-linoleinska kiselina i linolna kiselina se u organizmu mogu metabolizirati u više polinezasićene masne kiseline. Procesima desaturacije i elongacije iz linolne kiseline nastaju pojedine polinezasićene masne kiseline (npr. arahidonska kiselina), dok iz linoleinske kiseline nastaju druge polinezasićene masne kiseline kao npr. dokosaheksaenoična i eikosapentaenoična masna kiselina (7).

Zanimljivo je da za razliku od čovjeka i životinja, biljke sintetiziraju linoleinsku i linolnu masnu kiselinu te se ove masne kiseline pohranjuju u obliku ulja u raznim tkivima i sjemenkama (11). U mesu se u najvećim udjelima nalaze masne kiseline C16:0, C18:0 i C18:1cis, a ne nalaze se ili se nalaze u malim koncentracijama masne kiseline od C4 do C12 te masne kiseline C20:4, C20:5 i C22:6.

1.3.2. Aminokiseline

Aminokiseline su sastavni dijelovi peptida i proteina te su gradivni materijali i izvori energije (12 i 13). Svaka stanica sadrži nekoliko tisuća proteina s različitim zadaćama. Proteini pohranjuju i prenose male molekule (kao npr. prijenos kiska uz pomoć hemoglobina), osiguravaju obranu od infekcije (npr. protutijela), prenose informacije između stanica (npr. hormoni) i služe kao konstruktivne sastavnice tkiva i stanica. Vrlo bitna uloga proteina je u tome što djeluju kao enzimi koji kataliziraju skoro sve kemijske reakcije u biološkim sustavima. Dvadeset različitih aminokiselina čini proteine (5). Naziv aminokiseline dolazi od skupina koje one sadrže, a to je amino skupina i karboksilna skupina (12). Također, aminokiseline mogu imati u svojoj strukturi i druge funkcionalne skupine poput sulfhidrilne i hidroksilne skupine. Većinu aminokiselina organizam može sintetizirati (12). Svaka aminokiselina ima ugljikov atom koji je nazvan α-ugljik i na koji je povezana karboksilna skupina COO^- , aminoskupina $NH3^+$, prepoznatljiv bočni ogranak (označen kao R) i vodikov atom (5, Slika 6.)



Slika 6. Struktura aminokiselina. Dostupno na: Cooper, G. M. i R. E. Hausman. "Stanica: molekularni pristup" 52. Str. Slika 2.)

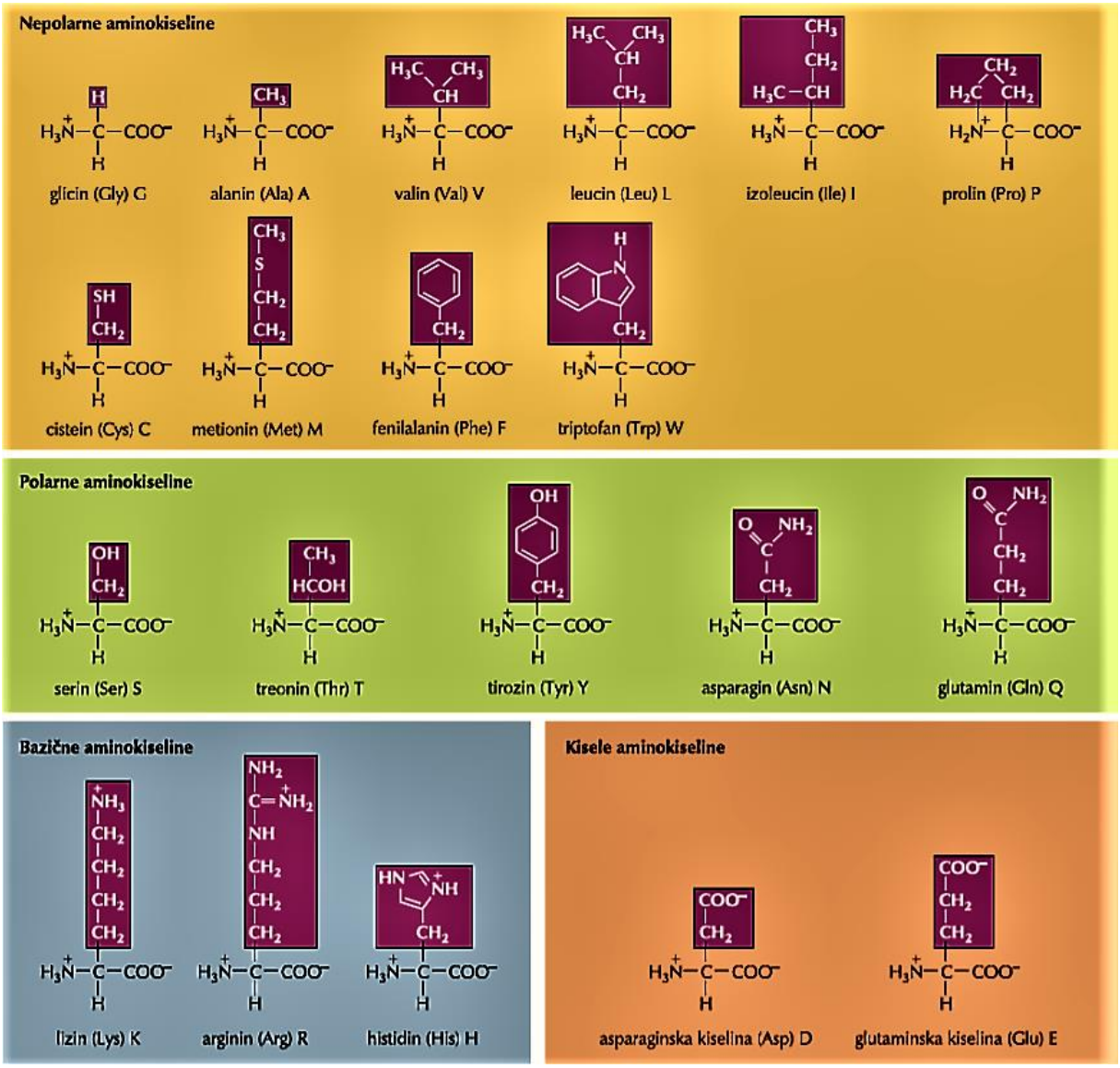
Uloge pojedine aminokiseline u proteinskoj funkciji i strukturi, određene su specifičnim kemijskim svojstvima aminokiselinskih bočnih ogranaka. Osim što služe kao gradivne molekule za proteine, aminokiseline služe stanici i za komunikaciju. S obzirom na svojstva

bočnih ogranaka, aminokiseline mogu se razvrstati u četiri vrste (5). Deset aminokiselina sadrži nepolarne bočne ogranke. Ovi bočni ogranci ne stupaju u interakciju s vodom. Najjednostavnija aminokiselina je glicin, s obzirom da bočni ogranak glicina sadrži samo vodikov atom. Ugljikovodični bočni ogranci valina, alanina, izoleucina i leucina sadrže do četiri ugljikova atoma. Ovi bočni ogranci nastoje se smjestiti u središte proteina jer su hidrofobni i pokušavaju izbjeći dodir s vodom. Aminokiselina prolin sadrži bočni ogranak koji je s jedne strane vezan na dušikov atom, a s druge strane na α-ugljik te formira prstenastu strukturu. Bočni ogranci metionina i cisteina sadrže atome sumpora. Cistein zbog svoje sulfhidrilne skupine nije hidrofoban, dok je metionin prilično hidrofoban. Cisteinska sulfhidrilna skupina bitna je u proteinskoj strukturi jer stvara disulfidne veze između bočnih ogranaka. Aminokiseline triptofan i fenilalanin nepolarne su i sadrže u svojim bočnim ograncima izrazito hidrofobne aromatske prstene (5)

Pet aminokiselina imaju nenabijene bočne ogranke koji su polarni. To su: treonin, tirozin i serin, s hidroksilnom skupinom u bočnom lancu i glutamin i asparagin, koji imaju polarne amidne skupine (5). Ove aminokiseline su hidrofilne i nastoje biti na površini proteina jer njihovi polarni bočni ogranci mogu stvarati vodikove veze s vodom.

Aminokiseline arginin, histidin i lizin u bočnom ogranku imaju nabijene bazične skupine. Bočni ogranci arginina i lizina u stanici nose pozitivni naboj. Ove dvije aminokiseline su vrlo bazične i hidrofilne. Histidin može biti pozitivno nabijen ili nenabijen kod fiziološkog pH i često je aktivni sudionik u enzimatskim reakcijama koje uključuju razmjenu vodikovih iona.

Glutaminska i asparaginska kiselina sadrže kisele bočne ogranke koji završavaju karboksilnim skupinama. Budući da su ove aminokiseline negativno nabijene unutar stanice, često se spominju kao glutamat i aspartat. Kisele aminokiseline najčešće su smještene na površini proteina i izrazito su hidrofilne (5).



Slika 7. Aminokiseline. Dostupno na: Cooper, Hausman, "Stanica: molekularni pristup", 53. str.

S obzirom na svojstva bočnih ogranaka, aminokiseline se razvrstavaju u četiri kategorije: polarne, nepolarne, kisele i bazične. U tablici 4, naznačena je jednoslovna i troslovna kratica za svaku aminokiselinu (5, tab. 4.).

Peptidna veza nastaje kada α-amino-skupina jedne aminokiseline reagira s α-karboksilnom skupinom druge aminokiseline. Polipeptidi dugi su linearni lanci sa stotinama ili tisućama aminokiselina. Svaki polipeptidni lanac sadrži na jednom kraju lanca α-aminoskupinu (amino- ili N-terminus ili N kraj) i drugi koji završava α-karboksilnom skupinom (karboksi- ili C kraj ili C terminus). Specifična svojstva proteina zavise od specifičnog aminokiselinskog slijeda. Do danas su otkrivene potpune aminokiselinske sekvence za više od 100.000 proteina (5).

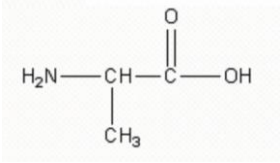
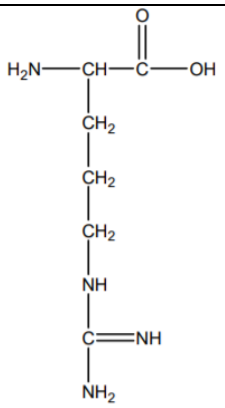
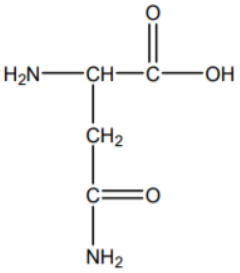
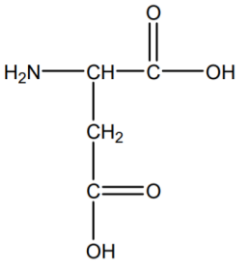
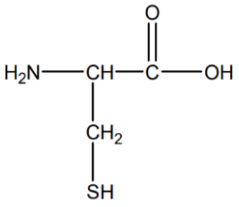
Aminokiseline koje čovjek ne može sintetizirati nazivamo esencijalnim i njih unosi hranom (14). Esencijalne aminokiseline su valin, metionin, leucin, izoleucin, fenilalanin, histidin, treonin, triptofan i lizin te kod novorođenčadi još i aminokiseline glicin i arginin. Zanimljiva je informacija, da je više od 300 aminokiselina opisano u prirodi, a samo njih 20 je pronađeno kao komponenta ljudskih peptida (12 i 14). Iako je pojava života na planeti Zemlji i nastanak prve stanice predmet spekulacije, 1950-ih godina Stanley Miller eksprimentalno je dokazao da izbijanje električne iskre u mješavini NH_3, H_2 i CH_4, u prisutnosti vode, omogućuje formiranje aminokiselina i drugih organskih molekula. Prema ovom eksperimentu, aminokiseline imale su jednu od ključnih uloga u evoluciji i formiranju makromolekula (5). Prema aminokiselinskom sastavu moguće je procijeniti u kolikoj je mjeri protein sposoban zadovoljiti osnovne potrebe orgazma sa potrebnim esencijalnim aminokiselinama te se s obzirom na sadržaj i dostupnost esencijalnih aminokiselina određuje kvaliteta proteina. Stoga je analiza aminokiselina izuzetno bitna u mnogim znanostima (15).

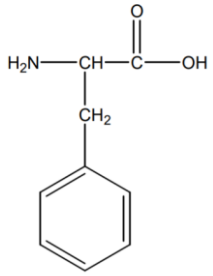
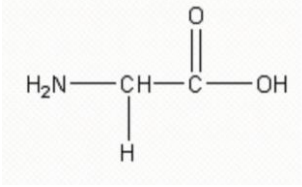
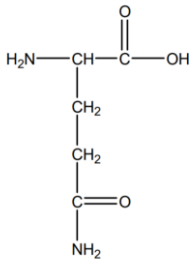
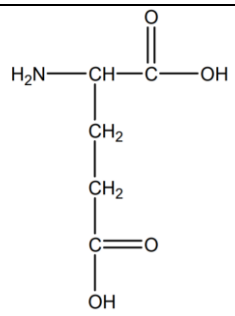
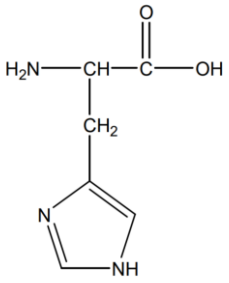
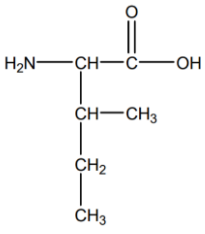
Aminokiseline mogu se konvertirati u druge biološki važne molekule kao npr. triptofan u nikotinamid i serotonin (16), aminokiselina fenilalanin koja zajedno sa svojim metabolitom tirozinom ima važnu ulogu u početnim metaboličkim koracima sinteze dopamina (kemijski spoj, djeluje kao neurotransmiter). (16).

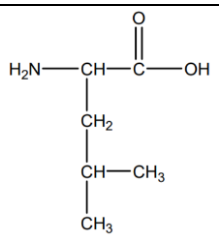
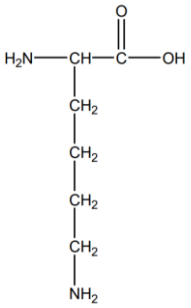
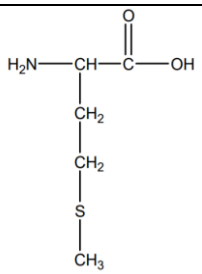
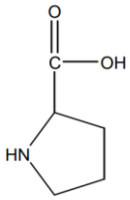
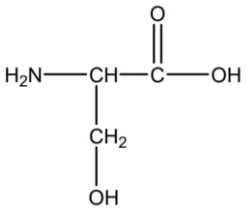
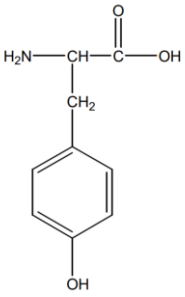
Aminokiseline izrazito su bitne za očuvanje zdravlja, zacjeljivanje ozljeda, regulaciju krvnog pritiska, otpuštanje hormona i regulaciju imunosnog sustava te održavanje fizioloških procesa (16).

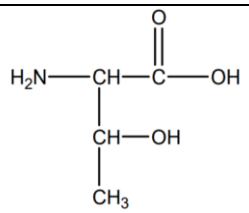
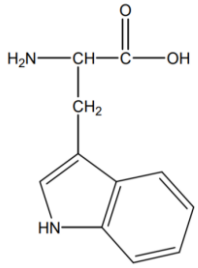
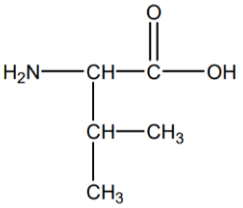
Poznata je kratica BCAA (engl. branched-chain amino acid) za aminokiseline razgranatog lanca – valin, leucin i izoleucin (17). Ove aminokiseline su bitne, naročito u sportu, jer predstavljaju bitne antikataboličke i anaboličke esencijalne aminokiseline koje osiguravaju regeneraciju mišićnog tkiva i sintezu proteina koji imaju ulogu pri rastu mišićne mase (17).

Tablica 4. Podjela aminokiselina, kratice i formule; dostupno na: http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=2289; pristupljeno: 12.2.2019.

Ime	Kratica	Strukturna kemijska formula
Alanin	Ala	
Arginin	Arg	
Asparagin	Asn	
Asparaginska kiselina	Asp	
Cistein	Cys	

Fenilalanin	Phe	
Glicin	Gly	
Glutamin	Gln	
Glutaminska kiselina	Glu	
Histidin	His	
Izoleucin	Ile	

Leucin	Leu	
Lizin	Lys	
Metionin	Met	
Prolin	Pro	
Serin	Ser	
Tirozin	Tyr	

Treonin	Thr	
Triptofan	Trp	
Valin	Val	

Najznačajnije aminokiseline u mesu su fenilalanin, prolin, serin, treonin, tirozin, alanin, arginin, aspartat, asparagin, glutamat, histidin, lizin, leucin, izoleucin i valin, a u manjim omjerima nalaze se aminokiseline cistein, triptofan i metionin. Omjeri aminokiselina razlikuju se s obzirom na vrstu mesa (18 i 19) pa slično kao i kod masnih kiselina mogu imati ulogu u određivanju vrste mesa.

1.4. Kromatografija

Kromatografijom označava se veliki broj sustava i tehnika razdvajanja smjesa. Svim kromatografskim tehnikama zajedničko je postojanje stacionarne (nepokretna) faze i mobilne (pokretne) faze te pojave razdiobe analita između te dvije faze (20). Zbog različitog afiniteta/razdiobe sastojaka smjese prema stacionarnoj/pokretnoj fazi sastojci smjese putuju različitim brzinama kroz kromatografski sustav i zbog toga u različitim vremenima izlaze iz kromatografskog sustava (20).

Osnovna podjela kromatografije temelji se prema vrsti mobilne faze, a dijeli se na plinsku, superkritičnu i tekućinsku kromatografiju (20). Kromatografija ima izrazitu važnost za forenziku jer provođenjem kromatografskih analiza postoji mogućnost detekcije različitih

prijevara. Kromatografijom je moguće odjeljivati kemijske spojeve, kvantitativno odrediti i kvalitativno dokazati o kojemu je kemijskom spoju riječ (20). Također kromatografska analiza se može primijeniti za utvrđivanje odsutnosti ili prisutnosti pojedinog sastojka u smjesi poznatog sastava. Ako se na kromatogramu uzorka ne nalazi pik na vremenu zadržavanja koji ima standard neosporno je da se taj sastojak ne nalazi u uzorku ili se nalazi ispod granica detekcije. Značajna kvaliteta kromatografije krije se u mogućnostima kvantitativne analize koja se temelji na usporedbi površine ili visine analiziranog pika s površinom ili visinom pika standarda (20). Konkretno u ovom istraživanju kroz analizu omjera aminokiselina i masnih kiselina moguće je uspostaviti različite detekcijske markere za različitu vrstu mesa. uz različitu vrstu ili kvalitetu mesa. Naravno, pri svakoj analizi bitna je dobra laboratorijska praksa i stroga ponovljivost radnih uvjeta kromatografske analize.

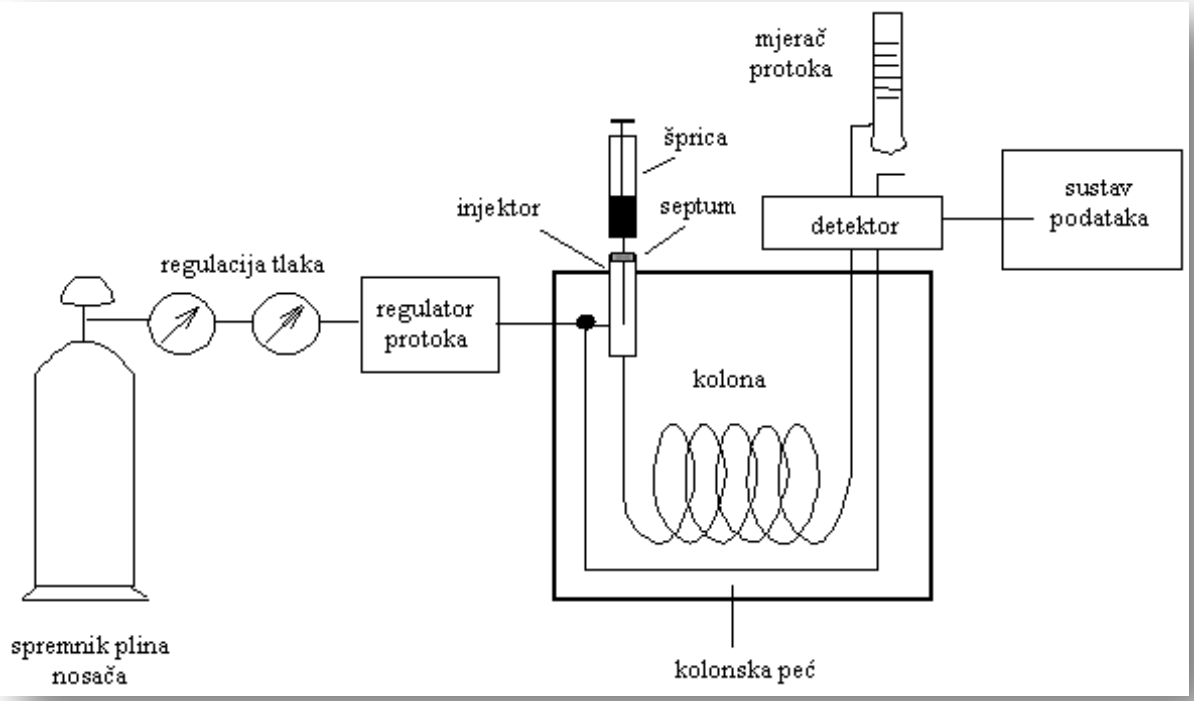
1.4.1. Plinska kromatografija (GC)

Plinska kromatografija je tehnika koja se koristi za razdvajanje plinova, hlapljivih spojeva i spojeva koji se pri povišenoj temperaturi mogu prevesti bez razgradnje u plinovito stanje (21). S obzirom na vrstu stacionarne faze razlikujemo dvije tehnike plinske kromatografije:

1. Plinsko-tekućinska – stacionarna faza je tekućina
2. Plin – krutina – stacionarna faza čvrsta je tvar

Kod plin-krutina plinske kromatografije stacionarna faza (nepokretna faza) je adsorbens (dijatomejska zemlja, silikagel ili aluminijev oksid) koji na sebe adsorpcijom specifično veže komponente smjese, dok je kod plin-tekućina plinske kromatografije stacionarna faza tekućina (20).

Plinski kromatograf je instrument kojim provodimo odvajanja plinskom kromatografijom. Osnovni dijelovi plinskog kromatografa su: spremnik plina nositelja, injektor, kolona koja se nalazi u termostatiranoj peći, detektor i računalo za upravljanje radom i obradu podataka (21).



Slika 8. Osnovni dijelovi plinskog kromatografa. Dostupno na: http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana_Luterotti/09/091/0912.htm; pristupljeno: 9.12.2018.

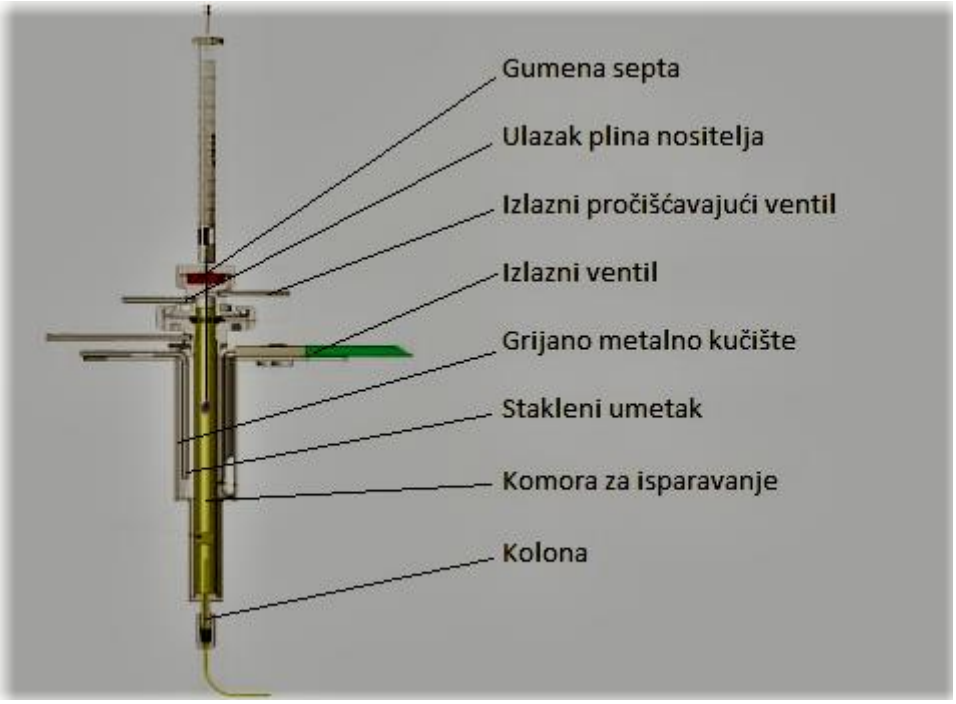
Osnovni dijelovi plinskog kromatografa su (Slika 8):

- **Spremnik za plin nosilac** – Kao plin nosač/mobilna faza najčešće se upotrebljavaju helij, argon, dušik ili ugljični dioksid (21).
- **Injektor** – je mjesto ulaska uzorka u instrument. Njegov odabir ovisi o karakteristikama analita i stacionarne faze u koloni. Preduvjet za dobro razdvajanje je brzo injektiranje male količine uzorka pa je potrebno odabrati pravilan ulazni sistem (21). Razlikuje se više vrsta injektora, a najznačajniji su:
- PTV injektor s mogućnosti programiranog dizanja temperature (neovisno o temperaturi kolone)
- split/splitless injektor
- injektor za punjenje kolone (21).

Najviše je u upotrebi split/splitless injektor koji omogućuje rad s nerazdijeljenim (splitless) ili razdijeljenim (split) uzorkom te je namijenjen radu s kapilarnim kolonama. Uz pomoć mikrošprice uzorak se uštrcava u injektor. Temperaturu injektora je potrebno namjestiti na 50 °C iznad vrelišta najmanje hlapljive komponente uzorka. Otapalo i

uzorak će ispariti na visokoj temperaturi te se miješaju s plinom nosiocem koji je inertan. Ova vrsta injektora omogućuje zadržavanje niskog protoka u koloni i istovremeno propuštanje visokog protoka plina nosioca kroz injektor (21). Kroz izlazni ventil (split outlet) ispušta se višak plina i uzorka (Slika 9).

Split način rada primjenjuje se u radu s koncentriranim uzorcima i omogućuje nam injektiranje uzorka u kratkom vremenu. Upravo ovakav način injektiranja daje nam pouzdane rezultate, odnosno vrlo uske pikove (21).



Slika 9. Dijelovi split/splitless injektora. Dostupno na: https://www.glsciences.eu/html/split-splitless.html; pristupljeno: 9.12.2018. ; uredio: Roko Kunčić

Kod splitless načina rada, tj. bez razdjeljivanja uzorka, protok plina nosioca jednak je protoku u koloni, a u kolonu ulazi ukupna količina uzorka. Ova vrsta injektora korisna je u forenzičnim znanostima jer je pogodna za tragove, odnosno uzorke s niskim koncentracijama analita te je koristan za analizu vrlo hlapivih spojeva. Budući da je injektiranje uzorka u kolonu relativno sporo, kromatograf nam daje šire pikove (21).

Kolone za plinsku kromatografiju (Slika 10) – postoje punjene i kapilarne. Punjene kolone najčešće su kraće od kapilarnih, dugačke su 1,5 do 10 metara, a unutarnji promjer im je 2 do 4 mm. Mogu biti ispunjene čvrstim nosačem na koji može biti adsorbirana tekućina, a mogu biti od nehrđajućeg čelika ili stakla. Kapilarne kolone su duge od 5 metara pa sve do 100 metara, a što se tiče materijala, najčešće je to amorfno sintetičko staklo s vanjskim poliamidnim slojem (21). Kemijski vezana stacionarna faza nalazi se na unutrašnjoj površini kapilarne

kolone. Iako stacionarne faze mogu biti različite, najviše se koriste termički stabilni polimeri velike molekulske mase (polietilen glikoli ili polisiloksani). Prema vrelištu uzorka određuje se optimalna temperatura kolone. Temperaturni program koristi se kad se analiziraju kompleksni uzorci (21).



Slika 10. Staklena, punjena i kapilarna kolona. Dostupno na: http://people.whitman.edu/~dunnivfm/C_MS_Ebook/CH2/2_3_3.html; pristupljeno: 7.11.2018.

- **Kromatografski detektor –** Odabir detektora ovisi o namjeni, budući da detektori imaju različitu osjetljivost, selektivnost, različito linearno radno područje, a razlikuju se i u cijeni, jednostavnosti upotrebe i dostupnosti rezervnih dijelova. Postoje selektivni detektori koji reagiraju samo na pojedine atome, funkcionalne skupine ili strukturne konfiguracije i univerzalni detektori koji mogu detektirati sve vrste spojeva (21). Najčešće se koriste detektor toplinske provodljivosti – TCD (engl. *Thermal conductivity detector*) i plameno-ionizacijski detektor – FID (engl. *Flame ionization detector*). Ova dva detektora sposobna su raditi u širokom koncentracijskom rasponu, osjetljivi su na veliki broj različitih analita i robusni su. FID je bolji od TCD-a u području detekcije organskih spojeva i to mu je osnovna namjena, a TCD predstavlja univerzalni detektor koji detektira sve spojeve čija je toplinska vodljivost drugačija od toplinske vodljivosti plina nosioca.

  U selektivne detektore spadaju: detektor apsorpcije elektrona (ECD, engl. *Electron Capture Detector*), dušik-fosforni detektor (NPD, engl. *Nitrogen Phosphorus Detector*), maseno selektivni detektor (MSD, engl. *Mass Selective Detector*), plameno-

fotometrijski detektor (FPD, engl. *Flame Photometric Detector*) i detektor ionizacije helija (HID, engl. *Helium Ionization Detector*).

Detektori često koriste dodatne plinove (uz plin nosilac). Koji će plinovi biti potrebni, ovisi o vrsti detektora (21).

Spojeve koji nisu hlapivi i termički stabilni ili su suviše polarni, potrebno je derivatizirati prije analize plinskom kromatografijom. Derivatizacija uzorka postupak je koji se koristi za povećanje temperaturne stabilnosti. Derivatizacija izbjegava se kad god je to moguće, budući da predstavlja dodatni korak ili više postupaka pri kojima postoji mogućnost pogreške. No, ovaj postupak ponekad je potreban, budući da olakšava detekciju analita i daje bolje kromatografsko razdvajanje. Mnogi iznimno bitni spojevi ne sadrže odgovarajuću hlapljivost koja je potrebna u plinsko kromatografskoj analizi. Derivatizacija takvih spojeva povećava selektivnost detekcije, hlapljivost spoja, mogućnost detekcije, osjetljivost pojedinih razdvajanja i specifičnost spoja (21).

1.4.2. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC (eng. *High-Performance Liquid Chromatography-kromatografija visoke učinkovitosti razdvajanja***)** vrsta je kromatografije koja koristi tekućinu kao mobilnu fazu i stacionarnu fazu koja se sastoji od finih čestica silicijeva dioksida koje su najčešće kemijski modificirane. Da bi se dobili odgovarajući protoci kroz sloj tako sitnih čestica potrebni su visoki tlakovi od nekoliko milijuna Pa (20). HPLC se uveliko koristi zbog svoje iznimne razdjelne snage, niskog praga detekcije, brzine i uspješnog odvajanja različitih vrsta uzoraka (21). Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti predstavlja automatizirani sustav koji se koristi za kvantitativne i kvalitativne analize uzorka. Pri usporedbi s GLC-om (plinsko tekućinskom kromatografijom), HPLC ima prednost mogućnosti primjene za toplinski nestabilne i nehlapljive uzorke te ima opću primjenu za anorganske ione (20)

Prednosti HPLC metode su (22):

- Značajna ušteda vremena
- Precizno određivanje koncentracija
- Potpuna automatizacija

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti predstavlja jedan od oblika kromatografije koji se vrlo često koristi u analitičkoj kemiji. Zadržavanje pojedinog sastojka ovisit će o njegovim karakteristikama, o stacionarnoj fazi te ujedno i o sastavu mobilne faze (20). Nakon što pojedini sastojak eluira, odnosno dođe do kraja kromatografskog sustava bilježi se retencijsko vrijeme uz pomoć kojeg se može identificirati svaka pojedina komponenta određene smjese (20).

S obzirom na relativnu polarnost stacionarne i mobilne faze, razlikuju se dvije vrste razdjelne kromatografije:

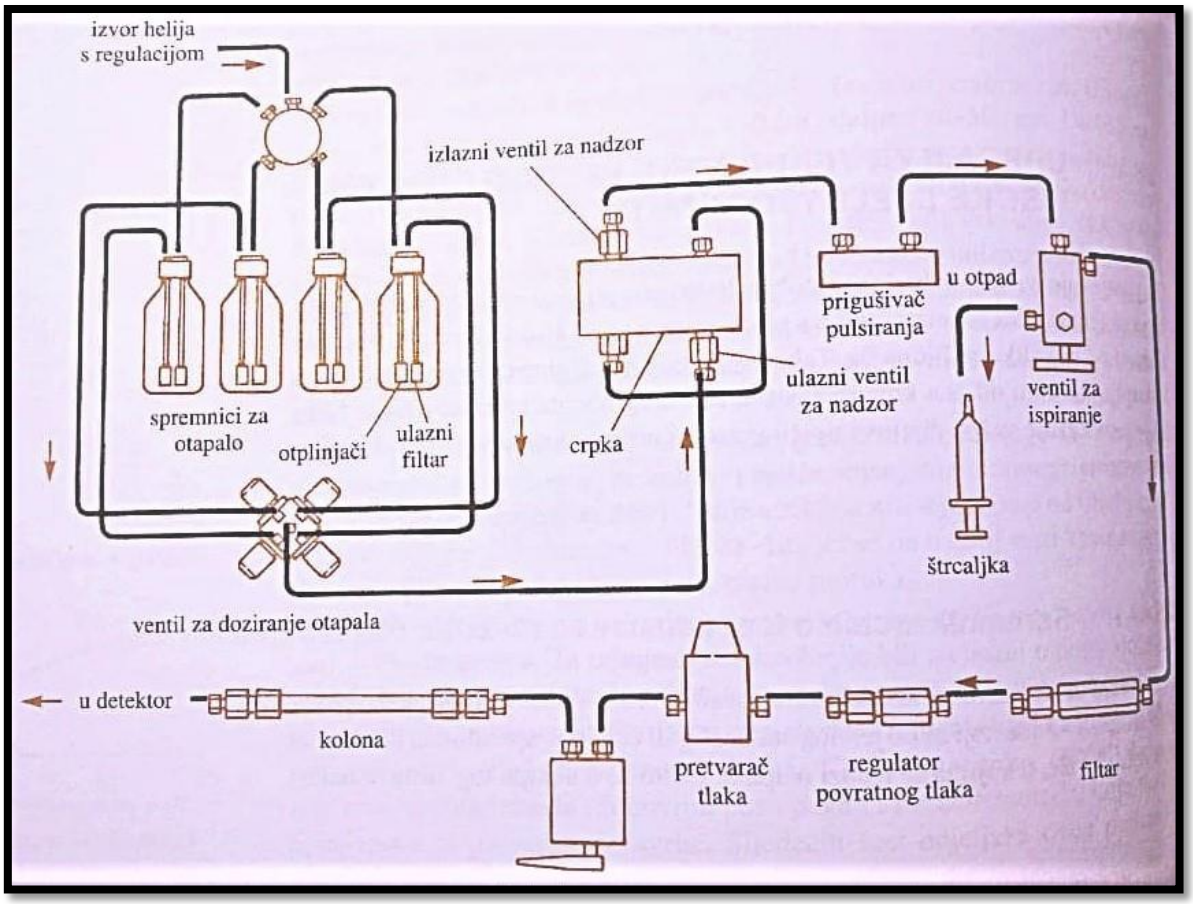
1. Kromatografija na normalnoj fazi

Ova tehnika koristi polarnu stacionarnu fazu (20). Koliko će se vremena neka komponenta smjese zadržavati na česticama stacionarne faze ovisi o samoj polarnosti tvari, budući da polarnije tvari imaju i veću jačinu apsorpcije. Moguće je smanjiti retencijsko vrijeme pojedine komponente ako koristimo polarnija otapala (20).

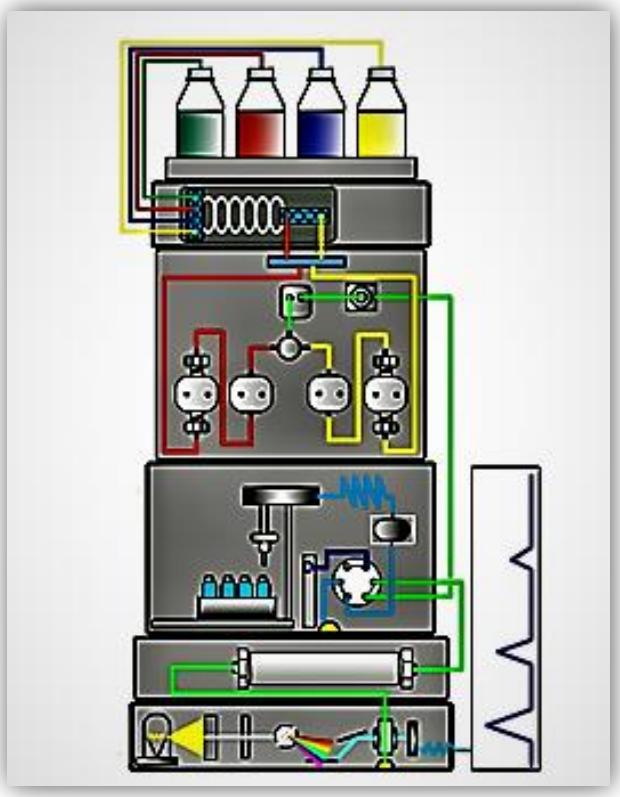
2. Kromatografija na reverznoj fazi

U ovoj tehnici koristi se nepolarna stacionarna faza (20). Ova metoda temelji se na hidrofobnim interakcijama, a uzrok hidrofobnih reakcija su odbijajuće sile između tvari koja se analizira (relativno nepolarna), polarnog otapala i nepolarne stacionarne faze. Tvari koje su više polarnije će se kraće zadržavati, dok će se manje polarne tvari dulje zadržavati. Dodatkom polarnih otapala u mobilnu fazu povećava se vrijeme zadržavanja. Ako se doda hidrofobno otapalo u mobilnu fazu vrijeme zadržavanja se smanjuje. pH utječe na promjenu polarnosti analizirane tvari te na brzinu eluiranja (20).

Osnovne komponente uređaja za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti su: spremnici otapala, injektor, pumpa, kolona i detektor (Slika 11 i 12). U tekućinskoj kromatografiji visoke djelotvornosti najčešće se koristi UV-VIS detektor, no u upotrebi nalaze se i ostali detektori poput detektora indeksa loma, elektrokemijskog detektora, fluorescentnog detektora i masenog spektrometra (MS) (21).



Slika 11. Dijelovi uređaja za visokodjelotvornu tekućinsku kromatografiju. (Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., 694. Str.).



Slika 12. Shema HPLC-a (Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti). Dostupno sa: https://www.chromacademy.com/HPLC-Operation-part-2.html?tpm=1_1; pristupljeno: 14.12.2018.

Osnovni dijelovi HPLC-a su:

- **Pumpe za mobilnu fazu** – neovisno o promjeni viskoziteta, ove pumpe moraju stalno osiguravati ponovljiva retencijska vremena, površine pikova, volumene eluiranja i stalan protok. Moderne pumpe osiguravaju nam maksimalni tlak od 34.500 kPa, stabilnost protoka (<1%) i raspon protoka od 0,01 do 10 mL/min (21).
- **Injektor** –Ventilni injektori omogućuju brzo i ponovljivo injektiranje. Najčešće je u upotrebi Rheodyne ventil koji sadrži vanjsku čeličnu petlju u koju se injektira uzorak. Nakon što se ventil okrene u smjeru sata, petlja koja je napunjena uzorkom postavlja se u struju pokretne faze koja ga uvodi u početak kolone (21).
- **HPLC kolone** – Napunjene su nepokretnom (stacionarnom) fazom s vrlo sitnim česticama od 3 do 10 μm, obično su 10 do 25 cm dugačke čelične cijevi, unutarnjeg promjera od 4,0 do 4,6 mm (no postoje i kolone čiji je promjer manji od ovih vrijednosti). Ako kolona nije u upotrebi, potrebno ju je zaštiti od isušivanja. Pri izboru kolone treba pripaziti na dimenzije kolone kao i na veličinu i sastav čestica nepokretne (stacionarne) faze (21).

- **Detektori za HPLC sustave** – Danas se najčešće koriste spektroskopski i maseni detektori. Bolja verzija UV/VIS detektora je DAD detektor (engl. *Dioda array detector*). Pomoću ovoga detektora možemo ukloniti interferirajući spektar, ako poznajemo ciljani spektar. Također, omogućuje nam procjenu čistoće pika nakon računanja apsorpcijskog omjera. Od ostalih detektora koristi se univerzalni detektor indeksa prelamanja koji je najmanje osjetljiv, čak 100 puta manje od UV detektora. Postoje i vrlo selektivni i osjetljivi detektori kao što je elektrokemijski i fluorescentni detektor (21).

1.5. Ekstrakcija

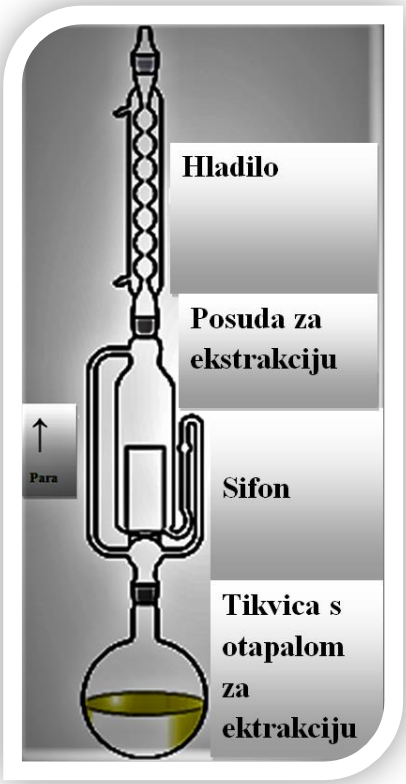
1.5.1. Soxhlet ekstrakcija

Soxhletov uređaj dobio je ime po njemačkom kemičaru Franz Ritter von Soxhlet (23). Sastoji se od: tikvice s otapalom, središnjeg dijela Soxhlet ekstraktora na koje je postavljeno povratno hladilo (20). Princip rada ovog ekstraktora temelji se na isparavanju organskog otapala iz tikvice koja se grije, a otapalo mora biti toliko hlapivo da iz donjeg dijela aparature dođe do povratnog hladila, gdje se kondenzira, i kapa u srednji dio za ekstrakciju i pri tome otapa analit te se preko sifona vraća u tikvicu s vrijućim otapalom (24). Soxhlet ekstrakcija najčešće se koristi za ekstrakciju analita iz čvrstih uzoraka. Da bi se ova ekstrakcija ispravno provodila, za ekstrakciju se treba izabrati otapalo u kojem je analit dobro topljiv. Pri ekstrakciji može se koristiti smjesa otapala ili samo jedno otapalo, no bitno je da imaju mali afinitet prema uzorku, jaku hlapljivost, veliki afinitet prema analitu, malu viskoznost te da se lako uklanjaju iz ekstrahiranog uzorka. Važno je naglasiti da se treba postići određena temperatura vrenja otapala za ekstrakciju da bi ova ekstrakcija započela te spojevi koji se ekstrahiraju moraju biti stabilni pri temperaturi vrenja.

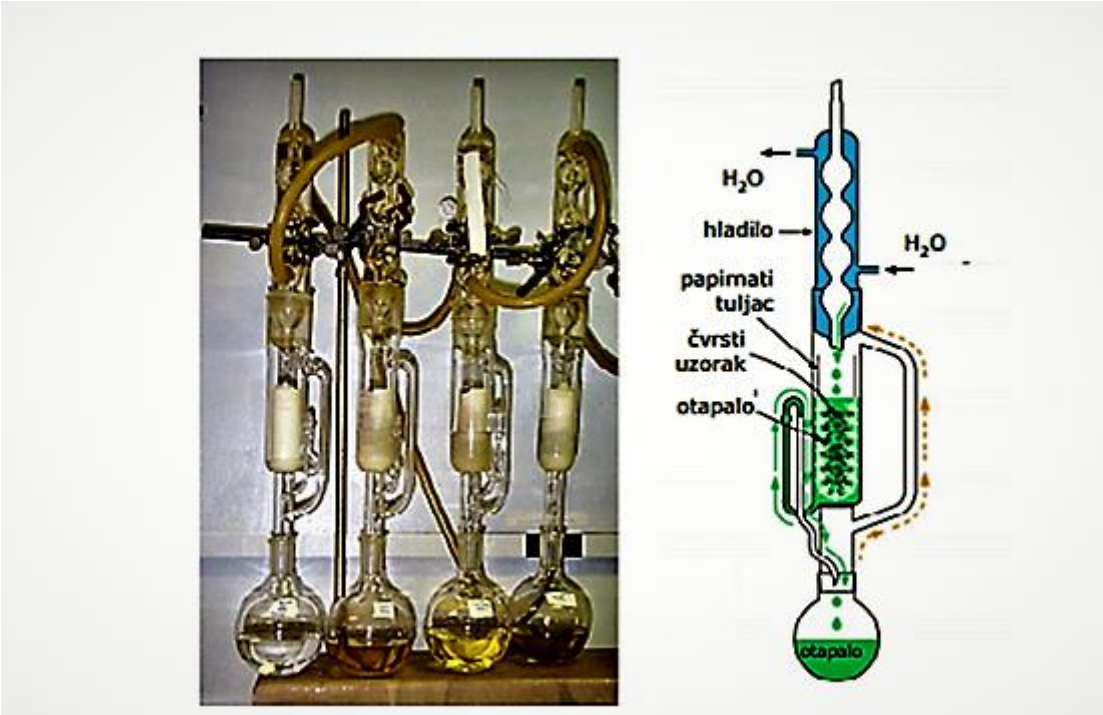
Osnovne mane Soxhlet ekstrakcije su:

- dugo trajanje, otprilike sat vremena po uzorku
- zagađenje okoliša zbog velike potrošnje organskih otapala
- potrebno je koncentrirati ekstrakt uparivanjem na rotavaporu

Soxhlet ekstrakcija najčešće se koristi za ekstrakciju pesticida, organskih spojeva, PCB-a iz uzoraka tla, sedimenata, iz čvrstog otpada te biljnog i životinjskog tkiva (25). Na slikama 13. i 14. prikazani su potrebni materijali za izvedbu Soxhlet ekstrakcije.



Slika 13. Soxhlet uređaj. Dostupno sa: https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=Soxhletov+ekstraktor, pristupljeno: 9.12.2018.



Slika 14. Povezani sustav Soxhlet uređaja. Dostupno sa: file:///C:/Users/12002453/Downloads/RN-Opci%20dio-%20Dijana%20i%20Marina-svibanj%202009.pdf; pristupljeno: 9.12.2018.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja je odrediti ukupne masti, sastav masnih kiselina u ukupnim mastima te sastav i omjere amino kiselina u raznim vrstama mesa te time doznati postoje li razlike između različitih vrsta mesa i različitih pozicija unutar određene vrste mesa.

Hipoteze:

1. Udio ukupnih masti i sastav masnih kiselina ovisi i o dijelu i o vrsti mesa
2. Sastav aminokiselina ovisi i o dijelu i o vrsti mesa
3. Prisutne su nutritivne razlike između bijelog i crvenog mesa

3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. Materijali istraživanja

3.1.1. Uzorci

U tablici 5. navedene su vrste mesa, pozicije i mjesto nabavka pojedinog uzorka. Svaki uzorak mesa je usitnjen kuhinjskim multipraktikom i do analize pohranjen pri -80 °C.

Tablica 5. Popis uzoraka koji su korišteni u analizama

Oznaka	Vrsta mesa/pozicija	Nabavljeno
1	Juneći but bez kosti, prva kategorija	Plodine
2	Juneća lopatica bez kosti, druga kategorija	Plodine
3	Svinjska lopatica bez kosti, druga kategorija	Plodine
4	Svinjski but bez kosti, prva kategorija	Plodine
5	Juneća lopatica bez kosti	Tommy
6	Juneći but bez kosti	Tommy
7	Svinjski but bez kosti	Tommy
8	Pileća prsa bez kosti, Cekin (pile)	Plodine
9	Pileći batak s kožom, Cekin (pile)	Plodine
10	Pileći zabatak s kožom, Cekin (pile)	Plodine
11	Juneća crna jetra	Pivac
12	Juneći but bez kosti	Pivac
13	Juneća lopatica bez kosti	Pivac
14	Pureći batak s kožom bez kosti	Purex
15	Pureći zabatak s kožom bez kosti	Purex
16	Pileća prsa bez kože bez kosti	Purex
17	Pureća prsa bez kože bez kosti	Purex
18	Pileći batak s kožom bez kosti	Purex

Oznaka	Vrsta mesa/pozicija	Nabavljeno
19	Pileći zabatak s kožom bez kosti	Purex
20	Pileća jetra	Purex
21	Pureća jetra	Purex
22	Svinjski but bez kosti	Lidl
23	Pureća prsa bez kože, bez kosti	Lidl
24	Pureći batak s kožom bez kosti	Lidl
25	Pileći batak s kožom, bez kosti	Mesnica Kate
26	Pileći zabatak s kožom, bez kosti	Mesnica Kate
27	Pileća prsa bez kože	Mesnica Kate
28	Pureća prsa bez kože, bez kosti	Mesnica Kate
29	Pileća jetra	Mesnica Kate
30	Pileća jetra	Marka Jata, Lidl
31	Svinjska lopatica bez kosti, druga kategorija	Konzum
32	Juneći but bez kosti	Konzum
33	Juneća jetra	Konzum

Za analizu Soxhlet ekstrakcijom korištne su slijedeće kemikalije i oprema:

a) Vaga
b) Soxhlet ekstraktor 3. kom.
c) Menzura.
d) Stalak i Čaše (26*60 mm)
e) Tuljci od celuloze
f) Okrugle tikvice s ravnim dnom od 250 ml
g) Staklena zrnca potrebna za vrenje (promjera 3 do 4 mm)
h) Pećnica – s mogućnošću održavanja temperature 125 °C (± 1 °C).
i) Kvarcni pijesak- ekstrahirani 0.004 g/ 5 g
j) Nemasni pamuk
k) Vakuum uparivač-rotavapor
l) Vodena kupelj
m) Laboratorijski stalci i hvataljke za montažu uređaja za ekstrakciju

Kao otapalo za ekstrakciju koristio se petrol eter.

Za analizu udjela masnih kiselina pomoću plinskog kromatografa koriste se:

- pipete
- heptan
- 2M metanolna otopina KOH
- kolona
- plinski kromatograf
- igle za injektiranje
- staklene epruvete

Za analizu udjela pojedinih aminokiselina pomoću tekućinskog kromatografa visoke djelotvornosti potrebno je:

- staklene epruvete s čepom i brtvom za hidrolizu uzoraka
- otopina HCl-a (1:1)
- natrijev bikarbonat – za neutralizaciju
- AccQ*Tag^{TM} Borat pufer
- AccQ*Tag^{TM} Fluor reagens
- vorteks miješalica
- termoregulator
- automatske pipete
- kolona
- tekućinski kromatograf

3.2. Metode analize

3.2.1. Određivanje ukupnih masti u mesu Soxhlet ekstrakcijom

Izvaže se oko 3 g uzorka na način da satno staklo i filter papir tariramo, a zatim na filter papir stavimo oko 3 grama uzorka i zabilježimo težinu uzorka na četiri decimale. Na odvagani

uzorak doda se kvarcnog pijeska te se staklenim štapićem pažljivo pomiješa s uzorkom. Na štapiću ostane nešto uzorka kojeg treba obrisati s malom količinom pamuka, koji se zajedno s uzorkom i filter papirom utisne u celulozni tuljak i stavi u Soxhlet-ov ekstraktor. Spoji se aparatura tako da se u prethodno osušenu i izvaganu okruglu tikvicu s ravnim dnom ulije 160 ml petroletera i na nju se spoji ekstraktor u koji smo stavili celulozni tuljak s uzorkom, a na vrh se postavilja povratno hladilo (slike 13. i 14.). Aparaturu koja je učvršćena na jednom laboratorijskom stalku stavimo u vodenu kupelj i započnemo ekstrakciju te namjestiti temperaturu vode prema željenoj kondenzacijskoj stopi/brzini ekstrakcije (otprilike 5 kapi po sekundi). Ekstrakcija se provodi 10 do 12 ciklusa (jedan ciklus je završio nakon što se petrol eter vratio kroz sifon u posudu za ekstrakciju). Pri ovom otapalo se kondenzacijom sakuplja u ekstraktoru, otapa analit i kroz sifon vraća u tikvicu s otapalom. Ekstrahirani topljivi materijal će se sakupljati u tikvici jer on ima puno više vrelište od petroletera.

Nakon ekstrakcije, čitava aparatura se izvadi iz vodene kupelji, ohladi te se otapalo iz tikvice s ekstrahiranom masnoćom upari na rotavaporu.

Zatim se tikvica stavlja u pećnicu i suši se 30 minuta pri 125 °C. Nakon 30 minuta, tikvica se izvadi iz pećnice i ostavi je u eksikatoru oko 30 minuta da se ohladi i važe. Ovaj postupak treba ponavljati do stalne odvage. Postotak masti u uzorku izračuna se prema formuli:

Sadržaj masti, % =[(težina ekstrakcijske tikvice u gramima nakon sušenja – težina ekstrakcijske tikvice prije ekstrakcije izražena u gramima)] *100/ težina analiziranog uzorka u gramima

3.2.2. Određivanje udjela masnih kiselina plinskom kromatografijom

Na tehničkoj vagi odvaže se u staklenoj epruveti oko 0,1 g uzorka masti koje smo dobili nakon Soxhlet ekstrakcije. Uzorak se otopi u 2 mL heptana i zatim se doda 0,2 mL 2 M hladne metanolne otopine KOH. Epruveta se mućka 30 sekundi i zatim se ostavi 5 minuta kako bi se slojevi jasno odvojili. Gornji sloj sadrži metilne estere masnih kiselina. Ne preporučuje se čuvanje ovako pripremljenog uzorka duže od 12 sati te je poželjno da se uzorak nakon dekantiranja što prije analizira plinskom kromatografijom. U plinski kromatogram se injektira 1µL heptanskog sloja. Odjeljivanje metilnih estera provelo se na kapilarnoj Restek koloni Rtx – 2330 s unutrašnjim promjerom 0,25 mmID, 30 m dugačke s

0,2 μm df debljine stacionarne faze. Početna temperatura programa iznosi 140 °C i diže se na 210 °C (5 °C na minutu) i ova temperatura održava se 16 minuta. Ukupno trajanje analize iznosi 30 minuta. Protok plina nosača izosi 3 ml na minutu temperatura injektora iznosi 225 °C, a detektora 240 °C. Za svaki uzorak provode se dva injektiranja. Konačni rezultat analize pojedinog uzorka relativni je postotni udio svake prisutne masne kiseline.

3.2.3. Određivanje udjela pojedinih aminokiselina tekućinskom kromatografijom

Aminokiselinski sastav pojedine namirnice analizira se kroz nekoliko koraka:

1. Hidroliza proteina do aminokiselina

2. Kromatografsko odvajanje aminokiselina

3. Detekcija i kvantifikacija aminokiselina (15)

U staklenu epruvetu s čepom na navoj i brtvom odvagalo se oko 20 mg uzorka. Nakon toga doda se u epruvetu 1 mL HCl-a/voda = 1:1. Epruvete pripremljene na ovaj način griju se 12 sati pri 105 °C te nakon hlađenja se neutraliziraju dodatkom krutog natrijeva bikarbonata do pH 7 - 8. Vodeni sloj odvoji se u novu čistu posudicu. U staklenu tubicu dimenzija 6x50 mm stavi se 10 μL neutraliziranog hidrolizata, 70 μL AccQ*Tag^{TM} boratnog pufera i lagano vorteksira. Nakon toga se doda 20 μL otopine AccQ*Tag^{TM} Fluor reagensa za derivatizaciju i ponovo se vorteksira. Ovako pripremljena otopina ostavi se 60 sekundi pri sobnoj temperaturi. Uzima se bočica za injektiranje s umetkom za male volumene te se u umetak prebaci derivatizirani uzorak. Bočica se zatvori i na termostatu ostavi 10 minuta pri 55 °C. Nakon toga bočica se postavlja u autosampler HPLC uređaja koji injektira 5 μL derivatiziranog uzorka. Temperatura kolone je 37 °C, a protok mobilne faze je iznosio 1 ml po minuti. AccQ * Tag pufer predstavljao je otapalo A, a otapalo B bila je 60%-tna smjesa acetonitrila i vode (60:40). Korišten je fluorescentni detektor te je valna duljina pobude iznosila 250 nm, a emisije 395 nm. Program pumpanja i detekcije trajao je 50 minuta te je prikazan u tablici 6. Aminokiseline detektirane su usporedbom retencijskih vremena uzoraka aminokiselina s retencijskim vremenima standarda aminokiselina "Waters Amino Acid Hydrolysate".

Tablica 6. Program HPLC-a

Korak	Vrijeme	Protok	Pufer (A)	Acetonitril/voda (B)
0	0,5	1,00	100	0
1	0,5	1,00	98	2
2	15,0	1,00	93	7
3	4,0	1,00	89	11
4	13,0	1,00	67	33
5	1,0	1,00	67	33
6	1,0	1,00	0	100
7	8,5	1,00	0	100
8	1,0	1,00	100	0
9	6,0	1,00	100	0

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Rezultati analize masnih kiselina u mesu pomoću Soxhlet ekstrakcije

Rezultati analize prikazani su u tablici 7:

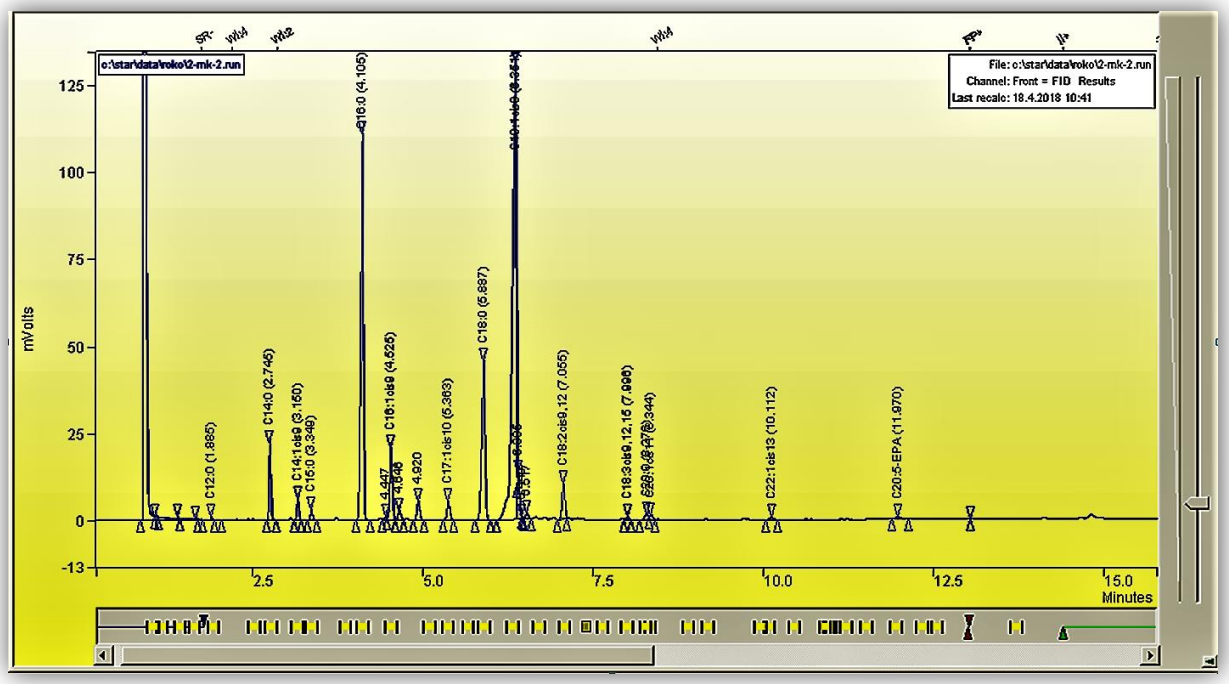
Tablica 7. Rezultati analize postotka masnoće u mesu pomoću Soxhlet ekstrakcije

Oznaka	Podatci	Postotak masnoće/ %
1	Juneći but bez kosti, prva kategorija	5,19
2	Juneća lopatica bez kosti, druga kategorija	17,32
3	Svinjska lopatica bez kosti, druga kategorija	14,58
4	Svinjski but bez kosti, prva kategorija	3,17
5	Juneća lopatica bez kosti	2,30
6	Juneći but bez kosti	0,57
7	Svinjski but bez kosti	4,16
8	Pileća prsa bez kosti, Cekin (pile)	3,05
9	Pileći batak s kožom, Cekin (pile)	4,32
10	Pileći zabatak s kožom, Cekin (pile)	13,72
11	Juneća crna jetra	1,46
12	Juneći but bez kosti	4,38
13	Juneća lopatica bez kosti	5,22
14	Pureći batak s kožom bez kosti	6,71
15	Pureći zabatak s kožom bez kosti	8,18
16	Pileća prsa bez kože bez kosti	0,67
17	Pureća prsa bez kože bez kosti	1,59
18	Pileći batak s kožom bez kosti	6,19
19	Pileći zabatak s kožom bez kosti	23,40

Oznaka	Podatci	Postotak masnoće/ %
20	Pileća jetra	4,85
21	Pureća jetra	2,21
22	Svinjski but bez kosti	2,75
23	Pureća prsa bez kože, bez kosti	0,41
24	Pureći batak s kožom bez kosti	3,39
25	Pileći batak s kožom, bez kosti	12,51
26	Pileći zabatak s kožom, bez kosti	13,40
27	Pileća prsa bez kože	0,31
28	Pureća prsa bez kože, bez kosti	0,78
29	Pileća jetra	4,35
30	Pileća jetra	4,86
31	Svinjska lopatica bez kosti, druga kategorija	25,54
32	Juneći but bez kosti	3,67
33	Juneća jetra	3,03
	Slijepa proba	0,04

4.2. Rezultati određivanja udjela pojedinih masnih kiselina plinskom kromatografijom

Nakon provedene analize masnih kiselina uz pomoć GC-a (eng. Gas Chromatography) dobiveni su rezultati koji prikazuju sadržaj masnih kiselina u pojedinoj vrsti mesa. Prikazani rezultati iskazuju srednju vrijednost dva izvedena run-a (svaki uzorak je analiziran dva puta). U svakoj životinjskoj vrsti različiti su omjeri masnih kiselina, također razlikuju se i udjeli masnih kiselina prema dijelovima mesa iste životinjske vrste. U tablicama su se masne kiseline ispod granice detekcije označile kraticom i.g.d.



Slika 15. Kromatogram masnih kiselina.

Tablica 8. Retencijska vremena za određivanje masnih kiselina

Masne kiseline	Retencijska vremena
C6:0	1,085
C8:0	1,129
C10:0	1,329
C11:0	1,400
C12:0	1,888
C13:0	1,926
C14:0	2,750
C14:1cis9	3,153
C15:0	3,351
C15:1cis10	3,712
C16:0	4,129
C16:1cis9	4,530
C17:0	4,921
C17:1cis10	5,364
C18:0	5,907
C18:1cis9	6,365

Masne kiseline	Retencijska vremena
C18:2tran9,1	6,634
C18:2cis9,12	7,063
C20:0	7,989
C18:3cis6,9,	8,276
C18:3cis9,12	8,293
C20:1cis11	8,337
C21:0	8,906
C20:2cis11,1	9,128
C22:0	10,113
C20:3cis11,1	10,636
C22:1cis13	11,536
C24:0	12,000
C20:5-EPA	12,398
C24:1cis15	12,706
C22:6-DPA	14,096

4.2.1. Svinjetina

Analizirana su 3 uzorka svinjskog buta i dva uzorka svinjske lopatice. Uzorci su kupljeni u različitim trgovinama. Rezultati analize prikazani su u tablici 9.

Tablica 9. Rezultati analize masnih kiselina kod uzoraka svinjskog buta i svinjske lopatice

Masne kiseline	Uzorci svinjskog buta			Uzorci svinjske lopatice	
	Uzorak br. 4 % / 100 %	Uzorak br. 7 % / 100 %	Uzorak br. 22 % / 100 %	Uzorak br. 3 % /100 %	Uzorak br. 31 % / 100 %
C6:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	1,82±0,56
C8:0	0,02±0,00	i.g.d.	0,02±0,00	i.g.d.	1,63±0,02
C10:0	0,13±0,00	i.g.d.	0,01±0,00	i.g.d.	2,97±0,46

Masne kiseline	Uzorak br. 4 % / 100 %	Uzorak br. 7 % / 100 %	Uzorak br. 22 % / 100 %	Uzorak br. 3 % /100 %	Uzorak br. 31 % / 100 %
C11:0	0,15±0,00	i.g.d.	0,06±0,01	0,10±0,02	2,37±0,26
C12:0	0,04±0,01	i.g.d.	0,12±0,01	0,12±0,02	1,16±0,13
C13:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	1,06±0,05
C14:0	1,32±0,00	1,27±0,11	1,66±0,09	1,63±0,18	2,61±0,04
C14:1cis9	0,03±0,00	0,06±0,00	0,06±0,03	0,09±0,01	i.g.d.
C15:0	0,04±0,00	0,09±0,01	0,05±0,03	i.g.d.	0,61±0,06
C15:1cis10	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,23±0,03
C16:0	23,94±0,04	22,32±0,72	26,60±0,48	24,30±0,65	24,06±0,61
C16:1cis9	2,84±0,08	3,78±0,15	3,43±0,12	3,17±0,16	2,50±0,01
C17:0	0,22±0,00	0,32±0,00	0,25±0,00	0,29±0,01	0,31±0,02
C17:1cis10	0,25±0,01	0,43±0,01	0,39±0,03	0,32±0,04	0,28±0,02
C18:0	12,34±0,03	8,27±0,16	12,78±0,36	10,97±0,32	14,21±0,23
C18:1cis9	46,34±0,04	47,11±0,60	46,08±0,65	42,09±0,82	38,98±0,73
C18:2tran9,1	0,03±0,00	i.g.d.	0,04±0,00	i.g.d.	i.g.d.
C18:2cis9,12	8,95±0,05	13,50±0,12	5,11±0,03	13,32±0,26	3,85±0,07
C20:0	0,15±0,00	0,64±0,00	0,51±0,02	0,93±0,02	0,29±0,01
C18:3cis6,9,	i.g.d.	i.g.d.	0,50±0,41	i.g.d.	i.g.d.
C18:3cis9,12	0,44±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C20:1cis11	1,03±0,01	0,89±0,04	0,96±0,07	0,67±0,01	0,67±0,01
C21:0	0,01±0,00	i.g.d.	0,02±0,00	i.g.d.	i.g.d.
C20:2cis11,1	0,41±0,00	0,48±0,02	0,24±0,02	0,49±0,03	0,19±0,00
C22:0	0,47±0,01	0,62±0,03	0,51±0,04	0,59±0,02	0,20±0,01
C20:3cis11,1	i.g.d.	i.g.d.	0,02±0,01	i.g.d.	i.g.d.
C22:1cis13	0,04±0,00	0,05±0,01	0,21±0,03	0,12±0,04	i.g.d.
C24:0	0,40±0,01	i.g.d.	0,02±0,00	0,44±0,25	i.g.d.
C20:5-EPA	0,11±0,00	0,17±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	i.g.d.
C24:1cis15	0,08±0,00	i.g.d.	0,07±0,01	i.g.d.	i.g.d.
C22:6-DPA	0,20±0,02	i.g.d.	0,16±0,08	0,22±0,12	i.g.d.

4.2.2. Junetina

Analizirana su 4 uzorka junećeg buta i 3 uzorka juneće lopatice. Svaki uzorak kupljen je u drugom supermarketu. U tablici 10. prikazani su rezultati cjelokupne analize masnih kiselina kod analiziranih uzoraka junećeg buta i juneće lopatice.

Tablica 10. Rezultati analize masnih kiselina kod analiziranih uzoraka junećeg buta i juneće lopatice

Masna kiselina	Uzorci junećeg buta				Uzorci juneće lopatice		
	Uzorak br. 1	Uzorak br. 6	Uzorak br. 12	Uzorak br. 32	Uzorak br. 2	Uzorak br. 5	Uzorak br. 13
	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %
C6:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C8:0	0,19±0,03	1,33±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,05±0,00
C10:0	0,19±0,02	i.g.d.	i.g.d.	0,12±0,01	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C11:0	0,23±0,00	2,31±0,39	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,04±0,01	0,11±0,00
C12:0	0,05±0,01	1,35±0,03	i.g.d.	0,05±0,00	0,12±0,02	0,05±0,00	0,10±0,01
C13:0	0,17±0,00	0,80±0,02	i.g.d.	i.g.d.	0,07±0,00	i.g.d.	i.g.d.
C14:0	2,53±0,07	3,66±0,02	3,73±0,76	3,05±0,02	3,56±0,24	1,83±0,02	3,80±0,34
C14:1cis9	0,55±0,13	0,73±0,01	1,39±0,30	1,10±0,01	1,11±0,08	0,41±0,00	1,05±0,09
C15:0	i.g.d.	0,40±0,00	0,50±0,14	0,54±0,00	0,58±0,02	0,23±0,00	0,60±0,04
C15:1cis10	0,24±0,03	0,19±0,11	i.g.d.	0,08±0,00	i.g.d.	0,13±0,01	0,32±0,02
C16:0	27,04±0,49	27,86±0,04	32,39±2,06	24,55±0,03	24,90±0,31	22,23±0,15	29,93±1,02
C16:1cis9	3,29±0,07	3,10±0,01	5,88±0,64	6,56±0,03	4,58±0,11	4,00±0,03	4,13±0,17

Masna kiselina	Uzorak br. 1 % / 100 %	Uzorak br. 6 (% / 100 %)	Uzorak br. 12 (% / 100 %)	Uzorak br. 32 (% / 100 %)	Uzorak br. 2 (% / 100 %)	Uzorak br. 5 (% / 100 %)	Uzorak br. 13 (% / 100 %)
C17:0	0,95±0,04	1,45±0,02	0,43±0,01	0,99±0,00	1,30±0,02	i.g.d.	1,19±0,00
C17:1cis10	0,70±0,01	0,95±0,00	0,63±0,05	1,47±0,00	1,34±0,01	0,81±0,00	0,95±0,01
C18:0	12,24±0,18	16,69±0,03	11,36±0,97	9,44±0,04	12,17±0,57	12,56±0,03	14,72±0,55
C18:1cis9	43,73±0,58	32,73±0,07	38,87±2,49	48,54±0,05	45,55±0,32	53,32±0,09	37,76±1,02
C18:2tran9,1	i.g.d.	0,28±0,05	i.g.d.	0,21±0,00	0,22±0,05	0,19±0,07	0,18±0,01
C18:2cis9,12	6,21±0,08	4,54±0,10	3,80±0,24	2,14±0,09	2,52±0,13	2,66±0,01	4,46±0,09
C20:0	0,23±0,00	0,14±0,00	i.g.d.	0,12±0,01	0,19±0,01	0,32±0,00	i.g.d.
C18:3cis6,9,	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,51±0,00	i.g.d.	i.g.d.	0,32±0,02
C18:3cis9,12	0,47±0,01	0,15±0,00	i.g.d.	i.g.d.	0,46±0,02	0,35±0,00	i.g.d.
C20:1cis11	0,22±0,01	0,22±0,00	i.g.d.	0,29±0,00	0,31±0,03	0,33±0,00	0,11±0,01
C21:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,04±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C20:2cis11,1	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,06±0,00	i.g.d.
C22:0	0,41±0,01	i.g.d.	1,03±0,14	0,20±0,00	0,19±0,04	0,21±0,00	0,18±0,01
C20:3cis11,1	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C22:1cis13	0,33±0,01	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,26±0,01	i.g.d.
C24:0	i.g.d.	0,37±0,06	i.g.d.	i.g.d.	0,57±0,28	i.g.d.	i.g.d.
C20:5-EPA	i.g.d.	0,39±0,01	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C24:1cis15	i.g.d.	0,13±0,01	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C22:6-DPA	i.g.d.	0,22±0,03	i.g.d.	i.g.d.	0,28±0,11	i.g.d.	i.g.d.

Analizirana su dva uzorka juneće jetre. Uzorci su kupljeni u različitim trgovinama. Rezultati cjelokupne analize masnih kiselina kod analiziranih uzoraka juneće jetre prikazani su u tablici 11.

Tablica 11. Rezultati analize masnih kiselina kod analiziranih uzoraka juneće jetre

Masne kiseline	Uzorak br. 11	Uzorak br. 33
	% / 100 %	% / 100 %
C6:0	i.g.d.	i.g.d.
C8:0	0,20±0,03	i.g.d.
C10:0	i.g.d.	i.g.d.
C11:0	0,25±0,04	0,08±0,03

Masne kiseline	Uzorak br. 11	Uzorak br. 33
C12:0	0,23±0,03	0,03±0,00
C13:0	0,08±0,00	0,02±0,00
C14:0	2,04±0,04	1,53±0,01
C14:1cis9	0,34±0,00	0,29±0,00
C15:0	0,25±0,00	0,31±0,00
C15:1cis10	i.g.d.	0,09±0,00
C16:0	24,76±0,05	25,89±0,10
C16:1cis9	2,11±0,02	3,13±0,01
C17:0	0,77±0,00	0,77±0,00
C17:1cis10	0,26±0,00	0,83±0,01
C18:0	23,92±0,07	18,39±0,11
C18:1cis9	32,82±0,03	27,35±0,04
C18:2tran9,1	0,22±0,00	0,13±0,03
C18:2cis9,12	7,73±0,00	11,34±0,06
C20:0	i.g.d.	0,56±0,00
C18:3cis6,9,	i.g.d.	0,30±0,00
C18:3cis9,12	i.g.d.	i.g.d.
C20:1cis11	0,35±0,00	0,26±0,01
C21:0	i.g.d.	0,08±0,00
C20:2cis11,1	i.g.d.	0,17±0,00
C22:0	2,60±0,01	5,69±0,15
C20:3cis11,1	i.g.d.	0,10±0,01
C22:1cis13	i.g.d.	0,05±0,00
C24:0	i.g.d.	i.g.d.
C20:5-EPA	0,52±0,00	2,11±0,01
C24:1cis15	0,54±0,01	0,30±0,00
C22:6-DPA	i.g.d.	0,18±0,02

4.2.3. Piletina

Analizirana su tri uzorka pilećih prsa. Uzorci su kupljeni u različitim trgovinama. Detaljni rezultati analize masnih kiselina u uzorcima pilećih prsa nalaze se u tablici 12.

Tablica 12. Rezultati analize masnih kiselina u uzorcima pilećih prsa i uzorcima pileće jetre

Masne kiseline	Uzorci pilećih prsa			Uzorci pileće jetre		
	Uzorak br. 8	Uzorak br. 16	Uzorak br. 27	Uzorak br. 20	Uzorak br. 29	Uzorak br. 30
	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %	% / 100 %
C6:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C8:0	0,02±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C10:0	0,05±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C11:0	0,04±0,02	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C12:0	0,05±0,00	0,43±0,00	0,04±0,00	i.g.d.	0,23±0,14	0,34±0,25
C13:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,25±0,13	i.g.d.	i.g.d.
C14:0	0,71±0,01	0,93±0,00	0,65±0,00	0,60±0,04	0,50±0,13	0,24±0,02
C14:1cis9	0,20±0,00	0,15±0,00	0,14±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C15:0	0,09±0,00	0,12±0,00	0,13±0,00	i.g.d.	0,16±0,04	i.g.d.
C15:1cis10	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C16:0	25,87±0,05	27,38±0,00	21,37±0,06	20,81±1,27	19,14±0,88	18,82±0,49
C16:1cis9	5,80±0,02	5,17±0,00	4,09±0,01	1,36±0,17	1,45±0,18	1,07±0,26
C17:0	i.g.d.	0,17±0,00	0,15±0,00	0,19±0,01	0,27±0,04	0,17±0,00
C17:1cis10	0,11±0,00	0,12±0,00	0,24±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C18:0	7,12±0,05	8,11±0,00	6,52±0,01	22,48±0,56	20,43±0,91	19,08±0,41
C18:1cis9	39,60±0,16	37,63±0,00	41,98±0,02	24,85±0,44	19,47±0,04	20,88±1,04
C18:2tran9,1	i.g.d.	i.g.d.	0,05±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C18:2cis9,12	17,92±0,05	16,81±0,00	21,52±0,01	17,85±0,73	21,47±1,22	23,27±2,34
C20:0	1,17±0,01	0,90±0,00	1,21±0,00	0,45±0,09	0,32±0,01	0,52±0,07
C18:3cis6,9,	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C18:3cis9,12	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C20:1cis11	0,42±0,00	0,39±0,00	0,55±0,00	0,56±0,16	0,32±0,04	0,45±0,19
C21:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.

Masne kiseline	Uzorak br. 8	Uzorak br. 16	Uzorak br. 27	Uzorak br. 20	Uzorak br. 29	Uzorak br. 30
C22:0	0,26±0,01	0,93±0,00	0,75±0,01	7,41±0,34	11,71±0,67	11,32±0,56
C20:3cis11,1	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,41±0,21	i.g.d.	i.g.d.
C22:1cis13	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,51±0,23	0,68±0,42	0,58±0,38
C24:0	0,23±0,12	0,13±0,00	0,17±0,02	i.g.d.	i.g.d.	0,30±0,13
C20:5-EPA	0,09±0,00	0,35±0,00	0,20±0,00	0,80±0,01	1,68±0,19	1,20±0,01
C24:1cis15	i.g.d.	0,12±0,00	i.g.d.	0,62±0,16	1,25±0,22	0,90±0,01
C22:6-DPA	0,11±0,05	i.g.d.	i.g.d.	0,31±0,13	0,44±0,14	0,34±0,25

Analizirana su tri uzorka pilećih bataka s kožom i tri uzorka pilećih zabataka s kožom. Rezultati analize prikazani su u tablici 13. Sva tri uzorka kupljena su u različitim trgovinama.

Tablica 13. Rezultati analize masnih kiselina u uzorcima pilećih bataka i zabataka s kožom

Masne kiseline	Uzorci pilećih bataka s kožom			Uzorci pilećih zabataka s kožom		
	Uzorak br. 9	Uzorak br. 18	Uzorak br. 25	Uzorak br. 10	Uzorak br. 19	Uzorak br. 26
	% / 100%	% / 100%	% 100%	% / 100%	% / 100%	% / 100%
C6:0	i.g.d.	i.g.d.	0,02±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C8:0	i.g.d.	i.g.d.	0,02±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C10:0	i.g.d.	i.g.d.	0,02±0,00	i.g.d.	0,07±0,02	i.g.d.
C11:0	i.g.d.	0,34±0,30	0,02±0,00	i.g.d.	0,04±0,04	i.g.d.
C12:0	i.g.d.	0,58±0,30	0,05±0,00	0,06±0,01	0,32±0,00	i.g.d.
C13:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C14:0	0,69±0,01	0,98±0,19	0,50±0,00	0,75±0,06	0,82±0,00	0,47±0,05

	Uzorak br. 9	Uzorak br. 18	Uzorak br. 25	Uzorak br. 10	Uzorak br. 19	Uzorak br. 26
C14:1cis9	0,20±0,00	i.g.d.	0,13±0,00	0,21±0,02	0,25±0,00	i.g.d.
C15:0	0,11±0,00	i.g.d.	0,08±0,00	0,11±0,01	0,07±0,00	i.g.d.
C15:1cis10	i.g.d.	i.g.d.	0,04±0,01	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C16:0	25,38±0,02	25,89±0,01	20,46±0,09	26,80±0,97	26,77±0,00	20,02±0,59
C16:1cis9	6,11±0,00	7,39±0,20	4,45±0,03	5,91±0,27	7,29±0,00	3,55±0,43
C17:0	0,25±0,00	0,14±0,05	0,13±0,00	0,14±0,00	0,07±0,00	0,11±0,00
C17:1cis10	0,12±0,00	i.g.d.	0,08±0,00	0,07±0,01	0,06±0,01	i.g.d.
C18:0	7,54±0,02	6,43±0,58	5,25±0,04	7,07±0,24	5,34±0,01	8,94±1,73
C18:1cis9	39,23±0,03	39,27±1,20	37,61±0,05	38,92±0,80	40,04±0,07	31,35±3,47
C18:2tran9,1	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C18:2cis9,12	18,57±0,03	16,29±0,48	28,19±0,02	18,80±0,40	15,77±0,18	24,27±1,71
C20:0	0,14±0,01	i.g.d.	0,85±0,00	0,06±0,01	0,88±0,01	0,66±0,06
C18:3cis6,9,	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,09±0,00	i.g.d.
C18:3cis9,12	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C20:1cis11	0,44±0,00	0,54±0,08	0,41±0,00	0,32±0,03	0,35±0,01	0,45±0,03
C21:0	i.g.d.	i.g.d.	0,04±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C20:2cis11,1	0,15±0,00	0,14±0,02	0,21±0,01	0,11±0,01	0,09±0,00	0,29±0,06
C22:0	0,77±0,00	1,09±0,19	0,73±0,04	0,32±0,02	0,27±0,03	4,17±1,81
C20:3cis11,1	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C22:1cis13	0,10±0,00	0,43±0,09	0,12±0,02	i.g.d.	0,14±0,04	0,47±0,31
C24:0	i.g.d.	i.g.d.	0,24±0,01	0,28±0,18	0,82±0,10	2,06±1,28
C20:5-EPA	0,20±0,00	0,23±0,03	0,20±0,01	0,07±0,01	i.g.d.	0,83±0,36
C24:1cis15	i.g.d.	0,17±0,01	0,11±0,01	i.g.d.	0,16±0,03	1,17±0,35
C22:6-DPA	i.g.d.	0,10±0,03	0,05±0,00	i.g.d.	0,31±0,02	1,25±0,41

4.2.4. Puretina

Analizirana su tri uzorka purećih prsa, dva uzorka purećeg batka s kožom, uzorak purećeg zabatka s kožom i uzorak pureće jetre. Rezultati zastupljenijih masnih kiselina prikazani su u tablici 14. Uzorci su kupljeni u različitim trgovinama.

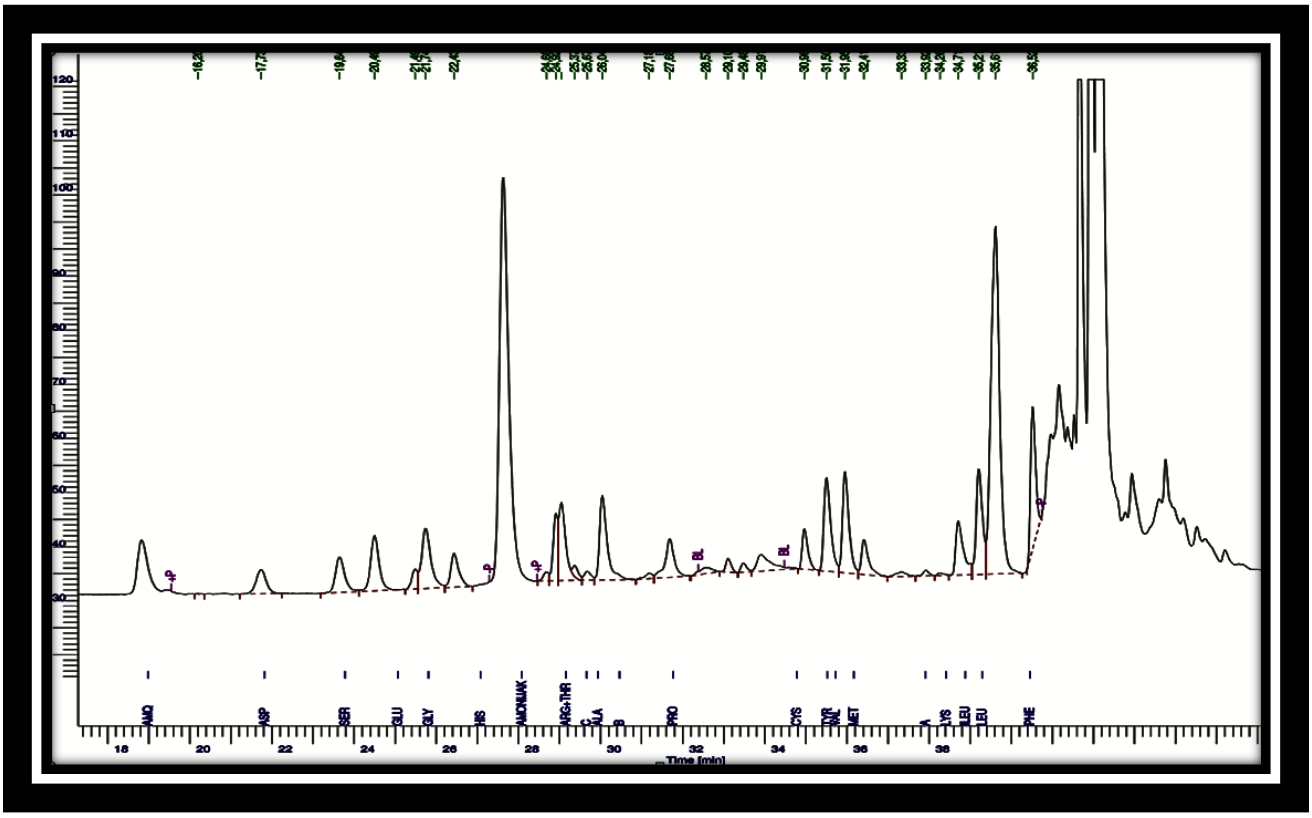
Tablica 14. Prikaz rezultata zastupljenosti masnih kiselina u uzorcima purećeg mesa

Masne kiseline	Uzorci purećih prsa % / 100 %			Uzorak purećeg zabatka s kožom %/100%	Uzorci purećih bataka s kožom % / 100 %		Uzorak pureće jetre %/100%
	Uzorak 17	Uzorak 23	Uzorak 28	Uzorak 15	Uzorak 14	Uzorak 24	Uzorak 21
C6:0	i.g.d.	i.g.d.	1,09±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C8:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,01±0,00	i.g.d.
C10:0	i.g.d.	i.g.d.	0,92±0,00	i.g.d.	i.g.d.	0,01±0,00	i.g.d.
C11:0	i.g.d.	i.g.d.	0,48±0,00	0,06±0,00	i.g.d.	0,02±0,01	0,35±0,12
C12:0	0,24±0,01	3,88±0,77	0,21±0,00	0,36±0,01	0,40±0,00	0,04±0,00	0,15±0,00
C13:0	i.g.d.	3,36±0,22	0,41±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C14:0	1,40±0,04	2,26±0,12	0,89±0,00	0,99±0,01	0,99±0,01	0,61±0,01	0,89±0,01
C14:1cis9	0,19±0,01	2,38±0,14	0,20±0,00	0,17±0,00	0,14±0,00	0,09±0,00	0,14±0,00
C15:0	0,27±0,01	0,33±0,04	0,20±0,00	0,14±0,00	0,14±0,00	0,12±0,01	0,13±0,00
C15:1cis10	i.g.d.	0,40±0,09	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C16:0	26,79±0,08	25,06±0,10	21,95±0,00	26,73±0,07	29,89±0,12	21,43±0,10	38,51±0,04
C16:1cis9	2,96±0,05	2,27±0,35	3,55±0,00	4,19±0,01	4,21±0,02	2,64±0,04	4,32±0,03
C17:0	0,40±0,02	2,81±0,01	0,22±0,00	0,20±0,00	0,22±0,00	0,18±0,00	i.g.d.
C17:1cis10	0,39±0,05	1,17±0,10	0,11±0,00	i.g.d.	0,09±0,05	0,07±0,00	i.g.d.
C18:0	11,99±0,13	15,56±0,25	9,21±0,00	7,79±0,05	8,96±0,09	6,82±0,09	i.g.d.
C18:1cis9	27,75±0,83	18,48±1,19	33,32±0,00	30,16±0,13	33,00±0,03	28,70±0,19	42,63±0,38
C18:2tran9,1	i.g.d.	i.g.d.	0,04±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,23±0,00
C18:2cis9,12	20,47±0,25	13,32±0,91	24,42±0,00	27,86±0,11	20,41±0,02	35,62±0,01	0,93±0,00
C20:0	1,31±0,00	0,53±0,15	0,98±0,00	0,09±0,00	i.g.d.	1,29±0,00	i.g.d.
C18:3cis6,9,	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C18:3cis9,12	i.g.d.	i.g.d.	0,07±0,00	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.
C20:1cis11	0,25±0,00	i.g.d.	0,25±0,00	0,29±0,01	0,29±0,00	0,32±0,00	0,15±0,02
C21:0	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,01±0,00	i.g.d.
C20:2cis11,1	0,22±0,00	0,53±0,02	0,20±0,00	0,14±0,00	0,11±0,00	0,22±0,00	0,48±0,00
C22:0	2,61±0,11	1,64±0,49	0,59±0,00	0,68±0,02	0,29±0,01	1,01±0,01	9,92±0,28

C20:3cis11,1	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	i.g.d.	0,06±0,05	0,30±0,04
C22:1cis13	0,91±0,09	3,80±0,24	0,20±0,00	i.g.d.	i.g.d.	0,18±0,01	0,21±0,00
C24:0	0,38±0,25	1,56±0,27	0,08±0,00	i.g.d.	i.g.d.	0,09±0,04	i.g.d.
C20:5-EPA	1,05±0,04	i.g.d.	0,35±0,00	0,15±0,01	0,48±0,00	0,28±0,02	i.g.d.
C24:1cis15	0,20±0,10	i.g.d.	0,04±0,00	i.g.d.	0,25±0,00	0,10±0,00	0,67±0,02
C22:6-DPA	0,21±0,08	0,65±0,08	i.g.d.	i.g.d.	0,13±0,00	0,07±0,02	i.g.d.

4.3. Rezultati određivanja udjela pojedinih aminokiselina HPLC tehnikom

Nakon provedene analize aminokiselina uz pomoć HPLC-a (eng. High-performance liquid chromatography) dobiveni su rezultati koji prikazuju sadržaj aminokiselina u pojedinoj vrsti mesa. Prikazani rezultati iskazuju srednju vrijednost dva izvedena run-a (svaki uzorak je analiziran dva puta). Aminokiseline nepoznata naziva označene su slovima A, B i C. Iako udijeli pojedinih aminokiselina prevladavaju u određenoj životinjskoj vrsti, oni se također razlikuju i po dijelovima mesa iste životinjske vrste.



Slika 16. Kromatogram aminokiselina.

Tablica 15. Retencijska vremena za aminokiseline

Naziv aminokiseline	Retencijska vremena
ASP	18,468
SER	20,261
GLU	21,024
GLY	22,166
HIS	22,772
ARG+THR	25,137
C	25,763
ALA	26,084
B	26,446
PRO	27,676
CYS	30,810
TYR	31,386
VAL	31,757
MET	32,207
A	33,730
LYS	34,421
ILEU	34,898
LEU	35,314
PHE	36,174

4.3.1. Svinjetina

Rezultati analize zastupljenosti pojedinih aminokiselina u uzorcima svinjskog buta i svinjske lopatice prikazani su u tablici 16.

Tablica 16. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima svinjskog buta

Naziv aminokiseline	Uzorci svinjskog buta			Uzorci svinjske lopatice	
	Uzorak br. 4 (% / 100 %)	Uzorak br. 7 (% / 100 %)	Uzorak br. 22 (% / 100 %)	Uzorak br. 3 (% / 100 %)	Uzorak br. 31 (% / 100 %)
ASP	3,17±0,00	3,17±0,02	3,65±0,03	2,84±0,03	2,89±0,07
SER	2,90±0,03	3,04±0,01	3,18±0,05	2,66±0,19	3,01±0,13
GLU	5,51±0,03	5,36±0,02	6,37±0,02	5,02±0,09	4,93±0,04
GLY	6,62±0,01	6,20±0,01	5,12±0,01	7,56±0,04	6,36±0,04
HIS	2,73±0,02	3,13±0,01	2,36±0,00	1,85±0,23	2,14±0,03
ARG+THR	9,05±0,02	8,36±0,00	8,52±0,20	7,77±0,20	8,29±0,03
C	1,95±0,05	2,99±0,03	1,78±0,12	1,93±0,09	3,37±0,03
ALA	6,10±0,04	6,50±0,02	6,49±0,07	5,32±0,36	5,73±0,01
B	3,00±0,07	4,01±0,01	2,01±0,17	4,45±0,01	4,19±0,00
PRO	4,74±0,09	5,34±0,07	2,71±0,22	4,74±0,04	4,55±0,00
CYS	2,37±0,02	2,41±0,03	2,92±0,26	1,92±0,10	3,57±0,13
TYR	1,54±0,03	2,08±0,01	1,52±0,08	3,04±0,27	1,98±0,02
VAL	7,10±0,01	6,13±0,00	7,96±0,01	6,80±0,04	6,97±0,01
MET	2,38±0,02	2,67±0,00	2,74±0,00	2,69±0,04	2,29±0,01
A	5,74±0,00	6,80±0,00	4,61±0,01	9,42±0,01	6,63±0,02
LYS	5,25±0,05	4,99±0,00	6,32±0,05	5,28±0,14	4,81±0,01
ILEU	7,90±0,03	6,80±0,01	8,45±0,00	8,36±1,07	7,02±0,01
LEU	15,13±0,05	14,09±0,01	17,10±0,00	13,58±0,27	16,14±0,01
PHE	6,80±0,02	5,93±0,06	6,15±0,06	4,75±0,11	5,13±0,02

4.3.2. Junetina

Sastav aminokiselina u uzorcima junećeg buta i juneće lopatice prikazani su u tablici 17.

Tablica 17. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima junećeg buta i juneće lopatice

Naziv aminokiseline	Uzorci junećeg buta (% / 100 %)				Uzorci juneće lopatice (% / 100 %)		
ime	Uzorak br. 1	Uzorak br. 2	Uzorak br. 5	Uzorak br. 13	Uzorak br. 6	Uzorak br. 12	Uzorak br. 32
ASP	3,40±0,00	3,48±0,01	3,35±0,01	3,55±0,02	3,00±0,06	3,13±0,02	3,09±0,03
SER	2,92±0,04	3,10±0,01	3,16±0,00	3,35±0,02	2,85±0,02	2,80±0,01	3,70±0,01
GLU	6,32±0,11	6,97±0,00	6,44±0,03	6,80±0,02	5,15±0,04	5,55±0,01	5,49±0,08
GLY	5,14±0,13	6,25±0,00	6,58±0,02	5,16±0,01	6,65±0,00	6,70±0,01	6,02±0,06
HIS	2,79±0,13	2,12±0,00	2,41±0,01	2,05±0,01	2,18±0,03	2,28±0,00	2,32±0,01
ARG+THR	9,14±0,01	10,36±0,07	9,49±0,01	8,18±0,04	7,51±0,04	9,04±0,01	8,16±0,03
C	1,36±0,05	0,67±0,04	1,47±0,03	1,27±0,03	3,00±0,09	1,96±0,05	3,34±0,02
ALA	7,23±0,32	7,65±0,01	7,08±0,00	6,83±0,02	5,97±0,00	6,51±0,00	6,25±0,01
B	0,84±0,37	0,75±0,08	2,48±0,04	2,41±0,04	5,70±0,07	2,87±0,13	4,06±0,06
PRO	3,11±0,33	3,30±0,29	4,42±0,01	2,51±0,02	6,93±0,08	4,26±0,19	4,43±0,00
CYS	1,93±0,13	2,34±0,03	2,42±0,01	2,29±0,01	2,13±0,00	2,06±0,01	3,17±0,03
TYR	1,22±0,07	0,58±0,00	1,80±0,01	1,31±0,01	2,95±0,02	1,45±0,01	2,02±0,04
VAL	8,59±0,07	8,19±0,03	6,51±0,00	7,85±0,02	5,62±0,02	7,38±0,01	5,99±0,01
MET	3,13±0,01	2,60±0,01	2,65±0,01	2,21±0,00	2,37±0,02	1,85±0,01	2,67±0,04
A	1,59±0,01	1,97±0,02	4,30±0,02	4,55±0,02	9,73±0,04	5,64±0,03	6,80±0,04
LYS	6,83±0,00	6,63±0,06	5,90±0,00	6,86±0,02	4,62±0,02	5,85±0,04	5,28±0,03
ILEU	9,89±0,21	8,95±0,01	7,33±0,03	8,56±0,02	6,08±0,06	8,02±0,06	6,06±0,02
LEU	17,03±0,03	16,60±0,10	15,28±0,01	17,27±0,01	12,87±0,04	16,36±0,11	16,01±0,01
PHE	7,52±0,16	7,49±0,12	6,90±0,08	7,01±0,03	4,69±0,00	6,29±0,03	5,13±0,05

Sastav aminokiselina u uzorcima juneće jetre prikazani su u tablici 18.

Tablica 18. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima juneće jetre

Naziv aminokiseline	Uzorci juneće jetre (% / 100 %)	
	Uzorak br. 11	Uzorak br. 33
ASP	2,97±0,03	2,90±0,02
SER	3,40±0,02	2,81±0,04
GLU	4,47±0,04	3,27±0,08
GLY	7,54±0,06	6,11±0,02
HIS	1,91±0,00	1,30±0,01
ARG+THR	9,53±0,17	7,63±0,29
C	1,33±0,08	2,86±0,01
ALA	5,98±0,06	6,87±0,01
B	2,92±0,23	4,26±0,01
PRO	4,26±0,33	4,05±0,08
CYS	2,24±0,00	3,26±0,03
TYR	1,84±0,01	2,15±0,02
VAL	7,80±0,08	7,84±0,04
MET	1,06±0,01	2,00±0,00
A	7,66±0,08	6,97±0,02
LYS	4,04±0,00	4,70±0,07
ILEU	6,37±0,03	6,36±0,14
LEU	16,65±0,09	18,04±0,22
PHE	8,01±0,02	6,60±0,02

4.3.3. Piletina

Sastav aminokiselina u uzorcima pilećih prsa i pileće jetre prikazani su u tablici 19.

Tablica 19. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima pilećih prsa

Naziv aminokiseline	Uzorci pilećih prsa (% / 100 %)			Uzorci pileće jetre (% / 100 %)		
	Uzorak br. 8	Uzorak br. 16	Uzorak br. 27	Uzorak br. 20	Uzorak br. 29	Uzorak br. 30
ASP	3,30±0,01	3,19±0,00	3,20±0,01	3,13±0,01	3,08±0,03	2,93±0,00
SER	2,98±0,03	3,03±0,03	3,13±0,08	3,08±0,00	3,47±0,01	3,51±0,02
GLU	5,60±0,06	5,61±0,02	5,41±0,03	4,74±0,02	4,50±0,00	4,43±0,02
GLY	5,85±0,07	5,48±0,03	5,71±0,02	5,86±0,02	5,68±0,02	6,11±0,11
HIS	2,44±0,03	2,53±0,03	1,83±0,03	1,51±0,01	1,92±0,01	1,38±0,02
ARG+THR	8,57±0,06	8,52±0,02	8,03±0,02	8,63±0,03	8,89±0,02	8,95±0,04
C	3,24±0,01	2,94±0,01	3,42±0,02	2,27±0,02	1,60±0,01	2,64±0,02
ALA	7,00±0,01	6,81±0,00	6,26±0,06	6,39±0,01	7,02±0,01	6,00±0,03
B	3,63±0,02	2,58±0,03	3,77±0,00	3,93±0,01	2,72±0,00	4,26±0,02
PRO	4,98±0,00	3,37±0,13	3,78±0,43	4,37±0,14	3,16±0,01	3,86±0,01
CYS	2,35±0,01	2,04±0,03	3,13±0,03	2,34±0,01	3,20±0,02	3,29±0,02
TYR	1,61±0,01	1,76±0,01	1,89±0,00	1,70±0,01	1,36±0,00	2,21±0,03
VAL	6,32±0,02	7,84±0,01	7,31±0,01	7,92±0,01	8,88±0,00	8,13±0,06
MET	2,94±0,01	2,89±0,00	2,70±0,06	2,14±0,01	2,02±0,00	1,29±0,00
A	5,95±0,03	4,44±0,02	5,85±0,02	6,61±0,04	4,04±0,00	6,69±0,03
LYS	5,65±0,04	6,06±0,00	5,30±0,01	4,77±0,15	5,28±0,04	4,52±0,00
ILEU	7,24±0,05	8,65±0,01	7,72±0,03	7,49±0,08	7,60±0,01	6,77±0,01
LEU	14,52±0,13	15,81±0,01	16,27±0,14	16,33±0,05	17,93±0,10	17,03±0,03
PHE	5,82±0,13	6,44±0,04	5,29±0,06	6,78±0,01	7,63±0,05	5,97±0,04

Sastav aminokiselina u uzorcima pilećih bataka i zabataka s kožom prikazani su u tablici 20.

Tablica 20. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima pilećih bataka i zabataka s kožom

Naziv aminokiseline	Uzorci pilećih bataka s kožom bez kosti (% / 100 %)			Uzorci pilećeg zabatka s kožom bez kosti (% / 100 %)		
	Uzorak br. 9	Uzorak br. 18	Uzorak br. 25	Uzorak br. 26	Uzorak br. 10	Uzorak br. 19
ASP	3,26±0,04	3,95±0,01	3,35±0,11	3,10±0,04	2,92±0,01	2,63±0,12
SER	3,05±0,03	3,32±0,00	3,37±0,08	3,47±0,08	2,94±0,01	2,07±0,01
GLU	5,96±0,02	7,06±0,02	5,93±0,05	5,52±0,20	5,19±0,03	3,64±0,04
GLY	6,09±0,01	6,45±0,04	6,29±0,01	6,13±0,15	8,92±0,00	6,32±0,00
HIS	1,78±0,03	2,07±0,01	1,73±0,04	1,62±0,04	1,82±0,00	1,67±0,02
ARG+THR	8,89±0,02	10,17±0,02	9,23±0,02	8,49±0,19	8,76±0,03	7,52±0,02
C	2,52±0,00	1,72±0,00	2,05±0,06	3,03±0,04	2,80±0,01	3,90±0,03
ALA	6,71±0,00	7,90±0,04	6,44±0,00	6,05±0,10	7,07±0,02	6,85±0,02
B	4,32±0,00	2,00±0,01	2,96±0,02	4,23±0,09	4,53±0,02	5,64±0,01
PRO	6,03±0,02	3,28±0,01	3,25±0,05	3,52±0,32	5,91±0,05	4,38±0,04
CYS	2,16±0,01	2,33±0,00	3,09±0,05	3,01±0,19	1,97±0,00	1,96±0,01
TYR	2,07±0,01	1,05±0,01	1,54±0,02	2,10±0,07	1,95±0,00	2,50±0,00
VAL	6,19±0,02	6,32±0,01	7,64±0,01	6,75±0,01	5,91±0,01	6,10±0,01
MET	2,40±0,01	3,10±0,01	2,84±0,00	2,65±0,02	2,09±0,03	2,63±0,00
A	7,06±0,02	3,56±0,00	4,52±0,00	7,00±0,17	7,73±0,02	9,90±0,02
LYS	5,64±0,06	6,80±0,15	5,57±0,01	5,11±0,03	4,54±0,02	5,37±0,04
ILEU	6,57±0,05	6,81±0,06	7,97±0,08	6,65±0,13	6,44±0,02	6,71±0,05
LEU	13,87±0,06	15,47±0,12	16,21±0,20	16,40±0,20	13,10±0,03	15,31±0,06
PHE	5,44±0,05	6,65±0,02	6,01±0,10	5,18±0,13	5,41±0,04	4,90±0,05

4.3.4. Puretina

Sastav aminokiselina u uzorcima purećeg mesa prikazani su u tablici 21.

Tablica 21. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima purećeg mesa

Naziv aminokiseline	Uzorci purećih prsa (% / 100 %)			Uzorci purećih bataka s kožom (% / 100 %)		Uzorak purećeg zabatka s kožom (% / 100 %)	Uzorak pureće jetre (% / 100 %)
	Uzorak br. 17	Uzorak br. 23	Uzorak br. 28	Uzorak br. 14	Uzorak br. 24	Uzorak br. 15	Uzorak br. 21
ASP	3,08±0,01	3,40±0,04	3,19±0,03	3,17±0,01	3,64±0,02	3,33±0,03	3,61±0,02
SER	2,94±0,02	3,35±0,07	3,11±0,04	2,84±0,02	3,26±0,02	3,11±0,03	3,33±0,00
GLU	5,47±0,02	5,72±0,09	5,46±0,03	5,63±0,03	6,55±0,04	6,06±0,00	5,72±0,01
GLY	5,31±0,04	5,91±0,06	5,61±0,02	5,86±0,02	5,00±0,01	6,03±0,04	5,45±0,01
HIS	2,51±0,04	2,20±0,04	2,10±0,01	1,68±0,01	1,74±0,00	1,64±0,01	1,75±0,02
ARG+THR	8,47±0,00	8,50±0,01	8,75±0,04	9,29±0,06	8,63±0,12	9,45±0,09	9,40±0,01
C	3,94±0,01	3,30±0,05	3,69±0,02	2,09±0,02	1,82±0,06	2,43±0,01	1,20±0,01
ALA	7,13±0,03	6,62±0,01	6,39±0,01	6,29±0,02	6,59±0,05	6,66±0,05	7,28±0,04
B	2,58±0,03	2,92±0,01	3,00±0,01	3,49±0,00	2,62±0,11	3,99±0,01	2,04±0,03
PRO	3,10±0,26	3,58±0,28	3,58±0,02	4,11±0,16	2,69±0,21	4,22±0,36	3,22±0,15
CYS	1,61±0,04	2,88±0,15	2,94±0,12	2,22±0,01	3,08±0,18	2,10±0,01	2,37±0,01
TYR	2,13±0,00	1,76±0,10	1,43±0,00	1,54±0,00	1,47±0,07	2,65±0,01	1,01±0,01
VAL	7,86±0,00	6,50±0,03	7,66±0,00	7,06±0,02	7,64±0,04	5,90±0,03	9,07±0,01
MET	2,67±0,02	2,52±0,04	2,51±0,03	2,69±0,00	2,77±0,01	2,35±0,00	2,42±0,00
A	4,39±0,00	5,71±0,02	4,54±0,03	6,19±0,00	4,44±0,02	7,09±0,00	3,40±0,00
LYS	6,27±0,01	5,87±0,03	5,49±0,03	5,93±0,05	6,45±0,05	5,75±0,04	5,54±0,04
ILEU	8,52±0,06	6,82±0,08	8,16±0,02	7,95±0,02	8,46±0,09	6,36±0,02	8,50±0,03
LEU	15,83±0,07	16,85±0,09	16,12±0,03	15,92±0,02	16,93±0,11	15,32±0,03	17,03±0,03
PHE	6,21±0,04	5,58±0,11	6,27±0,01	6,05±0,04	6,23±0,09	5,55±0,10	7,67±0,34

5. RASPRAVA

U analizi koristili su se uzorci iz različitih trgovina, prema tome, iako su utvrđene sličnosti u sastavu među pojedinim istim dijelovima mesa, također su utvrđene i pojedine razlike koje daju zanimljivost i značajnost ovome radu.

5.1. Ukupne masnoće u mesu

Pri usporedbi rezultata određivanja ukupnih masti u mesu pomoću Soxhlet ekstrakcije utvrđena je sličnost s prijašnjim istraživanjima i literaturnim podatcima. U radu Cieślika E. i suradnika (26) sadržaj masti u pilećoj jetri varira ovisno o vrsti od 2,65 do 10,07 g/100 g, dok su u našem istraživanju dobivene vrijednosti od 4,85; 4,35 i 4,86 grama na 100 grama. U analizi Pil Nam Seonga i suradnika dobiven je podatak za masnoću pileće jetre koji iznosi 2,89% što je u skladu s našim rezultatima (27). U istraživanju P. Williamsa (28) za nemasnu junetinu navodi se podatak od 2,8 g/100 g mesa, što je u skladu s našim rezultatima. U istraživanju P. Williamsa (28) provedena je analiza mljevenog junećeg mesa koje se razlikuje s obzirom na to radi li se o nemasnom mljevenom (6,8 g/100 g) ili standardnom mljevenom junećem mesu (10,8 g/100 g) što je u skladu s našim rezultatima.

5.2. Ispitivanje sastava masnih kiselina

5.2.1. Svinjetina

U svim analiziranim uzorcima svinjskog buta prevladavaju masne kiseline C18:1cis9 i C16:0. U radu Choi Yeong-Seoka i suradnika (29), analizirane su masne kiseline svinjskog mesa te prevladavaju iste masne kiseline. U našem istraživanju srednja vrijednost zastupljenosti masne kiseline C18:1cis9 iznosi 46,51%, a u radu Choi Yeong-Seoka srednja vrijednost iznosi 45,87%. Udio masne kiseline C16:00 u ukupnim mastima iznosi 24,28 % u našem radu, dok u radu Choi Yeong-Seoka iznosi 22,56%. I u radu Dugana M. E. R., rezultati analize masnih kiselina u svinjskom mesu naglašavaju masnu kiselinu C18:1cis9 kao najzastupljeniju te masnu kiselinu C16:00 kao drugu najzastupljeniju (30 i 31). Također, u

radu Garbowske B. i suradnika (32), opisani su rezultati koji također naglašavaju masne kiseline C18:1 i C16. Rezultati Wooda i Ensera iz 1997. (33) prikazuju veći postotak linolne kiseline u svinja (C18:2n-6) u usporedbi s junetinom. Naši rezultati također prikazuju veći postotak C18:2cis9,12 kod uzoraka svinjskog buta u usporedbi s uzorcima junećeg buta. Rezultati analize uzoraka svinjske lopatice slični su rezultatima analiza mesa svinjskog buta, budući da je i ovdje najzastupljenija masna kiselina C18:1cis9. Kod ova dva analizirana uzorka svinjske lopatice postoje i značajne statističke razlike u zastupljenosti pojedinih masnih kiselina. No, zanimljivo i rezultati Jasinske Karoline i Kurek Andrzej Marcina (34) ukazuju također na sličnosti svinjske lopatice i buta kada je u pitanju sadržaj masnih kiselina. Naravno, i u ovom slučaju najzastupljenija je masna kiselina C18:1cis9, a iza nje nalazi se masna kiselina C16:0. Pri usporedbi rezultata analize svinjske lopatice i juneće lopatice, vidljivi su slični omjeri najzastupljenijih masnih kiselina. U istraživanju Coroiane A. i suradnika (35) prikazana je usporedba analiziranih uzoraka svinjetine i junetine te junetina ima mnogo veće vrijednosti miristinske (C14:0), palmitinske (C16:0), stearinske (C18:0), oleinske (C18:1) kiseline, što u našoj analizi nije slučaj. Trebalo bi naglasiti da se njihova analiza temelji na pet uzoraka i pri tome nisu navedeni o kojim se dijelovima mesa radi (35).

5.2.2. Junetina

Rezultati analiziranih uzoraka junećeg buta ukazuju na zastupljenost istih masnih kiselina u vrlo sličnim omjerima kao i kod svinjetine. Kod svih uzoraka je masna kiselina C18:1cis9 najzastupljenija. Kod analiziranih uzoraka prevladavaju masne kiseline: C18:1cis9, C16:0, C18:0, C18:2cis9,12 i masna kiselina C14:0. U istraživanju neutralnih lipida u stoci, u rezultatima J. D. Wooda i suradnika, masna kiselina C18:1cis9 pokazala se najznačajnijom, a nakon nje značajne su masne kiseline C16:0 i C18:0. Isto tako u drugom preglednom radu J. D. Wood navodi se da u junetini ima najviše 18:1 n-9 (oleinske kiseline), zatim 16:0 (palmitinske kiseline) i 18:0 (stearinske kiseline) (36 i 37). U istraživanju profesora Williamsa analizirana je nemasna junetina i rezultati prikazuju podudarne vrijednosti masnih kiselina s našim istraživanjem (28). Svi ti rezultati ukazuju na sličnost sastava masnih kiselina između nemasnog svinjskog i nemasnog junećeg mesa i to barem u prve dvije-tri najzastupljenije masne kiseline. Svi ovi rezultati također podudaraju se s rezultatima iz preglednog rada Abbasa i suradnika (38). I u preglednom radu Daleya C. A. i suradnika prevladavaju palmitinska, stearinska i nešto manje linolna kiselina (39).

Rezultati analize uzoraka juneće lopatice pokazuju da su najviše zastupljene: C18:1cis9 (u rasponu od 37,76%- do 53,32%), C16:0 (srednje vrijednosti ove masne kiseline nalaze se u rasponu od 22,23% do 29,93%) i masna kiselina C18:0 (srednje vrijednosti ove masne kiseline nalaze se u rasponu od 12,17% do 14,72%). Manje su zastupljene masne kiseline: C16:1cis9 (u rasponu od 4,00% do 4,58%), C18:2cis9,12 (u rasponu od 2,52% do 4,46%) i masna kiselina C14:0 (u rasponu od 1,83% do 3,80%). U uzorcima juneće lopatice najzastupljenije su iste one masne kiseline koje su najzastupljenije i u uzorcima junećeg buta. Isti je slučaj i s manje zastupljenim masnim kiselinama. U istraživanju Filipčika i suradnika (40) provedena analiza masnih kiselina junetine utvrdila je C18:1 masnu kiselinu kao najzastupljeniju te da su masne kiseline C16:1 i C18:2 manje zastupljene što je u skladu s našim rezultatima analize uzoraka juneće lopatice. U istraživanju Sergio Nogalesa i suradnika (41) također najzastupljenije su C16 i C18 masne kiseline s tim da rezultati studije Nogalesa i suradnika naglašavaju utjecaj spola i načina uzgoja životinja na zastupljenost masnih kiselina u mesu.

Kod analiziranih uzoraka juneće jetre je primijećena sličnost s ostalim analiziranim uzorcima junećeg mesa, jer je ponovo najzastupljenija C18:1cis9 masna kiselina. Postoje i druge masne kiseline koje su zastupljene u malim udjelima, a to su redom: C16:0, C16:1cis9, C18:2cis9,12, C22:0, C16:1cis9, C14:0. Masna kiselina C22:0 se nije do sada pojavljivala u značajnijim udjelima junećih dijelova mesa, no kod juneće jetre je ona zastupljena u udjelu od 2,60% do 13,73%.

5.2.3. Piletina

Kod analiziranih uzoraka pilećih prsa najzastupljenije masne kiseline su: C18:1cis9 (u rasponu od 37,63 % do 41,98 %), C16:0 (u rasponu od 21,37 % do 27,38 %) i masna kiselina C18:2cis9,12 (u rasponu od 16,81 % do 21,52 %). U manjem udjelu nalazi se masna kiselina C16:1cis9 (u rasponu od 4,09 % do 5,80 %). Rezultati istraživanja Temesgen Melese i suradnika (42) prikazuju masnu kiselinu C16:0 kao najzastupljeniju, a iza nje C18:1cis9. Moguće da udio ovih masnih kiselina varira od pasmine, budući da se u radu Temesgene navodi široki raspon za masnu kiselinu C16:00. Profesor Williams je proveo analizu masnih kiselina i kod nemasne piletine te su također najzastupljenije iste masne kiseline kao i u našoj

analizi, no ono što je zanimljivo je da se uočava mala promjena u sastavu masnih kiselina između pilećeg (bijelog mesa) i junetine/svinjetine (crvenog mesa) (28).

Analizom pilećih bataka s kožom utvrđeno je da su najzastupljenije masne kiseline: C18:1cis9, C16:0, C18:2cis9,12, C18:0 te C16:1cis9.

Kod analiziranih pilećih zabataka s kožom primijećen je sličan omjer masnih kiselina kao u slučaju s pilećim batcima s kožom.

U uzorcima pileće jetre moguće je zamijetiti sličan omjer masnih kiselina kao do sada analiziranih uzoraka piletine. Provedena analiza pileće jetre u radu Pil Nam Seonga potvrđuje ovu tvrdnju, budući da su u toj analizi najzastupljenije masne kiseline C16:0, C18:1n9, C18:0 i C18:2n6 (27). U radu Stanaćeva Vladislava i suradnika analizirana je abdominalna mast piletine te prikazan je nešto manji broj detektiranih masnih kiselina, ali uočljivo je da su masne kiseline C18:1, C18:2 i C16:0 najvažnije (43).

5.2.4. Puretina

Kod analiziranih uzoraka purećih prsa najzastupljenije su masne kiseline C18:1cis9 (srednja vrijednost svih uzoraka iznosi 26,71 %) i C16:0 (srednja vrijednost svih uzoraka iznosi 24,23 %). U rezultatima Boisteanua Paula i suradnika vrijednost masne kiseline C16:0 iznosi 24,61 %. No, masna kiselina C18:1cis9 je mnogo izraženija u uzorcima purećeg bedra. Kod analiziranih purećih bataka s kožom primijećeno je da su zastupljene masne kiseline: C18:1cis9, C16:0, C18:2cis9,12, C18:0 te C16:1cis9 što je u skladu s rezultatima Boisteanua Paula i suradnika (44).

Kod analiziranog uzorka purećeg zabatka s kožom primijećen je gotovo identičan omjer masnih kiselina kao i kod analiziranih purećih bataka s kožom. Masne kiseline C18:1cis9 i C16:0 manje su zastupljene kod analiziranog purećeg zabatka s kožom (ako ih uspoređujemo s analiziranim purećim batcima s kožom). Kod analiziranog uzorka pureće jetre primjećujemo poprilično sličan omjer masnih kiselina kao u analiziranoj pilećoj jetri.

5.3. Analiza aminokiselina

5.3.1. Svinjetina

Kod analiziranih uzoraka svinjskog buta prevladavaju aminokiseline: arginin+treonin, valin, izoleucin i leucin, dok su manje zastupljene aminokiseline: tirozin, cistein i serin.
Kod analiziranih uzoraka svinjske lopatice prevladavaju iste aminokiseline kao i kod svinjskog buta. U radu Jorfi-a Ramina i njegovih suradnika (45), navode se aminokiseline valin, alanin i serin kao dobri markeri za razlikovanje svinjetine od piletine. U našem istraživanju najbolji marker je aminokiselina alanin, budući da se ona u piletini nalazi u velikim udjelima, dok se u svinjetini nalazi u izrazito malom udjelu.

5.3.2. Junetina

Kod analiziranih uzoraka junećeg buta prevladavaju aminokiseline: fenilalanin, alanin, leucin, izoleucin, valin te arginin+treonin, a izrazito manje su zastupljene aminokiseline: lizin, serin, metionin, prolin i glicin. U radu Samicho-a Z. i suradnika (46), analizirani su dijelovi junećeg buta te rezultati prikazuju glutaminsku kiselinu kao najzastupljeniju, a slijede je cistein, lizin asparginska kiselina i arginin spuštajućim redoslijedom po udjelu.
Kod analiziranih uzoraka juneće lopatice prevladavaju iste aminokiseline kao i kod analiziranih uzoraka junećeg buta. U istraživanju Tessaria i suradnika, pri analizi aminokiselina junećeg mesa utvrđeno je da su najzastupljenije aminokiseline: lizin, leucin, fenilalanin+tirozin (zbog različitih kromatografskih uvjeta u radu Tessaria i suradnika preklapaju se aminokiseline fenilalanin i tirozin, dok se u našem istraživanju preklapaju aminokiseline arginin i treonin), valin i izoleucin i treonin (47). To je u skladu s našim rezultatima (Tab. 17.). Također zanimljivo je, da je zastupljenost fenilalanina veća u uzorcima juneće lopatice u usporedbi s uzorcima svinjske lopatice, a takav podatak nalazi se i u istraživanju Tessaria s tim da je u njegovom istraživanju analizirana zastupljenost fenilalanina+tirozina. Ipak, kako i pri usporedbi s uzorcima svinjetine, tako i pri usporedbi s uzorcima piletine i puretine, teško je izuzeti pojedine determinacijske markere koji bi s velikom vjerojatnosti mogli procijeniti o kojoj vrsti mesa je riječ, budući da je zastupljenost aminokiselina vrlo proporcionalna. U radu Wu-a G. i suradnika zastupljenost aminokiselina ide ovim redoslijedom: glutamat, lizin, leucin, arginin i glutamin. U različitim dijelovima

mesa utvrđen je isti redoslijed zastupljenosti pojedinih aminokiselina s tim da su aminokiseline leucin i arginin uvelike zastupljene u junećem mesu (18). Slični rezultati su utvrđeni i u našem radu (Tab. 17).

Kod analiziranih uzoraka juneće jetre najviše su zastupljene aminokiseline: glicin, arginin+treonin, alanin, valin, fenilalanin i leucin. Manje su zastupljene aminokiseline: histamin, cistein, treonin i metionin. Istraživanje Kakimova i suradnika prikazuje leucin kao najzastupljeniju aminokiselinu, a slijede je lizin, valin, izoleucin i fenilalanin (48). U istraživanju Li-a R. i suradnika ovisno o vrsti goveda, utvrđena je različita zastupljenost aminokiselina, s tim da aminokiseline asparagin, glutamin, valin, leucin i lizin uvijek ulaze među prvih pet najzastupljenijih aminokiselina (49).

5.3.3. Piletina

Kod analiziranih uzoraka pilećih prsa prevladavaju aminokiseline: arginin+treonin, alanin, izoleucin i leucin, dok su izrazito malo zastupljene aminokiseline: histidin, cistein i tirozin. U radu Temesgene Melese i suradnika (42) aminokiselina leucin spominje kao izrazito zastupljena aminokiselina. U radu Trikia i suradnika najzastupljenije su aminokiseline: lizin, serin, β alanin, arginin, i glutaminska kiselina. U usporedbi s ovim istraživanjima i našim provedenim istraživanjem vidljivo je da su najzastupljenije aminokiseline u pilećim prsima: leucin, arginin i alanin (42 i 50).

Kod analiziranih uzoraka pilećih bataka s kožom uvelike su zastupljene aminokiseline: arginin+treonin, alanin, prolin, valin, izoleucin i leucin. U manjem udjelu zastupljene su aminokiseline lizin i fenilalanin, a izrazito malo zastupljene su aminokiseline: asparagin, serin, histidin, cistein, tirozin i metionin. Usporedbom s istraživanjem Kim Honggyuna i suradnika (19) potvrđen je interesantan podatak, a taj je kako je zastupljenost histidina veća u pilećim prsima, nego u pilećim batcima, a zastupljenost lizina je veća u pilećim batcima te manja u pilećim prsima. Riječ je o malim razlikama, no one mogu biti značajne za prepoznavanje pojedinog dijela mesa iste vrste.

Kod analiziranih uzoraka pilećih zabataka s kožom primijećen je sličan omjer u odnosu na analizirane pileće batke s kožom, a najzastupljenije aminokiseline su: arginin+treonin, alanin, izoleucin i leucin. Aminokiseline valin i prolin, zajedno s glutaminom i fenilalaninom nalaze se manjem udjelu. Izrazito malo su zastupljene iste one aminokiseline koje se u malim

postotcima mogu pronaći kod pilećih bataka s kožom te pilećih prsa, a to su: asparagin, serin, histidin, cistein, tirozin i metionin.

Kod analiziranih uzoraka pilećih jetri utvrđen je sličan omjer aminokiselina kao u analiziranoj piletini pa su tako aminokiseline arginin+treonin, alanin, valin izoleucin, leucin i fenilalanin izrazito zastupljene. Aminokiseline lizin, glicin i glutamin su srednje zastupljene, dok su ostale aminokiseline poput asparagina, serina, histidina, tirozina i metionina izrazito malo zastupljene. Provedena analiza pileće jetre u radu Pil Nam Seonga (27) upućuje na drugačiju zastupljenost te se tvrdi da su aminokiseline asparagin i glutamin značajno zastupljene. U udjelima ostalih aminokiselina rezultati našeg istraživanja i rezultati Pil Nam Seonga se podudaraju (27).

5.3.4. Puretina

Kod analiziranih uzoraka purećih prsa prevladavaju aminokiseline: arginin+treonin, alanin, izoleucin i leucin, fenilalanin, lizin i valin, u manjem udjelu nalaze se aminokiseline: glutamin i glicin, a izrazito malo zastupljene su aminokiseline: histidin, cistein, asparagin, serin, prolin, metionin i tirozin. U istraživanju Galveza i suradnika najzastupljenija je glutaminska i asparaginska kiselina. Kako smo provodili analizu nakon hidrolize s HCL koja glutaminsku kiselinu pretvori u glutamin to se nije moglo potvrditi (asparaginsku kiselinu u asparagin). U udjelima ostalih aminokiselina ova dva istraživanja se podudaraju (51). U navedenoj studiji Galveza, potvrđena je proporcionalna zastupljenost istih aminokiselina u purećim prsima i purećim bedrima. Slični rezultati su dobiveni i u ovom radu (Tab. 24.) pri uspoređivanju rezultata analize udjela aminokiselina uzoraka purećih bataka i purećih prsa.

Rad Helmbrechta i suradnika je potvrdio male razlike između udjela aminokiselina s obzirom na prehranu (52). Tako da je moguće riječ o različitoj prehrani ili možda pasmini.

Kod analiziranih uzoraka purećih bataka s kožom primijećeno je da su najzastupljenije aminokiseline: arginin+treonin, alanin, valin, lizin, fenilalanin, izoleucin i leucin. Uočavamo razliku u odnosu s analiziranim pilećim batacima, a to je aminokiselina prolin koje kod puretine ima mnogo manje pa tako i u analiziranim purećim batcima. No, aminokiseline lizin i fenilalanin zastupljenije su kod purećih bataka (ako ih uspoređujemo s analiziranim pilećim batcima). Izrazito malo zastupljene su iste one aminokiseline kao i kod analiziranih pilećih bataka, a to su aminokiseline: asparagin, serin, histidin, cistein, tirozin i metionin.

Kod analiziranog uzorka purećeg zabatka s kožom primijećen je gotovo identičan omjer aminokiselina kao i kod analiziranih purećih bataka s kožom. U odnosu s analiziranim

purećim batcima s kožom može se primjetiti minimalna razlika koju uočavamo u neznatno većem omjeru određenih aminokiselina.

Kod analiziranog uzorka pureće jetre primjećujemo sličan omjer aminokiselina kao u analiziranoj pilećoj jetri (Tab. 21.), ali ipak postoje manje razlike u zastupljenosti pojedinih aminokiselina. Aminokiseline: arginin+treonin, alanin, valin, izoleucin, lizin, glutamin i fenilalanin zastupljenije su otprilike za 1% kod analiziranih purećih jetri (u odnosu na analizirane pileće jetre), a aminokiseline prolin i tirozin su za jedan posto manje zastupljene kod analiziranog uzorka pureće jetre (u odnosu na analizirane pileće jetre).

5.4. Nutritivna vrijednost

Iz rezultata vidljivo je da ne postoje značajne razlike u sastavu masnih kiselina i aminokiselina između uzoraka iste vrste mesa. Ipak, postoje određene razlike među različitim vrstama životinja te je u takvim slučajevima moguće izvršiti procjenu vrste i dijela mesa s određenim stupnjem vjerojatnosti. Iako su velikim dijelom iste masne kiseline i aminokiseline najviše zastupljene, moguće je s velikom sigurnošću procijeniti postojanje bijelog ili crvenog mesa. U našem istraživanju najbolji markeri su aminokiseline alanin, valin i izoleucin, budući da su ove aminokiseline više zastupljene u bijelome mesu. Od masnih kiselina najbolji marker je masna kiselina C14:0 koja je zastupljenija u crvenom mesu. U daljnjem istraživanju, moguća je izrada DNK baze podataka za ove životinje, kako bi se u budućnosti moglo utvrditi geografsko podrijetlo mesa.

6. ZAKLJUČAK

Utvrđeno je da sastav masnih kiselina i aminokiselina odgovara porijeklu mesa te navedeni rezultati upućuju na pojedinu vrstu mesa što je u skladu s dostupnim usporednim podacima. Dobiveni rezultati pokazuju da razlike u sastavu masnih kiselina i aminokiselina između uzoraka iste vrste mesa nabavljenih iz različitih izvora nisu značajne. Najveće razlike primijećene su među različitim komadima mesa različitih vrsta životinja, što je bilo očekivano u pretpostavljenoj hipotezi, no ono što je zanimljivo je da pojedine masne kiseline i pojedine aminokiseline mogu služiti u svrhu detektirajućeg markera, koji nas upućuje na pojedinu vrstu mesa.

Ovaj rad može biti početak stvaranja baze podataka s odgovarajućim profilima masnih kiselina i aminokiselina za svaku vrstu mesa. Usporedbom profila i udjela pojedinih aminokiselina i masnih kiselina moguće je otkriti prijevaru vezanu uz podvalu drugačije vrste mesa ili dodavanje vode u pojedini komad mesa. Stvaranje forenzične baze podataka za svaku vrstu mesa nužno je ako želimo detektirati ove vrste prijevara.

Kao nastavak ovog istraživanja mogla bi se utvrditi kiralnost aminokiselina unutar lanca polipeptida te bi se potom pomoću izračunatog omjera L i D aminokiselina moglo odrediti vrijeme smrti pojedine životinje.

7. LITERATURA

1. Grujić, R., Grujić, S., Vujadinović, D. *Funkcionalni proizvodi od mesa.* Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku, 1(1), 44-54; 2012.
2. Kovačević D. *Sirovine prehrambene industrije (meso i riba).* PTF-Osijek, Osijek (Sveučilišni udžbenik); 2004.
3. Kovačević D. *Kemija i tehnologija mesa i ribe.* Sveučiliste Josipa Jurja Strossmayera, Prehrambeno tehnološki fakultet. Osijek; 2001.
4. Savić T. *Higijena mesa i mesnih proizvoda.* Naučna knjiga, 1952.
5. Cooper, G. M. i R. E. Hausman. *Stanica: molekularni pristup.*, 5. izdanje." Medicinska naklada, Zagreb, 2010.
6. Wade L. G. *Organska kemija.* Udžbenik. Školska knjiga. 2017.
7. Karolyi, D. (2007). *Polinezasićene masne kiseline u prehrani i zdravlju ljudi.* MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, IX (3), 151-158. Preuzeto s https://hrcak.srce.hr/21310
8. Krvavica, M., Kegalj, A. i Đugum, J. *Masti i masne kiseline ovčjeg mesa.* MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, XV (2), 111-121. Preuzeto s https://hrcak.srce.hr/104919, Meso 15.2, 2013.
9. Berg, J. M., Tymoczko, J. L. i Stryer, L. *Biokemija.* Školska knjiga, Zagreb, 1026. str., 2013.
10. Katherine J. Denniston, Joseph J. Topping. *General, Organic, and Biochemistry*. McGraw-Hill, ukupno 597. str., 2008.
11. Barbir, T., Vulić, A. i Pleadin, J. *Masti i masne kiseline u hrani životinjskog podrijetla.* Veterinarska stanica, 2, 97-110., 2014.
12. Fumić Ksenija, Karmen Bilić. *Što bi pedijatar trebao znati o aminokiselinama i kad ne bi smio propustiti njihovo mjerenje.* Paediatr Croat 2009; 53 (Supl 1): 127-132, 2009.
13. Dai, Z., Wu, Z., Jia, S. i Wu, G. A*nalysis of amino acid composition in proteins of animal tissues and foods as pre-column o-phthaldialdehyde derivatives by HPLC with fluorescence detection*. Journal of Chromatography B, 964, 116-127., 2014.
14. Massey, K. A., Blakeslee, C. H. i Pitkow, H. S. *A review of physiological and metabolic effects of essential amino acids.* Amino acids, 14(4), 271-300., 1998.

15. Otter, Don E. *Standardised methods for amino acid analysis of food.* British Journal of Nutrition 108.S2 (2012): S230-S237., 2012.
16. Huang, S., Wang, L. M., Sivendiran, T., & Bohrer, B. M. *Amino acid concentration of high protein food products and an overview of the current methods used to determine protein quality.* Critical reviews in food science and nutrition, 58(15), 2673-2678., 2018
17. Shimomura, Y. et al. *Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle.* The Journal of nutrition, 136(2), 529S-532S., 2006.
18. Wu G., Cross H. R., Gehring K. B., Savell J. W., Arnold A. N. i McNeill, S. H. *Composition of free and peptide-bound amino acids in beef chuck, loin, and round cuts.* Journal of animal science, 94(6), 2603-2613.; 2016.
19. Kim, H., Do, H. W. i Chung, H. *A Comparison of the Essential Amino Acid Content and the Retention Rate by Chicken Part according to Different Cooking Methods.* Korean journal for food science of animal resources, 37(5), 626.; 2017.
20. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Kujundžić, N., Živčić-Alegretti, V. i Živković, A. *Osnove analitičke kemije*. Školska knjiga, 1999.
21. Sutlović D. *Osnove forenzične toksikologije.* Split: Redak; 2011.
22. Urrechaga E. *Ocjena HPLC susta a Primus Ultra2 za mjerenje koncentracije HbA2 i probir na β-talasemiju.* Biochemia medica: Biochemia medica 18.3 (2008): 351-360., 2008.
23. Jensen, W. B. 2007. *The origin of the Soxhlet extractor.* Journal of Chemical Education, 84.12 (2007), 1913.
24. Kaštelan-Macan, M. *Enciklopedijski rječnik analitičkog nazivlja*. Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu i Mentor doo; 2014.
25. Drljača D., Mrđa M. *Ultrasonic solvent extraction of epicatechin and procyanidin b2 from chocholate*, 2009.
26. Cieślik, E., Cieślik, I., Molina-Ruiz, J. M., Walkowska, I. i Migdal, W. *The content of fat and fatty acids composition in chicken liver.* Biotechnology in Animal Husbandry, 27(4), 1855-1856.; 2011.
27. Seong, P. N. et al. *Characterization of chicken by-products by mean of proximate and nutritional compositions.* Korean journal for food science of animal resources, 35(2), 179.; 2015.

28. Williams, Peter. *Nutritional composition of red meat.* Nutrition & Dietetics 64 (2007): S113-S119., 2007.
29. Choi Y. S. et al. Comparison *of meat quality and fatty acid composition of Longissimus muscles from purebred pigs and three-way crossbred LYD pigs.* Korean journal for food science of animal resources, 36(5), 689; 2016.
30. Dugan M., E., R. et al. *The effects of feeding conjugated linoleic acid on subsequent pork quality.* Canadian Journal of Animal Science 79.1 (1999): 45-51., 1999.
31. Dugan, M. et al. *Pork as a source of omega-3 (n-3) fatty acids.* Journal of Clinical Medicine, 4.12 (1999-2011.), 2015.
32. Garbowska B., Pietrzak-Fiecko R. i Radzyminska, M. *Fatty acid composition of local, traditional and conventional pork meat products.* Current Trends in Commodity Science: New Trends in Food Quality, Packaging and Consumer Behavior, 35-46.
33. Wood, J. D. i M. Enser. *Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality.* British journal of Nutrition 78.1 (1997): S49-S60., 1997.
34. Jasińska K. i Kurek M.A. *The effect of oil plants supplementation in pig diet on quality and nutritive value of pork meat.* Anim. Sci. Pap. Rep 35 (2017): 137-146., 2017.
35. Coroian, A., Mireşan, V., Sur, G., Răducu, C., Andronie, L. i Coroian, C. O. *A comparative study regarding fatty acids in pork and beef.* Porcine Research, 5(2), 56-61.; 2015.
36. Wood J. D. et al. *Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review.* Meat science, 78(4), 343-358.; 2008.
37. Wood J. D. et al. *Effects of fatty acids on meat quality: a review.* Meat science, 66(1), 21-32.; 2003.
38. Abbas, K. A., A. Mohamed i B. Jamilah. *Fatty acids in fish and beef and their nutritional values: A review.* Journal of food, agriculture & environment 7.3&4 (2009): 37-42, 2009.
39. Daley, C. A., Abbott, A., Doyle, P. S., Nader, G. A. i Larson, S. *A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef.* Nutrition journal, 9(1), 10.; 2010.

40. Filipčík R. et al. *The changes of fatty acids composition in beef of charolaise bulls slaughtered at different weight.* Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 59(6), 135-140; 2011.
41. Nogales S., Bressan M. C., Delgado J. V., Telo da Gama L., Barba C. i Camacho, M. E. *Fatty acid profile of feral cattle meat.* Italian Journal of Animal Science, 16(1), 172-184.; 2017.
42. Temesgen M et al. *Chicken Amino Acid and Fatty Acid: Effect of Feeding Taro Leaf in the Diet.* Acta Scientific Nutritional Health 2.1 (2018): 12-18, 2018.
43. Stanaćev V. et al. *Carcass quality and abdominal fat fatty acid composition of chickens fed with different vegetable oil additions.* Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, 60(1), 33-37.; 2014.
44. Boişteanu P. C. et al. *Researches Regarding the Fatty Acids Content in Turkey Meat.* Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science & Biotechnologies, 71(2); 2014.
45. Jorfi, R. et al. *Differentiation of pork from beef, chicken, mutton and chevon according to their primary amino acids content for halal authentication.* African Journal of Biotechnology, 11(32), 8160-8166.; 2012.
46. Samicho, Z., Ab Mutalib, S. R., i Abdullah, N. *Amino acid composition of droughtmaster beef at various beef cuts.* Agricultural Sciences, 4(05), 61., 2013.
47. Tessari, Paolo, Anna Lante i Giuliano Mosca. *Essential amino acids: master regulators of nutrition and environmental footprint?* Scientific reports 6 (2016): 26074., 2016.
48. Kakimov, A. et al. *Nutritive and Biological Value of Liver and Blood of Various Slaughtered Animals.* Journal of Pharmaceutical Research International, 22(3).; 2018.
49. Li, R. R., Yu, Q. L., Han, L. i Cao, H. *Nutritional characteristics and active components in liver from Wagyu× Qinchuan cattle.* Korean journal for food science of animal resources, 34(2), 214.; 2014.
50. Triki, M., Herrero, A., Jiménez-Colmenero, F. i Ruiz-Capillas, C. *Quality Assessment of Fresh Meat from Several Species Based on Free Amino Acid and Biogenic Amine Contents during Chilled Storage.* Foods, 7(9), 132.; 2018.
51. Gálvez, F., Domínguez, R., Pateiro, M., Carballo, J., Tomasevic, I. i Lorenzo, J. M. *Effect of gender on breast and thigh turkey meat quality.* British poultry science, 1-8.; 2018.

52. Helmbrecht, A. et al. *Amino acid digestibility of raw materials in turkeys II–second set of data and a validation trial.*, ResearchGate, 2012.

8. SAŽETAK

Analiza masnih kiselina i aminokiselina u mesu

Meso je iznimno važna hrana u ljudskoj prehrani stoga je vrlo važna kvaliteta mesa. Analiza sastava masnih kiselina i udjela pojedinih aminokiselina u mesu daje uvid u njegovu kvalitetu i nutritivne vrijednosti.

Nakon kiselinske hidrolize uzoraka mesa, omjeri aminokiselina određeni su tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti. Iako u određenoj životinjskoj vrsti dominiraju iste aminokiseline, one se malo razlikuju u različitim pozicijama određene vrste mesa.

Ukupne masti u mesu određene su Soxhletovom ekstrakcijom. Omjeri pojedinih masnih kiselina određeni su GC / FID kromatografijom nakon hidrolize KOH / MeOH. Rezultati ukazuju na značajnu prisutnost zasićenih masnih kiselina u mesu i manji udio nezasićenih masnih kiselina.

Utvrđeno je da pojedine masne kiseline i pojedine aminokiseline mogu služiti u svrhu detektirajućeg markera, koji nas upućuje na pojedinu vrstu mesa. Usporedbom profila i udjela pojedinih aminokiselina i masnih kiselina moguće je otkriti prijevaru vezanu uz nepravilno deklariranje ili dodavanje vode u meso.

(70 stranica, 17 slika, 52 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Ključne riječi: Meso, Soxhlet ekstrakcija, plinski kromatograf, tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

9. ABSTRACT

Analysis of fatty acids and amino acids in meat

Meat is an extremely important food in the human diet, so the quality of the meat is very important. Analysis of the fatty acid composition and the content of individual amino acids in the meat gives insight into its quality and nutritional values.

After acid hydrolysis of meat samples, amino acids ratios were determined by high-performance liquid chromatography. Although same amino acids dominate in a particular animal species, they are also a little bit different in various parts of the meat.

The total fat in meat was determined by Soxhlet extraction. The ratio of individual fatty acids was determined by GC/FID chromatography after KOH/MeOH hydrolysis. Results indicate the significant presence of saturated fatty acids in meat, and the lower proportion of the unsaturated fatty acids.

It has been established that certain fatty acids and certain amino acids can serve as a detectable marker, which points us to a particular type of meat. By comparing the profile and content of individual amino acids and fatty acids, it is possible to detect fraud related to incorrect declaration or addition of water to meat.

(70 pages, 17 figures, 52 references, original in: Croatian)

Keywords: Meat, Soxhlet extraction, gas chromatography, high-performance liquid chromatography

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Roko Kunčić

Datum rođenja: 27.1.1995.

Mjesto rođenja: Zagreb

Adresa: Kralja Zvonimira 22, 10 000 Zagreb

Mobitel: +385 99 548 5005

E- mail: roko.kuncic@hotmail.com

Obrazovanje:

- 2013. - 2016. Univ. bacc. Biologije i ekologije mora, Split
- 2013. - 2009. Prirodoslovno - matematička gimnazija, V. gimnazija, Zagreb
- 2007. - 2004. Glazbena škola "Vatroslav Lisinski", saksofon, Zagreb
- 2016. Profesionalni ronioc s bocom do 20 metara (Open Water Diver – prva ronilačka kategorija), te član studentske udruge "Podvodno istraživački klub"

Znanstvena i stručna aktivnost:

- Prvi autor na znanstvenom posteru, svjetska konferencija "World Congress of Food Safety and Security", (Nizozemska)
- Predavanje za studente na PMF-u (tema: GMO)
- Voditelj i autor projekta "The Future of Genetic Engineering"
- Znanstveni suradnik projekta PSU-UNIST collaboration fund (Investigate and Reconstuct Aspects of Past Lifeways), radni posjet Penn State Sveučilištu
- Znanstveni suradnik znanstvenog dokumentarca "K1M3R4"
- Iskustvo rada na Penn State Sveučilištu (antropološka analiza, CT sken, DNA analiza);
- Autor i kreator projekta "Forensic Time Travel"

- Volonter i sudionik na međunarodnim konferencijama poput: International Association of Forensic Mental Health Services i Sigurnost povijesnih gradova
- Sudionik ljetne škole: Theory and Practice: Application of Criminological Theories on Contemporary Criminal Justice Issues
- Sudionik na Erasmus+ projektu "From idea to rural development" (Litva)
- Sudionik na Erasmus+projektu, Youth exchange, "Tommorow's leaders are forming today" (Rumunjska)
- Sudionik na Erasmus projektu "Trasholics"(Španjolska)
- Sudionik na Erasmus projektu, Youth exchange, "EcoFashion" (Poljska)
- Sudionik na Erasmus projektu, Erasmus+ "Animated Education" (Slovačka)
- Sudionik na Erasmus projektu, "Heros of the Nature in Ida" (Turska)
- Prvi autor na znanstvenom posteru koji je predstavljen na internacionalnoj konferenciji: Security of Historical Cities
- Volonter na "Open Valve Week" projektu gdje je učio roniti djecu s posebnim potrebama
- Sudjelovao na ISABS konferencijama (Dubrovnik, Split)
- Govornik na Festivalu znanosti u Splitu (CRISPR- Cas9)
- Predavač na Znanstvenoj srijedi (GMO i CRISPR-Cas sustav)

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Sveučilišni odjel za forenzične znanosti

Izjava o akademskoj čestitosti

Ja, **ROKO KUNČIĆ**, izjavljujem da je moj diplomski rad pod naslovom **''ANALIZA MASNIH KISELINA I AMINOKISELINA U MESU''**

rezultat mojega vlastitog rada, da se temelji na mojim istraživanjima te da se oslanja na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Nijedan dio ovoga rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan bez citiranja i ne krši ičija autorska prava.

Izjavljujem da nijedan dio ovoga rada nije iskorišten u ijednom drugom radu pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj, obrazovnoj ili inoj ustanovi.

Sadržaj mojega rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenoga i nakon obrane uređenoga rada.

Split, 4.9.2019.

Potpis studenta/studentice: _____

11. IZVORI SLIKOVNOG MATERIJALA

Slika 1. Dijelovi govedine. Dostupno na: https://www.agromedia.rs/agro-teme/prehrambena-industrija/saznajte-sta-jedete-vodic-kroz-sve-delove-govedjeg-mesa; pristupljeno: 10.3.2019.5
Slika 2 Dijelovi svinjetine. Dostupno na: http://www.gospodarski.hr/Publication/2016/22/prilog-broja-uzgoj-svinja-za-preradu-u-domae-proizvode/8626#.XIVZ3bh7mM8; pristupljeno: 10.3.2019. 6
Slika 3 Dijelovi peradi. Dostupno na: https://www.pinterest.com/pin/50595195792779067/?lp=true, pristupljeno: 8.8.2019. 6
Slika 4 i Slika 5 Struktura triacilglicerola. Dostupno: Cooper, Geoffrey M. i Robert E. Hausman. *Stanica: molekularni pristup*. Medicinska naklada, 2010., 47. str. 8
Slika 6. Struktura aminokiselina. Dostupno na: Cooper, Geoffrey M. i Robert E. Hausman. Stanica: molekularni pristup. Medicinska naklada 2010., 52. Str. Slika 2.) 12
Slika 7 Aminokiseline. Dostupno na: Cooper, Geoffrey M. i Robert E. Hausman. Stanica: molekularni pristup. Medicinska naklada, 2010., 53. str. 14
Slika 8. Osnovni dijelovi plinskog kromatografa. Dostupno na: http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana_Luterotti/09/091/0912.htm; pristupljeno: 9.12.2018. 21
Slika 9 Dijelovi split/splitless injektora. Dostupno na: https://www.glsciences.eu/html/split-splitless.html; pristupljeno: 9.12.2018. ; uredio: Roko Kunčić 22
Slika 10 Staklena, punjena i kapilarna kolona. Dostupno na: http://people.whitman.edu/~dunnivfm/C_MS_Ebook/CH2/2_3_3.html; pristupljeno: 7.11.2018. 23
Slika 11 Dijelovi uređaja za visokodjelotvornu tekućinsku kromatografiju (Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Osnove analitičke kemije, Školska knjiga 1999., 694. Str.). 26
Slika 12. Shema HPLC-a (Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti). Dostupno sa: https://www.chromacademy.com/HPLC-Operation-part-2.html?tpm=1_1; pristupljeno: 14.12.2018. 27
Slika 13. Soxhlet uređaj Dostupno sa: https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=Soxhletov+ekstraktor, pristupljeno: 9.12.2018. 29
Slika 14. Povezani sustav Soxhlet uređaja. Dostupno sa: file:///C:/Users/12002453/Downloads/RN-Opci%20dio-%20Dijana%20i%20Marina-svibanj%202009.pdf; pristupljeno: 9.12.2018. 30
Slika 15. Kromatogram masnih kiselina (vlastito istraživanje). 40
Slika 16. Kromatogram aminokiselina (vlastito istraživanje).. 50

12. IZVORI TABLIČNOG MATERIJALA

Tablica 1. Energetska vrijednost i kemijski sastav različitih vrsta mesa (Kovačić D., 2004. Sirovine prehrambene industrije (meso i riba), PTF-Osijek, Osijek (Sveučilišni udžbenik); 70. str.)..... 1
Tablica 2. Maseni udjeli vitamina u mesu Kovačević D. Kemija i tehnologija mesa i ribe. Sveučiliste Josipa Jurja Strossmayera, Prehrambeno tehnološki fakultet. Osijek; 2001., 24.str).....2
Tablica 3. Prikaz struktura, tipa i naziva masnih kiselina; Izvor: Hrvatski veterinarski Institut, pregledni članak: http://veterina.com.hr/?p=32109; pristupljeno: 3.2.2019 i L. G. Wade, 2017, "Organska kemija", 938. str. 10
Tablica 4. Podjela aminokiselina, kratice i formule; dostupno na: http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=2289; pristupljeno: 12.2.2019. 16
Tablica 5. Popis uzoraka koji su korišteni u analizama (vlastito istraživanje).....32
Tablica 6. Program HPLC-a (vlastito istraživanje)..... 37
Tablica 7. Rezultati analize postotka masnoće u mesu pomoću Soxhlet ekstrakcije (vlastito istraživanje)..... 38
Tablica 8. Retencijska vremena za određivanje masnih kiselina (vlastito istraživanje) 40
Tablica 9. Rezultati analize masnih kiselina kod uzoraka svinjskog buta i svinjske lopatice (vlastito istraživanje)..... 41
Tablica 10. Rezultati analize masnih kiselina kod analiziranih uzoraka junećeg buta i juneće lopatice (vlastito istraživanje) 43
Tablica 11. Rezultati analize masnih kiselina kod analiziranih uzoraka juneće jetre (vlastito istraživanje) 44
Tablica 12. Rezultati analize masnih kiselina u uzorcima pilećih prsa i uzorcima pileće jetre (vlastito istraživanje).....46
Tablica 13. Rezultati analize masnih kiselina u uzorcima pilećih bataka i zabataka s kožom (vlastito istraživanje)..... 47
Tablica 14. Prikaz rezultata zastupljenosti masnih kiselina u uzorcima purećeg mesa (vlastito istraživanje)..... 49
Tablica 15. Retencijska vremena za aminokiseline (vlastito istraživanje)..... 51
Tablica 16. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima svinjskog buta (vlastito istraživanje) 52
Tablica 17. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima junećeg buta i juneće lopatice (vlastito istraživanje) 53
Tablica 18. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima juneće jetre (vlastito istraživanje)..... 54
Tablica 19. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima pilećih prsa (vlastito istraživanje)..... 55

Tablica 20. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima pilećih bataka i zabataka s kožom (vlastito istraživanje)..... 56
Tablica 21. Rezultati analize zastupljenosti aminokiselina u uzorcima purećeg mesa (vlastito istraživanje) 57