Određivanje profila masnih kiselina u različitim vrstama ulja

Belajević, Marin

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:423912

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-26**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek

Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Marin Belajević

Određivanje profila masnih kiselina različitih vrsta ulja

Završni rad

Mentorica: doc. dr. sc. Olivera Galović

Osijek, 2018.

Ovaj rad posvećujem svojoj obitelji.

Zahvala

Zahvaljujem doc. dr. sc. Oliveri Galović na mentorstvu i dr. sc. Manueli Grčević s Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku na suradnji.

Sažetak:

Masne kiseline su kemijski spojevi koji imaju vrlo bitnu ulogu u ljudskom organizmu, pretežno kada se govori o čovjekovu zdravlju. Njihova građa je dobro poznata, radi se o karboksilnim kiselinama koje mogu nastati hidrolizom triacilglicerola, esterskog spoja koji se hidrolizira na tri slobodne masne kiseline čija je opća struktura prikazana u obliku RCOOH (R_1COOH, R_2COOH, R_3COOH), i triol, odnosno trovalentni alkohol, glicerol. Pomoću plinske kromatografije i metodom metilnih estera masnih kiselina (eng. *Fatty acid methyl ester, FAME*) uspješno su određeni profili masnih kiselina iz različitih vrsta ulja. Ova analitička metoda pomaže znanstvenicima izolirati, ispitati, odrediti i dokazati spojeve koje svakodnevno konzumiramo u obliku hrane, pomaže dobro upoznati i opisati njihove nutritivne vrijednosti i iznijeti samu njihovu važnost u ishrani ljudi.

Ključne riječi:

Masne kiseline, lipidi, masti i ulja, omega-3 masne kiseline, omega-6 masne kiseline, plinska kromatografija

Abstract:

Fatty acids are chemical compounds which play a very important role in the human organism, especially when it comes to human health. Their structure is very well known- they are carboxylic acids, products of hydrolysis of tryacylglycerol, an esteric compound which is hydrolyzed into three free fatty acids whose general structure is always shown as RCOOH (R_1COOH, R_2COOH, R_3COOH) and triol or trivalental alcohol, glycerol. Gas chromatography and fatty acid methly ester method proved to be very helpful and have successfully determined fatty acid profiles from various types of oils. This analytical procedure is very usefull to scientists and it helps to isolate, examine, determineand prove compounds that are daily consumed in the form of food, furthermore it allows them to understand and describe nutritional vaules of fatty acids and express their importance in human's diet.

Keywords:

Fatty acids, lipids, fats and oils, omega-3 fatty acids, omega-6 fatty acids, gas chromatography

Sadržaj

1. Uvod 7
2. Literaturni dio 8
2.1. Lipidi 8
2.2. Triacilgliceroli 9
2.3. Masne kiseline 12
2.3.1. Označavanje masnih kiselina 12
2.3.2. Zasićene masne kiseline 13
2.3.3. Jednostruko nezasićene masne kiseline 13
2.3.4. Višestruko nezasićene masne kiseline 14
2.3.5. *Trans* masne kiseline 14
2.3.6. Esencijalne masne kiseline 15
2.3.7. Neesencijalne masne kiseline i metabolizam masnih kiselina 15
3. Omega masne kiseline 17
3.1. α-linolenska kiselina (ALA) 17
3.2. Linolna kiselina (LA) 17
3.3. Eikozapentaenoična (EPA) i dokozaheksaenoična kiselina (DHA) 18
3.4. Arahidonska kiselina (AA) 18
3.5. Omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina 18
4. Metode ekstrakcije lipida 20
4.1. Metoda metilnih estera masnih kiselina (eng. *Fatty acid methyl ester methode, FAME*) 20
4.2. Plinska kromatografija 21
5. Eksperimentalni dio 22
5.1. Kemikalije i priprema otopina 22
5.2. Mjere opreza 22
5.3. Pribor i aparatura 22
5.4. Postupak pripreme metilnih estera pomoću borova trifluorida 23
5.5. Analiza uzoraka plinskom kromatografijom 27
6. Rezultati i diskusija 29
6.1. Sojino ulje 29
6.2. Laneno ulje 30
6.3. Riblje ulje 31
7. Zaključak 34
8. Literatura 35

1. Uvod

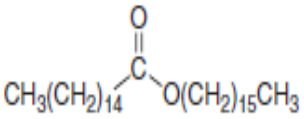
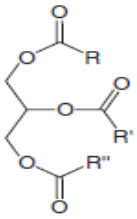
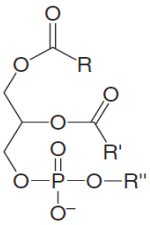
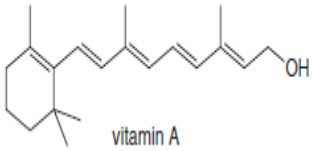
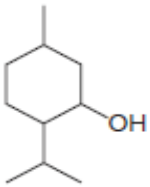
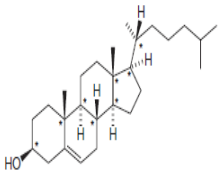
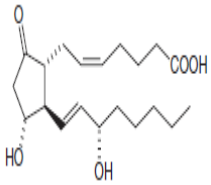
Cilj ovoga rada bio je odrediti profile, odnosno identificirati masne kiseline u sojinom, lanenom i ribljem ulju. Analitička kemija je generalno gledajući prirodoznanstvena grana kemije koja nastoji izučiti kvantitativni i kvalitativni sastav tvari koristeći se metodama kemijskih analiza. U konačnici je bitno dokazati od čega se uzorkovana tvar sastoji i u kojem omjeru su zastupljeni dokazani kemijski spojevi. Pri određivanju profila masnih kiselina u različitim vrstama ulja korištena je plinska kromatografija, analitička metoda širokoga spektra za analizu hrane. Osnovne skupine spojeva interesantne znanstvenicima koji analiziraju hranu i prehrambene proizvode, to jest, namirnice, su masne kiseline, triacilgliceridi, alkoholi, voda, i drugo. No s druge strane tu se mogu pronaći i razni toksini i pesticidi koji se mogu nalaziti u hrani te zbog toga su ovakve analize, koje daju detaljnu sliku o sastavu hrane, bitne, kako bi se moglo manipulirati s istim.

2. Literaturni dio

2.1. Lipidi

Lipidi su široka skupina kemijskih spojeva koje karakterizira zajedničko fizikalno svojstvo, a to je da su netopljivi u vodi. S obzirom da su lipidi spojevi koji su netopljivi u vodi (ili jako malo topljivi) da se zaključiti da je ta skupina kemijskih spojeva organskoga tipa i otapati će se u organskim otapalima (metanol, aceton, kloroform, benzen i drugi), dok je voda anorgansko otapalo. Ono zbog čega su lipidi drugačiji od bilo kojih drugih skupina kemijskih spojeva je to što lipidi nemaju konkretnu funkcijsku skupinu, kao što, na primjer, imaju ketoni, aldehidi, alkoholi i tako dalje. To su prvenstveno biološke molekule, ili biomolekule (kao što su i šećeri, nukleotidi, amino kiseline) jer imaju vrlo bitnu ulogu u ljudskome sistemu, ali i u organizmima drugih životinja. Po svojim fizikalnim svojstvima vrlo često se uspoređuju s alkanima. Zbog toga što lipidi nemaju zajedničku funkcijsku skupinu, lipidi mogu dolaziti u različitim oblicima i veličinama, što isto tako upućuje na različitost u strukturi, a s obzirom na to da su organske biomolekule i da imaju različite strukture, u ljudskom organizmu je ova skupina organskih spojeva pronašla različite funkcije u stanicama ljudskoga tijela. Lipidi su u ljudskom tijelu značajni zbog toga što su građevni elementi membrana u stanicama i zbog svoje hidrofobnosti naveliko utječu na propusnost, odnosno permeabilnost membrane stanica. Ono zbog čega su ovi organski spojevi topljivi u organskim spojevima, a ne topljivi u vodi, je veliki broj ugljik-vodik i ugljik-ugljik σ-veza i zbog toga što nema polarnih atoma kao što su kisik, sumpor, dušik i fosfor. Ova skupina spojeva se može podijeliti na lipide koji se mogu hidrolizirati i na lipide koji se ne mogu hidrolizirati (Tablica 1). U skupinu hidrolizirajućih lipida spadaju voskovi, triacilgliceroli i fosfolipidi. U skupinu lipida koji se ne mogu hidrolizirati spadaju vitamini topivi u mastima, terpeni, steroidi i ikozanoidi, iako postoji i grublja podjela. [1]

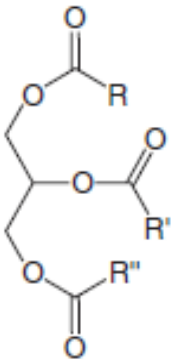
Tablica 1. Klasifikacija lipida s obzirom na sposobnost hidroliziranja i strukture pripadajućih spojeva.

Lipidi koji se mogu hidrolizirati	Voskovi 	Triacilgliceroli 	Fosfolipidi 	
Lipidi koji se **ne** mogu hidrolizirati	Vitamini topivi u mastima  vitamin A	Terpeni 	Steroidi 	Ikozanoidi 

Lipidi sadržavaju u sebi veliku količinu energije. Što je ugljikov atom u kemijskom spoju više reduciran, to će se njegovom oksidacijom osloboditi više energije. Upravo taj proces oksidacije se odvija u metabolizmu lipida kako bi se zadovoljile potrebe tijela za energijom. [1]

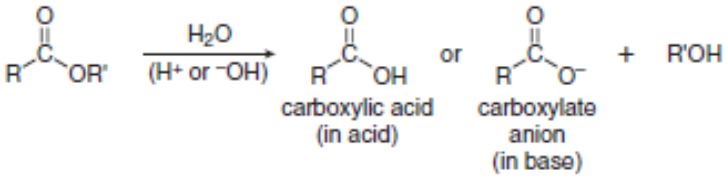
2.2. Triacilgliceroli

Vrsta nenabijenih lipida koja je najrasprostranjenija i najviše prevladava u prirodi jer su tu uključene životinjske masti i biljna ulja. Skupina kemijskih spojeva čija se struktura (Slika 1) može opisati na način da se triacilglicerol sastoji od tri esterske grupe, pri čemu je svakoj toj esterskoj grupi svojstveno da sadrži dugi lanac ugljika koji je vezan za karbonilnu skupinu.



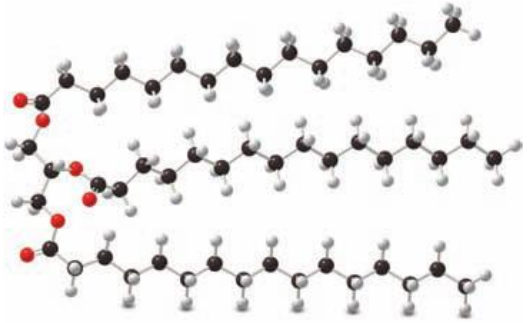
Slika 1. Opća struktura triacilglicerola. [1]

Triacilgliceroli mogu pomoću vode ili enzima (lipaza) hidrolizirati na alkohol glicerol i na tri slobodne masne kisline (Slika 2). Masne kiseline su pohranjene u obliku triacilglicerola. One su u triacilglicerolima nerazgranate, a u prirodi uvijek dolaze sa parnim brojem ugljikovih atoma, te je konfiguracija dvostrukih veza u prirodnim masnim kiselinama Z.



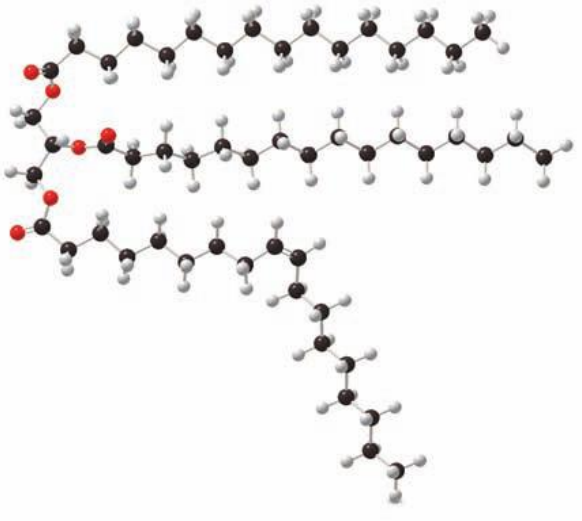
Slika 2. Reakcija hidrolize estera, nastaje glicerol i tri slobodne masne kiseline. [1]

Triacilgliceroli imaju svoj stupanj zasićenosti, a to ovisi o ugljikovodičnom lancu, odnosno sadrži li jednu ili više dvostrukih veza ili ne. Nakon hidrolize triacilglicerola, ugljikovodični lanac ostaje isti, stoga se i masne kiseline prema stupnju zasićenosti dijele na zasićene i nezasićene masne kiseline. Točka tališta ovisi o stupnju zasićenosti masne kiseline. Ulja i masti su triacilgliceroli i razlikuju se po tome što su u uljima masne kiseline nezasićene, a u mastima zasićene, i zbog toga se te dvije vrste razlikuju po fizikalnim svojstvima. Zasićeni triacilgliceroli su masti (Slika 3). Kod masti, u ugljikovodičnom lancu, svaki ugljik stvara maksimalan broj veza s vodicima, zbog toga se gube dvostruke veze. Fizikalna svojstva koja obilježavaju masti su krutost pri sobnoj temperaturi i viša točka vrelišta. Masti su zbijenije zbog ravnih ugljikovodičnih lanaca te se zbog mnogih Van der Waalsovih interakcija među lancima takvi spojevi bolje pakiraju jedan uz drugoga što indicira i na veću gustoću.



Slika 3. Geometrijski prikaz zasićenog triacilglicerola, masti. [1]

Ulja s druge strane u svojoj strukturi sadrže barem jednu nezasićenu masnu kiselinu, što znači da unutar te masne kiseline se nalazi jedna ili više dvostrukih veza (Slika 4). Nezasićenost masne kiseline upućuje na to da pojedini ugljikovi atomi iz ugljikovodičnog lanca nisu ostvarili maksimalan broj veza s vodicima, zbog toga se formiraju dvostruke veze. Za razliku od masti, ulja imaju nižu točku vrelišta i pri sobnoj temperaturi su u tekućem stanju te zbog manjeg broja Van der Waalsovih reakcija ne dolazi do gustog pakiranja takvih triacilglicerola te Z dvostruka veza uzrokuje zaokret lanca i onemogućuje pravilno slaganje takvih triacilglicerola što dovodi do zaključka da je gustoća ulja manja.



Slika 4. Geometrijski prikaz nezasićenog triacilglicerola, ulja. [1]

Što je triacilglicerol krući, to je veća vjerojatnost da u sebi sadrži veći postotak zasićenih masnih kislina. Mnogi nezasićeni triacilgliceroli se u industriji reduciraju u zasićene triacilglicerole postupkom katalitičke hidrogenacije. Ovakva reakcija prevođenja dvostruke veze u jednostruku zahtjeva korištenje elementarnog vodika i prisutnost prijelaznog metala kao katalizatora. Ovim procesom ulja postaju masti, odnosno tekućine postaju krutine. Na ovaj način se iz biljnih ulja može dobiti margarin. Triacilgliceroli su podložni reakcijama oksidacije na alilnom ugljikovom atomu i tako se mogu postepeno oksidirati u reakciji s kisikom iz zraka, na taj način ulja mogu postati užegla. Nastaje lanac radikalnih reakcija. Krajnji produkt je vodikov peroksid i alilni radikal, nestabilan spoj koji potiče stvaranje drugih oksidacijskih produkata neugodnog mirisa i okusa. [1,2]

2.3. Masne kiseline

Kada masti i ulja hidroliziraju nastaju masne kiseline. To su kiseline čija je se opća formula može prikazati u obliku RCOOH, gdje je R ugljikovodični lanac, a COOH karboksilni kraj. S obzirom na dvostruke veze u svojoj strukturi, mogu se podijeliti na zasićene, jednostruko nezasićene i višestruko nezasićene ili polinezasićene masne kiseline. Međusobna različitost u stupnju nezasićenosti masnih kiselina dovodi do pojave različitih fizikalnih svojstava. Što je veći stupanj nezasićenosti, to je niža temperatura tališta. Masne kiseline u prirodi se uglavnom pojavljuju u obliku u kojem njihov ugljikovodični lanac nije razgranat i sadrži od četiri do dvadeset i dva ugljikova atoma**.** [3,4] U organizmima mogu biti prisutne u obliku lipida koji izgrađuju membrane, dok mogu biti u svome slobodnom obliku. Kada su masne kiseline u slobodnom obliku, ponašaju se kao amfipatske molekule, to jest, njihov polarni karboksilni kraj (COOH) je hidrofilan i privlači vodu, dok je njihov ugljikovodični lanac hidrofoban kraj koji se nastoji izolirati od molekula vode u stanici. Dva su moguća izomera masnih kiselina, a to su *cis* i *trans* izomeri. U prirodi se gotovo uvijek pojavljuju *cis* izomeri, iako postoje i *trans* izomeri, no to je vrlo rijetko. *Trans* izomeri se uglavnom dobivaju u industriji hrane. Masne kiseline u prirodnim mastima uvijek imaju paran broj ugljikovih atoma, a to je zbog toga što su građene od C_2 jedinica kao osnovnih građevnih blokova. Ti blokovi zapravo predstavljaju ostatak acetatne kiseline, odnosno acetilkoenzim A. Položaj dvostruke veze također doprinosi do različitih fizikalnih i kemijskih svojstava masnih kiselina, pa tako postoje omega-3, omega-6, omega-9 i druge masne kiseline. Omega-3 i omega-6 masne kiseline su esencijalne masne kiseline, što znači da ih ljudski organizam ne može sam sintetizirati, nego se njihov nedostatak treba nadomjestiti hranom koja ih sadrži. Ljudskom organizmu su bitne zbog svojih fizioloških uloga. Građevni su blokovi fosfolipida i glikolipida koji grade biološke membrane, masne kiseline mogu modificirati proteine kovalentnim vezanjem i pri tome ih usmjeravati na određena mjesta membrane, one su i molekule goriva jer njihovom oksidacijom nastaje dovoljno energije za potrebe stanice, masne kiseline imaju i ulogu unutarstaničnih glasnika, što je slično hormonima. [5]

2.3.1. Označavanje masnih kiselina

Označavanje masnih kiselina prvenstveno ukazuje na duljinu lanca, broj i položaj dvostrukih veza, ako ih ima. Pozicija dvostruke veze se označava velikim tiskanim grčkim slovom delta *Δ*, a u eksponent iznad oznake *Δ* se navodi redni broj ugljikovog atoma u lancu

jednostruko ili višestruko nezasićene masne kiseline gdje ta dvostruka veza počinje. Redni broj ugljikovog atoma u masnoj kiselini se označuje tako da je karboksilni ugljik COOH kraja prvi, a poslije njega redom ugljici dobivaju svoje brojeve sve do posljednjeg terminalnog ugljika na kraju lanca. Na primjer: palmitinska kiselina sadrži šesnaest ugljikovih atoma i nema dvostrukih veza jer je zasićena masna kiselina i to se označuje kao 16:0. Oleinska kiselina je jednostruko zasićena kiselina što znači da ima jednu dvostruku vezu i ima osamnaest ugljikovih atoma, ona se prikazuje na slijedeći način 18:1. Višestruko nezasićena kiselina poput linolne koja ima osamnaest vodikovih atoma i dvije dvostruke veze na devetom i dvanaestom položaju se označuje 18:2($\Delta^{9,12}$). [2]

2.3.2. Zasićene masne kiseline

Zasićene masne kiseline u ugljikovodičnom lancu imaju ugljikove atome koji imaju maksimalan mogući vezani broj vodikovih atoma i sve su veze između ugljikovih atoma jednostruke. S obzirom na svoju duljinu lanca, mogu se podijeliti na kratke, srednje i dugačke. Kratke masne kiseline imaju od jedan do šest ugljikovih atoma i uglavnom dolaze u slobodnoj formi. Masne kiseline srednje dužine su one koje imaju do 10 ugljikovih atoma i mogu biti u slobodnoj formi ili u esterificiranom obliku kao triacilglicerol. Masne kiseline dugoga lanca mogu sadržavati i preko dvadeset ugljikovih atoma u lancu. Najčešće zasićene masne kiseline su laurinska, miristinska, palmitinska, stearinska (Slika 5), arahinska. Izvori zasićenih masnih kiselina su masti životinjskog porijekla, biljna ulja, masna mesa i mesne prerađevine, punomasni mliječni proizvodi i grickalice (eng. *snack)*. [4]

2.3.3. Jednostruko nezasićene masne kiseline

Jednostruko nezasićene masne kiseline su one kiseline koje u svome ugljikovodičnom lancu sadrže jednu dvostruku vezu između ugljikovih atoma. S obzirom na položaj atoma oko dvostruke veze postoje dvije konfiguracije, *cis* i *trans*. U *cis* konformaciji, dva atoma ugljika povezana dvostrukom vezom su u ravnini, a vodikovi atomi su na istoj strani. U *trans* konformaciji, ugljici su u ravnini, a vodikovi atomi su jedan nasuprot drugoga. Dvostruka veza gotovo uvijek poprima *cis* konformaciju. Dvostruku vezu karakterizira rotacija, ograničena rotacija podrazumijeva pucanje dvostruke veze što upućuje na to da su nezasićene masne kiseline manje stabilne i reaktivnije od zasićenih masnih kiselina. Dakle, što je veći stupanj nezasićenosti, odnosno broj dvostrukih veza u masnoj kiselini, to je ona nestabilnija i podložna reakcijama. Najčešće jednostruko nezasićene masne

kiseline su palmitoleinska i oleinska (Slika 6). Najčešći izvori ovakvih masnih kiselina su biljna ulja poput repičinog, maslinovog, suncokretovog, ulja orašastih plodova. [1]

2.3.4. Višestruko nezasićene masne kiseline

Višestruko nezasićene masne kiseline u svojoj strukturi sadržavaju dvije ili više dvostrukih veza koje nikako nisu susjedne nego su odvojene jednom CH_2 jedinicom tako da π elektronski sustavi ne dolaze u kontakt kao što je to slučaj kod konjugiranih spojeva poput karotenoida. Najčešće višestruko zasićene masne kiseline su linolna (Slika 7), linolenska (Slika 8) i arahidonska masna kiselina. Radi jednostavnosti označavanja masnih kiselina, kod višestruko nezasićenih masnih kiselina dolazi do uvođenja grčkog slova omega ω što označuje početak, to jest, položaj dvostruke veze od CH_3 metilnog kraja masne kiseline gdje se taj ugljikov atom računa kao prvi. Linolna i arahidonska masna kiselina su ω-6 masne kiseline dok je α-linolenska masna kiselina ω-3 masna kiselina. Arahidonska se kiselina u životinjskim organizmima smatra izrazito potrebnom zbog sinteze ikozanoida, skupine spojeva koja ima ulogu signala odnosno biološki aktivnih tvari u nekim fiziološkim putovima, slični su hormonima ali se razlikuju po tome što ikozanoidi za razliku od hormona svoju funkciju obavljaju u sredini u kojoj su i sintetizirani, dok se hormoni sintetiziraju i transportiraju do mjesta djelovanja. [7]

2.3.5. *Trans* masne kiseline

Pretvorba *cis* dvostruke veze u *trans* dvostruku vezu unutar lanca masne kiseline se odvija zbog toga što je korak hidrogeniranja reverzibilan. Pri hidrogeniranju (*cis*) alkena, odnosno dodavanju vodika na *cis* dvostruku vezu nastaje alkan, no zbog reverzibilnost se alkan može vratiti u alken, *trans* konfiguracije. To je reakcija katalitičke hidrogenacije, česta je u prehrambenoj industriji. Ovim procesom nastaje margarin iz biljnog ulja. Ovakve kiseline imaju duži rok trajanja jer su manje podložne oksidaciji za razliku od nezasićenih masnih kiselina. Zbog svoje građe koja je slična zasićenim masnim kiselinama, uzima se u obzir to da one imaju ista svojstva i isti utjecaj na zdravlje, dok imaju potpuno različita svojstva u usporedbi s *cis* masnim kiselinama, na primjer imaju višu točku vrelišta od *cis* masnih kiselina. Izvori *trans* masnih kiselina su lako dostupni, a to su margarin, grickalice, lisnato tijesto, djelomice hidrogenizirana ulja, pržena hrana i slično. Ova skupina masnih kiselina je štetna za ljudsko zdravlje jer uzrokuju mnoge kardiovaskularne bolesti i ometaju metabolizam esencijalnih masnih kiselina. [6,8]

2.3.6. Esencijalne masne kiseline

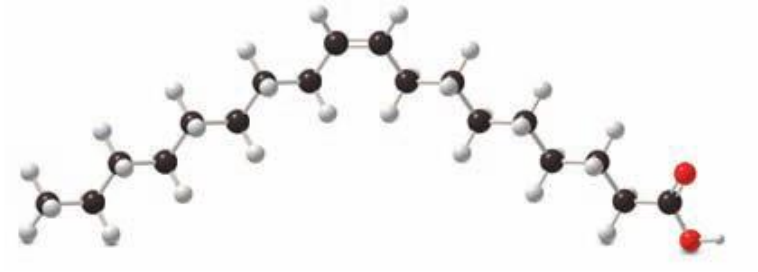
Esencijalne masne kiseline su one koje ljudsko tijelo samo ne može sintetizirati, nego se unose hranom. Većina je životinja (a među njima i čovjek) tijekom evolucije izgubio potrebne enzime koji mogu sintetizirati esencijalne masne kiseline za razliku od biljaka. Biljke ih skladište u svojim tkivima i sjemenkama u obliku ulja. Najpoznatije esencijalne masne kiseline su linolna (linoleinska) i linolenska (ω-3 i ω-6 masne kiseline) i služe za biosintezu ikozanoida. [6,9]

2.3.7. Neesencijalne masne kiseline i metabolizam masnih kiselina

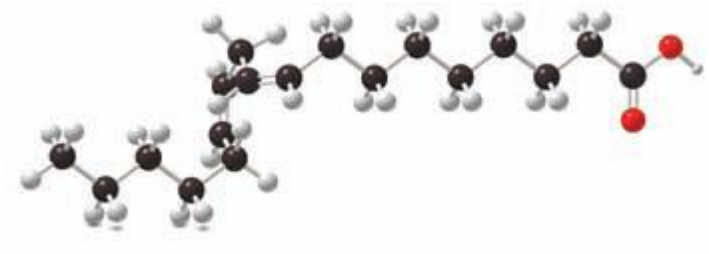
Neesencijalne masne kiseline su one kiseline koje ljudsko tijelo može sintetizirati unutar svoga organizma. U ljudskom tijelu postoji metabolizam masnih kiselina, odnosno proces njihove sinteze i razgradnje. Enzimi lipaze hidroliziraju triacilglicerole na glicerol i masne kiseline. Taj proces se odvija pod nadzorom hormona kao što su glukagon i adrenalin. Aktivacija masnih kiselina je nužan proces kako bi masna kiselina ušla u mitohondrij stanice gdje se odvija oksidacija. Najjednostavniji primjer ovoga metaboličkoga procesa je oksidacija zasićene masne kiseline s parnim brojem ugljikovih atoma. Aktivacija se odvija u dva stupnja i to na način da se prvo masna kiselina u reverzibilnoj reakciji aktiviranja adeniliranjem sa ATP-om kondenzira u acil-adenilat. Drugi korak je reakcija supstitucije adenozin-monofosfata i aceil-adenilata s koenzimom A. Produkt je aktivirana masna kiselina, acil-koenzim A. Takvu masnu kiselinu je prije ulaska u mitohondrij potrebno pretvoriti u oblik koji može proći kroz membranu do mitohondrija. Masna kiselina se pretvara u acil-karnitin pomoću enzima karnitin-aciltransferaze I. Kada acil-karnitin uđe u mitohondrij, on reagira s molekulom koenzima A pri čemu nastaje prvobitni oblik aktivirane masne kiseline, acil-konezim A, spreman za oksidaciju. Oksidacija ili β-oksidacija masnih kiselina se odvija u četiri koraka: oksidacija uz elektron akceptor flavin-adenin-dinukleotid (FAD), hidratiranje, oksidacija uz nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD^+) i reakcija tiolize. Krajnji produkti oksidacije zasićene masne kiseline je acil-koenzim A kraći za dva ugljikova atoma i acetil-koenzim A. Vrlo bitna činjenica je da se ovim procesom dobije puno energije u obliku adenozin-trifosfata (ATP-a) koji je potreban stanicama za normalno funkcioniranje. Razgradnja jednostruko i višestruko nezasićenih masnih kiselina zahtjeva više enzima i dodatne korake zbog dvostrukih veza, dok kod oksidacije masnih kiselina s neparnim brojem ugljikovih atoma konačni produkt je propionil-koenzim A koji se prevodi u međuprodukt

ciklusa limunske kiseline. Razgradnja i sinteza masnih kiselina se odvijaju različitim putovima, razgradnja se odvija u mitohondriju dok se sinteza odvija u citoplazmi. [5]

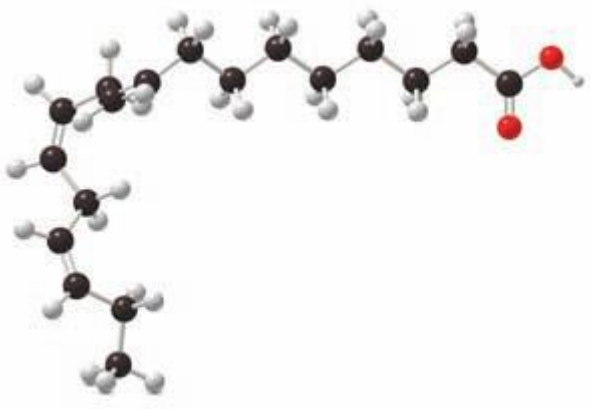
Slika 5. Stearinska kiselina, zasićena masna kiselina, 18:0. [1]



Slika 6. Oleinskakislina, jednostruko nezasićena masna kiselina, 18:1(Δ^{9}). [1]



Slika 7. Linolna kiselina, višestruko nezasićena, ω-6 masna kiselina, 18:2($\Delta^{9,12}$). [1]



Slika 8. Linolenska kiselina, višestruko nezasićena, ω-3 masna kiselina, 18:3($\Delta^{9,12,15}$). [1]

3. Omega masne kiseline

Općenita strukturna formula višestruko nezasićenih masnih kiselina može se prikazati u obliku $CH_3(CH_2)_xCH{=}CH[CH_2CH{=}CH]_y(CH_2)_zCH_2COOH$. Takvi kemijski spojevi imaju pretežno od osamnaest do dvadeset i dva ugljikova atoma u lancu među kojima se može naći od dvije do šest nezasićenih dvostrukih veza koje su odvojene metilenskom skupinom. Vrijednost x govori kojoj obitelji omega masnih kiselina pripada dani spoj. Ako je x=1, tada se prva dvostruka veza pojavljuje na trećem ugljikovom atomu gledano od kraja metilne grupe ($-CH_3$), i radi se o omega-3 masnim kiselinama. Toj obitelji masnih kiselina pripadaju:linolenska, stearidonska, eikozapentaenoična kiselina (EPA), dokozapentaenoična kiselina (DPA), dokozaheksaenoična kiselina (DHA) i druge. Postoje i druge obitelji, a to su omega-6, omega-7, omega-9 masne kiseline. Svaka obitelj se sintetizira iz određene preteče, pa tako za omega-3 obitelj je preteča α-linolenska kiselina, za omega-6 je linolna, za omega-7 je palmitoleinska, i za omega-9 obitelj preteča je oleinska kiselina. Svaka ta preteča prolazi kroz metaboličke procese elongacije i uklanjanja zasićenosti. Svaka kiselina čiji lanac sadrži osamnaest ili više ugljikovih atoma smatra se dugo-lančanom kiselinom. Životinje ne proizvode linoleinsku kiselinu niti α-linolensku kiselinu nego ih dobivaju prehranom pretežito biljnog porijekla, mesa ili ribe. Kiseline se zatim elongiraju do potrebnih višestruko nezasićenih masnih kiselina. α-linolenska kiselina u pravilu se dobiva iz biljaka, dok eikozapentaenoična i dokozaheksaenoična pretežito iz ribe. Linolna i linolenska kiselina se mogu pronaći posebice u lanenom ulju. [4,10,11]

3.1. α-linolenska kiselina (ALA)

Preteča omega-3 masnih kiselina, nalazi se većinom u kloroplastima zelenog povrća, i u sjemenkama biljaka poput lana, chia, repice i drugih. [12] α-linolenska kiselina se u ljudskom tijelu može konvertirati u eikozapentaenoičnu kiselinu i u dokozaheksaenoičnu kiselinu, što nije slučaj kod dijabetičara, novorođenčadi i bolesnika koji pate od hipertenzije. [10,13,14,15]

3.2. Linolna kiselina (LA)

Preteča omega-6 masnih kiselina, linolna kiselina je esencijalna kiselina koja se ugrađuje u membrane stanica i u ljudskom tijelu se može metabolizirati u arahidonsku kiselinu. Izvori ove masne kiseline su sjemenke većine biljaka i žitarica poput soje i lana, te meso. [12]

3.3. Eikozapentaenoična (EPA) i dokozaheksaenoična kiselina (DHA)

Esencijalne omega-3 masne kiseline, unose se prehranom, najviše ih ima u ribi i ribljem ulju, no mogu se unositi i u obliku kapsula. Značajne su zbog toga što održavaju ravnotežu ikozanoida koji imaju pozitivno djelovanje na aritmiju, trombozu, reumu i druge slične bolesti. EPA je sastavni dio kolesterilnih estera, fosfolipida i triglicerida, dok je DHA dio fosfolipida. Kod čovjeka se DHA nalazi u mrežnici, testisima i spermi, a najviše u moždanim lipidima. EPA i DHA imaju značajno djelovanje kod gena IL-1β koji je odgovoran za upale. Te kiseline suprimiraju njegovu mRNA što znači da imaju utjecaj na gensku ekspresiju. [10,14,16]

3.4. Arahidonska kiselina (AA)

Omega-6 masna kiselina koja se sintetizira iz linolne kiseline dehidrogenacijom i elongacijom. Prisutna u građi većine lipida,a posebno bitno je što se nalazi u neuronskim fosfolipidima. Prehrana obogaćena linolnom kiselinom će rezultirati povećanjem koncentracije arahidonske kiseline u organizmu zbog lake pretvorbe. AA i EPA su glavni proizvođači ikozanoida. Kiseline međusobno kontroliraju produkte, to jest, metabolite kao supstrate za enzime koji stvaraju ikozanoide. Ikozanoidi arahidonske kiseline i eikozapentaenoične kiseline su različiti, stoga se njihova količina treba regulirati. [10,16,17]

3.5. Omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina

Kada je riječ o zdravoj prehrani, potrebno je paziti i na samu količinu unesene zdrave hrane kako ne bi došlo do ne željenih zdravstvenih problema. Sve je poželjno unositi u određenoj mjeri. Tako je bitan i omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina. Reguliran i pravilan omjer masnih kiselina treba biti 1:1 do 4:1, iako to često nije slučaj kod mnogih ljudi. Ravnoteža omega-6 i omega-3 masnih kiselina je iznimno važna jer narušavanjem idealnog omjera dolazi do razvoja bolesti. Prevelik omjer, omjer veći od 4:1, dovodi do bolesti. [13] Omega-6 masne kiseline i omega 3-masne kiseline su kompetentni supstrati za enzime koji će ih po potrebi elongirati i metabolizirati te na kraju uklopiti u stanične membrane. Kada omega-6 masnih kiselina ima više nego što je potrebno, one izazivaju proupalna i alergena djelovanja, stimuliraju metabolizam ciklooksigenaze i 5-lipooksigenaze. Ciklooksigenaza prevodi arahidonsku kiselinu u njene međuprodukte, prostaglandine, koji se potom prevode u tromboksane. Procesom 5-lipooksigenaze nastaju

leukotrieni. [17] Prostangladini, tromboksani i leukotrieni nastali iz omega-6 masnih kiselina su proupalnog karaktera. Većim unosom linolne kiseline se brže sintetizira arahidonska kiselina i ima je više pa je veća vjerojatnost da će se ona kao omega-6 masna kiselina ugrađivati u membrane stanica nego bilo koja omega-3 masna kiselina. Unošenjem omega-3 masnih kiselina u dovoljnim količinama dolazi do sprječavanja upala, smanjenja leukotriena i proupalnih posrednika. [12] Prehrana bogata omega-6 masnim kiselinama dovodi do promjena u krvi, povećava viskoznost, smanjen protok krvi, grčenje mišića i tako dalje. [14] Pretjerani unos masnih kiselina također je loš za zdravlje jer može doći do nastajanja žučnog kamenca, smanjenja imuniteta, razvoja osteoporoze, nakupljanja trombocita i povišene lipidneperoksidacije. [6]

4. Metode ekstrakcije lipida

Kako bi se analizirali lipidi u hrani potrebno ih je prvo izolirati, a zatim njihove komponente kao što su masne kiseline prevesti u oblike koji su prigodni za plinsku kromatografiju kako bi se ustanovio kvantitativni i kvalitativni sastav. Te metode mogu se podijeliti kao metode ekstrakcije s otapalom i metode ekstrakcije bez otapala. [18] Kod metode ekstrakcije s otapalom najvažniji je izbor otapala jer, na primjer, glikolipidi su bolje topljivi u alkoholu nego u heksanu, dok su triacilgliceroli bolje topljivi u heksanu, što ukazuje na široki izbor polarnih i nepolarnih otapala. Idealno otapalo bi trebalo biti specifično za lipide, ne bi trebalo ostavljati talog i treba imati nisku točku vrelišta, nezapaljivo i netoksično u svakom agregatnom stanju. Nadalje, idealno otapalo treba biti nehigroskopno i jeftino i treba prodirati u čestice uzorka s tim da se razdvaja u više dijelova. Najčešća otapala su etil eter i petroleum, dok su za ekstrakciju ulja iz sjemenki soje najčešće koriste heksan i pentan. Neke od metoda ekstrakcije s otapalom su eng. *Goldfish* metoda, metoda po *Soxhletu*, *Mojonnier* metoda ili metoda alkalne hidrolize. Ekstrakcijske metode bez otapala su *Babcock* metoda, *Gerber* metoda i deterdžent metoda. Instrumentalne metode za dokazivanje masti i drugih komponenata u hrani su metoda infracrvenoga zračenja, metoda apsorpcije x-zraka, metoda nuklearno magnetske rezonance, metoda ekstrakcije pomoću akceleriranog otapala, metoda korištenja superkritičnog fluida za ekstrakciju i plinska kromatografija. Svaka metoda ima svoje prednosti i mane no kao službena metoda za označavanje hranjivih tvari smatra se plinska kromatografija. [19,20]

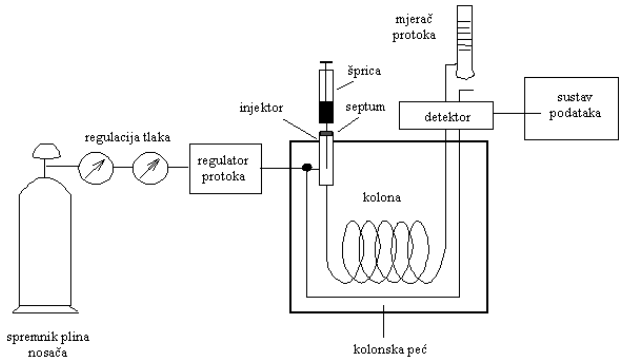
4.1. Metoda metilnih estera masnih kiselina (eng. *Fatty acid methyl ester methode, FAME*)

Plinska kromatografija nudi savršeno rješenje za određivanje profila masnih kiselina i njihov sastav u hrani. Spoznaja o masnim kiselinama i njihovom stupnju zasićenosti je vrlo bitna u prehrambenoj industriji i nutricionizmu te na kraju u medicini prvenstveno zbog kvalitete hrane i utjecaja na čovjekovo zdravlje. [21] Određivanje profila masnih kiselina i sastav masnih kiselina u hrani zahtjeva ekstrakciju lipida, saponifikaciju triacilglicerola i fosfolipida, esterifikaciju masnih kiselina u metil estere zbog više točke isparavanja i naposljetku analizu, koristeći se kapilarnom plinskom kromatografijom. Priprema uzoraka za analizu metilnih estera masnih kiselina može se uraditi pomoću dvije metode. Prva metoda je metoda natrijeva metoksida, a druga metoda je metoda borova trifluorida i prigodna je za analizu masti i masnih kiselina, biljnog i životinjskog porijekla.

U ovom završnom radu, za pripremu uzoraka za određivanje metilnih estera masnih kiselina, koristila se metoda borova trifluorida. U prvoj metodi natrijev metoksid predstavlja katalizator kako bi se masna kiselina interesterificirala. Metoda je prigodna za masne kiseline koje mogu biti zasićene i nezasićene i sadržavaju od četiri do dvadeset i četiri ugljikova atoma. S druge strane u korištenoj metodi pomoću borova trifluorida, masti su saponificirane, a masne kiseline su slobodne, no ako se lipidi ne mogu saponificirati onda se oni ne izdvajaju, a ako su kao takvi prisutni u velikoj količini mogu omesti daljnju analizu. Slobodne masne kiseline se zatim esterificiraju u prisustvu borova fluorida koji djeluje kao katalizator. Mana metode borova tri fluorida je što nije prikladna za pripremu uzoraka metilnih estera masnih kiselina koje sadrže epoksi, aldehidne, ketonske, hidropeoksidne, ciklopropilne, ciklopentilne grupe i konjugirane višestruko nezasićene i acetilne spojeve zbog djelomičnog ili potpunog uništenja tih grupa. [20]

4.2. Plinska kromatografija

Metoda koja ima široki spektar za analizu hrane. Koristi se za određivanje kvalitativnog i kvantitativnog sastava i čistoću tvari, najviše za masne kiseline, trigliceride, vodu, plinove, alkohol, kolesterol, pesticide. Spojevi u ovom postupku separacije i analize spojeva isparavaju bez razgradnje odnosno termički su stabilne. Plin nosač je mobilna faza koja nema kemijskih interakcija s analitom, odnosno plin mora biti inertan, na primjer helij ili dušik. [20] Mobilna faza eluira komponente uzorka kroz kolonu koju oblaže stacionarna faza. Uzorak se injektira u instrument i isparava u peći, odlazi do kolone gdje se kondenziraju i dijele različite komponente prema relativnom vremenu zadržavanja na stacionarnoj fazi. Detektor prati izlazak komponenti. (Slika 9). [22]



Slika 9. Shema plinskog kromatografa. [22]

5. Eksperimentalni dio

5.1. Kemikalije i priprema otopina

borov trifluorid (BF_3), 12% otopina (AcrosOrganics, Belgija)

metanol (CH_3OH), (J. T. Baker, Nizozemska)

n-heksan (C_6H_{14}), (Carlo Erba, Francuska)

natrijev klorid (NaCl), (Gram-mol, Zagreb, Hrvatska)

natrijev hidroksid (NaOH), (T. T. T. d.o.o., Sveta Nedjelja, Hrvatska)

bezvodni natrijev sulfat (Na_2SO_4), (T. T. T. d.o.o., Sveta Nedjelja, Hrvatska)

Otopina natrijevog hidroksida u metanolu c = 0,5 M. Otopina se priređuje tako da je 2 g granula natrijeva hidroksida odvagano na analitičkoj vagi, odvaga se prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL i tikvica se metanolom nadopuni do oznake. Otopina se dobro promiješa.

Za pripremu zasićene otopine natrijeva klorida je u tikvicu sipano oko 100 mL destilirane vode u koju je dodano 40-50 g NaCl. Otopina je miješana sve dok se NaCl sasvim nije otopio.

Ulja koja su ispitivana su sojino, laneno i riblje ulje.

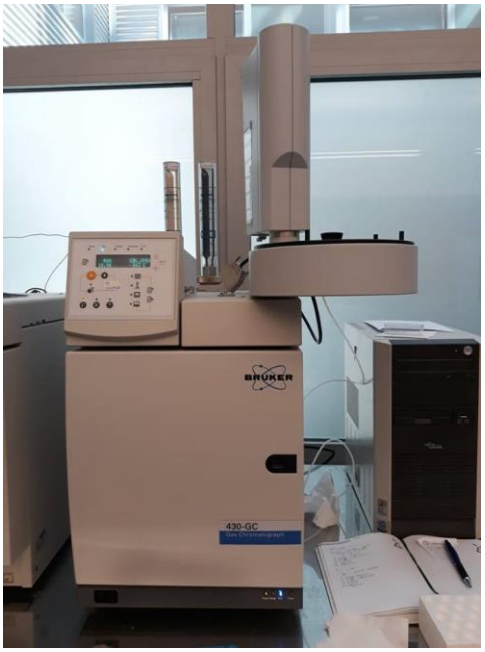
5.2. Mjere opreza

Borov trifluorid je otrovan i zapaljiv, ne smije doći u kontakt s očima, kožom, i ne smije ga se udisati. Borov trifluorid, heksan su opasan otpad, ostali kemijski otpad smije se odstraniti u odvod uz ispiranje s vodom. Heksan je štetan za okoliš i zapaljiv. Metanol je zapaljiv. Natrijev klorid može izazvati iritacije. Natrijev hidroksid može uzrokovati koroziju. Natrijev sulfat je također štetan.

5.3. Pribor i aparatura

Tikvica okruglog dna od 25 mL, hladilo, kapalica, bočice za uzorak s kapicom za brtvljenje, kuhalo, vodena kupelj, male bočice s čepom, mikropipeta, pipeta (10 mL, 5 mL), vialice.

Slika 10: Analitička vaga, (KERN, Njemačka).

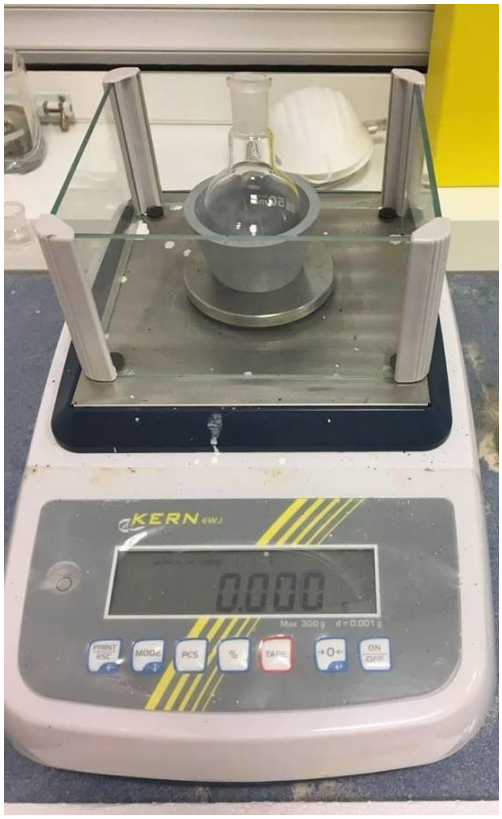


Slika 11. Plinski kromatograf tvrtke Bruker, model 430-GC.

5.4. Postupak pripreme metilnih estera pomoću borova trifluorida

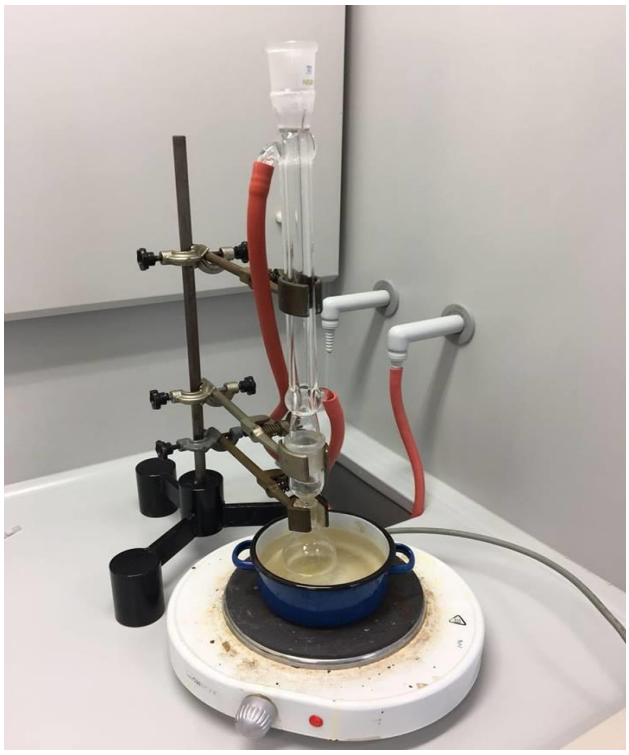
Na analitičkoj vagi (Slika 10) se u tikvici okruglog dna od 25 mL odvaže 0,1 g uzorka (Slika 12). Zatim se doda 4 mL natrijeva hidroksida u metanolu c = 0,5 M. Na tikvicu se postavi hladilo, a zatim se sve grije na vodenoj kupelji i refluksira od 5 do 10

minuta (Slika 14). Refluksiranje je gotovo kada nestanu okrugle kapljice masnoće. Nakon refluksa se kroz hladilo u tikvicu se doda 5 mL otopine borova trifluorida i uzorak se zagrijava još dvije minute. Poslije zagrijavanja s otopinom borova trifluorida, doda se 5 mL heksana u tikvicu kroz hladilo. Uzorak se opet zagrijava jednu minutu. Nakon zagrijavanja tikvica se makne, i doda se 10 mL zasićene otopine natrijeva klorida. Tikvica se nakon toga začepi i snažno mućka oko 15 sekundi dok je otopina još mlaka. Nakon mućkanja se doda još malo otopine zasićenog natrijevog klorida kako bi sloj heksana plivao u grlu tikvice (Slika 15). Heksan je u gornjem sloju u tikvici i uzima se 1 mL i prenosi se u manju posudu. U posudu se dodaje bezvodni natrijev sulfat kako bi se uklonila zaostala voda. Nakon što je dodani bezvodni natrijev sulfat postao sipak, uzimamo 1 mL uzorka i prenosimo ga u vialicu (Slika 16). Ovako pripremljen uzorak spreman je za analizu plinskom kromatografijom.

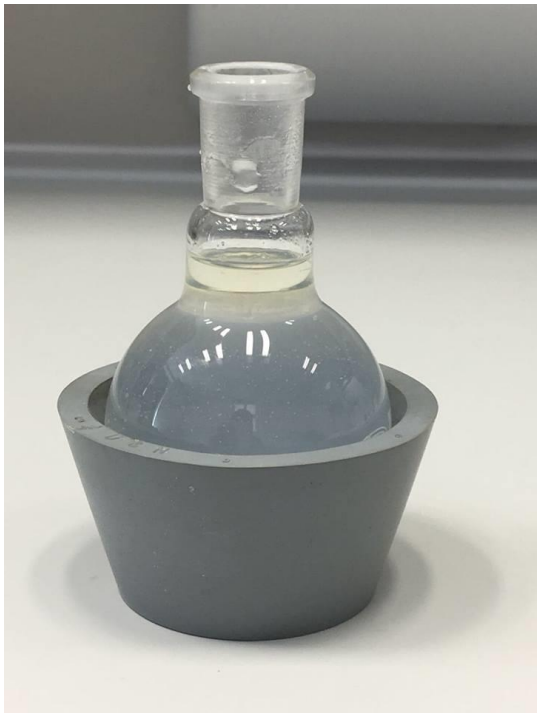


Slika 12. Odvaga uzorka ulja za analizu.

Slika 13. Uzorci ulja



Slika 14. Aparatura: tikvica s kemikalijama, vodena kupelj, hladilo i refluks.



Slika 15. Izdvojeni gornji sloj heksana.

Slika 16. Uzorci ulja nakon sušenja s Na_2SO_4 spremni za analizu plinskom kromatografijom.

5.5. Analiza uzoraka plinskom kromatografijom

Uvjeti analize:

Plin nosilac: helij

Brzina protoka: 25 mL/min.

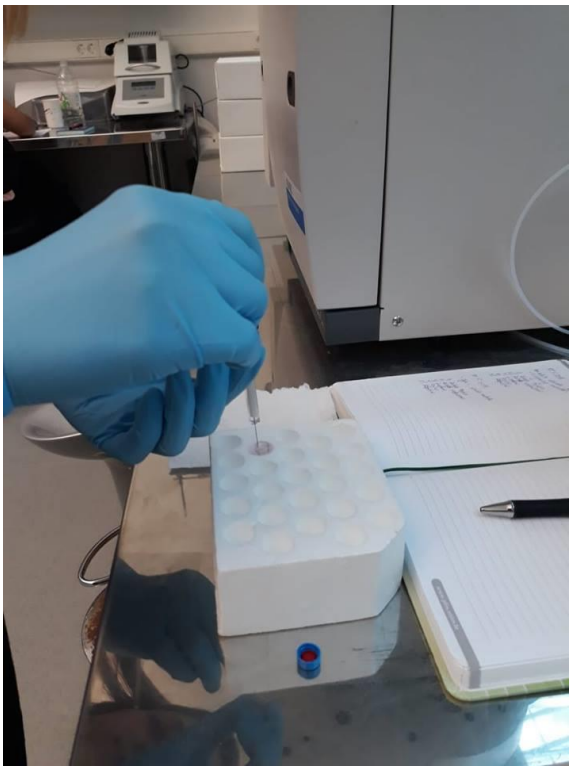
Split: 50:1

Kolona: RestekFamewax 30 m, 0.32 mm, 0.25 µm

Detektor: plameno ionizacijski detektor

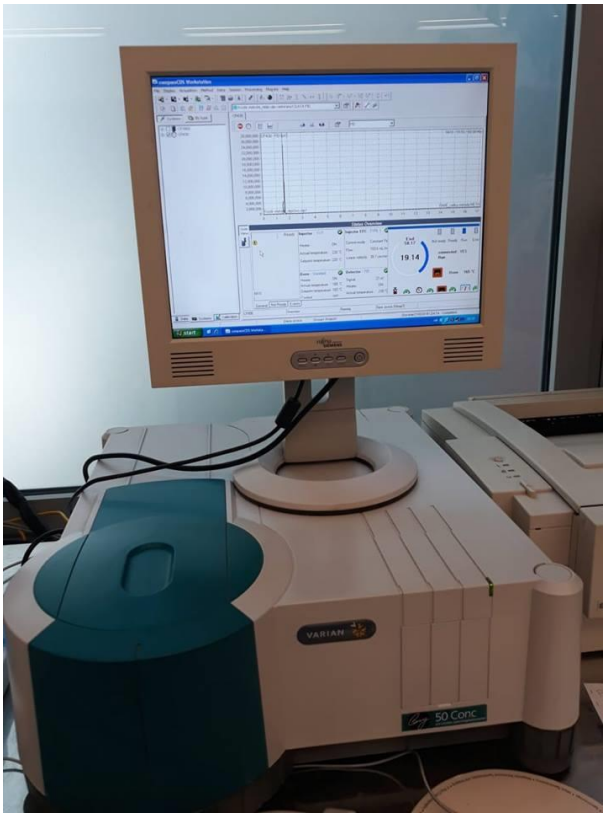
Vrijeme trajanja analize: 50 minuta

Prije nego je uzorak unesen u plinski kromatograf, potrebno je analizirati standard koji sadrži masne kiseline koje očekujemo da bi se mogle naći u sastavu ulja koja analiziramo. Nakon što je analiziran standard i označeni vrhovi (eng. *peak*) kromatograma pristupa se analizi ulja. Šprica kojom se uzorak unosi, tri puta se ispere otopinom uzorka i potom se uzima uzorak (Slika 17), uzorak se unosi preko otvora (Slika 18) u plinski kromatograf i pokreće se analiza. Nakon 50 minuta (vrijeme trajanja analize) na zaslonu monitora računala preko kojeg se upravlja kromatografom pojavljuje se kromatogram analiziranog uzorka (slika 19).



Slika 17. Uzimanje uzorka.

Slika 18. Mjesto injektiranja uzorka (označeno crvenim krugom).



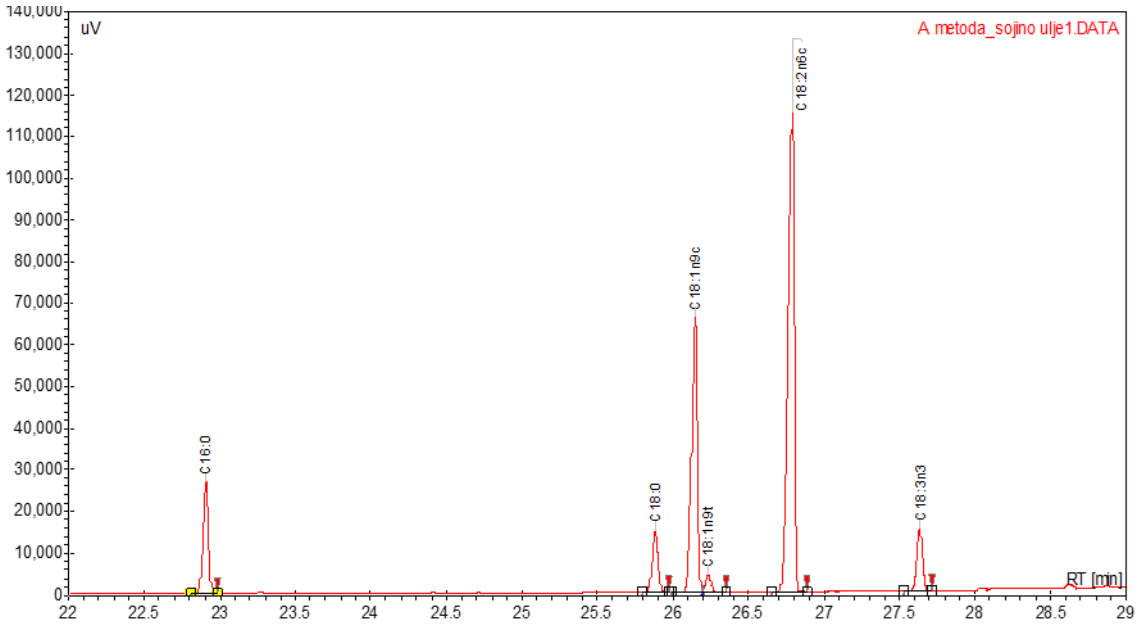
Slika 19. Rezultati dobiveni na računalu.

6. Rezultati i diskusija

Metodom metilnih estera masnih kiselina pripremljeni su uzorci tri vrste ulja za analizu plinskom kromatografijom. Analizirano je sojino, laneno i riblje ulje. Određeni su profili masnih kiselina u navedenim uljima. Rezultati su prikazani na kromatogramima a očitani u izvještaju koji kreira program kojim se upravlja uređajem.

6.1. Sojino ulje

U sojinom ulju (Tablica 2, Slika 20) najzastupljenija masna kiselina je linolna kiselina.



Slika 20. Kromatogram, profili masnih kiselina u sojinom ulju.

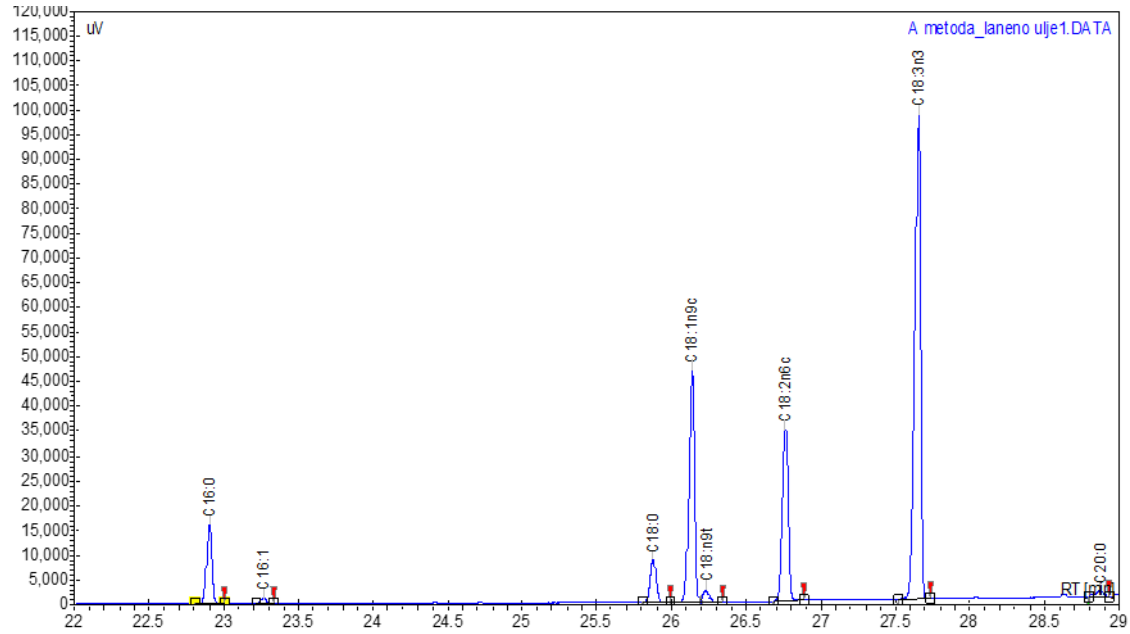
Tablica 2. Masne kiseline u sojinom ulju.

# pika	Ime	Vrijeme [Min]	ukupne FAME	% FAME	faktor	FA	%FA	naziv
1	C16:0	22,91	1146,1	10,35	0,948136	9,817224	10,31172	palmitinska kiselina
2	C18:0	25,88	677,2	6,12	0,95301	5,830556	6,124242	stearinska kiselina
3	C18:1n9c	26,15	2974,5	26,87	0,952693	25,60133	26,89087	oleinska kiselina
4	C18:1n9t	26,24	172,6	1,56	0,952693	1,485557	1,560385	elaidična kiselina
5	C18:2n6c	26,79	5468,8	49,41	0,952372	47,05375	49,42386	linolna kiselina
6	C18:3n3	27,63	629,7	5,69	0,952047	5,416112	5,688923	α-linolenska kiselina
∑			11068,9	100,00		95,20452	100	

Sojino ulje sadrži 49,42 % linolne kiseline što je gotovo pola od ukupnoga sastava svih masnih kiselina. Druga dominantna masna kiselina je oleinska kiselina, njezin postotak je 26,89 %, a nakon nje je palmitinska čiji je udio 10,31 %. Ostale masne kiseline koje se mogu pronaći u sojinom ulju poredane su po zastupljenosti, a to su palmitinska, stearinska, α-linolenska kiselina i elaidična kiselina. Prva masna kiselina koja je detektirana je bila palmitinska kiselina i to nakon 22,91 minute, a zadnja je bila α-linolenska kiselina u 27,63 minuti. U sojinom ulju, zasićene masne kiseline su palmitinska i stearinska, dok su nezasićene oleinska, elaidična, linolna i na kraju α-linolenska kiselina. Sojino ulje ima 6 identificiranih masnih kiselina od kojih su 2 zasićene i 4 nezasićene masne kiseline.

6.2. Laneno ulje

Kromatogram lanenog ulja prikazan je na slici 21, a dobiveni rezultati prikazani su u tablici 3.



Slika 21. Kromatogram, profili masnih kiselina u lanenom ulju.

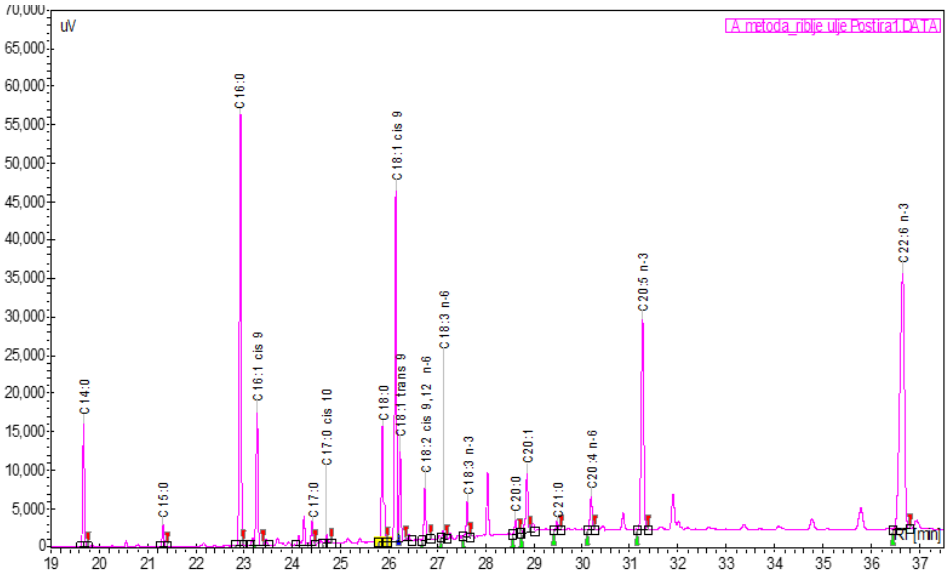
Tablica 3. Masne kiseline u lanenom ulju.

#	Ime	Vrijeme [Min]	ukupne FAME	% FAME	faktor	FA	%FA	naziv
1	C16:0	22,9	674,6	7,23	0,948136	6,85692	7,202453	palmitinska kiselina
2	C16:1	23,27	44,6	0,48	0,94775	0,453025	0,475853	palmitoleinska kiselina
3	C18:0	25,88	380,6	4,08	0,95301	3,888281	4,084219	stearinska kiselina
4	C18:1n9c	26,14	2083,7	22,34	0,952693	21,2803	22,35266	oleinska kiselina
5	C18:1n9t	26,23	100,2	1,07	0,952693	1,023192	1,074753	elaidična kiselina
6	C18:2n6c	26,77	1522	16,32	0,952372	15,5389	16,32194	linolna kiselina
7	C18:3n3	27,66	4468,7	47,91	0,952047	45,60781	47,90607	α-linolenska kiselina
8	C20:0	28,87	54	0,58	0,957047	0,55413	0,582054	arahidska kiselina
∑			9328,3	100		95,20256	100	

U lanenom ulju (Tablica 3, Slika 19), α-linolenska kiselina zastupljena je s 47,90 %, nakon nje oleinskakislina 22,35 %, a iduća dominantna kiselina je linolna kiselina sa 16,32 %. Ostale masne kiseline po zastupljenosti u ulju su palmitinska, stearinska, elaidična, palmitoleinska i arahidska kiselina. Prva detektirana kiselina je palmitinska kao i kod sojinog ulja, a detektirana je u 22,9 minuti, dok je zadnja arahidska kiselina koja se pojavila u 28,87 minuti. U lanenom ulju su zasićene masne kiseline palamitinska, stearinska i arahidonska, a nezasićene su palmitoleinska, oleinska, elaidična, linolna, α-linolenska kiselina. Laneno ulje ima 8 masnih kiselina, 3 zasićene i 5 nezasićenih.

6.3. Riblje ulje

U ribljem ulju (Tablica 4, Slika 22) je zabilježena najveća količina masnih kiselina.



Slika 22. Kromatogram, profili masnih kiselina u ribljem ulju.

Tablica 4. Masne kiseline u ribljem ulju.

#	Ime	Vrijeme [Min]	Ukupne FAME	% FAME	faktor	FA	%FA	naziv
1	C14:0	19,69	649,5	4,53	0,942134	4,265983	4,47476	miristinska kiselina
2	C15:0	21,33	119,5	0,83	0,945299	0,787434	0,825971	pentadekanska kiselina
3	C16:0	22,92	2504,6	17,46	0,948136	16,55635	17,36662	palmitinska kiselina
4	C16:1 cis 9	23,28	793	5,53	0,94775	5,24011	5,496561	palmitoleinska kiselina
5	C17:0	24,42	133	0,93	0,950694	0,881293	0,924424	heptadekanska kiselina
6	C17:1 cis 10	24,72	63,4	0,44	0,950344	0,420052	0,440609	cis-10-heptadekanska kiselina
7	C18:0	25,88	676,9	4,72	0,95301	4,498207	4,718349	stearinska kiselina
8	C18:1 cis 9	26,14	2046,4	14,27	0,952693	13,59207	14,25727	oleinska kiselina
9	C18:1 trans 9	26,24	496,6	3,46	0,952693	3,298223	3,459638	elaidična kiselina
10	C18:2 n-6	26,76	295	2,06	0,952372	1,959029	2,054904	linolna kiselina
11	C18:3 n-6	27,12	46,9	0,33	0,952047	0,311319	0,326555	γ-linolenska kiselina
12	C18:3 n-3	27,63	206,6	1,44	0,952047	1,370948	1,438042	α-linolenska kiselina (ALA)
13	C20:0	28,63	81,4	0,57	0,957047	0,542646	0,569203	arahidska kiselina
14	C20:1	28,88	400,8	2,79	0,956782	2,673249	2,804078	cis-11-eikozenska kiselina
15	C21:0	29,49	61,7	0,43	0,958816	0,412291	0,432468	heneikozanoična kiselina
16	C20:4 n-6	30,19	235,7	1,64	0,955968	1,570655	1,647523	arahidonska kiselina
17	C20:5 n-3	31,26	1715,3	11,96	0,95569	11,4291	11,98844	eikozapentaenoična (EPA) kiselina
18	C22:6 n-3	36,65	3817,5	26,62	0,95906	25,52538	26,77459	dokozaheksaenska (DHA) kiselina
∑			14343,6	100		95,33434	100	

Masna kiselina koja je u najvećoj količini je dokozaheksaenska kiselina sa 26,77 %, nakon nje je palmitinska sa 17,36 %, zatim oleinska 14,25 %, eikozapentaenoična kiselina sa 11,98 %. Ostale masne kiseline po zastupljenosti u ribljem ulju su palmitoleinska kiselina, stearinska kiselina, miristinska kiselina, elaidična kiselina, cis-11-eikozenska kiselina, linolna kiselina, arahidonska kiselina, α-linolenska kiselina, heptadekanska kiselina, pentadekanska kiselina, arahidska kiselina, cis-10-heptadekanska kiselina, heneikozanoična

kiselina i γ-linolenska kiselina. Prva identificirana kiselina je miristinska kiselina u 19,69 minuti, a posljednja je dokozaheksaenska kiselina. Riblje ulje sadrži najveći broj masnih kiselina pa tako ima i najviše zasićenih i nezasićenih masnih kiselina za razliku od lanenog i sojinog ulja. Zasićene masne kiseline u ribljem ulju su miristinska, pentadekanska, palmitinska, heptadekanska, stearinska, arahidska i heneikozanoična. Nezasićene masne kiseline u ribljem ulju su palmitoleinska, cis-10-heptadekanska, oleinska, elaidična, linolna, γ-linolenska, α-linolenska kiselina, cis-11-eikozenska, arahidonska, eikozapetanenoična i dokozaheksaenska kiselina Riblje ulje ukupno ima 18 masnih kiselina od kojih je 7 zasićenih i 11 nezasićenih masnih kiselina.

Analiziranim uljima zajednička jedna *trans* masna kiselina i to je elaidična, a ona je *trans* izomeroleinske kiseline. Zasićene masne kiseline poput laurinske, miristinske i palmitinske izazivaju aterosklerozu, stimuliraju hiperkolesterolemiju dok stearinska kiselina s druge strane ima drugačije djelovanje, vrlo vjerojatno zbog toga što dolazi do desaturacije te kiseline u jednostruko nezasićenu, oleinsku masnu kiselinu. Jednostruko nezasićene masne kiseline kao što su oleinska, elaidična, palmitoleinska i *cis*-11-eikozenska kiselina imaju utjecaj na ukupnu količinu kolesterola u krvi, one ga smanjuju, također sprječavaju zgrušavanje krvi unutar krvnih žila i stvaranje tromba. Višestruko nezasićene masne kiseline, omega masne kiseline su vrlo korisne masne kiseline koje pogoduju ljudskom zdravlju. Takve su linolna (omega-6), α-linolenska kiselina (omega-3), koje se nalaze u sva tri uzorka dok se ostale višestruko masne kiseline pronalaze samo u ribljem ulju i to su γ-linolenska, arahidonska, eikozapentaenoična i dokozaheksaenska kiselina. Njihov utjecaj na ljudsko zdravlje je izuzetno pozitivan, utječu na smanjenje triacilglicerida, nakupljanje tromba u krvnim žilama, regulira razinu proteina fibrinogena kao i krvni tlak. Najveći izvori su riblja ulja i mesa posebice morskih. [6]

7. Zaključak

Lipidi su široka skupina spojeva čija je zajednička karakteristika inverzija prema vodi odnosno hidrofobnost. Ovisno o svojoj prirodi otapaju se u različitim organskim otapalima, polarnim i nepolarnim. Za analizu lipida koriste se mnoge metode no najučestalija je plinska kromatografija koja se koristi za određivanje kvantitativnog i kvalitativnog sastava lipida. U ovom završnom radu su analizirana ulja biljnog i životinjskog porijekla, prvenstveno kako bi se odredili profili masnih kiselina koji se nalaze u uljima kao što su sojino, laneno i riblje. Metodom metilnih estera masnih kiselina su se uzorci pripremili za analizu plinskim kromatografom. Dobiveni rezultati upućuju na to da je riblje ulje najbogatije masnim kiselinama, zatim laneno pa sojino. Riblje ulje ima najviše višestruko nezasićenih masnih kiselina u odnosu na laneno i sojino. Takve masne kiseline su vrlo bitne za ljudski organizam jer hrane mozak, pozitivno utječu na zdravlje prvenstveno zbog toga što pomažu pri sprečavanju kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, snižavaju krvni tlak i razinu triglicerida kao i nakupljanje trombocita i reguliranje razine fibrinogena. Ispitivanim uzorcima je zajednička elaidična, *trans* masna kiselina, a za *trans* masne kiseline je specifično to što one bilježe negativan utjecaj na ljudsko zdravlje i tijelo ih ne metabolizira kao takve, nego kao zasićene masne kiseline. Pri unosu masnih kiselina treba paziti na to da se one ne unose u prevelikim količinama jer može doći do raznih oštećenja u organizmu i treba balansirati omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina. Narušen, odnosno prevelik omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina može dovesti do raznih bolesti i kasnije kobnih posljedica. Esencijalne masne kiseline tijelo ne može sintetizirati, stoga su vrlo bitne da ih se unosi prehranom.

8. Literatura

1. J. G. Smith; *Organic Chemistry, 3rd edition,* McGraw-Hill, New York, 2011.
2. Nelson David, L., M. Cox Michael, and L. Nelson David. *Lehninger Principles of Biochemistry*. WH Freeman, 2005.
3. Koolman, Jan, etal. *Color atlas of biochemistry*. Vol. 2. Stuttgart: Thieme, 2005.
4. Barbir, T., Vulić, A., &Pleadin, J. (2014). *Mastiff i masne kiseline u hrani životinjskog podrijetla.* Veterinarska stanica, 2, 97-110.
5. Tymoczko, John L., Jeremy M. Berg, and Lubert Stryer. *Biochemistry: a short course*. Macmillan, 2011.
6. J. Timić, *Analiza sadržaja ukupnih masti i profil masnih kiselina u slanim snek proizvodima*
7. P. Karlson, *Biokemija, 7. izdanje,* Školska knjiga, Zagreb, 1993.
8. Dijkstra, Albert J., Richard J. Hamilton, andWolf Hamm, eds. *Trans fattyacids*. John Wiley&Sons, 2008.
9. Katalenić, Marijan. "Masti i ulja u prehrani." *Hrvatski časopis za javno zdravstvo* 3.9 (2007).
10. Breivik, Harald, ed. *Long-chain omega-3 specialty oils*. Vol. 21. Oily Press, 2007.
11. Covington, Maggie B. "Omega-3 fattyacids." *Atlantic* 1.2.0 (2004).
12. Gnjidić, Z. (2014). *Učinak omega-3 masnih kiselina na klinički tijek artritisa. Medix: specijalizirani medicinski dvomjesečnik,* 20(113/114).
13. Asif, Mohammad. "Health effectsof omega-3, 6, 9 fatty acids: Perilla frutescensis a good example of plant oils." *Oriental Pharmacy & Experimental Medicine* 11.1 (2011): 51-59.
14. Simopoulos, Artemis P. *"The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases." Experimental biology and medicine* 233.6 (2008): 674-688.
15. Harris, William S. "n-3 fattyacidsand serum lipoproteins: human studies." *The American journal of clinical nutrition* 65.5 (1997): 1645S-1654S.
16. Bogut, Ivan, etal. "Nutritivna i protektivna vrijednost riba s osvrtom na omega-3 masne kiseline." *Croatian Journal of Fisheries* 54.1 (1996): 21-37.
17. http://www.acnp.org/g4/GN401000059/Default.htm (preuzeto 1.8.2018.)
18. S. S. Nielsen, *Food Analysis, 5th edition,*Springer, West Lafayette, United States of America, 2017.

19. http://people.umass.edu/~mcclemen/581Lipids.html (preuzeto 11.8.2018.)

20. Nielsen, S. Suzanne,ed. *Foodanalysislaboratory manual*. Nueva York, USA: KluwerAcademic/Plenum Publishers, 2003.

21. O'fallon, J. V., Busboom, J. R., Nelson, M. L., &Gaskins, C. T. (2007). *A directmethod for fattyacidmethyl ester synthesis: application to wetmeattissues, oils, andfeedstuffs. Journal ofanimalscience,* 85(6), 1511-1521.

22. http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana_Luterotti/09/091/0912.htm(preuzeto 14.9.2018.)