

Utjecaj pasmine i spola na kvalitativne pokazatelje i razine kobalamina u mesu junadi

Dopuđ, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:415273>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

Maja Dopud

Utjecaj pasmine i spola na kvalitativne pokazatelje i razine
kobalamina u mesu junadi

Diplomski rad

Zagreb, 2024.

VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
ZAVOD ZA HIGIJENU, TEHNOLOGIJU I SIGURNOST HRANE

Predstojnik:

prof. dr. sc. Nevijo Zdolec

Mentori:

prof. dr. sc. Željka Cvrtila

doc. dr. sc. Tomislav Mikuš

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec
2. prof. dr. sc. Željka Cvrtila
3. doc. dr. sc. Tomislav Mikuš
4. prof. dr. sc. Vesna Dobranić (zamjena)

Zahvala

Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem mentorima prof. dr. sc. Željki Cvrtili i doc. dr. sc. Tomislavu Mikušu na strpljenju, trudu i neizmjerne pomoći tijekom pisanja diplomskog rada. Također želim se zahvaliti tehničarki Marini Berišić, na ljubaznosti i pomoći tijekom odrađivanja istraživačkog dijela rada.

Hvala doc. dr. sc. Josipi Kuleš što mi je omogućila korištenje Laboratorija za proteomiku, na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Najveće hvala mojoj obitelji na beskrajnoj podršci, posebice najveće hvala mojoj baki i dedi koji su moji životni uzori.

Posebno se zahvaljujem svom dečku i svim svojim prijateljima koji su uvijek bili uz mene i uljepšali mi smijehom studentske dane.

I na kraju, želim zahvaliti sama sebi što nisam odustala, što sam vjerovala u sebe i ostala vjerna sebi.

Velika hvala svima!

POPIS PRILOGA

Popis slika:

Slika 1. Kemijska struktura kobalamina

Slika 2. Uzorci junećeg mesa

Slika 3. Sušenje uzoraka u eksikatoru

Slika 4. Odvajanje otapala u tikvici za ekstrakciju

Slika 5. Priprema uzoraka za detekciju B12 vitamina ELISA metodom

Slika 6. Mikrotitracijska pločica nakon zadnje inkubacije

Popis tablica:

Tablica 1. Tehnološka svojstva mesa junica pasmine Holstein (skupina A)

Tablica 2. Tehnološka svojstva mesa junaca pasmine Holstein (skupina A1)

Tablica 3. Tehnološka svojstva mesa junica križanci mesnih pasmina (skupina B1)

Tablica 4. Tehnološka svojstva mesa junaca križanci mesnih pasmina (skupina B2)

Tablica 5. Kemijski sastav mesa junica pasmine Holstein (skupina A1)

Tablica 6. Kemijski sastav mesa junaca pasmine Holstein (skupina A2)

Tablica 7. Kemijski sastav mesa junica križanci mesnih pasmina (skupina B 1)

Tablica 8. Kemijski sastav mesa junaca križanci mesnih pasmina (skupina B2)

Tablica 9. Koncentracije vitamina B12 u mesu junadi

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Dosadašnje spoznaje	3
2.1. Struktura i metabolizam	3
2.2. Kobalamin u junetini.....	5
2.3. Značaj kobalamina na ljudsko zdravlje.....	7
3. Materijali i metode.....	10
3.1. Uzorci.....	10
3.1.1. Boja mesa.....	11
3.2.1. Količina vode.....	12
3.2.2. Količina bjelančevina.....	13
3.2.3. Količina masti	14
3.2.4. Količina pepela	15
3.3.1. Postupak pripreme uzoraka za detekciju B12 vitamina ELISA metodom.....	16
3.3.2. Detekcija B12 vitamina ELISA metodom.....	17
4. Statistička obrada rezultata	18
5. Rezultati	19
5. Rasprava.....	24
6. Zaključci	26
7. Literatura.....	27
8. Sažetak	32
9. Summary	33
10. Životopis	34

1. Uvod

Crveno meso je bilo ključan sastojak ljudske prehrane tijekom cijelog procesa evolucije čovjeka. Kada se konzumira u sklopu uravnotežene i raznovrsne prehrane, crveno meso pruža bogat izvor esencijalnih nutrijenata, pri čemu su neki od njih lakše biodostupni organizmu u usporedbi s drugim izvorima hrane (WYNESS, 2015.).

Junetina je meso dobiveno od mladih životinja starosti 12-14 mjeseci, koja pripada vrsti *Bos taurus*, a karakterizirana je visokim udjelom bjelančevina, zdravih masti te mikronutrijentima poput željeza, selena, vitamina D i B kompleksa i kao takva smatra se prikladnom za konzumaciju (LAWRIE i LEDWARD, 2006.). Meso junetine smatra se jednim od najčešće konzumiranih mesa i kao takvo je najbolji izvor B12 vitamina, s obzirom da jedna porcija junetine zadovoljava dnevne potrebe vitamina B12 za čovjeka (FORESTELL i sur., 2012.). Vitamin B12, još poznat pod imenom kobalamin, značajan je za metabolizam kako bjelančevina tako i masti. Topiv je u vodi, a u ljudskom tijelu potiče sintezu eritrocita i tako štiti od anemije. Osim navedenog, potiče i održava zdravu funkciju živaca i mnogih metaboličkih sustava jer kao kofaktor u sintezi enzima koji sudjeluju u metabolizmu amino- i masnih kiselina sudjeluje u regulaciji njihove sinteze i razgradnje. Suvremena istraživanja također ukazuju i na njegov značaj u regulaciji gena i pozitivnom utjecaju kod određenih patoloških stanja poput neplodnosti, kardio-vaskularnih bolesti te raka dojke. Nadalje, nedavno je dokazano da kobalamin utječe i na interakciju domaćin-mikroorganizam te pojačava otpornost organizma u borbi protiv određenih bakterijskih patogena (TOOHEY, 2006.; GREEN i sur., 2017.).

Iako je crveno meso izvor brojnih nutrijenata koji imaju ključnu ulogu u održavanju navedenih fizioloških funkcija ljudskog organizma, danas se u javnosti vrlo često promatra s negativnim predznakom zbog visokog udjela loših masnoća i potencijalno negativnog utjecaja na ljudsko zdravlje. Istraživanja koja se bave utvrđivanjem korelacije između izvora vitamina B12 u prehrani i njegovom razinom u serumu/plazmi (kao pokazatelji statusa vitamina B12) ukazuju da različiti proizvodi animalnog podrijetla, ponajviše meso, iznutrice i mlijeko preživača, omogućuju najveći izvor kobalamina u serumu/plazmi kod ljudi (BROUWER-BROLSMA i sur., 2015.).

Za potrebe ovog rada koristit ćemo meso junadi različitih pasmina, odnosno spola na temelju kojih ćemo odrediti boju, osnovni kemijski sastav te koncentraciju kobalamina. Rezultati ovog istraživanja dat će nam odgovore da li pasmina, odnosno spol, utječu na boju,

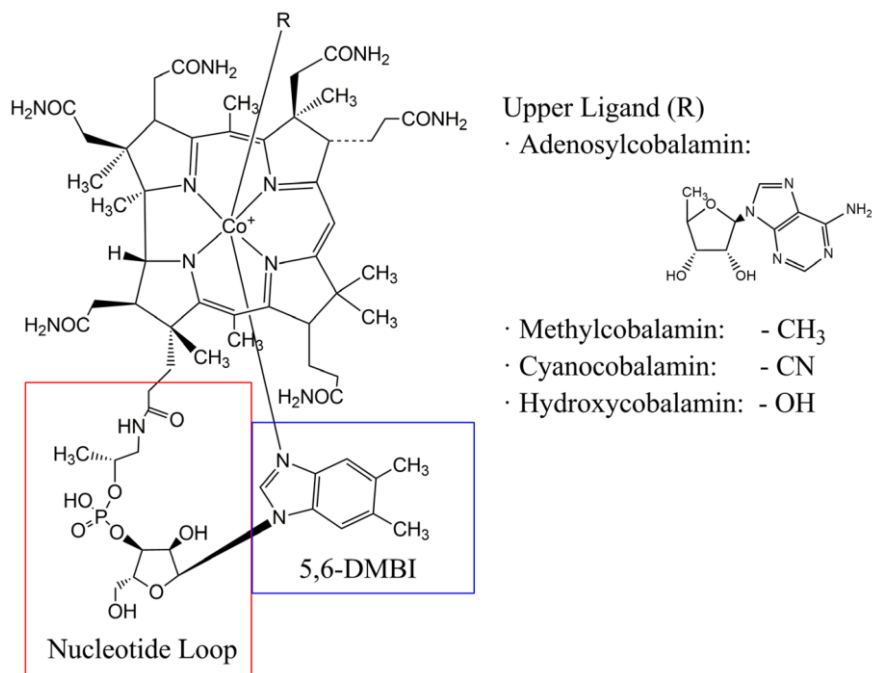
kemijski sastav te koncentraciju vitamina B12 u junećem mesu. Na temelju svega navedenog, cilj ovog rada bio je istražiti kvalitativne pokazatelje i razine kobalamina u mesu junadi različitih pasmina, odnosno spola.

2. Dosadašnje spoznaje

2.1. Struktura i metabolizam

Vitamin B12, poznat još i imenom kobalamin, pripada skupini vitamina topljivih u vodi, kojeg sintetiziraju mikroorganizmi, a ponajviše ga pronalazimo u hrani animalnog podrijetla poput mesa, mlijeka i mliječnih proizvoda, jaja i školjaka (DENISSEN i sur., 2019.). Pripada grupi korinoida, složenih spojeva građenih od korina, tetrapirolskog prstena u čijem je centru smješten atom kobalta (Slika 1), koji je prisutan između 4,4% i 5,8%. Atom kobalta je koordiniran s 4 ekvatorijalna atomska dušika koja doprinose pirolnim ostacima (SOBCZYNSKA-MALEFORA i sur., 2021.). Ovisno koji nukleotidni bočni lanac je vezan za centralni atom kobalta, razlikujemo nekoliko oblika kobalamina poput: cijano-, metil-, deoksiadenozil- i hidroksi- kobalamin. Svi navedeni oblici kobalamina pokazuju biološku aktivnost, te ih pronalazimo u hrani, primjerice u mesu i ribi prevladava deoksiadenozilkobalamin i hidroksikobalamin, dok u mlijeku dominira hidroksikobalamin (WATANABE, 2007.; O'LEARY i SAMMAN, 2010.). Cijanokobalamin i hidroksikobalamin predstavljaju nefiziološke oblike kobalamina, koji se u tijelu čovjeka pretvaraju u metilkobalamin i 5-deoksiadenozilkobalamin, koji predstavljaju fiziološki aktivne oblike, odnosno koenzime vitamina B12. Metilkobalamin, deoksiadenozilkobalamin i hidroksikobalamin predstavljaju kemijski nestabilnije spojeve za razliku od cijanokobalamina. Većina vitamina B12 u obliku 5-deoksiadenozilkobalamina nalazi se u mitohondrijima, dok se metilkobalamin većinski nalazi u plazmi. Navedeni kobalamini, neophodni su u ljudskom organizmu kao koenzimi za metionin sintazu i L-metil-malonil-KoA mutazu (GONZALES-MONTANA i sur., 2020.).

Kobalamin u namirnicama animalnog podrijetla je vezan za vezivna mjesta R-proteina, a jedni od pokazatelja koji utječu na metabolizam kobalamina su adekvatna sinteza klorovodične kiseline, proteaza i intrizičnog faktora. Kada putem hrane dospije u želudac, oslobađa se od R-proteina pod utjecajem proteolitičkog enzima pepsina čije djelovanje aktivira klorovodična kiselina. Slobodni vitamin B12 zatim se veže na glikoprotein haptokorin, koji se izlučuje slinom. Dolaskom u tanko crijevo, proteaze koje izlučuje gušterača, razbijaju kobalamin-haptokorin veze i dolazi do stvaranja kompleksa kobalamin-IF, kojeg proizvode parijetalne stanice crijeva.



Slika 1. Kemijska struktura kobalamina. (Izvor: CALVILLO i sur., 2022.)

Vežanjem na specifične receptore kubilin, kompleks kobalamin-IF ulazi u apikalnu površinu stanica distalnog ileuma i prolazi kroz stanice endocitozom u stanične lizosome. U trenutku kada uđe u stanicu, B12 se oslobađa od intrizičnog faktora i veže se za transkobalamin ili haptokorin u cirkulaciji kako bi nastavio transport (GILLE i SCHMID, 2015.; FRANCO-LOPEZ i sur., 2020.). U cirkulaciji, 75-80% vitamina B12 se veže za haptokorin i skladišti se u jetri, dok preostalih 20-25% vitamina B12 veže se za transkobalamin i stvara se kompleks nazvan holotranskobalamin koji predstavlja jedini aktivni oblik vitamina B12 kojeg iskorištavaju stanice tkiva. Prema Američkim referentnim vrijednostima za unos prehrambenih tvari, navodi se kako zdravi odrasli čovjek apsorbira 50% kobalamina iz hrane koju unesemo (OBEID i sur., 2019.).

2.2. Kobalamin u junetini

Crveno meso smatra se jednim od značajnijih izvora makronutrijenata (voda, bjelančevine, masti) i mikronutrijenata (hemsko željezo, selen, vitamin D, vitamini B kompleksa) za čovjeka, te se kao takvo smatra važnim dijelom uravnotežene prehrane zbog toga što pridonosi održavanju fizioloških funkcija u tijelu. Bjelančevine dobivene iz crvenog mesa, imaju važnu ulogu u regulaciji brojnih bioloških procesa poput održavanja mišićne mase ili potpore imunološkog sustava. Naime goveđe meso za razliku od ostalih vrsta mesa sadrži 40% esencijalnih aminokiselina koje ljudski organizam ne može sam proizvesti. Udio masti iz mesa poput esencijalnih masnih kiselina (omega-3, omega-6) pridonosi održavanju zdravlja srca i mozga. Između ostalog govedina i pripadajuće iznutrice izvor su hemskog željeza važnog za stvaranje crvenih krvnih stanica i prevenciju anemije, selen koji se smatra jednim od najjačih antioksidansa, vitamina D koji je podrška za zdravlje kostiju i imunološkog sustava te vitamina B kompleksa (LI, 2017.).

Od svih navedenih nutritivnih komponenti mesa preživača, među važnijima je visoki sadržaj vitamina B kompleksa, posebice vitamina B12 (ORTIGUES-MARTY i sur., 2005.). Preživači, putem simbiotskog odnosa s bakterijama (posebice bakterije iz roda *Prevotella*) i jednostaničnim prokariotima u predželudcima, dobivaju potrebne količine spomenutog esencijalnog hranjivog sastojka (WATANABE i BITO, 2017.). Kako bi došlo do same sinteze, bakterijama je potreban kobalt koji je sastavni dio molekule kobalamina, a kojeg će govedo unijeti putem hrane. Mikrobna sinteza kobalamina smatra se kompleksnim procesom koji se odvija i u aerobnim i u anaerobnim uvjetima, a može se odvijati na dva načina. Jedan od njih je sinteza de novo, gdje bakterije sintetiziraju kobalamin iz kobalta i glutamata. A drugi proces se zove spasonosna biosinteza, koja preko hidrolize ATP-a sintetiziraju aktivni oblik vitamina B12 iz unešenih korinoida (FRANCO-LOPEZ i sur., 2020.). Nakon biosinteze u rumenu, kobalamin se apsorbira u crijevima te preko krvi, pohranjuje se u jetri i mišićima ili se izlučuje kroz mlijeko preživača (WATANABE i BITO, 2018.). Epitelne stanice vimena pokazuju visoki afinitet za kompleks transkobalamin-kobalamin koji kada endocitozom uđe u epitelne stanice vimena, razgrađuje se i vitamin B12 ostaje slobodan u mlijeku (FRANCO-LOPEZ i sur., 2020.).

Kvaliteta i nutritivni sastav mesa ovisni su o vrsti životinje, ali i o pasmini unutar vrste. Također, raspodjela hranjivih tvari u tijelu nije jednaka i ovisi o potrebama svakog organa pa će tako dijelovi trupa koji su bili metabolički najaktivniji, sadržavati najviše koncentracije hranjivih tvari (CHOI i KIM, 2009.; KERRY i LEDWARD, 2009.). Sukladno tome

koncentracija vitamina B12 u goveđem mesu varirati će ovisno o načinu hranjenja i uzgoja životinje, a svakako ovisi i o anatomskej poziciji, termičkoj obradi mesa te dobi životinje (GILLE i SCHMID, 2015.). Nacionalna baza podataka Sjedinjenih Američkih Država, Kanade, Švicarske i Danske iznosi sljedeće podatke o koncentracijama kobalamina u sirovome mesu: 0,7–5,2 mg/100 g za govedinu, 1,2–5,0 mg/100 g za janjetinu, 1,0–2,9 mg/100 g za teleće meso, 0,4–2,0 mg/100 g za svinjetinu i 0,2–0,6 mg/100 g za piletinu. Iz navedenog se da zaključiti kako goveđe meso predstavlja najbolji izvor vitamina B12 za čovjeka (GILLE i SCHMID, 2015.).

Kobalt je sastavni dio molekule vitamina B12 i nalazi se u njezinom samom središtu i kao takav je bitan za sintezu. Ukoliko životinji nije omogućen kontinuiran unos kobalta putem hrane, sinteza kobalamina će se smanjiti (STANGL i sur., 2000.; ORTIGUES-MARTY i sur., 2005.; GILLE i SCHMID, 2015.). GILLE i SCHMID (2015.) uočili su da promjene u koncentraciji kobalamina nisu bile prisutne samo u mišiću, već i u jetri preživača koja se pokazala osjetljivijom na promjene u dostupnosti kobalta u prehrani.

Sustav držanja također ima vrlo bitan utjecaj na količinu kobalamina u junetini, pa će tako goveda držana u ekološkom uzgoju imati znatno više koncentracije vitamina u odnosu na goveda uzgojena u intenzivnom uzgoju. To se pripisuje činjenici da goveda koja se uzgajaju na otvorenom u ekološkom uzgoju, slobodna i pasu na pašnjacima, manje su izložena stresu nego goveda držana u štalama, pri čemu stres utječe na kvalitetu samog mesa. Također ona ispašom unose veće količine kobalta (PASTUSHENKO i sur., 2001.). S druge strane, hranidba goveda u intenzivnom uzgoju temelji se na silaži kukuruza, koncentratima i maloj količini sijena koje sadrže manje kobalta (GIRARD i sur., 2007.).

Kako je već navedeno, zbog velike nastanjenosti bakterija koje sintetiziraju vitamin B12 tijekom mikrobne fermentacije u rumenu preživača, njihovo meso je bogatije kobalaminom, za razliku od mesa monogastričnih životinja kao što su piletina i svinjetina koji nemaju tu sposobnost sinteze (GILLE i SCHMID, 2015.). WATANABE (2015.) u svom istraživanju je iznio koncentracije vitamina B12 u sirovom mesu. Količina kobalamina u mesu goveda je iznosila 1,0-2,0 µg na 100g sirove mase, za razliku od svinječeg (0,5 µg/100 g) i pilećeg mesa (<0,5 µg/100 g) gdje je bila vidno niža. Upravo radi navedenih razlika pojedinih vrsta mesa, meso goveda se smatra najznačajnijim za osiguranje dostatnih dnevnih količina vitamina B12 u čovjeka (FORESTELL i sur., 2012.; GILLE i SCHMID, 2015.).

Dob, kao jedan od endogenih čimbenika, utječe na koncentracije kobalamina u mesu. Tako će meso starijeg goveda imati puno veće koncentracije kobalamina za razliku od teletine i junetine (GILLE i SCHMID, 2015.). Od ostalih pokazatelja koji utječu na količinu

kobalamina u mesu, treba spomenuti i vrstu mišića. Prema istraživanju ORTIGUES-MARTY i sur., (2005.) navodi se da su vrsta mišića i koncentracija vitamina B12 u korelaciji, pa će mišići oksidativnog tipa sadržavati veće količine vitamina B12, za razliku od mišića glikolitičkog tipa. Kao primjer oksidativnog mišića naveli su mišić buta i sadržavao je 20,86 ng/g, dok je glikolitički tip mišića, sadržavao 9,21 ng/g kobalamina. Veće koncentracije kobalamina u oksidativnom mišićju, pripisuju se činjenici da ti mišići sadrže veći broj mitohondrija u kojima je adenzilkobalamin većinski prisutan (KIRCHOFER i sur., 2002.; CHOI i KIM, 2009.; CZERWONKA i sur., 2014.). Zaključno, različiti dijelovi mesa mogu sadržavati bitno različite koncentracije kobalamina (ORTIGUES-MARTY i sur., 2005.).

S obzirom da su vitamini osjetljivi na promjene temperature, svaka termička obrada mesa uzrokovati će gubitke, a ovisno o načinu pripreme gubici će biti različiti (LEŠKOVA i sur., 2006.). Za razliku od ostalih vitamina, kobalamin je relativno otporan na visoke temperature, ali kao i svi vitamini topljivi u vodi, podložan je gubitcima tijekom kuhanja (LEŠKOVA i sur., 2006.; ORTIGUES-MARTY i sur., 2006.). Ti gubici pripisuju se gubitku vode i lipida u mesu tokom kuhanja i samoj destrukciji kobalamina, koja će se mijenjati sukladno s visinom temperature i duljinom trajanja procesa (ORTIGUES-MARTY i sur., 2006.). CZERWONKA i sur., (2014.) navode još kako je i pH jedan od faktora koji utječe na stabilnost kobalamina u mesu tokom kuhanja.

2.3. Značaj kobalamina na ljudsko zdravlje

Intestinalna mikroflora čovjeka ima mogućnost sinteze vitamina B12, no do apsorpcije neće doći zbog lokalizacije sinteze (kolon) koja se odvija distalno od mjesta apsorpcije (tanko crijevo). Stoga da bi zadovoljili dnevne potrebe, ljudi kobalamin moraju unositi isključivo putem hrane ili suplemenata. Najbolji izvor vitamina B12 predstavljati će upravo meso i mliječni proizvodi preživača kod kojih su koncentracije vitamina najviše (GILLE i SCHMID, 2015.). Iz navedenog se da zaključiti da će status vitamina B12 kod ljudi ovisiti o količini unesenog vitamina u organizam (VOGIATZOGLOU i sur., 2009.).

Europska agencija za sigurnost hrane, preporuča da dnevni unos vitamina B12 za odrasle iznosi 4,0 µg, dok kod žena za vrijeme trudnoće i djece dnevni unos mora biti i viši (OBEID i sur., 2019.). DOETS i sur. (2013.) se ne slažu s potonjima i smatraju kako trenutne preporuke nisu dovoljne za održavanje rezervi u tijelu čovjeka (2-3 mg) i postizanje optimalnih koncentracija vitamina u plazmi te unos bi morao biti viši i iznositi 3,8-20,7 µg/dan.

Iako je u razvijenijim zemljama pristup vitaminu B12 olakšan i dostatan, hipovitaminoza kobalamina se smatra najčešćom hipovitaminozom koja zahtijeva kliničku terapiju, a razlog tomu se pripisuje činjenici da je u zemljama u razvoju sve manji unos namirnica animalnog podrijetla zbog etičkih stajališta (ALLEN, 2009.). Širom svijeta, vegani i vegeterijanci pate od nedostatka kobalamina zbog izbjegavanja općenito namirnica animalnog podrijetla, posebice one koje sadržavaju najveće koncentracij (mesa i mlijeka goveda). Posljedično tome, vegani, vegeterijanci ali i novorođenčad majki koje su veganke/vegeterijanke smatraju se najpogođenijom skupinom koja pati od deficijencije (PAWLAK i sur., 2013.).

Deficijencija kobalamina smatra se drugim najvažnijim uzrokom anemije uzrokovane neadekvatnom prehranom, poznata još kao i sindrom perniciozna anemija. Zbog deficita kobalamina, smanjena je sinteza nukleinskih kiselina pri čemu dolazi do poremećaja u zrenju jezgre stanica, posebice onih stanica koje se brzo dijele, te posljedično nastaju velike krvne stanice s nezrelim jezgrama (BRITO i sur., 2012.). Perniciozna anemija karakterizirana je s dva glavna simptoma: potonje opisana megaloblastična anemija i/ili neuropatija karakterizirana demijelinizacijom živčanog tkiva. No, bitno je naglasiti da s obzirom da se u tijelu čovjeka nalaze velike rezerve vitamina B12, deficijencija je postupna. Poluzivot uskladištenog B12 u jetri i mišićima iznosi jednu do četiri godine i sukladno tome prvo će nastupiti subklinički oblik hipovitaminoze B12, koji se definira niskom razinom vitamina u serumu i/ili povišenom koncentracijom metilmalonata, a nakon subkliničkog oblika nastupiti će klinička deficijencija koja je upravo karakterizirana megaloblastičnom anemijom i/ili neuropatijama (GILLE i SCHMID, 2015.).

Osim što kao kofaktor sudjeluje u sintezi nukleinskih kiselina, vitamin B12 sudjeluje i u drugim metaboličkim metabolizmima kao što su proces metilacije koja je ključna za sintezu bjelančevina i masti, te u mitohondrijskom metabolizmu, važnog za proizvodnju energije u stanicama. I kao takav kobalamin je bitan za funkcioniranje živčanog sustava i stvaranja crvenih krvnih stanica, ali i u prevenciji kardiovaskularnih bolesti poput ateroskleroze (LAVRIŠA i sur., 2022.).

Iz navedenog se može zaključiti da crveno meso zbog visokog udjela vitamina B12 i ostalih nutrijenata, ima ključnu ulogu u održavanju fizioloških funkcija ljudskog tjela te nedostatak postepeno može dovesti do nastanka bolesti. Unatoč tome, posljednjih nekoliko godina crveno meso se u javnosti vrlo često promatra s negativnim predznakom zbog povećanog rizika od nastanka tumora debelog crijeva. Također, govedina u odnosu na svinjetinu i piletinu sadrži veće količine loših zasićenih masnih kiselina, te kod veće

konzumacije crvenog mesa dolazi do povišenja kolesterola u krvi (LI, 2017.). Ujedno crveno meso sadrži četiri puta više željeza i deset puta hemskog željeza, te ako se konzumira u većim količinama, povećanje hemskog željeza u stanicama tijela može potaknuti proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva i posljedično dovesti do oksidativnog stresa koji pak, dovodi do oštećenja DNA te time i do povećanja rizika od nastanka tumora (BUZALA i sur., 2016.). Neke epidemiološke studije sugeriraju na povezanost između načina pripreme crvenog mesa i rizika od tumora, poput stvaranja kancerogenih heterocikličkih amina ili poliaromatskih ugljikovodika. Pa ipak, prema dosadašnjim spoznajama nema potvrđenih izravnih znanstvenih dokaza da unos crvenog mesa povećava rizik od stvaranja karcinoma (LI, 2017.). MCAFFE i sur. (2010.) ističu da je uravnotežena prehrana ključan faktor za zaštitu od metaboličkih poremećaja i povezanih oblika tumora.

3. Materijal i metode

3.1. Uzorci

U ovom istraživanju analizirano je 32 uzorka junećeg mesa ($n=32$), točnije *m. gracillis*, od kojih je 16 bilo Holstein pasmine (osam ženskog - skupina A1 i osam muškog spola – skupina A2), a preostalih 16 su bili križanci mesnih pasmina – osam ženskog spola - skupina B1 i osam muškog spola odnosno skupina B2. Navedeno meso junadi prikupljeno je u jednom klaoničkom objektu u toku jednog radnoga dana. Uzroci su odmah po uzorkovanju pohranjeni na temperature hladnjaka, te su isti dan i dostavljeni u laboratorij Zavoda za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Slika 2).



Slika 2. Uzorci junećeg mesa

3.1. Fizikalne pretrage mesa

3.1.1. Boja mesa

Boja mesa određivana je prema CIE standardu (Comission Internationale de l'Eclairage) koristeći se s Minolta CR-410 Chroma Meter (Minolta Co., Ltd., Japan) s 50 mm dijametarskim područjem koji mjeri spektar boja L^* , a^* i b^* . Pokazatelj L^* predstavlja svjetloću mesa iskazanu u vrijednostima od 0 do 100 (0=crno; 100=bijelo). Vrijednost pokazatelja a^* ukazuje na spektar nijansi između crvene pa do zelene boje, a iskazan je vrijednostima od -60 do 60. Veća vrijednost pokazatelja a^* predstavlja crvenije meso. Vrijednosti b^* pokazatelja predstavljaju spektar nijansi od plave do žute (KELAVA i sur., 2008.). Boja mesa izmjerena je par sati nakon klanja.

3.2. Utvrđivanje osnovnog kemijskog sastava

3.2.1. Količina vode

Količina vode određena je prema ISO 1442 standardu koji opisuje referentnu metodu za određivanje količine vode u mesu i mesnim proizvodima. U porculansku posudicu za sušenje stavi se tri do četiri puta veća količina pijeska nego što je masa uzorka (3-5g). Zajedno sa staklenim štapićem, posudica se suši 30 minuta na 103 °C. Porculanska posuda s pijeskom i štapićem se izvaže nakon hlađenja u eksikatoru (Slika 3). Zatim se u nju doda prethodno pripremljeni samljeveni uzorak i odvaže se masa prije sušenja. Nakon što je sadržaj posudice za sušenje izmiješan staklenim štapićem, podvrgnut je grijanju na 103 °C tijekom 2 sata, te neposredno nakon toga hlađenju u eksikatoru na sobnoj temperature i vaganju. Postupak se ponavlja svakih sat vremena sve dok dvije uzastopne odvage ne budu različite za <0.1% mase uzorka za analizu.

Udio vode (%) računa se prema jednadžbi:

$$w(\text{H}_2\text{O}, \text{uzorak}) = (m_1 - m_2) / (m_1 - m_0) * 100\%$$

gdje je:

m_0 - masa (g) porculanske posude sa pijeskom i štapićem

m_1 – masa (g) porculanske posude sa pijeskom, uzorkom i štapićem prije sušenja

m_2 – masa (g) porculanske posude sa uzorkom, štapićem i pijeskom nakon sušenja



Slika 3. Sušenje uzoraka u eksikatoru

3.2.2. Količina bjelančevina

Količina bjelančevina u uzorku određuje se metodom ISO 937, koja se zasniva na Kjeldahl-ovom principu određivanja količine dušika u uzorku. Uzorak se prvo zagrijava uz koncentriranu sumpornu kiselinu, pri čemu dolazi do potpune oksidacije organske tvari na CO₂ i H₂O, a dušik oslobađa u obliku amonijaka i s sumpornom kiselinom čini amonijev sulfat ((NH₄)₂SO₄). Zatim slijedi faza destilacije, gdje se djelovanjem lužine na amonijev sulfat oslobađa amonijak koji se pred destilira vodenom parom u tikvicu s kiselinom poznate koncentracije. Titracijom se odredi višak kiseline. Iz dobivenog dušika izračuna se količina bjelančevina u postotku. Pomoću uređaja za razaranje uzorka HACH uz sumpornu kiselinu i vodikov peroksid, obavljeno je razaranje uzorka. Po završetku razaranja uzorka, tikvica se napuni vodom do oznake i ohladi. Kada se uzorak dovoljno ohladi sadržaj tikvice se destilira, ali uz dodatak natrijevog hidroksida pri čemu se oslobađa amonijak. Destilat se skuplja u Erlenmeyerovu tikvicu u kojoj se nalazi 25 ml borne kiseline. Destilat zelene boje ukazuje na prisutnost amonijaka. Potrebno je da destilat bude što hladniji kako ne bi došlo do gubitka amonijaka kroz toplinu. Dobiveni destilati titriraju se s kloridnom kiselinom (0,2 M) do promjene boje u svijetlo ljubičastu. Njezin utrošak se bilježi uz istovremeni rad sa slijepom probom.

Udio bjelančevina (%) računa se prema jednadžbi:

$$W (N,uzorak) = (V1-V0) \times c (HCL) \times 100 \times 14,007 / m (uzorak)$$

gdje je:

V0 – volumen (ml) 0,2 M kloridne kiseline potrebne za titraciju slijepe probe

V1 – volume (ml) 0,2 M kloridne kiseline potrebne za titraciju uzorka

c (HCl) = 0,2 mol/L

m – masa uzorka (mg)

Iz dobivene količine dušika množenjem sa faktorom za meso (6,25) dobije se količina ukupnih bjelančevina u uzorku.

3.2.3. Količina masti

Količina masti utvrđena je metodom ISO 1443 koja se temelji na ekstrakciji lipida iz krutog uzorka, u ovom slučaju junetine, pomoću organskog otapala. Slobodna mast je utvrđivana ekstrakcijom masti po Soxhletu. Nakon što je 10g uzorka dobro usitnjeno sjeckalicom, stavlja se u tikvicu te prelijeva s 50 ml koncentrirane klorovodične kiseline u digestoru uslijed čega dolazi do oslobađanja lipidnih frakcija. Sadržaj tikvice se preko filter papira i prenese u tikvicu za ekstrakciju i nakon toga se odvoji se otapalo (Slika 4). Otapalo se otpari u vodenoj kupelji i tikvica za ekstrakciju se osuši u sušioniku na 103 °C (± 2 °C). Na kraju se mast u eksikatoru ohladi na sobnoj temperaturi i važe se na točnost od 0,001 g.

Udio masti (%) računa se prema jednadžbi:

$$W (\text{mast,uzorak}) = (m_2 - m_1) / m_0 * 100\%$$

gdje je:

m_0 – masa (g) uzorka za analizu;

m_1 – masa (g) tikvice za ekstrakciju;

m_2 – masa (g) tikvice za ekstrakciju s masti poslije sušenja



Slika 4. Odvajanje otapala u tikvici za ekstrakciju

3.2.4. Količina pepela

Određivanje pepela izvedeno je referentnom analitičkom metodom ISO 936, gdje pepeo predstavlja anorganski ostatak koji zaostaje nakon spaljivanja organskog dijela mesa i mesnih proizvoda. Odvažuje se $5 \pm 0,01$ g homogeniziranog uzorka u prethodno pripremljenu porculansku posudu pomoću analitičke vage. Posuda s uzorkom se stavi u sušionik i suši se u periodu od 1 sat na 103°C . Zatim se uzorak u porculanskoj posudi hladi u eksikatoru te podvrgava spaljivanju pomoću mufolna peći s postupnim podizanjem temperature ($550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$) u vremenu od 5 do 6 sati. Sve dok pepeo ne postane sivo-bijele boje spaljivanje se produžuje. Nakon što pepeo postane sivo-bijele boje, hladi se u eksikatoru te važe pomoću analitičke vage.

Udio pepela (%) računa se prema jednadžbi:

$$W(\text{pepela, uzorak}) = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0) * 100\%$$

gdje je:

m_0 – masa (g) prazne posude;

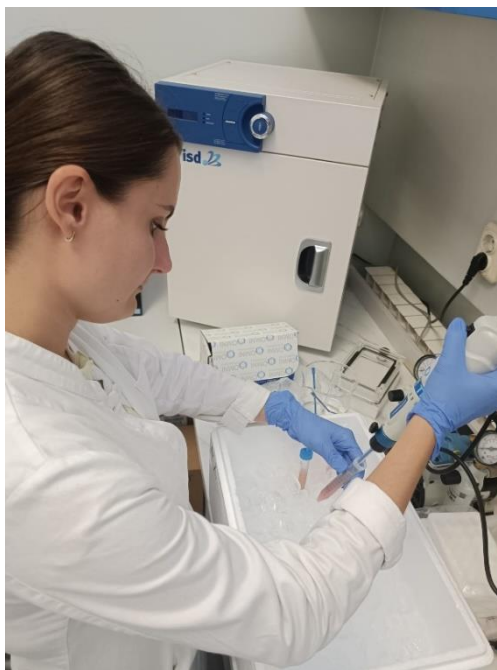
m_1 – masa (g) posude s uzorkom za analizu;

m_2 – masa (g) posude s pepelom

3.3. Serološka pretraga junećeg mesa

3.3.1. Postupak pripreme uzoraka za detekciju B12 vitamina ELISA metodom

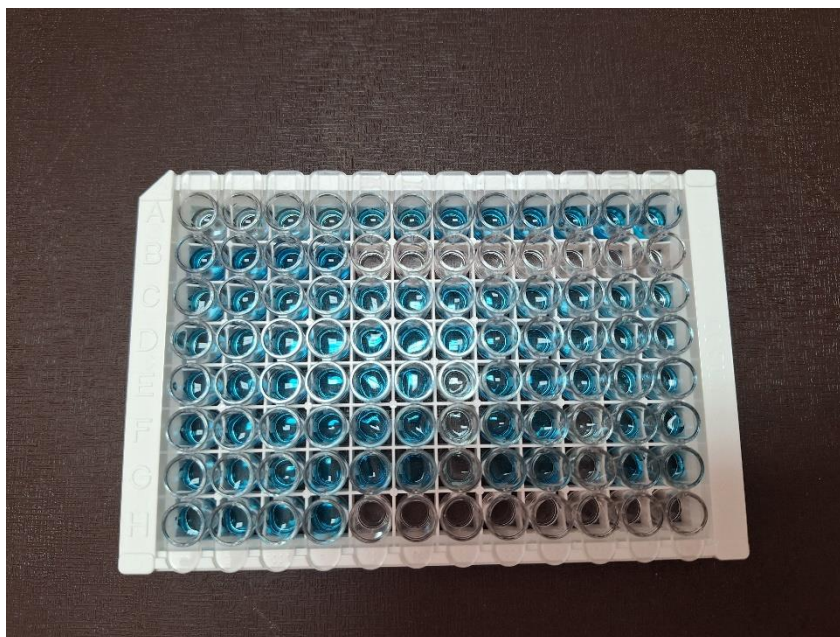
Prethodno smrznuti uzorci junećega mesa u izvornim plastičnim vrećicama su odmrzavani tijekom 24 ± 5 h pri 4°C . Priprema uzoraka obavljena je u Laboratoriju za proteomiku, Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Od svakog uzorka odvagano je po 1g i prebačeno u ranije označenu Falcon epruvetu te uz pomoć ultrazvučnog uređaja svaki je uzorak homogeniziran uz dodatak fosfatne puferirane solne otopine. Kako bi se usporio proces razgradnje stanica, homogenizacija je obavljena u ledu (Slika 5.). Prije odvajanja supernatanta iz svake epruvete u novu njoj odgovarajuću označenu epruvetu, homogenizirani uzorak je centrifugiran 5 minuta na $5000 \times g$. Supernatanti su pohranjeni u hladnjak na 4°C do početka analize.



Slika 5. Priprema uzoraka za detekciju B12 vitamina ELISA metodom

3.3.2. Detekcija B12 vitamina ELISA metodom

Utvrđivanje količine vitamina B12 provedeno je komercijalnim ELISA kitom za kvantitativno određivanje B12 vitamina (ab287826-Vitamin B12 ELISA Kit, Ujedinjeno Kraljevstvo). Prije početka izvođenja testa, reagensi, standardne otopine i uzorci pripremljeni su prema uputama proizvođača. Sve analize napravljene su u duplikatu. Jažice mikrotitracijske pločice su prvo ispirane 2x otopinom za ispiranje. U svaku jažicu mikrotitracijske pločice dodano je 50 μ l svakog standarda i uzoraka u duplikatima. Zatim je dodano 50 μ l “Biotin-detection Antibody Working Solution” u svaku jažicu i mikrotitracijska pločica je prekrivena s celofanom te termostatorana 45 minuta na 37 °C. Nakon inkubacije i trećeg ispiranja, u svaku je jažicu dodano 0.1 mL “SABC dilution buffer” te su uzorci ponovno termostatorani 30 minuta na 37 °C. Nakon inkubacije, mikrotitracija pločica je ispirana 5x otopinom za ispiranje. Zatim je u svaku jažicu dodano 90 μ L TBM supstrata te ponovno termostatorano na 37 °C (Slika 6.). Reakcija je zaustavljena nakon 20 minuta dodavanjem STOP otopine. Nakon cjelokupne procedure očitane su absorbancije na 450 nm za svaki uzorak.



Slika 6. Mikrotitracijska pločica nakon zadnje inkubacije

4. Statistička obrada rezultata

Dobiveni rezultati podijeljeni su sukladno hipotezi istraživanja na četiri skupine – junad Holstein pasmine – skupina A1 (ženke) i A2 (mužjaci) i križanci mesnih pasmina – skupina B1 (ženke) i B2 (mužjaci). Skupine su uspoređene prema pasminama i prema spolu u Microsoft Office Excelu (Microsoft, 2016, SAD) student t-testom i ANOVA statističkim metodama. Statistički značajnom razlikom smatrala se razina $p < 0,05$, a u provedenom istraživanju nisu dokazane statistički značajne razlike među uspoređenim skupinama junadi.

5. Rezultati

U Tablicama 1 - 4 prikazani su rezultati tehnoloških svojstava mesa.

Tablica 1. Tehnološka svojstva mesa junica pasmine Holstein (skupina A1)

Broj uzorka	Masa uzorka	Boja uzorka		
		L	a	b
1.	564,95	42,17	16,84	15,95
2.	650,88	40,27	13,97	14,17
3.	396,15	39,41	21,85	16,18
4.	562,69	36,36	15,60	13,01
5.	310	41,06	16,8	15,20
6.	335,05	48,56	14,07	16,91
7.	356,81	41,26	15,36	14,66
8.	357,83	39,46	17,81	15,53
Srednja vrijednost	441,79	41,07	16,54	15,20

Tablica 2. Tehnološka svojstva mesa junaca pasmine Holstein (skupina A2)

Broj uzorka	Masa uzorka	Boja uzorka		
		L	a	b
9.	385,05	42,97	18,61	16,82
10.	555,58	50,12	17,85	17,08
11.	525,48	43,6	19,68	18,29
12.	526,51	43,98	22,56	18,27
13.	456,99	42,48	18,74	17,36
14.	446,32	37,65	15,38	14,36
15.	473,53	41,06	12,98	13,56
16.	458,96	42,41	13,99	15,28
Srednja vrijednost	478,55	43,03	17,47	16,38

Tablica 3. Tehnološka svojstva mesa junica križanci mesnih pasmina (skupina B1)

Broj uzorka	Masa uzorka	Boja uzorka		
		L	a	b
17.	458,56	39,95	22,12	18,4
18.	412,86	41,88	24,14	20,03
19.	504,95	42,09	20,84	18,10
20.	346,34	41,28	17,02	16,72
21.	381,82	43,35	21,44	18,48
22.	379,58	40,48	19,46	17,09
23.	360,17	38,35	21,05	16,12
24.	378,36	39,33	19,46	17,14
Srednja vrijednost	402,83	40,84	20,69	17,76

Tablica 4. Tehnološka svojstva mesa junaca križanci mesnih pasmina (skupina B2)

Broj uzorka	Masa uzorka	Boja uzorka		
		L	a	b
25.	476,39	41,05	16,95	15,63
26.	420,9	41,41	13,74	13,58
27.	541,55	41,97	11,16	11,30
28.	416,64	41,41	17,75	14,64
29.	476,91	43,37	13,54	14,41
30.	468,08	41,49	13,38	13,08
31.	446,01	38,06	15,05	12,15
32.	390,89	40,14	14,56	13,50
Srednja vrijednost	454,67	41,11	14,52	13,54

Rezultati vrijednosti kemijskog sastava uzoraka mesa prikazani su u Tablicama 5 – 8.

Tablica 5. Kemijski sastav mesa junica pasmine Holstein (skupina A1)

Broj Uzorka	Voda, %	Bjelančevine, %	Mast, %	Pepeo, %
1.	68,29	25,39	5,31	0,72
2.	73,37	23,57	2,16	1,07
3.	69,66	25,76	4,38	1,01
4.	69,77	24,72	6,75	1,00
5.	70,87	24,35	3,19	0,91
6.	72,67	22,73	3,08	1,08
7.	73,05	21,08	4,66	1,04
8.	73,59	24,72	0,33	1,05
Srednja vrijednost	71,41	24,04	3,73	0,98

Tablica 6. Kemijski sastav mesa junaca pasmine Holstein (skupina A2)

Broj Uzorka	Voda, %	Bjelančevine, %	Mast, %	Pepeo, %
9.	76,21	22,20	0,42	1,08
10.	72,61	21,74	3,66	1,08
11.	74,58	23,10	1,05	0,96
12.	73,97	20,94	3,46	1,28
13.	75,97	21,57	0,55	1,02
14.	75,73	20,78	1,26	0,97
15.	77,12	21,04	0,55	1,09
16.	76,75	20,31	1,76	1,15
Srednja vrijednost	75,37	21,46	1,58	1,08

Tablica 7. Kemijski sastav mesa junica križanci mesnih pasmina (skupina B1)

Broj Uzorka	Voda, %	Bjelančevine, %	Mast, %	Pepeo, %
17.	74,10	23,47	0,72	1,12
18.	73,97	24,04	0,79	1,11
19.	74,46	22,41	0,82	1,08
20.	74,94	22,14	1,43	1,11
21.	75,24	22,78	0,84	1,04
22.	75,46	21,67	1,05	1,08
23.	75,57	20,94	0,98	1,06
24.	75,36	21,78	0,97	1,10
Srednja vrijednost	74,88	22,40	0,95	1,08

Tablica 8. Kemijski sastav mesa junaca križanci mesnih pasmina (skupina B2)

Broj Uzorka	Voda, %	Bjelančevine, %	Mast, %	Pepeo, %
25.	74,6	22,78	0,66	1,01
26.	75,28	23,14	0,19	1,05
27.	75,91	21,31	0,84	1,05
28.	76,02	20,88	2,11	1,14
29.	76,98	21,41	0,49	1,07
30.	74,85	22,51	0,85	0,92
31.	75,22	22,78	0,21	1,12
32.	81,86	17,67	0,71	1,06
Srednja vrijednost	76,34	21,56	0,75	1,05

Rezultati vrijednosti vitamina B12 u junetini prikazane su u Tablici 9.

Tablica 9. Koncentracija vitamina B12

Pasmina/ Spol										Srednja vrijednost
A1	Broj uzorka	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	
	Adsorbancija	1,4540	1,4045	1,3905	1,4990	1,1445	1,2635	1,5360	1,4010	1,2435
	Koncentracija B12 (ng/ml)	11,40	12,00	12,70	10,70	17,50	17,00	10,60	12,10	13,00
A2	Broj uzorka	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	
	Adsorbancija	1,3655	1,6295	1,7745	1,5272	1,7100	1,7200	1,5485	1,6390	1,6142
	Koncentracija B12 (ng/ml)	13,10	8,90	6,90	9,80	7,60	7,70	10,00	8,90	9,11
B1	Broj uzorka	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	
	Adsorbancija	1,3325	1,4045	1,5150	1,4750	1,6620	1,6480	1,6060	1,3295	1,4965
	Koncentracija B12 (ng/ml)	13,50	12,10	10,50	11,10	8,40	8,60	9,00	13,80	10,88
B2	Broj uzorka	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	32.	
	Adsorbancija	1,4925	1,5670	1,2470	1,5390	1,6420	1,4770	1,6220	1,8035	1,5487
	Koncentracija B12 (ng/ml)	11,00	9,90	15,10	10,10	8,50	11,20	8,70	6,20	10,08

5. Rasprava

Boja junećeg mesa kao jedan od temeljnih kvalitativnih obilježja, utječe na percepciju potrošača o poželjnosti namirnice, pa je tako svijetlocrvena boja mesa potrošaču kvalitativno prihvatljivija u odnosu na tamnocrvenu boju koja potiče nepoželjne asocijacije potrošaču (KELAVA i sur., 2008.).

Rezultati mjerenja boje pretraženih uzoraka mesa prikazani u Tablicama 1 - 4 ne ukazuju na značajne razlike. Izmjerena prosječna vrijednost pokazatelja L^* su veće kod muške junadi kod obje pasmine, dok je prosječna vrijednost pokazatelja a^* veća kod ženske junadi ali samo kod križanaca. Kod izračuna vrijednosti pokazatelja b^* vidljivo je da muška junad Holstein pasmine ima više razine vrijednosti od ženske junadi, dok junice križanih pasmina imaju veću vrijednost pokazatelja b^* u odnosu na mužjake. Dobivene minimalne vrijednosti boje mesa za parametre L^* , a^* i b^* iznosile su 36,3, 11,16 i 11,30, dok maksimalne vrijednosti za parametre L^* , a^* i b^* iznosile su 48,56, 24,14 i 20,03. Prema istraživanjima (MARENČIĆ i sur., 2018.) navodi se kako mlade junice obično proizvode meso s većim stupnjem intramuskularne masti (mramoriranost), što rezultira većom vrijednošću pokazatelja L^* i b^* . Dobivene vrijednosti pokazatelja b^* kod junica križane pasmine su u skladu s tim navodima. PAGE i sur. (2001.) u svom istraživanju navode da su goveda mliječnog tipa imale spektar boja L^* , a^* i b^* niži u odnosu na goveda mesnog tipa, te su rezultati ovog rada donekle u suglasju s navedenim istraživanjem. Rezultati boje junećeg mesa variraju u usporedbi su s ranijim istraživanjima glede stabilizacije parametara boje mesa. Razlog tomu što nisu svi pokazatelji sukladni podacima iz literature možemo pojasniti činjenicom kako postoje brojni čimbenici koji utječu na boju mesa, poput dobi, pasmine, uvjeta prije i poslije klanja, postupaka u preradi mesa, distribuciji, skladištenju i drugo.

Vrijednosti kemijskog sastava mesa junadi važno je poznavati zbog svog nutricionističkog značaja za organizam čovjeka, jer je nezamjenjiv izvor energije, bjelančevina, masti, vitamina i minerala te tako doprinose unosu ključnih hranjivih tvari koje su često nedostatne u prehrani određenih skupina populacije (WYNESS, 2015.). Kemijska analiza mesa obuhvaćala je određivanje sadržaja vode, bjelančevina, masti i pepela

U Tablicama 5 - 8 prikazane su srednje vrijednosti kemijskog sastava mesa junadi, podijeljeni s obzirom na pasminu i spol. Prosječna količina vode u junetini kretala se između 68,29% i 81,86%, količina bjelančevina od 21,46% do 24,04%, količina masti od 0,75% do 3,72% i količina pepela od 0,72% do 1,28%. Iz dobivenih rezultata je uočljivo da mužjaci mliječnog i mesnog tipa imaju veći postotak vode u mesu u odnosu na ženke. Ženke mliječnog

i mesnog tipa imaju veći postotak bjelančevina u mesu za razliku od mužjaka. Dok je postotak masti u mesu veći kod pasmine Holstein kod oba spola. Prema istraživanju SEGGERN i sur., (2005.) u kojem je određivao fizikalna i kemijska svojstva 39 različitih mišića govedine, navodi rezultate za količinu vode, mast i pepela u *m. gracilis*, naši rezultati su u skladu s tim istraživanjem, no iz navedenog istraživanja ne navode se razlike između pasmine i spola. Također, usporedbom rezultatima dobivenih iz znanstvenog rada OMANOVIĆ i sur. (2013.) i KOVAČEVIĆ (2004.) koji su određivali kemijski sastav mesa junetine, uočljivo je kako su naši rezultati u skladu s njihovima te ne odstupaju od prosječnog kemijskog sastava mesa.

Iako nisu statistički značajne, iz predstavljenih rezultata uočljivo je da ženke i Holstein i križanih pasmina imaju više koncentracije vitamina B12 od mužjaka. Nije uočena poveznica između utjecaja pasmine na količinu koncentracije vitamina B12 u mesu junetine. GILLE i SCHMID (2015.) su uspoređivali uzorke mišića *Charolais*, *Limousin* i *Montbeliard* pasmina te su ustvrdili da uzgojna pasmina i spol nisu imali značajan utjecaj na koncentraciju vitamina B12 u sirovom mesu, no rezultate navedenih autora treba uzeti s dozom opreza zbog manjeg broja uzoraka nego u našem istraživanju, kao i činjenice da autori ne navode koliko je goveda bilo od koje pasmine i koliko je bilo mužjaka, a koliko ženki. Opsežnom pretragom literature nismo došli do dodatnih podataka s kojima bismo mogli usporediti naše rezultate.

6. Zaključci

Boja junetine prema sva tri mjerena pokazatelja odgovarala je očekivanim pokazateljima za junetinu, dok je utvrđeno i također blago međupasminsko odstupanje.

Kemijski je sastav pretraženih uzoraka odgovarao svim standardima svježeg junećeg mesa, ne odstupajući od prosječnog kemijskog sastava mesa.

Iako nisu utvrđene statistički značajne razlike između istraživanih uzoraka s obzirom na spol, odnosno pasminu ipak možemo zaključiti kako je u uzorcima ženskih životinja razina kobalamina bila viša nego u uzorcima muških životinja, a najviša razina kobalamina utvrđena je kod ženki pasmine Holstein.

Potrebno je svakako provesti dodatna istraživanja i opsežnije statističke analize kako bi se u potpunosti razjasnila uloga spola, odnosno pasmine u razinama kobalamina u junetini.

7. Literatura

1. ALLEN, L. H. (2009): How common is vitamin B-12 deficiency?. *Am. J. Clin. Nutr.* 89, 693 – 696. doi: 10.3945/ajcn.2008.26947A.
2. BRITO, A., E. HERTRAMPF, M. OLIVARES, D. GAITAN, H. SANCHEZ, L. H. ALLEN, R. UAUY (2012): Folatos y vitamina B12 en la salud humana [Folate, vitamin B12 and human health]. *Rev. Med. Chil.* 140, 1464–1475. doi:10.4067/S0034-98872012001100014.
3. BROUWER-BROLSMA, E. M., R. A. DHONUKSHE-RUTTEN, J. P. VAN WIJNGAARDEN, N. L. VAN DER ZWALUW, N. VAN DER VELDE, L. C. DE GROOT (2015): Dietary sources of vitamin B12 and their association with vitamin B12 status markers in healthy older adults in the B-PROOF study. *Nutr.* 7, 7781–7797. doi:10.3390/nu7095364.
4. BUZALA, M., A. SLOMKA, J. BOGDAN (2016): Heme iron in meat as the main source of iron in the human diet. *J. Elem.* 21, 303–314. doi:10.5601/jelem.2015.20.1.850.
5. CALVILLO, A., T. PELLICER, M. CARNICER, A. PLANAS (2022): Bioprocess strategies for Vitamin B12 production by microbial fermentation and its market applications. *Bioengineering* 9, 8–365. doi: 10.3390/bioengineering9080365.
6. CHOI, Y. M., B. C. KIM (2009): Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms and meat quality. *Livestock Sci.* 122, 105–118. doi:10.1016/j.livsci.2008.08.015
7. CZERWONKA, M., A. SZTERK, B. WASZKIEWICZ-ROBAK (2014): Vitamin B12 content in raw and cooked beef. *Meat Sci.* 96, 1371–1375. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.11.022.
8. DENISSEN, K. F. M., S. G. HEIL, S. J. P. M. EUSSEN, J. P. J. HEESKENS, C. THIJS, M. MOMMERS, L. J. M. SMITS, M. C. J. M. VAN DONGEN, P. C. DAGNEILE (2019): Intakes of Vitamin B-12 from dairy food, meat, and fish and shellfish are independently and positively associated with Vitamin B-12 biomarker status in pregnant dutch women. *J. Nutr.* 149, 131–138. doi:10.1093/jn/nxy233.
9. DOETS, E. L., A. SZCZECINSKA, R. A. DHONUKSHE-RUTTEN, A. E. CAVELAARS, P. VAN'T VEER, A. BRZOZOWSKA, L. C. DE GROOT (2013): Systematic review on daily vitamin B12 losses and bioavailability for deriving

- recommendations on vitamin B12 intake with the factorial approach. *Ann. Nutr. Metab.* 62, 311 - 322. doi: 10.1159/000346968.
10. FORESTELL, C. A., A. M. SPAETH, S. A. KANE (2012): To eat or not to eat red meat. A closer look at the relationship between restrained eating and vegetarianism in college females. *Appetite* 58, 319–325. doi:10.1016/j.appet.2011.10.015
 11. FRANCO-LOPEZ, J., M. DUPLESSIS, A. BUI, C. REYMOND, W. POISSON, L. BLAIS, J. CHONG, R. GERVAIS, D. E. RICO, R. I. CUE, C. L. GIRARD, J. RONHOLM (2020): Correlations between the composition of the bovine microbiota and Vitamin B12 abundance. *Msystems* 5, 107–120. doi: 10.1128/mSystems.00107-20.
 12. GILLE, D., A. SCHMID (2015): Vitamin B12 in meat and dairy products. *Nutr. Rev.* 73, 106–115. doi: 10.1093/nutrit/nuu011.
 13. GIRARD, C. L., R. BERTHIAUME, L. FAUCITANO, C. LAFRENIERE (2007): Influence of beef production system on vitamin B12 concentrations in plasma and muscle. *Canadian J. Anim. Sci.* 87, 277–280.
 14. GONZALES-MONTANA, J. R., F. ESCALERA-VALENTE, A. J. ALONSO, J. M. LOMILLOS, R. ROBLES, M. E. ALONSO (2020): Relationship between Vitamin B12 and cobalt metabolism in domestic Ruminant. *Animals* 10, 1855. doi: 10.3390/ani10101855.
 15. GREEN, R., L. H. ALLEN, A. L. BJORKE-MONSEN, A. BRITO, J. L. GUEANT, J. W. MILLER, A. M. MOLLOY, E. NEXO, S. STABLER, B. H. TOH, P. R. ULEAND, C. YAJNIK (2017): Vitamin B(12) deficiency. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 3, 17040. doi: 10.1038/nrdp.2017.40.
 16. KERRY, J. P., D. LEDWARD (2009): Improving the sensory and nutritional quality of fresh meat. 1st ed., Woodhead Publishing, Cambridge, str. 56–66.
 17. KELAVA-UGARKOVIĆ, N., M. KONJAČIĆ, T. JAKOPOVIĆ, I. KOS, A. IVANKOVIĆ, D. MARENČIĆ (2008): Procjena korekcijskih faktora stabilizacije boje junećeg mesa. *Stočarstvo* 62, 449–462.
 18. KIRCHOFER, K. S., C. B. CALKINS, B. L. GWARTNEY (2002): Fiber-type composition of muscles of the beef chuck and round. *J. Anim. Sci.* 80, 2872–2878. doi:10.2527/2002.80112872x
 19. KOVAČEVIĆ, D. (2004): Sirovine prehrambene industrije (meso i riba). Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, str. 136.
 20. LAVRIŠA, Ž., H. HRISTOV, M. HRIBAR, K. ŽMITEK, A. KUŠAR, B. KOROUŠIĆ-SELJAK, M. GREGORIĆ, U. BLAZNIK, N. GREGORIĆ, K. ZALETEL, A. OBLAK,

- J. OSREDKAR, I. PRAVST (2022): Dietary intake and status of Vitamin B12 in Slovenian population. *Nutr.* 14, 334. doi: 10.3390/nu14020334.
21. LAWRIE, R. A., D. LEDWARD (2006): *Lawrie's meat science*. 7th ed., Woodhead Publishing, New York, str. 89–94.
 22. LEŠKOVA, E., J. KUBIKOVA, E. KOVAČIKOVA, M. KOŠICKA, J. PORUBSKA, K. HOLČIKOVA (2006): Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *J. Food Compos. Anal.* 19, 252–276. doi:10.1016/j.jfca.2005.04.014.
 23. LI, C. (2017): The role of beef in human nutrition and health. In: *Ensuring safety and quality in the production of beef*. (DIKEMAN, M. E., Ed.). Burleigh Dodds Science Publishing, London, str. 329–338. doi:10.19103/AS.2016.0009.16.
 24. MARENČIĆ, D., A. IVANKOVIĆ, L. KOZAČINSKI, M. POPOVIĆ, Ž. CVRTILA (2018): The effect of sex and age at slaughter on the physicochemical properties of Baby-beef meat. *Vet. arhiv* 88, 101–110. doi: 10.24099/vet.arhiv.160720
 25. MCAFFE, A. J., E. M. MCSORLEY, G. J. CUSKELLY, B. W. MOSS, J. M. W. WALLACE, M. P. BONHAM, A. M. FEARON (2010): Red meat consumption: an overview of the risks and benefits. *Meat Sci.* 84, 1–13. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.08.029.
 26. OBEID, R., S. G. HEIL, M. M. A. VERHOEVEN, E. G. H. M. VAN DEN HEUVEL, L. C. P. G. M. DE GROOT, S. J. P. M. EUSSEN (2019): Vitamin B12 Intake from animal foods, biomarkers, and health aspects. *Front. Nutr.* 6, 1–18. doi: 10.3389/fnut.2019.00093
 27. O'LEARY, F., S. SAMMAN (2010): Vitamin B12 in health and disease. *Nutr.* 2, 299–316. doi: 10.3390/nu2030299.
 28. OMANOVIĆ, H., M. ČEPALO, A. ČAUŠEVIĆ, E. MUJIĆ, S. HALIMOVIĆ, N. PRAČIĆ (2013): Uticaj kategorije goveda na kvalitet mesa kao sirovine za preradu. *Rad. Poljoprivredno- prehranbenog fak. Univ. Sarajevu.* 58. 127–138.
 29. ORTIGUES-MARTY, I., D. MICOL, S. PRACHE, D. DOZIAS, C. L. GIRARD (2005): Nutritional value of meat: the influence of nutrition and physical activity on vitamin B12 concentrations in ruminant tissues. *Reprod. Nutr. Dev.* 45, 453–467. doi: 10.1051/rnd:2005038.
 30. ORTIGUES-MARTY, I., E. THOMAS, D. P. PREVERAUD, C. L. GIRARD, D. BAUCHART, D. DURAND, A. PEYRON (2006.): Influence of maturation and

- cooking treatments on the nutritional value of bovine meats: Water losses and vitamin B12. *Meat Sci.* 73, 451–458. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.01.003.
31. PAGE, J. K., D. M. WULF, T. R. SCHWOTZER (2001.): A survey of beef muscle color and pH. *J. Anim Sci.* 79, 678–687. doi: 10.2527/2001.793678x
32. PASTUSHENKO, V., H. D. MATTHES, H. HEINRICH, Z. HOLZER, T. PROKOPYUK (2001): The role of grass feeding in improving oxidative stability and increasing vitamin B12 content of beef and veal. The XIX International Grassland Congress, 11-21.02., Sao Paolo, Brazil, str. 51.
33. PAWLAK R., S. J. PARROTT, S. RAJ, D. CULLUM-DUGAN, D. LUCUS (2013): How prevalent is vitamin B(12) deficiency among vegetarians? *Nutr. Rev.* 71, 110–117. doi: 10.1111/nure.12001.
34. SEGGERN, D. D., C. R. CALKINS, D. D. JOHNSON, J. E. BRICKLER, B. L. GWARTNEY (2005): Muscle profiling: Characterizing the muscles of the beef chuck and round, *Meat Sci.* 71, 39–51. doi:10.1016/j.meatsci.2005.04.010
35. SOBCZYNSKA-MALEFORA, A., E. DELVIN, A. MCCADDON, K. R. AHMADI, D. J. HARRINGTON (2021): Vitamin B12 status in health and disease: a critical review. Diagnosis of deficiency and insufficiency - clinical and laboratory pitfalls. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 58, 399–429. doi: 10.1080/10408363.2021.1885339.
36. STANGL, G. I., F. J. SCHWARZ, B. JAHN, M. KIRCHGESSNER (2000): Cobalt-deficiency-induced hyperhomocysteinaemia and oxidative status of cattle. *Br. J. Nutr.* 83, 3–6. doi:10.1017/s0007114500000027
37. TOOHEY, J. I. (2006): Vitamin B12 and methionine synthesis: a critical review. Is nature's most beautiful cofactor misunderstood? *Biofactors* 26, 45–57. doi: 10.1002/biof.5520260105.
38. VOGIATZOGLU, A., A. D. SMITH, E. NURK, P. BERSTAD, C. A. DREVON, P. M. UELAND, S. E. VOLLSET, G. S. TELL, H. REFSUUM (2009): Dietary sources of vitamin B-12 and their association with plasma vitamin B-12 concentrations in the general population. *Am. J. Clin. Nutr.* 89, 1078–1087. doi: 10.3945/ajcn.2008.26598.
39. WATANABE, F. (2007): Vitamin B12 sources and bioavailability. *Exp. Biol. Med.* 232, 1266–1274. doi: 10.3181/0703-MR-67.
40. WATANABE, F. (2015): Food Composition Tables of Japan and the Nutrient Table/Database. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 61, 25–7. doi: 10.3177/jnsv.61.S25.
41. WATANABE, F., T. BITO (2017): Vitamin B12 sources and microbial interaction. *Exp. Biol. Med.* 243, 148–158. doi: 10.1177/1535370217746612

42. WYNESS, L. (2015): The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits.
Proc. Nutr. Soc. 75, 227–232. doi:10.1017/S0029665115004267

8. Sažetak

Utjecaj pasmine i spola na kvalitativne pokazatelje i razine kobalamina u mesu junadi Maja Dopuđ

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi razinu utjecaja pasmine i spola na kvalitativne pokazatelje i koncentracije vitamina B12 u junetini. Istraživanje je provedeno na 32 uzorka junećeg mesa, točnije mišića buta, od kojih je 16 uzoraka potjecalo od Holestein pasmine (8 ženskog i 8 muškog spola), a preostalih 16 su bili križanci mesnih pasmina (8 ženskog i 8 muškog spola). Boja junećeg mesa, kao važan kvalitativni pokazatelj koji je bitan za poželjnost namirnice potrošača, varira u usporedbi s ranijim istraživanjima glede stabilizacije parametara boje mesa, ali je izmjerena boja poželjna. Kemijski sastav junetine, koji je bitan poznavati zbog nutricionističkog značaja za organizam ljudi, određivao se ISO metodama, te ne odstupa od prosječnog kemijskog sastava. Juneće meso smatra se najznačajnijim za unos dostatnih dnevnih količina vitamina B12. Iako nisu statistički značajne, iz dobivenih rezultata, određenih ELISA metodom, uočljivo je da ženke pasmine Holstein i križane pasmine imaju više koncentracije vitamina B12 od mužjaka.

Analizom podataka nisu dokazane statistički značajne razlike među uspoređenim skupinama junadi podijeljenih ovisno o pasmin i spolu.

Ključne riječi: junetina, vitamin B12, spol, pasmina, ELISA

9. Summary

The impact of breed and gender on qualitative indicators and cobalamin levels in beef

Maja Dopud

The aim of this study was to determine the level of influence of breed and gender on qualitative indicators and concentrations of vitamin B12 in beef. The research was conducted on 32 samples of beef, specifically from the round muscles. Out of these, 16 samples originated from the Holstein breed (8 females and 8 males), while the remaining 16 were crossbreeds of meat breeds (8 females and 8 males). The color of beef, as the main qualitative indicator influencing consumers preferences, varies in comparison to previous studies due to the stabilization of meat color parameters, but the measured color is deemed desirable. The chemical composition of beef is essential to understand due to its nutritional significance for human health and was determined using ISO methods and does not deviate from the average chemical composition. Beef is considered the primary source for meeting daily vitamin B12 requirements. Although not statistically significant, the obtained results that was done by ELISA method, indicate that females of the Holstein breed and crossbreeds have higher concentrations of vitamin B12 than males. Data analysis did not reveal statistically significant differences among the compared groups of cattle based on breed and gender.

Keywords: beef, vitamin B12, breed, gender, ELISA

10. Životopis

Maja Dopuđ rođena je 25. studenoga.1997. godine u Zagrebu, gdje je završila Osnovnu školu Tituša Brezovačkog, te nakon toga Prirodoslovnu gimnaziju Vladimira Preloga. Upisuje 2016. godine Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu gdje izabire smjer Higijena i tehnologija animalnih namirnica i veterinarsko javno zdravstvo. Zbog interesa za dodatnim znanjem i odrađivanja praktičnog dijela na temu Higijene, tehnologije i sigurnosti hrane, bila je dio CEEPUS Ljetne škole akvakulture Sarajevo, gdje je učila o uzgoju i higijeni riba i školjkaša, te je bila dio projekta UNA Europa Ljetna škola Veterinarskog javnog zdravstva u Bologni gdje se obrađivala tematika o afričkoj svinjskoj kugi.

Nakon riješenih ispita u roku, upisuje apsolutnu godinu, tijekom koje odlučuje volontirati u mikrobiološkom laboratoriju na Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, što ju je potaknulo da se prijavi na CEEPUS razmjenu studenata u Ljubljani, gdje je odrađivala praksu na Institutu za mikrobiologiju i parazitologiju u Ljubljani.