

Analiza metilnih estera masnih kiselina u materijalu biološkog porijekla metodom plinske kromatografije



Analysis of fatty acid methyl esters in biological materials by gas chromatography

Vranković, L. *, I. Delaš, Z. Stojević, J. Aladrović

Sažetak

Plinska kromatografija je metoda kromatografije na koloni koja se primjenjuje za razdvajanje i određivanje hlapljivih organskih spojeva i nekih anorganskih plinova iz smjese. Instrument kojim se obavlja odvajanje pojedinih komponenti i određuje njihov sastav u uzorku naziva se plinski kromatograf. Kromatografsko razdvajanje ispitivane smjese tvari provodi se u sustavu koji se sastoji od dviju komponenti: stacionarne i mobilne faze. Kao mobilna faza (plin nosač) najčešće se upotrebljavaju helij, dušik i vodik. Kao stacionarna faza rabe se organski polimeri ili tekućine viših vrelišta. Najčešći materijali koji se rabe za analizu jesu lako dostupne tjelesne tekućine: krv (serum), urin i likvor, u kojima se analiziraju tvari prisutne u malim količinama (hormoni, lijekovi, otrovi, droge, preparati zabranjeni u sportu). Plinskom kromatografijom mogu se analizirati različite vrste štetnih spojeva u hrani, vodi i tlu (pesticidi, hlapljivi klorirani i bromirani ugljikovodici, mineralna ulja) te provjeravati kakvoća različitih proizvoda. Utvrđivanje masnokiselinskog sastava hrane i tjelesnih tekućina ovom metodom iznimno je važno jer su poremećaji metabolizma masnih kiselina povezani s bolestima organskih sustava, pojavom kroničnih bolesti i poremećajima u funkcioniranju stanica.

Ključne riječi: plinska kromatografija, materijal biološkog podrijetla, analiza

Abstract

Gas chromatography is a column chromatography used for the separation and detection of volatile organic compounds and some inorganic gases from a sample mixture. The instrument that separates individual components and determines their composition in the sample is called a gas chromatograph. As the mobile phase (carrier gas), helium, nitrogen and hydrogen are most commonly used. Organic polymers or high boiling fluids applied to a solid carrier are used as a stationary phase. The most commonly used materials for the analysis are easily accessible body fluids: blood (serum), urine and cerebrospinal fluid, which are used to analyse substances present in small amounts (hormones, drugs, poisons, substances prohibited in sports). Gas chromatographic methods can also be used to analyse various types of harmful compounds in food, water and soil (pesticides, volatile chlorinated and brominated hydrocarbons, mineral oils), and the quality assay of various products. Determination of the fatty acid composition of food and

Dr. sc. Lana VRANKOVIĆ, dr. med. vet., postdoktorantica, dr. sc. Jasna ALADROVIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, dr. sc. Zvonko STOJEVIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor u trajnom zvanju, Zavod za fiziologiju i radiobiologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, dr. sc. Ivančica DELAŠ, dipl. ing. prehr. tehnol., redovita profesorica, Zavod za kemiju i biokemiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. *Autor za korespondenciju: dr. sc. Lana VRANKOVIĆ, e-pošta: lana.vrankovic@vef.hr

body fluids using the gas chromatography method is of utmost importance because disorders in fatty acid metabolism are associated with diseases of organic systems, the occurrence of chronic diseases and disorders of cell function.

Key words: gas chromatography, material of biological origin, analysis

Uvod

Kromatografija (engl. *chromatography*) jest fizikalna metoda razdvajanja tvari iz smjese na skupine komponenata ili pojedinačne komponente. Jedna je od vodećih analitičkih metoda i omogućuje razdvajanje i kvantitativno određivanje tvari veoma slične strukture i kemijskih svojstava. Kromatografsko razdvajanje ispitivane smjese tvari provodi se u sustavu koji se sastoji od dviju komponenti: stacionarne (nepokretne; engl. *stationary phase*) i mobilne (pokretne; engl. *mobile phase*) faze (McNair i Miller, 1998; Delaš, 2012.). Komponente uzorka koje se kromatografski razdvajaju moraju biti topljive u mobilnoj fazi, ali moraju biti i u interakciji sa stacionarnom fazom. Stacionarna faza može biti čvrsta ili tekuća, a mobilna faza može biti tekuća (tekućinska kromatografija) ili plinovita (plinska kromatografija). Komponente analizirane smjese se pod utjecajem mobilne faze kreću kroz stacionarnu fazu različitim brzinom i tako se razdvajaju. Tvar koja je topljivija u stacionarnoj fazi kreće se kroz sustav sporije jer "zapinje", dolazeći u interakcije sa stacionarnom fazom. Tvar topljivija u mobilnoj fazi prolazi brže, bez zadržavanja, nošena mobilnom fazom prema izlazu iz sustava. Zbog ove razlike u pokretljivosti razdvajaju se komponente analizirane smjese i potrebno je različito vrijeme da pojedina komponenta prijeđe određeni put u određenom sustavu (McNair i Miller, 1998.; Delaš, 2012.).

Kromatografske se metode prema mehanizmu odvajanja komponenti dijele na:

gel-filtracijsku kromatografiju (engl. *gel filtration chromatography*) – razdvajanje na temelju veličine komponenata;

ionsko-izmjenjivačku kromatografiju (engl. *ion-exchange chromatography*) – razdvajanje na temelju ukupnog naboja komponenata;

afinitetnu kromatografiju (engl. *affinity chromatography*) – razdvajanje prema specifičnom afinitetu komponenata prema vezanju određenog niskomolekularnog spoja;

adsorpcijsku kromatografiju (engl. *adsorption chromatography*) – razdvajanje na temelju polarnosti komponenata.

Prema agregacijskome stanju stacionarne i mo-

bilne faze, između kojih dolazi do raspodjele komponenata smjese, kromatografiju dijelimo na:

a) **kruto-tekućinsku kromatografiju** (kromatografija na stupcu, engl. *column chromatography* i tankoslojna kromatografija, engl. *thin layer chromatography*);

b) **tekućinsko-tekućinsku kromatografiju**;

c) **tekućinsko-plinsku kromatografiju** (plinska kromatografija, engl. *gas chromatography*).

Kromatografskom analizom moguće je razdvojiti dva ili više kemijski sličnih spojeva koji se drugim postupcima ne mogu odijeliti te je za analizu potrebna vrlo mala količina uzorka, od 20 do 500 µg. Ako je udio pojedine komponente u smjesi jako malen, potrebno je prije kromatografske analize primijeniti taloženje, ekstrakciju, destilaciju i sl. (Delaš, 2012).

Plinska kromatografija

Plinska kromatografija (engl. *gas chromatography* – GC) kolonska je kromatografija koja se primjenjuje za razdvajanje i detekciju hlapljivih organskih spojeva i nekih anorganskih plinova iz smjese. Plinsku su kromatografiju uveli James i Martin 1952. godine (James i Martin, 1952.) i danas se razvila u jednu od temeljnih tehnika u kemijskoj analizi. Plinska se kromatografija upotrebljava za kvalitativnu i kvantitativnu analizu tvari koje su prisutne u malim količinama (hormoni, lijekovi, otrovi, droge), za izolaciju komponenata smjese, za utvrđivanje čistoće tvari i detekciju okolišnih onečišćenja (Santos i Galceran, 2002.), te u forenzici (Lu i Harrington, 2007.) i farmaceutskim istraživanjima (Shyamala i sur., 2013.). Plinska je kromatografija metoda od velike važnosti u biokemiji lipida te analizi aminokiselina i šećera.

Instrument na kojemu se pojedine komponente odvajaju i određuje njihov sastav u uzorku, naziva se plinski kromatograf (engl. *gas chromatograph*) (slika 1). Sustav za plinsku kromatografiju sastoji se od izvora plina s manometrom za kontrolu protoka plina, mjesta za unošenje uzorka (injektor), kolone kroz koju struji plinovita faza, termostata koji održava temperaturu kolone, detektora koji registrira izlaz pojedine komponente iz kolone, jedinice za obradu podataka (PC) i pisača (Delaš, 2012.).



Slika 1. Plinski kromatograf SRI 8610 C opremljen plameno-ionizacijskim detektorom (FID)



Slika 2. Kapilarna kolona za plinsku kromatografiju

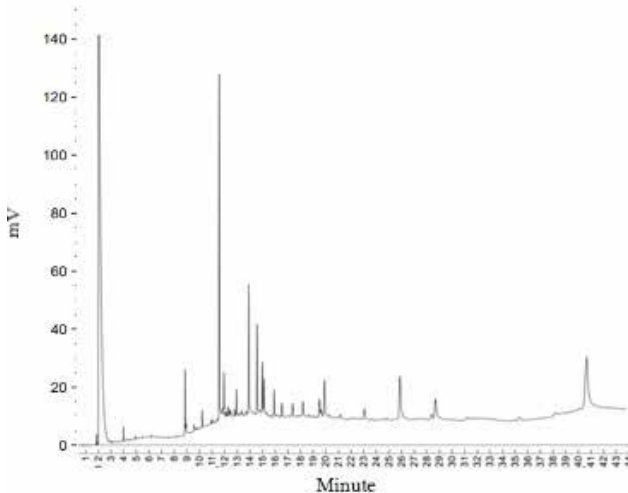
Kao mobilna faza (plin nosač) najčešće se upotrebljavaju helij, dušik, vodik, argon ili smjesa argona i metana, koji ne dolaze u interakciju ni sa stacionarnom fazom ni s analiziranom tvari te ne daju signal na detektoru. Izbor plina ovisi o vrsti uzorka i detektoru, a najviše se rabi helij. Kao stacionarna faza rabe se organski polimeri ili tekućine viših vrelišta (nanesene na kruti nosač) (McNair i Miller, 1998.). Stacionarna se faza nalazi u vrlo dugim, uskim cjevčicama, kapilarnim kolonama (slika 2). Kolone za plinsku kromatografiju koje su se u početku rabile bile su staklene, dužine 2 – 5 m, punjene adsorbensom impregniranim aktivnom supstancijom (McNair i Miller, 1998.). Danas su u uporabi kapilarne kolone velikih dužina (25 – 120 m) i malih promjera (0,25 – 0,5 mm) čija je unutrašnja strana presvučena aktivnom komponentom visokog vrelišta. Zbog velike dužine kolone postižu se odlična razdvajanja i velika osjetljivost metode, koja može detektirati i nanogramske količine (Delaš, 2012.). U plinskoj se kromatografiji

rabi više vrsta detektora, čiji se izbor radi na osnovi analita koji se analizira, a mogu biti: plameno-ionizacijski (engl. *flame ionization detector*; FID), detektor toplinske vodljivosti (engl. *thermal conductivity detector*; TCD), detektor apsorpcije elektrona (engl. *electron capture detector*; ECD), infracrveni (IR), spektrometar masa (MS) (McNair i Miller, 1998.).

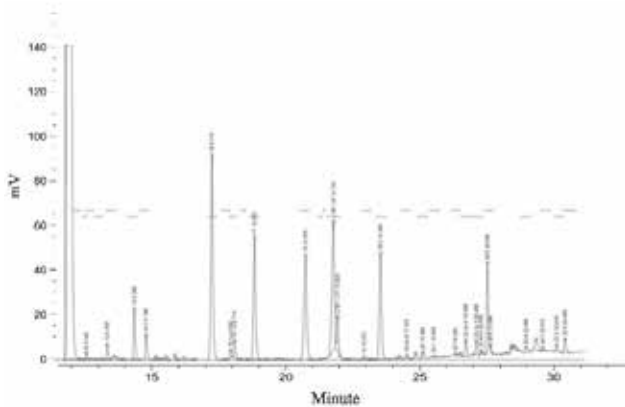
S obzirom na nepokretnu fazu, razlikuju se dvije tehnike: plinsko-adsorpcijska (engl. *gas-solid chromatography*) i plinsko-tekućinska (engl. *gas-liquid chromatography*). U prvom je slučaju nepokretna faza adsorbens (silika-gel) koji na sebe veže komponente smjese, dok je u drugom slučaju nepokretna faza tekućina (tekući ugljikovidični esteri, viši alkoholi) koja je nanosena na kruti nosač. Različita topljivost komponenti smjese u nepokretnoj fazi određuje razdvajanje (Delaš, 2012.). Parametar kojim mobilna faza utječe na razdvajanje jest tlak plina, odnosno brzina protoka kroz kolonu. Bolja se razdvajanja postižu pri manjim protocima, ali je važno naći kompromis s vremenom trajanja analize. Djelotvornost razdvajanja analita ovisi prije svega o karakteristikama kolone. Odabir stacionarne faze ovisi o vrsti i svojstvima analita, a odabir parametara temperaturnog režima tijekom analize dodatno utječe na brzinu i kvalitetu analize. Temperatura za vrijeme analize može biti konstantna (izotermno), povećavati se (gradijent temperature) ili su moguće kombinacije tih dvaju načina (Delaš, 2012.).

Opis metode

Uzorak (smjesa čije se komponente žele razdvojiti) unosi se injektorom (ručnim ili automatskim), dolazi do trenutnog isparavanja te struja plina nosača nosi uzorak u kolonu. U koloni dolazi do naizmjeničnog otapanja ili adsorpcije analita na nepokretnu fazu te ponovnog isparavanja tvari u pokretnu fazu. Pojedine se komponente smjese razlikuju po polarnosti i hlapljivosti zbog čega će različitim brzinama putovati kolonom, razdvajati se te će nakon izlaska s kolone biti detektirane i na pisaču ispisane kao kromatogram. Na kromatogramu se za svaku komponentu u odgovarajućem vremenu iscrtava šiljak (engl. *peak*; slika 3 i slika 4). Vrijeme zadržavanja pojedine komponente na koloni, tj. vrijeme potrebno da određena tvar prođe kroz kolonu od injektora do detektora naziva se vrijeme retencije (engl. *retention time*, *Rt*). Vrijeme retencije je za iste komponente pod jednakim uvjetima kromatografije uvijek jednako, pa se na taj način plinska kromatografija primjenjuje za identifikaciju tvari. Površina ispod šiljka na kromatogramu razmjerna je količini analita. Na osnovi površine ili visine signala izračuna se



Slika 3. Primjer kromatograma metilnih estera masnih kiselina kamenice (Barišić i sur., 2017)



Slika 4. Primjer kromatograma metilnih estera masnih kiselina seruma medvjeda u programu za integraciju PEAKSimple 3D (Vranković i sur., 2017.a)

koncentracija komponente. Kromatogrami se mogu kvantificirati na više načina, a najtočnija je metoda internog standarda (supstancija poznate koncentracije dodana svakom uzorku) (Delaš, 2012.).

U kliničkoj se dijagnostici plinska kromatografija najčešće primjenjuje u kombinaciji s masenim detektorom u integralnom sustavu plinske kromatografije i spektrometrije masa (engl. *gas chromatography – mass spectrometry*, GC-MS; slika 5) što znatno povećava osjetljivost i preciznost identifikacije analita (McNair i Miller, 1998.). Komponente smjese u prvom se koraku razdvoje plinskom kromatografijom, a potom dodatno analiziraju određivanjem spektra masa čestica nastalih ionizacijom. Ti su spektri masa karakteristični za svaku pojedinu tvar. Sustav GC-MS najčešće se upotrebljava u farmakološkim i metaboličkim laboratorijima (Preu i sur., 1998.). Najčešći



Slika 5. Plinsko-maseni kromatograf, Varian Saturn

materijali koji se rabe za analizu jesu lako dostupne tjelesne tekućine: krv (serum), urin i likvor, u kojima se analiziraju tvari prisutne u malim količinama (hormoni, lijekovi, otrovi, droge, preparati zabranjeni u sportu).

Vrsta i priprava uzoraka

Ako se analizira sastav masnih kiselina u uzorku homogenata tkiva ili nekoga drugog biološkog materijala (Bučević-Popović i sur., 2014; Octenjajk i sur., 2016.; Vranković i sur. 2017a.; Vranković i sur., 2017.b.), potrebno je provesti homogenizaciju uzorka i ekstrakciju ukupnih lipida, za što je potrebna priprema smjese otapala kloroform:metanol različite polarnosti, miješanjem kloroforma i metanola u određenim omjerima. Ekstrakcija ukupnih lipida provodi se najčešće modificiranom Folchovom metodom (Folch i sur., 1957.). Tako dobiveni ekstrakti ukupnih lipida spoje se i upare do suha u uparivaču. Nakon ekstrakcije ukupnih lipida provodi se transesterifikacija masnih kiselina u metilne estere metanolnom otopinom HCl. Nakon metanolize metilni se esteri ekstrahiraju petroleterom, isperu destiliranom vodom do neutralnog, nakon čega se višak vode uklanja bezvodnim natrijevim sulfatom te se uzorak upari do suha. Tako pripremljen uzorak spreman je za analizu na plinskom kromatografu u koji se aplicira injekcijskom špricom (slika 6).

Plinskom se kromatografijom mogu analizirati različite vrste štetnih spojeva u hrani, vodi i tlu (pesticidi, hlapljivi klorirani i bromirani ugljikovodici, mineralna ulja), provjeravati kakvoće različitih proizvoda (npr. masnih kiselina u uljima, volumni udio alkohola u alkoholnim pićima i slično) te raditi analize za znanstvena i medicinska istraživanja. Masne kiseline iz hrane i dalje su glavni predmet interesa i prioritet u istraživanjima zbog njihove povezanosti s bolestima kardiovaskularnog sustava, kroničnim bolestima i tumorima, kao i važnosti u građi i pravil-



Slika 6. Reagensi i pribor za nanošenje uzorka na kolonu plinskog kromatografa

noj funkciji organizma (Delaš, 2011.) te psihijatrijskim bolestima (Mandelsamen Perica i Delaš, 2011.; Borovac Štefanović i sur. 2015.).

Masti i ulja sadržavaju triacilglicerole, estere alkohola glicerola i viših masnih kiselina. Masne kiseline mogu se razlikovati prema dužini lanca i stupnju zasićenosti, tj. broju dvostrukih veza u lancu. Veći udio dvostrukih veza rezultira nižim vrelištem i talištem, zbog čega su takve masnoće na sobnoj temperaturi tekuće (ulja), dok zasićene masne kiseline pokazuju više talište i na sobnoj su temperaturi krute (mast). Da bi se odredio sastav masnih kiselina triacilglicerola, potrebno je masne kiseline trans-esterifikacijom "osloboditi" (hidroliza esterske veze) i prevesti u metilne estere koji su znatno hlapljiviji i pogodniji za analizu. Dobiveni se metilni esteri analiziraju plinskom kromatografijom na kapilarnoj koloni uz odgovarajući temperaturni režim.

Primjer uvjeta plinske kromatografije:

Kapilarna kolona: HP – 88, 60 m, i. d. = 0,25 mm, debljina sloja 0,20 μ m (Agilent, SAD)

Temperatura injektora: 150 oC

Temperaturni režim kolone: 150 oC, izotermno 3 min, porast temperature 2 oC/min do 165 oC, porast temperature 1 oC/min do 170 oC, porast temperature 10 oC/min do 240 oC, 7 min izotermno.

Temperatura detektora: 240 oC

Plin nosač: H₂

Zaključak

Metodom plinske kromatografije mogu se provoditi kvalitativne i kvantitativne analize različitih vrsta tvari, posebice onih koje su prisutne u malim količinama. Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom metoda je koja zahtijeva mnogo laboratorijskog rada, no zbog svoje je osjetljivosti i učinkovitosti referentna metoda u analizi različitih spojeva.

Literatura

- BARIŠIĆ, J., R. ČOŽ-RAKOVAC, I. DELAŠ, N. TOPIĆ POPOVIĆ, A. GAVRILOVIĆ, J. JUG-DUJAKOVIĆ, M. BRAILO, R. SAUERBORN-KLOBUČAR, S. BABIĆ, I. STRUNJAK-PEROVIĆ (2017): Predictive modelling of European flat oyster (*Ostrea edulis* L.) fatty acid composition. *Aquacult. Int.* 2, 805-825.
- BOROVIĆ ŠTEFANOVIĆ, L., D. KALINIĆ, N. MIMICA, B. BEER LJUBIĆ, J. ALADROVIĆ, M. MANDELSAMEN PERICA, M. ČURIĆ, P. FOLNEGOVIĆ GROŠIĆ, I. DELAŠ (2015): Oxidative status and the severity of clinical symptoms in patients with post-traumatic stress disorder. *Ann. Clin. Biochem.* 1, 95-104.
- BUČEVIĆ-POPOVIĆ, V., I. DELAŠ, S. MEĐUGORAC, M. PAVELA-VRANČIĆ, T. KULIŠIĆ-BILUŠIĆ (2014): Oxidative stability and antioxidant activity of bovine, caprine, ovine and asinine milk. *Int. J. Dairy Technol.* 3, 394-401.
- DELAŠ, I. (2011): Benefits and hazards of fat-free diets. *Trends Food Sci.* 10, 576-582.
- DELAŠ, I. (2012): Kromatografske metode, u: Priručnik za vježbe iz medicinske kemije i biokemije za studente medicine (Lovrić, J., ur.). *Medicinska naklada, Zagreb*, pp. 13-21.
- FOLCH J., M. LEES, G. H. S. STANLEY (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
- JAMES, A. T., J. P. MARTIN (1952): Gas-liquid partition chromatography: the separation and microestimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochem. J.* 50, 679-690.
- LU, Y., P. B. HARRINGTON (2007): Forensic Application of Gas Chromatography. *Differential Mobility Spectrometry with Two-Way Classification of Ignitable Liquids from Fire Debris.* *Anal. Chem.* 79, 6752-6759.
- McNAIR, H. M., J. M. MILLER (1998): *Basic Gas Chromatography.* John Wiley & Sons Inc. Toronto, Canada.

- MANDELSAMEN PERICA, M., I. DELAŠ (2011): Essential fatty acids and psychiatric disorders. *Nutr. Clin. Pract.* 4, 409-425.
- OCTENJAK, D., L. VRANKOVIĆ, J. ALADROVIĆ, B. ZIDAR, Z. STOJEVIĆ (2016): Masnokiselinski sastav mlijeka krava u različitim fazama laktacije. 6. Hrvatski Veterinarski Kongres s međunarodnim sudjelovanjem (Pula, 26.-29. listopada 2016). Zbornik radova. Pula, (565-571).
- PREU, M., D. GUYOT, M. PETZ (1998): Development of a gas chromatography-mass spectrometry method for the analysis of aminoglycoside antibiotics using experimental design for the optimisation of the derivatisation reactions. *J. Chromatogr. A.* 818, 95-108.
- SANTOS, F. J., M. T. GALCERAN (2002): The application of gas chromatography to environmental analysis. *Trends Anal. Chem.* 21, 672-685.
- SHYAMALA, M., S. PRAGATI RANJAN, J. V. C. SHARMA (2013): Pharmaceutical Applications of Inverse Gas Chromatography. *Int. J. Pharm. Sci.* 3, 201-204.
- VRANKOVIĆ, L., I. DELAŠ, S. RELJIĆ, Đ. HUBER, N. MALTAR-STRMEČKI, K. KLOBUČAR, G. KRIVIĆ, Z. STOJEVIĆ, J. ALADROVIĆ (2017a): The Lipid Composition of Subcutaneous Adipose Tissue of Brown Bears (*Ursus arctos*) in Croatia. *Physiol. Biochem. Zool.* 90, 399-406.
- VRANKOVIĆ, L., J. ALADROVIĆ, D. OCTENJAK, D. BIJELIĆ, L. CVETNIĆ, Z. STOJEVIĆ (2017b): Milk fatty acid composition as an indicator of energy status in Holstein dairy cows. *Arch. Tierzucht.* 3 205-212.

BESPLATNI OGLASI



35

Zbog odlaska u mirovinu prodajem sklonište za životinje „Tip-Tip“ Vinkovci, broj SZŽ-005, registrirano prema svim pozitivnim zakonskim propisima. Kapacitet skloništa je do 100 pasa i nalazi se na zemljišnoj parceli od 4544 m². Za dodatne obavijesti i kontakt javiti se na telefon mr. Iliji Steviću, dr. med. vet.: 098 287 028.

Prodaje se kuća u okolici Zagreba, u selu Paukovec, na mirnoj i lijepoj poziciji. Kuća je površine oko 400 m², s okućnicom oko 1400 m². U prizemlju kuće je prostor veterinarske ambulante koja je godinama odlično funkcionirala, uz veterinarsku ljekarnu i hotel za pse i mačke. Ambulanta je još djelomično namještena, infrastruktura hotela je sačuvana. Detalje možete pogledati na stranici <http://tiny.cc/55xiry> ili dobiti na broj telefona 098 9476 258.

Nudimo posao za dvoje doktora veterinarske medicine (m/ž) s položenim državnim stručnim ispitom. Životopis možete poslati na e-mail: veterinarska.stanica.pozega@po.t-com.hr, a za sve dodatne informacije nazovite na 098 256 423.

Za rad u veterinarskoj ambulanti za kućne ljubimce u Osijeku tražimo doktora veterinarske medicine (m/ž) s radnim iskustvom ili bez radnog iskustva. Životopis poslati na e-mail: zdenko-fury@net.hr. Kontakt: 031 204 747.

Tražimo doktora veterinarske medicine (m/ž) za rad u ambulanti za male i velike životinje u Veterinarskoj stanici Đakovo d.o.o. Prednost je položen stručni i državni ispit. Životopis možete poslati na e-mail: antun.strmotic@os.t-com.hr, a za sve dodatne informacije nazovite na 098 252 160.

Tvrtka AGRO-VET d.o.o. sa sjedištem u Križevcima, traži veterinara s iskustvom i licencijom za voditelja veterinarske službe na farmi tovne junadi. Farme su smještene na području Koprivničko-križevačke i Sisačko-moslavačke županije. Kontakt: Martina Celovec, dr. med. vet. 098 9980 559 ili e-mail: martina.celovec@agro-vet.hr

Prodajem povoljno pokretni stol za obaranje goveda (korekcija papaka i drugi zahvati) marke Rosensteiner. Sve informacije na mob. 091 543 2103.

Prodajem dva ultrazvuka marke Aloka, SSD 620 i mali prijenosni SSD 500 sa sondama linear. 7,5 Mhz i konveksnom 3,5 Mhz. Informacije na mob. 098 1976 930.