

Hlapivi spojevi arome kupreške janjetine

Marina Krvavica¹, Amir Ganić², Munevera Begić², Jelena Đugum³

Sažetak

U okviru projekta utvrđivanja aroma profila različitih hrvatskih vrsta janjetine čiji je osnovni cilj bio ponuditi jednostavnu i pouzdanu analitičku metodu kojom bi se mogla potvrditi njihova autentičnost povezujući ih sa zemljopisnim područjem uzgoja, izvršena je analiza hlapivih spojeve arome kupreške janjetine uzgojene na Kupreškoj visoravni (BiH) na oko 1200 m n.v. Znatna teritorijalna odvojenost (horizontalna i vertikalna) Kupreške visoravni od hrvatskih područja na kojima je istraživanje organizirano (Lika, Dalmatinska zagora, otoci Pag i Cres) te razlike u njihovim prirodnim obilježjima doprinos su sigurnijem donošenju zaključaka o mogućim biomarkerima janječeg mesa koji bi se s obzirom na florni sastav mogli povezati s određenim zemljopisnim područjem uzgoja. Analizom hlapivih spojeva toplinski obrađene kupreške janjetine na GC-MS, metodom mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) te određeni metodom plinske kromatografije s masenom spektrofotometrijom (GC-MS), izolirano je ukupno 66 spojeva, od čega 14 aldehida (61,55 % ukupne površine pikova), 10 alkohola (7,78 %), 12 ketona (12,11 %), 8 alifatskih ugljikovodika (1,23 %), 7 aromatskih spojeva (9,63 %), 3 heterociklička spoja (0,95 %), 1 furan (1,34 %), 2 kiseline i 3 estera (3,75 %), 4 terpena (0,94 %) te 3 sumporna spoja (0,73 %). U odnosu na dalmatinsku, pašku, ličku i cresku janjetinu, aroma kupreške janjetine sadrži 3 hlapiva spoja (2 ketona i 1 ester) koja nisu utvrđena u navedenim vrstama janjetine. Nadalje, aroma kupreške janjetine sadrži znatno više C-7 aldehida (16,24 %), ketona 2,3-oktadienona i 2-oktanona (9,96 %) te dugolančanih alkana (0,71 %) koji se u literaturi navode kao pašni markeri, ali i znatno manji broj i udio terpena (0,94 %) koji se u literaturi spominju kao mogući pouzdani biomarkeri zemljopisnog područja uzgoja. S obzirom da su terpeni isključivo metaboliti biljaka (biljke dvosupnice ih sadrže znatno više nego jednosupnice) koji se uglavnom izravno iz hrane ugrađuju u životinjska tkiva, terpeni profil janjetine može ukazivati na područje uzgoja janjadi (efekt teritorija). Sudeći prema aroma profilu (markerima pašne), a osobito terpenskom profilu kupreške janjetine, kupreški pašnjaci i livade obiluju bogatom biljnom masom u kojoj dominiraju trave, dok su biljke dvosupnice (bogate aromatskim spojevima) manje zastupljene. Za pouzdanije rezultate potrebno je provesti dodatna istraživanja botaničkog i kemijskog sastava flore kupreških pašnjaka i livada, čije će se rezultati povezati s odgovarajućim spojevima arome janječeg mesa.

Ključne riječi: kupreška janjetina, aroma profil, hlapivi spojevi janjetine, kupreška pramenka

¹ dr.sc. Marina Krvavica, prof.v.š.u tr.zv.; Veleučilište „Marko Marulić“, Petra Krešimira IV 30, Knin, Hrvatska

² prof.dr.sc. Amir Ganić, Munevera Begić, asistentica; Poljoprivredno-prehrambeni fakultet Sveučilišta u Sarajevu, Zmaja od Bosne 8, Sarajevo, BiH

³ doc.dr.sc. Jelena Đugum, Ministarstvo poljoprivrede, Ul. grada Vukovara 78, Zagreb, Hrvatska

*Autor za korespondenciju: Tihomir.Moslavac@ptfos.hr

Uvod

Kupreška pramenka je pasmina ovce koja se uzgaja prvenstveno na Kupreškoj visoravni u jugozapadnom dijelu Bosne i Hercegovine, gdje je najvjerojatnije i nastala. Točnih podataka o nastanku kupreške pramenke nema (Ivanković i sur. 2009.). Osim Kupreške visoravni, kao glavna mjesta njene rasprostranjenosti smatraju se i Duvanjsko, Livanjsko te Glamočko polje (Ivanković i sur., 2009, cit. Mitić, 1984.).

Kupreška pramenka pripada skupini krupnijih sojeva pramenke (tjelesna masa ovaca iznosi 50-60 kg, a ovnova 70-80 kg) kombiniranih proizvodnih svojstava (meso, mlijeko, vuna), koja se danas uzgaja uglavnom radi mesa i mlijeka (Ramljak i sur., 2005.). Eksterijerna obilježja kupreške pramenke koja je srednje tjelesno razvijena, snažne i čvrste konstitucije, otporna, prilagodljiva i izdržljiva (Mioč i sur. 2007.), u velikoj su mjeri posljedica podneblja na kojem je nastala. Naime, Kupreška visoravan koja se nalazi na nadmorskoj visini od oko 1200 metara, obiluje bogatim i kvalitetnim pašnjacima i livadama, a poznata je po hladnim, vjetrovitim i oštrim zimama. Obilni i kvalitetni prirodni pašnjaci i livade izdašan su izvor hrane za ovce, pa se kupreška pramenka razvila u nešto krupniji soj u odnosu na pasmine pramenki sa škrtijih područja, a oštre i duge kupreške zime uvjetovale su prilagodbu u vidu otpornosti i izdržljivosti. Prema Ivankoviću i sur. (2009.) tijekom prošlog stoljeća na području današnje općine Kupres uzgajalo se više od 40.000 ovaca, a prema statističkim podacima iz 1991. god. na istom se području uzgajalo 12.700 ovaca, dok je 2009. god. uzgajano tek 5.000 grla. Isti autori kao razlog tako velikog pada broja ovaca navode destruktivan utjecaj rata, migracije stanovništva, odlazak mladih i radno sposobnih stanovnika u urbane sredine te traženje lakših zanimanja.

Ekstenzivan uzgoj uglavnom radi proizvodnje mlade janjetine, glavna je odlika uzgoja ovaca na Kupreškoj visoravni. Međutim, tijekom 20. stoljeća na bivšim poljoprivrednim dobrima u tim krajevima, u nešto intenzivnijim uvjetima uzgoja, vršena su oplemenjivanja kupreške pramenke s ciljem povećanja mesnatosti, u čiju je svrhu u više navrata uvezen veći broj grla uglavnom mesnih pasmina ovaca (Merinolanshaf, Ile de France i Texel), što je vjerojatno doprinijelo unaprjeđenju mesnih odlika kupreške pramenke (Ivanković i sur., 2009.).

Prirodna obilježja Kupreške visoravni

Kuprešku visoravan koja je smještena u zapadom dijelu Bosne i Hercegovine, čine tri velika krška polja: Kupreško, Vukovsko i Ravanjsko. Najveće Kupreško polje smješteno je istočno od Livanjskog i Glamočkog te sjeverno od Duvanjskog polja. Prostire se od sjeverozapada prema jugoistoku, a dužine je 24 km, širine 10 km i površine 93 km². Vukovsko polje, površine 35 km², nalazi se na 1170 metara nadmorske visine i jedno je od najviših u Dinaridima. Od Kupreškog polja dijele ga planine Lupoglav, Crni vrh i Osoje, a od Ravanjskog polja planina Ravašnica. Najmanje Ravanjsko polje, površine 23 km², pruža se u dužini od 7,5 km u pravcu sjeverozapad-jugoistok (dinarski smjer), sjeverno od Tomislavgrada i Duvanjskog polja. Omeđeno je planinama Ravašnica, Ljubuša i Paklina, a od Vukovskog ga polja na sjeveru odvajaju Ravanjska vrata. Nadmorska visina od 1120 do 1250 m uvelike definira i klimatske prilike ovog kraja. Geološku podlogu kupreškog područja čine uglavnom vapnenci i dolomiti (uglavnom saharoidni dolomiti), a od tala su najzastupljenije crnice i smeđa tla.

Prema Köppen-Geigerovoj klasifikaciji klime (Rubel i Kottek, 2010.) na području Kupreške visoravni vlada snježno-šumska klima koju karakteriziraju svježja i kratka ljeta, te duge, hladne i oštre zime s dosta snijega. Ipak, globalne klimatske promjene i sve osjetnije zatopljenje zadnjih godina, sve više dolazi do izražaja i na ovom području, pa su zime na Kupresu sve kraće i toplije, a ljeta toplija i duža. Prema podacima sa službene web stranice Općine Kupres (Anonimno, 2020.) prosječna godišnja temperatura zraka iznosi 5,7 °C, a oborine se javljaju u prosjeku 141 dan u godini, od čega je 55 snježnih dana. Zbog snažnih planinskih vjetrova, studen je velika i česte su snježne vijavice. Zime su izrazito oštre, sa obilnim snijegom, a zbog nadmorske visine dosta duže nego u susjednim nižim krajevima. Područje Kupresa je dosta vjetrovito, osobito zimi kada pušu jaki vjetrovi najčešće južnog i sjevernog smjera, te u zimskom periodu prave velike snježne nanose. Vegetacija kreće kasnije nego u nižim područjima, ali zato naglo stasa s prvim proljetnim suncem i vrlo brzo prekriva pašnjake i livade. Kupreška visoravan poznata je po prekrasnim proljetnim i ljetnim cvjetnim livadama, što se u osnovi smatra fenomenom planinskih livada dinarskoga područja. Ljeto je kratko, toplo i sunčano, uglavnom ugodnih temperatura.

Vegetacija Kupreške visoravni određena je u najvećoj mjeri njenim geografskim položajem, klimom i nadmorskom visinom. Prema podacima Šumsko-gospodarskog društva „Hercegbosanske šume“ d.o.o. iz Kupresa, najveći dio Kupreškog područja pokrivaju mješovite šume jele i smreke (*Abieti-Piceetum illyricum*), nešto manje su zastupljene mješovite šume jele i smreke s bukvom (*Piceo-Abieti Fagetum*), a najmanje su zastupljene mješovite šume smreke i bora (*Piceo-Pineetum*). Glavne vrste drveća su jela (*Abies alba*), smreka ili smrča (*Picea abies*), obična bukva (*Fagus sylvatica*), bijeli ili obični bor (*Pinus sylvestris*), crni bor (*Pinus nigra*) i dr. Od grmlja susreće se malina (*Rubus idaeus*), krušina (*Rhamnus frangula*), kupina (*Rubus caesius*) ribiz (*Ribes sp.*), lijeska (*Corylus avellana*) i dr. Od prizemne flore značajnije se javljaju majčina dušica (*Thymus serpyllum*), kantarion (*Hypericum perforatum*), kopitnjak (*Asarum europaeum*), plućnjak (*Pulmonaria officinalis*), lazarkinja (*Asperula odorata*), jaglac (*Primula vulgaris*), mrazovac (*Colchicum autumnale*), kukurijek (*Helleborus odorus*), šumska sirištara (*Gentiana asclepiadea*) i dr. (Anonimno, 2020a). Bogati kupreški pašnjaci i livade te njihov botanički sastav koji evidentira čak 92 ljekovite i aromatične biljke, od kojih 24 pripadaju endemskim vrstama (Anonimno, 2008., cit. Tucakov, 1971.) nude gotovo idealne uvjete za uzgoj ovaca.

Hlapivi spojevi mesa - potencijalni biljni markeri zemljopisnog područja uzgoja janjadi

Kvalitetu janječeg mesa na našim područjima potrošači uglavnom procjenjuju na temelju okusa i arome toplinski obrađenog mesa. Aroma toplinski obrađenog mesa jedan je od najuvjerljivijih pokazatelja po kojem se janjeće meso može razlikovati s obzirom na zemljopisno područje uzgoja (Krvavica i sur., 2015.). Međutim, kako senzorna svojstva nije moguće opisno definirati do mjere da bi ona mogla poslužiti u razlikovanju pojedinih vrsta janjetine na tržištu, znanstvenici već dulje vrijeme pokušavaju utvrditi hlapive spojeve arome janječeg mesa (i drugih prehrambenih proizvoda) i kemizam njihova nastanka, te čimbenike koji utječu na njihovo formiranje (Krvavica i sur., 2015.). Brojna dosadašnja istraživanja pokazuju da sastav hlapivih spojeva arome (tzv. aroma profil) janječeg mesa, osim o pasmini, značajno ovisi i o sustavu uzgoja (pašni, stajski), odnosno o načinu hranidbe i sastavu obroka janjadi i ovaca (Priolo i sur., 2004.;

Prache i sur., 2005.; Sivadier i sur., 2010.; Vasta i sur., 2012.a). Složeni metabolički putovi razgradnje hranjivih tvari hrane i njihove ugradnje u tjelesna tkiva životinje teško je pratiti, osobito u preživača u čijim složenim želucima pod utjecajem mikroflore pojedini hranjivi sastojci hrane prolaze značajne biokemijske transformacije (Krvavica i sur., 2015). Ipak, brojna istraživanja ukazuju na mogućnost da se aroma profil mesa iskoristi kao pokazatelj kod utvrđivanja podrijetla mesa, osobito kada se radi o pašnom ili stajskom sustavu uzgoja (Vasta i Priolo, 2006.; Vasta i sur., 2012.b). Hlapivi spojevi mesa i njihovi prekursori u meso mogu biti ugrađeni nepromijenjeni izravno iz hrane, a mogu nastati i kao produkti metabolizma životinje (endogena sinteza) ili djelovanjem mikroflore buraga (Krvavica i sur., 2015., cit. Suzuki i Bailey, 1985.). Hlapive kemijske spojeve životinjskih proizvoda (mesa i mlijeka), kao i njihove njihove prekursore nastale sintezom u složenim metaboličkim procesima teško je pratiti, te se oni teško mogu iskoristiti kao pouzdan pokazatelj geografskog područja ispaše. Krvavica i sur. (2015.a) citirajući druge autore navodi da meso janjadi uzgojene na paši sadrži više fenola, terpena, indola i sumpornih spojeva, dok meso janjadi uzgojene na krepkim krmivima akumulira više razgranatih hlapivih masnih kiselina kratkog lanca, nekih aldehida i laktona (cit. Vasta i Priolo, 2006), kao i nerazgranatih kratko-lančanih masnih kiselina i metil ketona (cit. Sebastian i sur., 2003). Nadalje, isti autori kao moguće pouzdane markere pašnog načina uzgoja ističu hlapive ketone kao što su 2,3-oktanedion, 4-heptanon i 2-octanon, zatim 3-metilindol (skatol), alkane dugog lanca i C-7 aldehide (Sebastian i sur., 2003.), terpene (Priolo i sur. 2004.). Sivadier i sur. (2010.) navode čak 125 različitih hlapivih spojeva kao mogućih markera pašnog sustava uzgoja.

Profil hlapivih spojeva mesa i mlijeka ovaca uzgojenih na paši ovisi o većem broju okolišnih čimbenika, od kojih su najznačajniji sezona i duljina ispaše, geografsko područje ispaše (Krvavica i sur., 2015; cit. Viallon i sur., 2000.) te s njime povezan botanički sastav pašnjaka (Krvavica i sur., 2015.; cit. Mariaca i sur., 1997.). Geografsko područje ispaše je u literaturi jasno istaknuto kao važan čimbenik koji utječe na formiranje specifične arome animalnih proizvoda, te se u tom smislu znanstvenici slažu da vezu treba tražiti u specifičnom botaničkom sastavu livada i pašnjaka na kojima se životinje uzgajaju (Krvavica i sur., 2015.). U literaturi se

ovaj učinak spominje kao „*terroir effect*“ ili učinak teritorija (Krvavica i sur., 2015.; cit. Prache i sur., 2005., Vasta i Priolo, 2006.). Navedena istraživanja ukazuju na prisutnost određenih skupina kemijskih spojeva (karotenoidi, terpeni, fenolni spojevi itd.) u animalnim proizvodima, a osobito terpena koji se izravno iz biljaka najčešće nepromijenjeni ugrađuju u životinjske masti (mliječnu mast i tjelesna masna tkiva). Stoga bi se kod životinja uzgojenih na paši terpeni mogli koristiti kao potencijalni biljni biomarkeri određenog zemljopisnog područja uzgoja (Krvavica i sur., 2015.; Vasta i Priolo, 2006.). Količina i broj različitih terpena u biljkama pašnjačke flore znatno variraju ovisno kojoj botaničkoj porodici biljke pripadaju. Tako štitarke (*Apiaceae*), glavočike (*Asteraceae*) i usnatice (*Lamiaceae*) u pravilu sadrže veću količinu i veći broj različitih terpena, dok ih trave (*Poaceae*) koje su općenito znatno češće prisutne na pašnjacima, sadrže u znatno manjoj količini i broju (Prache i sur., 2005., cit. Cornu i sur., 2001.). U pravilu biljke dvosupnice (*dicotyledonae*) sadrže znatno više i veći broj različitih terpena u usporedbi s jednosupnicama (*monocotyledoneae*; Vasta i Priolo, 2006.). Prirodna flora pašnjaka smatra se dijelom teritorija, te se stoga terpeni profil pašnjačke flore i odgovarajućih animalnih proizvoda mogu smatrati specifičnim za određeno zemljopisno područje (Prache i sur., 2005., Prache, 2009.). Terpeni profil mesa (i drugih životinjskih proizvoda) u izravnoj je vezi s terpenskim profilom hrane koju životinja konzumira (flore pašnjaka), koji stoga uvelike varira sukladno botaničkom sastavu biljaka koje životinja konzumira (Mariaca i sur., 1997.). Stoga je terpeni profil animalnih proizvoda do sada dosta uspješno korišten kao pokazatelj zemljopisnog područja s kojeg proizvod potječe (Vasta i Priolo, 2006.). Poznavanje prirodnih obilježja zemljopisnog područja, a osobito botaničkog sastava pašnjaka i livada, jedan je od preduvjeta mogućeg povezivanja zemljopisnog područja uzgoja sa specifičnim aroma profilom janjetine.

S obzirom na navedeno, u okviru projekta identifikacije hlapivih spojeva arome janjetine s različitih zemljopisnih područja uzgoja s ciljem pronalaska veze između aroma profila janječeg mesa i teritorija uzgoja, cilj ovog rada je bio identificirati hlapive spojeve arome toplinski obrađene kupreške janjetine. Nadalje, rezultati ovog istraživanja mogu poslužiti kao dobar temelj za daljnja istraživanja na identifikaciji specifičnih

hlapivih spojeva pašnjačke flore koji bi se označili kao specifični metabolički ili biljni markeri određenog zemljopisnog područja što može poslužiti kao temelj za brendiranje životinjskih proizvoda na određenom području.

Materijal i metode

Uzgoj janjadi i uzimanje uzoraka mesa:

Uzgoj kupreške pramenke se zasniva uglavnom na ekstenzivnom sustavu pri čemu je ispaša i sijeno u zimskim mjesecima glavni izvor hrane za ovce, a janjad se uzgaja uglavnom na mlijeku, sijenu i paši. Stoga je za ovo istraživanje korišteno meso janjadi uzgojene na području Kupreške visoravni; Ravanjsko polje u Hercegbosanskoj županiji. Janjad je ojanjena u zimskom periodu te uzgojena u tipičnom ekstenzivnom sustavu uzgoja na način da su po rođenju držana u staji i hranjena majčinim mlijekom, a na raspolaganju im je bilo i sijeno u staji koje janjad počne grickati već u dobi od 15-ak dana. S početkom sezone ispaše, janjad je praktično neprekidno boravila s ovcama (na paši i u staji) sve do klanja u dobi od 3-4 mjeseca. S navršenih 100±5 dana i tjelesnom masom od 25 do 30 kg izvršeno je klanje i klaonička obrada janjadi sukladno tradicionalnom postupku. Nakon klanja i klaoničke obrade janjadi, za potrebe analize hlapivih spojeva s trupova dva janjeta uzeti su uzorci mesa približne mase 300 g zajedno s kostima i pripadajućim vezivnim i masnim tkivom (*m.longissimus dorsi* s lijeve strane trupa u visini 2. i 3. rebra). Uzorci su do provedbe analiza vakumirani i zamrznuti na -18 °C.

Priprema uzoraka i analiza hlapivih organskih spojeva (Krvavica i sur., 2015., 2015.a, 2015.b, 2016.): Nakon odmrzavanja svaki je uzorak stavljen u posebnu vrećicu za pečenje s dodatkom 2 % kuhinjske soli, nakon čega su vrećice zavarene i stavljene u sterilizator na 174 °C u trajanju od 1 sat i 20 min. Nakon pečenja još toplo meso odvojeno je od kostiju i hrskavica te homogenizirano. Potom je u vijalice odvagano 4 g uzorka i 5µL 1-oktanola (99 %-tni) kao interni analitički standard. Napravljene su dvije paralelne analize na GC-MS-u pri čemu je protok helija kroz kolonu bio 1 ml/min.

Za pripremu uzoraka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME - solid phase microextraction). Za analizu je korišteno DVB/CAR/PDMS (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxan) SPME vlakno dimenzija 20 mm 50/30 µm (Supelco, Bellfonte, PA, USA). Svaki uzorak prethodno

je kondicioniran 15 min na 60 °C, a ekstrakcija je trajala 60 minuta na 60 °C u vodenoj kupelji. Nakon toga uzorak je injektiran u plinski kromatograf s masenim detektorom (GC-MS - Agilent 6890 Series GC System s Agilent 5973 Mass Selective Detector). Temperatura injektora u splitless modu bila je 270 °C, a vrijeme desorpcije 10 minuta. Brzina protoka helija, plina nosača, iznosila je 1,0 mL/min. Separacija hlapivih spojeva izvršena je na Rtx-20 koloni (60 m, 0,25 mmID, 1 µm, Restek, USA) ovim temperaturnim programom: početna temperatura 50 °C (2 min) – 10 °C min⁻¹ – 150 °C (3 min) – 10 °C min⁻¹ – 250 °C (5 min). Ukupno vrijeme trajanja programa je bilo 30 min. Uvjeti rada MS: elektronska ionizacija 70 eV, temperatura MS Quada 150 °C, ion source na 230 °C. Hlapive komponente arome su identificirane pomoću AMDIS 3.2 programa, verzija 2.26 na temelju njihovih retencijskih vremena (RT) i masenih spektara (MS) korištenjem NIST 2005 verzija 2.0 spektra podataka (NIST, Gaithersburg, MD, USA) kao i usporedbom dobivenih RT s podatcima iz literature (Adams, 2001. i vlastitih podataka). Površina pika je kvantificirana mjerenjem u TIC kromatogramu.

Statistička obrada podataka: Za izračun osnovnih statističkih pokazatelja korišten je softverski paket Tools (Data Analysis). Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina % ukupne površine pika dvije ponovljene analize.

Rezultati istraživanja i rasprava

Analizom vršnih para uzoraka toplinski obrađene kupreške janjetine izolirano je ukupno 66 hlapivih spojeva (tablica 1), od čega 14 aldehida, 10 alkohola, 12 ketona, 8 alifatskih ugljikovodika, 7 aromatskih spojeva, 3 heterociklička spoja, 1 furan, 2 kiseline i 3 estera, 4 terpena te 3 sumporna spoja. Najzastupljenija skupina spojeva (slika 1) bili su aldehidi sa 61,55 % ukupne površine pika, slijede ketoni (12,11 %), aromatski spojevi (9,63 %), alkoholi (7,78 %), kiseline i esteri (3,75 %), furani (1,34 %), alifatski ugljikovodici (1,23 %), heterociklički spojevi (0,95 %), terpeni (0,94 %) te sumporni spojevi (0,73 %). Ovim istraživanjem utvrđeno je da aroma kupreške janjetine sadrži 3 hlapiva spoja koja nisu utvrđena u ostale 4 istraživane vrste janjetine. To su 2 ketona, 3-metil-2-butanon i 3-okten-2-one, te oktilester mravlje kiseline. S obzirom na brojne čimbenike koji utječu na formiranje hlapivih spojeva mesa, među kojima su, osim ranije nabro-

janih (pasma, sustav uzgoja, hranidba, teritorij i dr.), izuzetno značajni i vrsta tkiva (masno, mišićno), način pripreme uzroka (toplinska obrada, svježi uzorak), metoda i temperaturni režim GC-MS-a (Roldán i sur., 2015.) i brojni drugi. Stoga se rezultati dostupnih sličnih istraživanja dosta razlikuju, kako međusobno, tako i od rezultata ovog istraživanja. Ipak, neki od hlapivih spojeva utvrđenih ovim istraživanjem nalaze se i kao sastavni dio aroma profila masnog (Sivadier i sur., 2010.; Priolo i sur., 2004.; Sivadier i sur., 2009.; Vasta i Priolo, 2006.; Vasta i sur., 2012.b) i mišićnog tkiva janjadi (Osorio i sur., 2008.; Madruga i sur., 2013.; Resconi i sur., 2010; Roldán i sur., 2015.; Vasta i sur. 2012.a). Najviše podudarnosti utvrđeno je između uzoraka mišića koji su prije analize također toplinski obrađeni (Roldán i sur., 2015.), što potvrđuje vrlo bitan učinak toplinske obrade na profil hlapivih spojeva mesa. Stoga su i rezultati sličnih istraživanja dalmatinske, paške, ličke i creske janjetine (Krvavica i sur., 2015., 2015.a, 2015.b, 2016.) provedenih prema istim metodama, znatno sličniji rezultatima ovog istraživanja. S obzirom na istu metodologiju istraživanja, utvrđene razlike vjerojatno su posljedica razlika u genetskoj osnovi, sustavu uzgoja i hranidbi ovaca i janjadi (paša, staja – krepka krmiva) te zemljopisnom području uzgoja, odnosno botaničkom sastavu pašnjaka. Poznato je da kemijski sastav mesa u osnovi ovisi o utjecaju navedenih čimbenika. Kemijski sastojci mesa, osobito sastav masnih kiselina te pro- i antioksidansa (na koje presudno utječe botanički sastav pašnjačke flore), ključan su supstrat budućih kemijskih reakcija u kojima nastaju hlapivi spojevi i njihovi prekursori. Osim paške janjetine (Krvavica i sur., 2015a) s najmanjim brojem utvrđenih hlapivih spojeva (52), što je i razumljivo s obzirom na dob pri klanju (45 dana) i način uzgoja paške janjadi (u staji na majčinom mlijeku), drugi najmanji broj identificiranih hlapivih spojeva među ispitivanim vrstama janjetine (od kojih su sve slične dobi pri klanju, te uzgojena isključivo na paši) utvrđen je kod kupreške janjetine (66). Navedeno bi moglo upućivati na zaključak da su kupreški pašnjaci, premda bogati biljnom masom, ujedno siromašniji biljnim vrstama nego što su to dalmatinski pašnjaci. Druga je pretpostavka da ovce većinu vremena provode na pašnjaku relativno male površine, koji obiluje pašom, odnosno nemaju potrebu tražiti hranu, pa samim time konzumiraju manji broj različitih biljnih vrsta. Naime, poznata je činjenica da su ovce

Tablica 3. Aroma profil kupreške janjetine (*m. longissimus dorsi*), % od ukupne površine svih pikova
Table 3 Aroma profile of Kupres lamb (*m. longissimus dorsi*), % of the total peak area

R.br. / N°	RT	HLAPIVI SPOJ / VOLATILE COMPOUND	Uzorak / Sample 1	Uzorak / Sample 2	\bar{x}	SD	CV, %
ALDEHIDI / ALDEHYDES							
1	4,78	Acetaldehyd / Acetaldehyde	0,31	0,28	0,30	0,02	8,52
2	5,95	Propanal / Propanal	1,36	1,95	1,66	0,42	30,90
3	7,60	Butanal / Butanal	0,37	0,40	0,39	0,01	5,08
4	9,75	Pentanal / Pentanal	5,84	5,69	5,76	0,10	2,39
5	11,94	Heksanal / Hexanal	31,15	28,57	29,86	1,82	7,98
6	13,35	2-Heksanal / 2-Hexanal	0,26	0,26	0,26	0,00	2,02
7	14,15	Heptanal / Heptanal	10,47	9,21	9,84	0,89	11,73
8	14,29	4-Heptenal / 4-Heptenal	1,10	0,96	1,03	0,10	12,30
9	16,68	Oktanal / Octanal	3,91	3,86	3,89	0,04	1,31
10	18,30	2-Oktenal / 2-Octenal	1,09	1,07	1,08	0,01	1,63
11	19,04	Nonanal / Nonanal	5,95	6,81	6,38	0,61	12,28
12	20,50	2-Nonenal / 2-Nonenal	0,67	0,86	0,77	0,13	22,07
13	20,61	2,6-Nonadienal / 2,6-Nonadienal	0,09	0,09	0,09	0,00	2,84
14	21,14	Dekanal / Decanal	0,26	0,25	0,26	0,00	2,25
ALKOHOLI / ALCOHOLS							
15	9,15	1-Penten-3-ol / 1-Penten-3-ol	0,71	0,62	0,66	0,06	11,95
16	11,13	2-Penten-1-ol / 2-Penten-1-ol	0,38	0,30	0,34	0,06	21,30
17	13,10	1-Heksanol / 1-Hexanol	1,17	0,97	1,07	0,14	17,16
18	14,86	1-Butoksi-2-propanol / 1-Butoxy-2-propanol	0,15	0,10	0,12	0,03	33,60
19	15,55	Heptanol / Heptanol	0,47	0,43	0,45	0,03	8,60
20	15,79	1-Octen-3-ol / 1-Octen-3-ol	4,55	3,15	3,85	0,99	31,66
21	17,01	2-Etil-1-heksanol / 2-Ethyl-1-hexanol	0,28	0,23	0,26	0,04	19,22
22	18,18	2-Decen-1-ol / 2-Decen-1-ol	0,54	0,48	0,51	0,04	11,11
23	19,29	1,2-Heptandiol / 1,2-Heptandiol	0,13	0,15	0,14	0,01	9,31
24	24,74	2,4,7,9-Tetrametil-5-dicine-4,7-diol / 2,4,7,9-Tetramethyl-5-dicyne-4,7-diol	0,59	0,14	0,36	0,31	89,75
KETONI / KETONES							
25	7,21	3-Metil-2-butanon / 3-Methyl-2-butanone	0,11	0,13	0,12	0,02	17,04
26	7,68	2-Butanon / 2-Butanone	0,38	0,37	0,38	0,01	4,17
27	9,65	2,3-Pentandion / 2,3-Pentanedione	0,83	1,25	1,04	0,30	34,73
28	10,37	3-Hidroksi-2-butanon / 3-Hydroxy-2-butanone	0,28	0,21	0,25	0,05	23,62
29	16,07	2,3-Oktadienon / 2,3-Octadienone	8,24	10,08	9,16	1,30	18,07
30	16,35	2-Oktonon / 2-Octanone	0,09	0,08	0,08	0,00	4,32
31	16,45	6-Metil-5-hepten-2-on / 6-Methyl-5-hepten-2-one	0,07	0,07	0,07	0,00	4,20
32	17,83	3-Octen-2-on / 3-Octen-2-one	0,38	0,33	0,35	0,04	12,80
33	18,72	2-Nonanon / 2-Nonanone	0,08	0,07	0,08	0,01	9,77
34	19,38	3,5-Oktadien-2-on / 3,5-Octadiene-2-one	0,21	0,28	0,24	0,04	22,96
35	22,74	2-Undekanon / 2-Undecanone	0,15	0,30	0,23	0,11	55,81
36	25,95	2-Tridekanon / 2-Tridecanone	0,07	0,15	0,11	0,06	61,10
ALIFATSKI UGLJIKOVODICI / ALIFATIC HYDROCARBONS							
Alkani dugog lanca / Long chain alkanes			0,64	0,77	0,70	0,09	16,34
37	8,70	Heptan / Heptane	0,18	0,10	0,14	0,06	48,79
38	13,63	Nonan / Nonane	0,13	0,12	0,12	0,01	5,35
39	15,08	2,2,4,6,6-Pentametil-heptan / 2,2,4,6,6-Pentamethyl-heptane	0,12	0,19	0,15	0,04	35,09
40	17,64	Undakan / Undecane	0,16	0,18	0,17	0,02	12,17
41	19,85	Dodekan / Dodecane	0,07	0,10	0,08	0,02	30,86
42	21,81	Tridekan / Tridecane	0,11	0,10	0,11	0,00	3,11
43	23,55	Tetradekan / Tetradecane	0,06	0,08	0,07	0,02	29,72
44	25,10	1-Tetradecene / 1-Tetradecene	0,30	0,47	0,38	0,12	38,11
AROMATSKI UGLJIKOVODICI / AROMATIC HYDROCARBONS							
45	11,35	Toluen / Toluene	1,19	0,86	1,02	0,23	28,16
46	13,01	Metoksi-fenil-oksime / Methoxy-phenyl-oxime	3,20	2,34	2,77	0,61	27,20
47	17,12	Benzenaldehid / Benzaldehyde	5,14	5,57	5,36	0,30	7,34
48	19,15	Benzenacetalddehyd / Benzeneacetaldehyde	0,17	0,17	0,17	0,00	0,32
49	19,68	1-Feniletanon / 1-Phenylethanone	0,09	0,09	0,09	0,00	2,35
50	21,62	4-Etil-benzaldehid / 4-Ethyl-benzaldehyde	0,21	0,24	0,22	0,02	13,28
HETEROCIKLIČKI SPOJEVI / HETEROCYCLIC COMPOUNDS							
51	18,48	1,4-Ciklooktadien / 1,4-Cyclooctadiene	0,12	0,12	0,12	0,00	2,07
52	18,82	1,5-Ciklotetradekadien / 1,5-Cyclotetradecadiene	0,51	0,67	0,59	0,11	23,14
53	20,38	Ciklopenten, 1-(1-metiletil)- / Cyclopentene, 1-(1-methylethyl)-	0,25	0,23	0,24	0,01	6,64

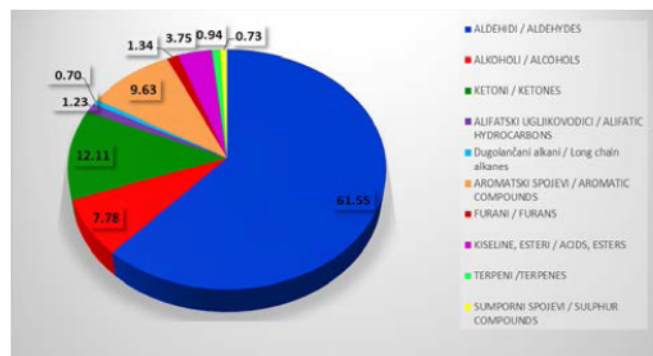
R.br. / N°	RT	HLAPIVI SPOJ / VOLATILE COMPOUND	Uzorak / Sample 1	Uzorak / Sample 2	\bar{x}	SD	CV, %
FURANI / FURANS							
54	16,18	2-Pentil-furan / 2-Pentyl-furane	1,38	1,29	1,34	0,06	5,93
KISELINE, ESTERI / ACIDS, ESTERS							
55	15,37	n-Heksanoična kiselina / n-Hexanoic acid	0,48	0,42	0,45	0,05	13,90
56	18,03	Oktil ester mravlje kiseline / Octylester formic acid	0,74	0,80	0,77	0,04	6,82
57	20,66	Etil ester oktanoične kiseline / Ethyl ester octanoic acid	0,14	0,10	0,12	0,03	28,14
58	26,55	Tributil ester-fosforne kiseline / Tributylester-phosphoric acid	0,47	0,27	0,37	0,14	44,58
59	27,37	1,2-Benzendikarboksilna kiselina / 1,2-Benzenedicarboxylic acid	0,31	3,75	2,03	2,44	114,21
TERPENI / TERPENES							
60	14,70	α -Pinen / α -Pinene	0,22	0,15	0,19	0,05	30,95
61	17,26	D-Limonene / D-Limonene	0,39	0,30	0,35	0,06	22,11
62	24,54	Kopaen / Copaene	0,10	0,12	0,11	0,02	23,06
63	25,63	Kariofilen / Caryophyllene	0,26	0,33	0,30	0,05	19,65
SUMPORNI SPOJEVI / SULPHUR COMPOUNDS							
64	5,04	Metanetiol / Methanethiol	0,14	0,17	0,16	0,02	16,05
65	13,80	2,2-Dimetil-N-fenilpropanoamid / 2,2-Dimethyl-N-phenylpropanethioamide	0,45	0,30	0,37	0,11	34,45
66	18,64	2-Acetilthiazol / 2-Acetylthiazole	0,20	0,19	0,20	0,00	2,12

RT- vrijeme retencije / Retention time; \bar{x} - srednja vrijednost / average; SD – standardna devijacija / standard deviation; CV – Koeficijent varijacije / Coefficient of variation

i janjad na oskudnim dalmatinskim pašnjacima (poznatim po velikom broju biljnih vrsta i oskudnoj količini paše) primorani dnevno prelaziti velike udaljenosti u potrazi za hranom, pa na taj način dnevno konzumiraju znatno više različitih biljnih vrsta. Na takav zaključak upućuje i broj hlapivih spojeva utvrđenih u ostalim vrstama janjetine, 88 u dalmatinskoj (Krvavica i sur., 2015.), 76 u creskoj (Krvavica i sur., 2016.) te 70 u ličkoj (Krvavica i sur., 2015.b).

Više od 83 % hlapivih spojeva kupreške janjetine čine aldehidi, ketoni (12,11 %) i aromatski spojevi (9,63 %). Aldehidi su najzastupljenija skupina hlapivih spojeva u kupreškoj janjetini (61,55 %), ali i drugim vrstama janjetine istraživane u okviru istog projekta (dalmatinska 47,45 %, paška 57,78 %, lička 58,52 %, creska 43,87 %). I drugi autori također navode aldehide kao najzastupljeniju skupinu hlapivih spojeva toplinski obrađenog janječeg mesa (Roldán i sur., 2015.; Madruga i sur., 2013.) koji vjerojatno nastaju u procesima lipidne oksidacije (Mottram, 1998.). U usporedbi s dalmatinskom, paškom, ličkom i creskom janjetinom, kupreška sadrži najviše aldehida. Općenito, veći udio aldehida se nalazi u mesu janjadi uzgojene u staji (krepka krmiva), što nije slučaj s kupreškom janjetinom. Međutim, razlog bi moglo biti (slično prethodnom obrazloženju razlika o ukupnom broju hlapivih spojeva) u antioksidansima (karoten, tokoferol i dr.)

kojima paša obiluje, a koje ovce na dalmatinskim pašnjacima u većoj količini unose hranom (veći broj biljnih vrsta, od kojih dosta aromatičnih). Antioksidansi naime, utječu na redukciju i tijekom oksidativnih procesa, koji stoga rezultiraju manjom produkcijom aldehida (Young i sur., 1997.). Najzastupljeniji aldehyd i ujedno nazastupljeniji hlapivi spoj arome kupreške janjetine je heksanal (29,86 %), a slični rezultati su utvrđeni i za druge istraživane hrvatske vrste janjetine. Međutim, drugi najzastupljeniji hlapivi spoj kupreške janjetine također je aldehyd heptanal (9,84 %). Heptanal pripada skupini aldehida sa 7 ugljikovih atoma, koji se u literaturi spominju kao markeri pašnog uzgoja janjadi (Sebastian i sur., 2003). Ukupan udio C-7 aldehida (heptanal, 4-heptenal i bezaldehid) u aromi kupreške janjetine iznosi 16,23 %, što je najviše u odnosu na ostale istraživane vrste janjetine (dalmatinska 11,58 %, paška 13,04 %, lička 10,79 %, creska 7,10 %). Treći najzastupljeniji hlapivi spoj arome kupreške janjetine je keton, 2,3-oktadienon (9,16 %) koji se zajedno s 2-oktanonom (0,08 %) također u literaturi spominje kao marker pašnog sustava uzgoja (Krvavica i sur., 2015.; 2015b.; Prache, 2009.). Sličan poredak utvrđen je kod ličke janjetine (Krvavica i sur., 2015.b). Ketoni su inače druga najzastupljenija skupina hlapivih spojeva arome kupreške janjetine (12,11 %), što nije slučaj s drugim hrvatskim vrstama janjetine, koje nakon aldehida sadrže najvi-



Slika 1. Hlapivi spojevi arome kupreške janjetine (% od ukupne površine svih pikova)

Figure 1 Volatile compounds of Kupres lamb (% of the total peak area)

še alkohola (dalmatinska 22,67 %, paška 23,28 %, lička 19,74 %, creska 32,62 %). Tome nasuprot, aroma kupreške janjetine sadrži tek 7,78 % alkohola (među kojima dominira 1-octen-3-ol s 3,85 %) i po zastupljenosti su na 4. mjestu, iza aromatskih spojeva (9,63 %). Aldehidi i alkoholi nastaju kao produkti lipidne razgradnje i oksidacije, pa bi se utvrđene razlike u njihovu sastavu između pojedinih vrsta janjetine mogle objasniti vjerojatnim razlikama u sastavu masnih kiselina pašne flore te pretpostavkom da flora dalmatinskih pašnjaka sadrži više oksidoprotektivnih spojeva (Krvavica i sur., 2016.). Udio alifatskih ugljikovodika iznosi 1,23 % (najmanje u odnosu na ostale, premda jedino dalmatinska janjetina i po broju i % odskače od ostalih vrsta janjetine; Krvavica i sur., 2015.). No, interesantno je primijetiti razlike u profilu alifatskih ugljikovodika, s obzirom da se dugolančani alkani (9 i više C atoma) također smatraju pouzdanim markerima pašnog uzgoja janjadi. Naime, alifatske ugljikovodike arome dalmatinske janjetine čini velikim dijelom heptan (2,80 %) koji je sastavljen od 7 C atoma, dok su dugolančani alkani i po broju (6 od 8) i udjelu (0,71 %) najzastupljeni alifatski ugljikovodici arome kupreške janjetine. Skupina aromatskih hlapivih spojeva treća je po zastupljenosti, među kojima dominiraju benzaldehid s 5,36 % i metoksi-fenil-oksim s 2,77 %.

Tipična aroma po ovčjem mesu, često odbojna potrošačima, u velikoj mjeri ovisi o udjelu nerazgranatih i razgranatih masnih kiselina kratkog lanca i njihovih estera. Udio kiselina i estera u aromi kupreške janjetine iznosi 3,75 %, što je uočljivo više nego u ostalih ispitivanih vrsta janjetine (dalmatinska 1,26 %, paška 0,11 %, lička 1,29 %, creska 2,10 %), pri čemu aroma paške janjeti-

ne nije sadržavala karboksilne kiseline, odnosno udio od 0,11 % odnosio se na etil kaprilat (Krvavica i sur., 2015.a). Udio sumpornih spojeva, koji nastaju Streckerovom degradacijom metionina i cisteina te razgradnjom tiamina (Krvavica i sur., 2015), arome kupreške janjetine (0,73 %) nije se znatnije razlikovao od ostalih vrsta janjetine (osim dalmatinske 2,06 %). Sumporni spojevi imaju vrlo važnu ulogu u formiranju poželjne blage arome toplinski obrađenog mesa, upravo zahvaljujući njihovoj karakterističnoj blagoj aromi (Krvavica i sur., 2015; cit. Roldán i sur., 2015). Ipak, neki sumporni spojevi, kao npr. 3-metilindol (skatol), koji nije utvrđen u uzorcima niti jedne vrste istraživane janjetine, osobito ako su prisutni u većim količinama, negativno utječu na ukupnu aromu janjetine.

Najinteresantnija skupina hlapivih spojeva su terpeni, koji bi prema tvrdnjama brojnih autora mogli poslužiti kao pouzdani biljni markeri zemljopisnog područja uzgoja janjadi, s obzirom da se uglavnom nepromijenjeni izravno iz hrane ugrađuju u životinjska tkiva (Priolo i sur., 2004). Udio ukupnih terpena u aromi kupreške janjetine iznosi 0,94 %, a izolirana su 4 terpena, od kojih je najzastupljeniji D-limonen (0,35 %). Od istraživanih pet vrsta janjetine, aroma kupreške janjetine sadrži najmanji broj (dalmatinska 8, paška 4, lička 5, creska 10) i najmanji udio (dalmatinska 4,03 %, paška 1,72 %, lička 1,41 %, creska 4,93 %) terpena. Ujedno, nisu svi terpeni u pozitivnoj korelaciji s pašnim uzgojem, s obzirom da neki autori navode veći udio limonena u masnom tkivu janjadi uzgojene u staji na krepkim krmivima (Sebastian i sur., 2003). Treba imati u vidu da neki terpeni mogu nastati i kao rezultat razgradnje klorofila od strane ruminalne mikroflore (Prache i sur., 2005; Vasta i Priolo, 2006). Kao što je već poznato, većina autora se slaže da biljke dvosupnice sadrže veći broj i udio terpena. Nadalje, dalmatinski pašnjaci iako izrazito oskudni biljnom masom, obiluju brojnim biljnim vrstama (više od 3.500 vrsta od kojih je čak 7 % endema, a među njima i veliki broj stenoendema; Ozimec i sur., 2009.), među kojima su brojne vrste bogate eteričnim uljima i hlapivim kemijskim spojevima (Mastelić i sur., 2008.; Politeo, 2006.). Do sada su objavljeni brojni radovi o botaničkom sastavu (Rogošić, 2000.) te kemijskim svojstvima mediteranskih i jadranskih biljnih vrsta (Mastelić i sur., 2008; Politeo, 2006.), na temelju kojih je moguće procijeniti svojstva dalmatinskih pašnjaka na različitim područjima, osobito kada je u pitanju

mogući udio terpena, koji raste s porastom broja i udjela biljnih vrsta koji ih sadrže. Međutim, nema dostupnih podataka o preciznijem floronom sastavu kupreških pašnjaka i livada (osim navedenih 92 ljekovite i aromatične biljke, od kojih 24 pripadaju endemskim vrstama), a pogotovo o njihovim kemijskim svojstvima. Ipak, s obzirom na nadmorsku visinu Kupreške visoravni (iznad 1000 m), te bogatstvo njenih pašnjaka i livada kvalitetnom biljnom masom, može se pretpostaviti da je zastupljenost aromatskih dvosupnica na pašnjacima i livadama Kupreške visoravni vjerojatno znatno manja u usporedbi s količinski oskudnim primorskim i otočkim pašnjacima Jadranske Hrvatske, te pašnjacima Dalmatinske zagore. Unatoč velikom broju različitih vrsta ljekovitih i aromatičnih biljaka među kojima su zasigurno i aromatične dvosupnice, zeljaste monosupnice, osobito iz obitelji trava (Poaceae), vjerojatno dominiraju u ukupnoj biljnoj masi kupreških pašnjaka i livada, s obzirom da su navedeni pašnjaci i livade izrazito bogati biljnom masom.

Zaključak

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na specifičnost aroma profila kupreške janjetine, osobito u odnosu na aroma profile dalmatinske, paške, ličke i creske janjetine. Rezultati istraživanja arome kupreške janjetine ukazuju na specifične odlike kupreških pašnjaka (botanički sastav, kemijski sastav flore, dostupnost hrane) koje izravno utječu na način uzgoja i hranidbe ovaca i janjadi, te u konačnici na aromu kupreške janjetine. Rezultati cjelokupnog istraživanja upućuju na vrlo vjerojatni „učinak teritorija“ na aroma profil janjetine, osobito ako se promatra terpenijski profil unutar aroma profila janjetine s različitih područja uzgoja. Za pouzdanije podatke svakako treba provesti daljnja istraživanja u pravcu identifikacije potencijalnih specifičnih biljnih markera karakterističnih za određeno zemljopisno područje, koje bi se predloženim laboratorijskim analizama, moglo pratiti od pašnjaka do životinjskog proizvoda.

Literatura

- [1] Anonimno (2020): O Kupresu, Zemljopis. Općina Kupres, službena web stranica: <https://opcinakupres.ba/o-kupresu/zemljopis-g>. Preuzeto 30.01.2020.
- [2] Anonimno (2020a): Hercegbosanske šume, Kupres o nama. Službena web stranica Šumsko-gospodarskog društva „Hercegbosanske šume“ d.o.o. Kupres. https://www.hbsume.ba/show_page/155/kupres-o-nama. Preuzeto 30.01.2020.
- [3] Anonimno (2008): Kupres, Turistički vodič. http://www.attivo-kupres.org/Repository/Documents/Kupres_turisticki_vodic.pdf, Preuzeto 20.01.2020.
- [4] Krvavica, M., I. Boltar, M. Bradaš, T. Jug, I. Vnućec, N. Marušić-Radovčić (2015): Isparljivi sastojci arome dalmatinske janjetine. *Meso* 1, 57-64.
- [5] Krvavica, M., I. Vnućec, M. Bradaš, T. Jug, J. Đugum, N. Marušić-Radovčić (2015a): Isparljivi sastojci arome paške janjetine. *Meso* 5, 238-246.
- [6] Krvavica, M., M. Bradaš, J. Rogošić, T. Jug, I. Vnućec, N. Marušić-Radovčić (2015b): Isparljivi spojevi arome ličke janjetine. *Meso* 3, 238-246.
- [7] Krvavica, M., J. Rogošić, I. Vnućec, T. Jug, J. Đugum, N. Marušić-Radovčić (2016): Isparljivi spojevi arome creske janjetine. *Meso* 1, 53-63.
- [8] Madruga, M., I. Dantas, A. Queiroz, L. Brasil, Y. Ishihara (2013): Volatiles and Water- and Fat-Soluble Precursors of Saanen Goat and Cross Suffolk Lamb Flavour. *Molecules* 18, 2150-2165.
- [9] Mariaca R.G., T.F.H. Berger, G. Roland, M.I. Imhof, B. Jeangros, J.O. Bosset (1997): Occurrence of Volatile Mono- and Sesquiterpenoids in Highland and Lowland Plant Species as Possible Precursors for Flavor Compounds in Milk and Dairy Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 4423-4434.
- [10] Mastelić, J., O. Politeo, I. Jerković (2008): Contribution to the Analysis of the Essential Oil of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. – Determination of Ester Bonded Acids and Phenols. *Molecules* 13, 795-803.
- [11] Mioč, B., Pavić V., Sušić V. (2007). *Ovčarstvo*. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb.
- [12] Mottram, D.S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry* 62, 415-424.
- [13] Osorio, M.T., J.M. Zumalacárregui, E.A. Cabeza, A. Figueira, J. Mateo (2008): Effect of rearing system on some meat quality traits and volatile compounds of suckling lamb meat. *Small Ruminant Research* 78, 1-12.
- [14] Ozimec, R., J. Karoglan Kontić, E. Maletić, Z. Matotan, F. Strikić (2009): Poljoprivredna bioraznolikost Dalmacije. Tradicijske sorte i pasmine Dalmacije. Program Ujedinjenih naroda za razvoj. https://www.undp.org/content/dam/croatia/docs/Research%20and%20publications/environment/Tradicijske%20sorte%20i%20pasmine%20Dalmacije_UVOD,%20SADRZAJ%20I%20OPCI%20DIO.pdf. Preuzeto 30.01.2020.
- [15] Politeo, O., M. Jukić, M. Miloš (2006): Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils of Twelve Spice Plants. *Croatica Chemica Acta* 79 (2006).

- [16] Prache, S. (2009): Diet authentication in sheep from the composition of animal tissue and products. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38, 362-370.
- [17] Prache, S., A. Cornu, J.L. Berdagué, A. Priolo (2005): Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants. Review article. *Small Ruminant Research* 59, 157-168.
- [18] Priolo, A., A. Cornu, S. Prache, M. Krogmann, N. Kondjoyan, D. Micol, J.L. Berdagué (2004): Fat volatiles tracers of grass feeding in sheep. *Meat Science* 66, 475-481.
- [19] Resconi, V.C., M.M. Campo, F. Montossi, V. Ferreira, C. Sañudo, A. Escudero (2010): Relationship between odour-active compounds and flavour perception in meat from lambs fed different diets. *Meat Science* 85, 700-706.
- [20] Rogošić, J. 2000: *Gospodarenje mediteranskim prirodnim resursima*. Školska naklada d.o.o. Mostar.
- [21] Roldán, M., J. Ruiz, J.S. del Pulgar, T. Pérez-Palacios, T. Antequera (2015): Volatile compound profile of sous-vide cooked lamb loins at different temperature–time combinations. *Meat Science* 100, 52-57.
- [22] Rubel, F., M. Kottek (2010): Observed and projected climate shifts 1901-2100 depicted by world maps of the Köppen-Geiger climate classification. *Meteorol. Z.*, 19, 135-141. DOI: 10.1127/0941-2948/2010/0430
- [23] Sebastian, I., C. Vallon-Fernandez, P. Berge, J.L., Berdague (2003): Analysis of the volatile fraction of lamb fat tissue: influence of the type of feeding. *Science des aliments* 23, 497-511.
- [24] Sivadier, G., J. Ratel, E. Engel (2009): Latency and Persistence of Diet Volatile Biomarkers in Lamb Fats. *Agricultural and Food Chemistry* 57, 645-652.
- [25] Sivadier, G., J. Ratel, E. Engel (2010): Persistence of pasture feeding volatile biomarkers in lamb fats. *Food Chemistry* 118, 418-425.
- [26] Tucakov, J. (1971): *Lečenje biljem*, Kultura, Beograd.
- [27] Vasta, V., A.G. D`Alessandro, A. Priolo, K. Petrotos, G. Martemucci (2012a): Volatile compound profile of ewe`s milk and meat of their suckling lambs in relation to pasture vs. indoor feeding system. *Small Ruminant Research* 105, 16-21.
- [28] Vasta, V., V. Ventura, G. Luciano, V. Andronico, R.I. Pagano, M. Scerra, L. Biondi, M. Avondo, A. Priolo (2012b): The volatile compounds in lamb fat are affected by the time of grazing. *Meat Science* 90, 541-456.
- [29] Vasta, V., A. Priolo (2006): Ruminant fat volatiles as affected by diet: A review. *Meat Science* 73, 218-228.
- [30] Young, O.A., Berdagué J.-L., Viallonb C., Rousset-Akrimb S., Theriez M. (1997): Fat-borne volatiles and sheepmeat odour. *Meat Science* 45, 183-200.

Dostavljeno: 18.02.2020.

Prihvaćeno: 04.03.2020.

Volatile compounds of Kupres lamb

ABSTRACT

Within the project of determining the aroma profiles of various Croatian lamb species, whose main objective was to offer a simple and reliable analytical method that could confirm their authenticity by linking them to a geographical breeding area, an analysis of volatile compounds of the Kupres lamb grown on the Kupres Plateau (BiH), at about 1200 m above sea level, was carried out. The considerable territorial separation (horizontal and vertical) of the Kupres Plateau from the Croatian territories where the study was organised (Lika, Dalmatian hinterland, the islands of Pag and Cres) and the differences in their natural characteristics contribute to the reliability of drawing conclusions about possible lamb biomarkers that could be associated with the floral composition of a geographical breeding area. A total of 66 volatile compounds were isolated by the GC-MS analysis (SPME method) of heat-treated Kupres lamb, of which 14 aldehydes (61.55 % of the total peak area), 10 alcohols (7.78 %), 12 ketones (12.11 %), 8 aliphatic hydrocarbons (1.23 %), 7 aromatic compounds (9.63 %), 3 heterocyclic compounds (0.95 %), 1 furan (1.34 %), 2 acids and 3 esters (3.75 %), 4 terpenes (0.94 %) and 3 sulphur compounds (0.73 %). In relation to Dalmatian, Pag, Lika and Cres lamb, the aroma of Kupres lamb contains 3 volatile compounds (2 ketones and 1 ester) which have not been identified in the mentioned types of lamb. Furthermore, the aroma of Kupres lamb contains notably more C-7 aldehydes (16.24 %), ketones 2,3-octadienone and 2-octa-

none (9.96 %) and long-chain alkanes (0.71 %), that are reported by other researches as pasture markers, but also a much smaller amount and content of terpenes (0.94 %), that are reported as possible reliable biomarkers of the geographical breeding area. Since terpenes are solely metabolites of plants (dicotyledons contain much more terpenes than monocotyledons), mainly incorporated directly from food into animal tissues, the terpenic profile of lamb may indicate their geographic breeding area (effect of territory). Judging by the aroma profile (pasture markers), and especially by the terpenic profile of Kupres lamb, Kupres pastures and meadows are abundant in plant biomass with Poaceae as the predominated plant spices, while dicotyledons (rich in aromatic compounds) are less prevalent. For more reliable results, additional studies on the botanical and chemical composition of the Kupres pastures and meadows need to be conducted, the results of which can be linked to the corresponding compounds of lamb volatiles.

Key words: Kupres lamb, aroma profile, lamb volatils, Kupres pramenka

Flüchtige verbindungen von Kupres-lamm

Zusammenfassung

Im Rahmen des Projekts zur Bestimmung der Aromaprofile verschiedener kroatischer Lammmarten, dessen Hauptziel es war, eine einfache und zuverlässige Analysemethode anzubieten, die ihre Authentizität durch die Verbindung mit einem geographischen Zuchtgebiet bestätigen könnte, wurde eine Analyse der flüchtigen Verbindungen des Kupres-Lamms, das auf der Kupres-Hochebene (BiH) in etwa 1200 m Höhe gezüchtet wird, durchgeführt. Die beträchtliche territoriale Trennung (horizontal und vertikal) der Kupres-Hochebene von den kroatischen Gebieten, in denen die Studie durchgeführt wurde (Lika, dalmatinisches Hinterland, die Inseln Pag und Cres), und die Unterschiede in ihren natürlichen Eigenschaften tragen dazu bei, dass zuverlässige Schlussfolgerungen über mögliche Biomarker des Lamms gezogen werden können, die mit der floralen Zusammensetzung eines geographischen Zuchtgebiets in Verbindung gebracht werden könnten. Insgesamt 66 flüchtige Verbindungen wurden durch die GC-MS-Analyse (SPME-Methode) von wärmebehandeltem Kupres-Lamm isoliert, davon 14 Aldehyde (61,55 % der gesamten Peakfläche), 10 Alkohole (7,78 %), 12 Ketone (12,11 %), 8 aliphatische Kohlenwasserstoffe (1,23 %), 7 aromatische Verbindungen (9,63 %), 3 heterozyklische Verbindungen (0,95 %), 1 Furan (1,34 %), 2 Säuren und 3 Ester (3,75 %), 4 Terpene (0,94 %) und 3 Schwefelverbindungen (0,73 %). In Bezug auf das Dalmatiner-, Pag-, Lika- und Cres-Lamm enthält das Aroma des Kupres-Lamms 3 flüchtige Verbindungen (2 Ketone und 1 Ester), die bei den genannten Lammfleischarten nicht identifiziert wurden. Darüber hinaus enthält das Aroma des Kupres-Lamms deutlich mehr C-7-Aldehyde (16,24 %), die Ketone 2,3-Octadienon und 2-Octanon (9,96 %) und langkettige Alkane (0,71 %), die von anderen Forschern als Weidemarken angegeben werden, aber auch eine viel geringere Anzahl und einen viel geringeren Anteil an Terpenen (0,94 %), die als mögliche zuverlässige Biomarker des geographischen Zuchtgebietes angegeben werden. Da Terpene ausschließlich Metaboliten von Pflanzen sind (Dikotyledonen enthalten viel mehr Terpene als Monokotyledonen), die hauptsächlich direkt aus der Nahrung in tierische Gewebe eingebaut werden, kann das Terpenprofil von Lämmern auf ihr geographisches Zuchtgebiet hinweisen (Effekt des Territoriums). Nach dem Aromaprofil (Weidemarkierungen) und insbesondere nach dem Terpenprofil des Kupres-Lamms zu urteilen, sind Kupres-Weiden und Wiesen reichlich mit pflanzlicher Biomasse ausgestattet, wobei Süßgräser als vorherrschende Pflanzengewürze auftreten, während Dikotyledone (reich an aromatischen Verbindungen) weniger häufig vorkommen. Um zuverlässigere Ergebnisse zu erhalten, müssen zusätzliche Studien über die botanische und chemische Zusammensetzung der Kupresweiden und Wiesen durchgeführt werden, deren Ergebnisse mit den entsprechenden Aromaverbindungen der Lämmer verknüpft werden.

Schlüsselwörter: Kupres-Lamm, Aromaprofil, flüchtige Lämmer, Kupres-Pramenka

Compuestos volátiles de cordero de Kupres

Resumen

Dentro del proyecto de determinar los perfiles de aroma de diferentes especies de corderos croatas, cuyo objetivo principal fue ofrecer un método analítico simple y fiable que pudiera confirmar su autenticidad al vincularlos a un área de cría geográfica, fue hecho el análisis de los compuestos volátiles de cordero de Kupres criado en la meseta de Kupres (Bosnia y Herzegovina) a unos 1200 m sobre el nivel del mar. El alejamiento territorial considerable (horizontal y vertical) de la meseta de Kupres de los territorios croatas donde fue hecha la investigación (las regiones de Lika, Dalmatinska zagora y en las islas de Pad y Cres) y las diferencias en sus características naturales contribuyen a la fiabilidad de las conclusiones sobre los posibles biomarcadores de la carne de cordero que podrían asociarse con un área geográfica de cría respecto a la composición floral. El análisis de los compuestos volátiles de carne de cordero tratado térmicamente por la microextracción en fase sólida (SPME) y determinados por la cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), fueron aislados 66 compuestos en total, de los cuales fueron 14 aldehídos (61,55 % del área de pico total), 10 alcoholes (7,78 %), 12 cetonas (12,11 %), 8 hidrocarburos alifáticos (1,23 %), 7 compuestos aromáticos (9,63 %), 3 compuestos heterocíclicos (0,95 %), 1 furano (1,34 %), 2 ácidos y 3 ésteres (3,75 %), 4 terpenos (0,94 %) y 3 compuestos de azufre (0,73 %). En comparación con el cordero de Dalmacia, Pag, Lika o Cres, el cordero de Kupres contiene 3 compuestos volátiles (2 cetonas y 1 éster) no identificados en otros tipos de corderos mencionados. Además, el aroma del cordero de Kupres contiene considerablemente más aldehídos C-7 (16,24 %), cetonas 2,3-octadienona, 2-octanonas (9,96 %) y alcanos de cadena larga (0,71 %), mencionados en otras publicaciones como marcadores de pasturas, pero también la cantidad considerablemente más baja de terpenos (0,94 %), considerados en las publicaciones como posibles biomarcadores del área geográfica de cría fiables. Dado que los terpenos son exclusivamente metabolitos de plantas (las plantas dicotiledóneas contienen mucho más terpenos que las plantas monocotiledóneas) que principalmente se incorporan a los tejidos animales directamente de los alimentos, el perfil terpénico de cordero puede indicar su área geográfica de cría (efecto del territorio). Según el perfil de aroma (marcadores de pasturas) y especialmente según el perfil terpénico del cordero de Kupres, los pastos y los prados de Kupres abundan en la biomasa vegetal con la predominancia de las poáceas, mientras las plantas dicotiledóneas (ricas en compuestos aromáticos) son especie menor. Para obtener los resultados más fiables, es necesario realizar estudios adicionales de la composición botánica y química de los pastos y de las praderas de Kupres, cuyos resultados serán vinculados con los compuestos correspondientes del aroma del carne de cordero.

Palabras claves: cordero de Kupres, perfil de aroma, compuestos volátiles de cordero, raza pramenka de Kupres

Composti volatili dell'aroma della carne d'agnello di Kupres

Riassunto

Nell'ambito del progetto finalizzato all'accertamento del profilo aromatico di differenti specie croate di carne d'agnello, il cui fine primario era quello di offrire un metodo analitico semplice ed affidabile con cui confermare la loro autenticità collegandole con l'area geografica del loro allevamento, è stata eseguita l'analisi dei composti volatili dell'aroma della carne d'agnello di Kupres proveniente da animali allevati sull'altipiano di Kupres (BiH) a circa 1.200 m s.l.m. La spiccata separazione territoriale (orizzontale e verticale) dell'altipiano di Kupres dai territori croati interessati dalla ricerca (Lika, Dalmatinska zagora, isole di Pago-Pag e Cherso-Cres) e le differenze nelle loro caratteristiche naturali contribuiscono a rendere ancora più sicure le conclusioni sui possibili biomarcatori della carne d'agnello che, riguardo alla com-

posizione vegetale, potrebbero riconnettersi ad una determinata area geografica d'allevamento. Tramite l'analisi dei composti volatili della carne d'agnello di Kupres termicamente trattata, compiuta mediante la tecnica della microestrazione in fase solida (SPME) e con la gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS), è stato possibile isolare 66 composti in totale, di cui 14 aldeidi (61,55 % dell'area dei picchi totale), 10 alcoli (7,78 %), 12 chetoni (12,11 %), 8 idrocarburi alifatici (1,23 %), 7 composti aromatici (9,63 %), 3 composti eterociclici (0,95 %), 1 furano (1,34 %), 2 acidi e 3 esteri (3,75 %), 4 terpeni (0,94 %) e 3 composti zolfurei (0,73 %). Rispetto alla carne d'agnello originaria della Dalmazia, dell'isola di Pago, della Lika e dell'isola di Cherso, l'aroma della carne d'agnello di Kupres contiene 3 composti volatili (2 chetoni e 1 estero) che non sono stati riscontrati nelle suddette specie di carne d'agnello. L'aroma della carne d'agnello di Kupres contiene una quantità sensibilmente maggiore di aldeidi C-7 (16,24 %), di chetoni 2,3-ottadiene e 2-attadiene (9,96 %) e di alcani a lunga catena (0,71 %) che, in letteratura, sono noti anche come "marcatori dei pascoli", ma anche un numero e una percentuale molto inferiore di terpeni (0,94 %) che in letteratura sono indicati come possibili marcatori affidabili dell'origine geografica dell'allevamento. Visto che i terpeni sono metaboliti secondari esclusivamente delle piante (le piante dicotiledoni ne contengono molti di più delle piante monocotiledoni) che si integrano, nella maggior parte dei casi, direttamente nei tessuti animali, il profilo terpenico della carne d'agnello può rimandare all'area d'allevamento dell'animale (effetto del territorio). Giudicando in base al profilo aromatico (ai marcatori del pascolo), ed in particolare in base al profilo terpenico della carne d'agnello di Kupres, risulta che i pascoli ed i prati di Kupres abbondano di una ricca massa vegetale nella quale dominano le erbacee, mentre le piante dicotiledoni (ricche di composti aromatici) sono meno presenti. Per disporre di risultati ancora più affidabili, sarebbe necessario effettuare ulteriori analisi della composizione botanica e chimica della flora dei pascoli e dei prati di Kupres, i cui risultati potrebbero essere ricollegati ai corrispondenti composti volatili dell'aroma della carne d'agnello.

Parole chiave: carne d'agnello di Kupres, profilo aromatico, composti volatili della carne d'agnello, *pramenka* di Kupres

Anuga Food Tech | Complete Filtration Resources, Inc



**ANUGA
FOOD
TEC** **ONE FOR ALL.
ALL IN ONE.**
COLOGNE, 23-26 MARCH 2021