



JOURNAL OF EDIBLE OIL INDUSTRY

ujarstvo

VOLUMEN 47, BROJ 1 (2016)

ULJARSTVO

ČASOPIS ZA INDUSTRIJU BILJNIH ULJA, MASTI I PROTEINA

Volumen 47.

Broj 1

Godina 2016.

Naučni radovi

Scientific papers

1. Marijana Ačanski, Vesna Vujasinović, Kristian Pastor, Jan Sudi, Sanja Dojčinović-Vujašković, Đura Vujić, Ana Marjanović-Jeromela
BRZA METODA ZA ODREĐIVANJE HOMOGENOSTI I AUTENTIČNOSTI UZORAKA EKSTRA-DEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA I ULJA ŠAFRANJIKE
Rapid method for determinig homogeneity and authenticity of samples of extra-virgin olive oil and safflower oil 3
 2. Milica G. Aćimović, Sanja J. Popović, Ljiljana M. Kostadinović, Olivera M. Đuragić, Jovanka D. Lević
ISPITIVANJE MASNOKISELINSKOG SASTAVA PLODOVA ANISA, MIROĐIJE I KIMA
Investigation of fatty acid profile of anise, dill and caraway fruits 9
 3. Etelka Dimić, Tamara Premović, Vesna Vujasinović, Aleksandar Takači
UTICAJ KVALITETA SEMENA NA KISELOST I SADRŽAJ VLAGE HLADNO PRESOVANOG ULJA SUNCOKRETA
Influence of seed quality on acidity and moisture content of cold-pressed sunflower oil 15
 4. Etelka B. Dimić, Vesna B. Vujasinović, Snežana Ž. Kravić, Bojan D. Borić
ENERGY VALUE AND FATTY ACID PROFILE OF COMMERCIAL FAT SPREADS BASED ON OILSEEDS IN SERBIAN MARKET
Energetska vrednost i masnokiselinski profil komercijalnih masnih namaza na bazi semena uljarica prisutnih na tržištu Srbije 25
 5. Etelka Dimić, Tanja Lužaić, Vesna Vujasinović, Seddiq Esalami, Biljana Rabrenović, Aleksandar Fijat
ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET DEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA RAZLIČITIH MASLINARSKIH REGIJA LIBIJE PRI UMERENIM TEMPERATURAMA
Antioxidant capacity of virgin olive oil from different growing areas of Libya at moderate temperatures 31
 6. György Karlovits, Aleksandra Szydłowska-Czerniak
EVROPSKI STANDARD O KVALITETU ČISTOG REPIČINOVOG ULJA KAO DIZEL GORIVA
European Standard on Quality of Pure Rapeseed Oil like diesel fuel 39
 7. Ivana Lončarević, Biljana Pajin, Jovana Petrović, Vladimir Šarac, Vladimir Tomović, Danica Zarić, Zoran Nikolovski
LECITIN IZ ULJANE REPICE KAO EMULGATOR U PROIZVODNJI MAZIVOG KREM PROIZVODA
Rapeseed lecithin as emulsifier in confectionery cream production 47
 8. Nikola Maravić, Zita Šereš, Aleksandar Takači, Žana Šaranović, Ivana Nikolić, Dragana Šoronja Simović, Ljubica Dokić, Nemanja Bojanić
FIZIČKE OSOBINE EMULZIJA TIPa ULJE U VODI DOBIJENIH TEHNIKOM MEMBRANSKOG EMULGOVANJA UPOTREBOM SHIRASU STAKLENIH MEMBRANA
Physical characteristics of the O/V emulsions obtained by using membrane emulsification technique with Shirasu Porous Glass membranes 55
 9. Biljana Rabrenović, Ivana Mutavdžić, Vladimir Šarac, Mirjana Demin, Zorica Basić
NUTRITIVNA SVOJSTVA HLADNO PRESOVANOG ULJA SEMENKI BUKVE (*FAGUS SYLVATICA*)
*Nutritive characteristics of cold pressed beech (*Fagus sylvatica*) seed oil* 65
 10. Olga Radočaj, Etelka Dimić
UTICAJ VREMENA SKLADIŠTENJA NA ODRŽIVOST NAMAZA NA BAZI POGAČE SEMENA TIKVE GOLICE (*CUCURBITA PEPO* L.) I HLADNO PRESOVANOG ULJA SEMENA KONOPLJE (*CANNABIS SATIVA* L.) U TOKU 3, 6 I 9 MESECI
*Nutritive characteristics of cold pressed beech (*fagus sylvatica*) seed oil* 71
 11. Vesna Vujasinović, Miloš Bjelica, Tanja Lužaić, Sanja Dimić
HLADNO PRESOVANO ULJE KOŠTICA GROŽDA – REALNOST I BUDUĆNOST
Cold-pressed grape seed oil – reality and futurity 85
- UPUTSTVO ZA PRIPREMU RADOVA 98
INSTRUCTIONS FOR PREPARING OF MANUSCRIPT

Izdavač
Publisher

**Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Katedra za tehnologija biljnih ulja i masti;
Institut za ratarstvo i povrtarstvo; DOO Industrijsko bilje, Novi Sad, Republika Srbija**
*University of Novi Sad, Faculty of Technology, Department of vegetable oils and fats technology;
Institute of Field and Vegetable Crops; Industrial Crops, Novi Sad, Republic of Serbia*

Savetodavni odbor
Advisory Board

Dr Etelka Dimić, dr Radomir Malbaša, dr Vladimir Miklič, dr Sonja Đilas, dr Biljana Rabrenović, dr Vesna Vujasinović, Mihajlo Nastasić, dipl. ing., Zorica Belić, dipl. ing., Nada Grbić, dipl. ing., Dragan Trzin, dipl. ing.

Članovi savetodavnog odbora iz inostranstva
Advisory Board Members from Abroad

Dr. Gerhard Jahreis, Friedrich-Schiller-Universität, Jena, Germany; Dr. Werner Zschau, Wörthsee, Germany; Dr. Nedyalka Yanishlieva, Institute of Organic Chemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria; Dr. Mirjana Bocevska, Faculty of Technology and Metallurgy, Skopje, Macedonia; Dr Đerđ Karlović, Bunge Europe, Margarine Center of Expertise, Kruszwica, Poland; Dr Olga Radočaj, Oltrad Corp., Ontario, Canada; Dr Vlatko Marušić, Strojarski fakultet, Slavonski Brod, Hrvatska.

Uređivački odbor
Editorial Board

Dr Etelka Dimić, Zoran Nikolovski, dipl. ing., mr Zvonimir Sakač

Glavni i odgovorni urednik
Editor in Chief

Dr Etelka Dimić

Urednik
Editor

Dr Olga Čurović

Tehnički urednik
Technical Editor

FELJTON, Novi Sad

Adresa redakcije
Editorial Board Address

**Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Tehnologija biljnih ulja i masti,
21000 Novi Sad, Bul. cara Lazara 1, Republika Srbija**
Telefon: 021-485-37-00; Fax: 021-450-413; e-mail: edimic@uns.ac.rs
*University of Novi Sad, Faculty of Technology, Vegetable oils and fats technology,
21000 Novi Sad, Bul. cara Lazara 1, Republic of Serbia*
Telefon: 021-485-37-00; Fax: 021-450-413; e-mail: edimic@uns.ac.rs

Tiraž
Number of copies

150

Štampa
Print

Štamparija Feljton, 21000 Novi Sad, Stražilovska 17, Republika Srbija

BRZA METODA ZA ODREĐIVANJE HOMOGENOSTI I AUTENTIČNOSTI UZORAKA EKSTRA-DEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA I ULJA ŠAFRANJIKE

*Marijana Ačanski, Vesna Vujasinović, Kristian Pastor, Jan Sudi, Sanja Dojčinović-Vujašković, Đura Vujić,
Ana Marjanović-Jeromela*

*U ovom radu stepen homogenosti između pet različitih uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja italijanskog porekla, dostupnih na tržištu Republike Srbije, utvrđen je primenom tehnike gasne hromatografije sa maseno-spektrometrijskom detekcijom. Nakon toga ispitana je mogućnost diferencijacije i određivanja autentičnosti uzoraka ulja proizvedenih od dve različite botaničke vrste industrijskog bilja: 5 uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja različitih proizvođača (*Olea europaea* L.) i 8 uzoraka ulja proizvedenih od različitih sorti šafranjike (*Carthamus tinctorius* L.). Svi ispitivani uzorci ulja su derivatizovani primenom rastvora reagensa TMSH (trimetilsulfonijum-hidroksid) u metanolu i analizirani na gasnom hromatografu sa maseno-spektrometrijskom detekcijom. Metil-estri prisutnih masnih kiselina, dobijeni postupkom derivatizacije, identifikovani su primenom NIST14 i WILEY7 biblioteka masenih spektara. Površine detektovanih pikova automatski su integrisane i njihove numeričke vrednosti podvrgnute dvema istraživačkim tehnikama u okviru multivarijantne analize. Primenom hijerarhijske klaster analize i analize osnovnih komponenata uspešno je dokazan veliki stepen sličnosti među uzorcima ekstra-devičanskog maslinovog ulja, kao i njihovo jasno grupisanje i razdvajanje od svih ispitivanih uzoraka ulja šafranjike. Ovim je utvrđena mogućnost primene predložene nove metode u određivanju autentičnosti uljnih proizvoda.*

Ključne reči: ekstra-devičansko maslinovo ulje, ulje šafranjike, GC-MS, lipidni profil, hijerarhijska klaster analiza, analiza osnovnih komponenata

RAPID METHOD FOR DETERMINING HOMOGENEITY AND AUTHENTICITY OF SAMPLES OF EXTRA-VIRGIN OLIVE OIL AND SAFFLOWER OIL

*In this paper, the degree of homogeneity was determined between five different samples of extra-virgin olive oil of Italian origin, available on the market of the Republic of Serbia, with the application of gas chromatography with mass spectrometric detection. Thereafter, the authors examined the possibility of differentiation and authentication of the oil samples produced from two different botanical species of industrial plants: 5 samples of extra-virgin olive oils from different manufacturers (*Olea europaea* L.) and 8 samples of oil produced from different varieties of Safflower species (*Carthamus tinctorius* L.). All of the investigated oil samples are derivatized using a TMSH reagent solution (trimethylsulfonium hydroxide) in methanol, and analyzed on a gas chromatograph using a mass spectrometric detection. Present fatty acid methyl esters (FAME), obtained by derivatization, are identified using NIST14 and WILEY7 mass spectra library. Surface areas of detected peaks are automatically integrated and their numerical values subjected to two exploratory techniques in the context of multivariate analysis. The application of hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) successfully demonstrated a high degree of similarity among samples of extra-virgin olive oil, as well as their clear mutual groupings and strong separation from all investigated samples of Safflower oil. This research demonstrated the possibility of applying the proposed new method to determine the authenticity of oil products.*

Dr Marijana Ačanski, Kristian Pastor, e-mail: pastor@tf.uns.ac.rs, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija; dr Vesna Vujasinović, Visoka hotelijerska škola strukovnih studija, Kneza Višeslava 70, 11030 Beograd, Srbija; Jan Sudi, Sanja Dojčinović-Vujašković, Institut za javno zdravlje Vojvodine, Futoška 121, 21000 Novi Sad, Vojvodina, Srbija; Đura Vujić, Nezavisni istraživač, 21000 Novi Sad, Srbija; dr Ana Marjanović-Jeromela, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija

Key words: extra-virgin olive oil, safflower oil, GC-MS, lipid profile, hierarchical cluster analysis, principal component analysis

UVOD

Jestiva biljna ulja različitih tipova i kvaliteta se široko primenjuju u domaćinstvu i prehrambenoj industriji (López-Beceiro i sar., 2011). Među jestivim uljima, devičansko i ekstra-devičansko maslinovo ulje poseduju nutritivne i senzorne karakteristike, koje ih čine neizbežnim i unikatnim sastojkom mediteranske kuhinje. Koriste se vekovima zbog preventivnih i terapijskih svojstava, kao i veoma dragocenog lipidnog sastava (Gómez-Caravaca i sar., 2016). Trenutno se u svetu maslinovo ulje konzumira u većim količinama nego što se ikada do sada konzumiralo, a sve više se upotrebljava kao zamena za druga biljna ulja i životinjske masti (Martin-Moreno, 2000). Ulje šafranjike karakteriše visok sadržaj nezasićenih masnih kiselina, naročito oleinske i linolne, kao i tokoferola, pa se proizvodi kako u nutritivne, tako i u medicinske svrhe (Fernández-Martinez i sar., 1993). Ulje šafranjike se primenjuje u terapiji kardiovaskularnih problema, a pretpostavlja se da postoji pozitivan efekat ovog ulja i kod lečenja raznih gastrointestinalnih tegoba, kao i akutnog oštećenja jetre (Toma i sar., 2014; Yu i sar., 2015). Zbog svega ovoga, ulja masline i šafranjike mogu se, sa nutritivnog aspekta, oceniti kao izuzetno kvalitetni proizvodi, koji se rado preporučuju u ishrani čoveka.

Razvijene su različite destruktivne i nedestruktivne metode za određivanje autentičnosti mnogih prehrambenih proizvoda, među kojima su i jestiva biljna ulja, a obuhvataju analizu izotopa, proteomiku, metabolomiku i dr. (Martinez i sar., 2003; Primrose i sar., 2010). Istraživanja nekih autora fokusirala su se na merenje fizičko-hemijskih parametara u cilju razlikovanja uzoraka ulja šafranjike u zavisnosti od genotipa industrijske biljke, od kog je ulje proizvedeno (Ahmadzadeh i sar., 2014; Moumen i sar., 2015). Jestiva nerafinisana ulja su, zbog znatno viših cena, veoma atraktivna za mešanje sa jeftinijim uljima, bilo rafinisanim ili nerafinisanim (Dimić, 2005; van Wetten i sar., 2015). Detektovanje ovakvih krivotvorina je naročito značajno kada su u pitanju proizvodi prehrambene industrije uopšte, a pogotovo skupa devičanska maslinova ulja visokog kvaliteta (Zheng Xu i sar., 2014). Naročito su učestala mešanja ekstra-devičanskog maslinovog ulja sa jeftinijim suncokretovim uljem. Shodno tome sve je popularnija primena različitih instrumentalnih tehnika kao razvoj različitih postupaka i analitičkih metoda u cilju razotkrivanja ovakvih krivotvorina, kao što su primena diferencijalne kalorimetrije (DSC), nuklearne magnetne rezonance (NMR), visoko-pritisne tečne

(HPLC) i gasne hromatografije (GC-FID), tehnika lančane reakcije polimeraze (PCR) i dr. (Jabeur i sar., 2014; Popescu i sar., 2015; van Wetten i sar., 2015; Ramos-Gómez i sar., 2016).

Cilj ovog istraživanja je razvoj nove analitičke metode primenom visoko-sofisticirane instrumentacije, gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom (GC-MS) u cilju: (i) utvrđivanja stepena homogenosti između različitih uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja, dostupnih na tržištu Republike Srbije, jer bi uzorci ulja visoke homogenosti omogućili pouzdano određivanje autentičnosti ovakvog visoko-kvalitetnog ulja, bez obzira na poreklo i proizvođača; (ii) određivanja autentičnosti i mogućnosti brzog razlikovanja uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja od uzoraka ulja šafranjike, nezavisno od proizvođača jestivog ulja i botaničke sorte tih biljnih vrsta, koja je upotrebljena za proizvodnju.

MATERIJAL I METODE

Uzorci

U ovom radu analizirano je 5 komercijalnih uzoraka ekstra-devičanskog ulja masline (*Olea europaea* L.) sledećih proizvođača: Farchioni (O-1), Olitalia (O-2), Filippo-Berio (O-3), Pietro Coricelli (O-4), i Monini (O-5), i 8 uzoraka ulja različitih sorti šafranjike (*Carthamus tinctorius* L.): Sunčana 1 (S-1), nepoznata sorta (S-2), Sunčana 2 (S-3), nepoznata sorta (S-4), nepoznata sorta (S-5), Remzibey (S-6), Dincer (S-7), Yenice (S-8). Svi ispitivani uzorci maslinovog ulja su italijanskog porekla, dostupni i nabavljeni slučajnim izborom na tržištu Republike Srbije. Uzorci ulja različitih sorti šafranjike dobijeni su sa Odeljenja za uljarice, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu.

Priprema uzoraka

10 μ L svakog ispitivanog uzorka ulja odpipetirano je mikropipetom u staklenu vijalu i rastvoreno dodatkom 1 mL metilen-hlorida. Rastvoru svakog uzorka je potom dodato 50 μ L reagensa za derivatizaciju, rastvora 0,2 M TMSH (trimetilsulfonijum-hidroksida, Macherey-Nagel) u metanolu. Dodatak ovog reagensa omogućava transesterifikaciju masnih kiselina iz mono-, di- i triglicerida u odgovarajuće isparljive metil-estre (www.mn-net.com).

GC-MS analiza

Pripremljeni, derivatizovani uzorci ulja analizirani su sistemom gasne hromatografije (Agilent

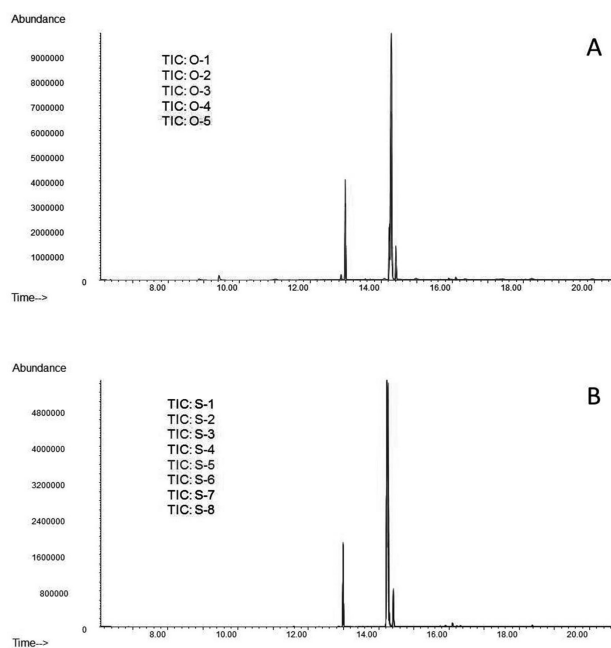
Technologies 7890) sa maseno spektrometrijskom detekcijom (Agilent Technologies MSD 5975), GC-MS. U cilju fragmentacije molekula primenjena je elektronska jonizacija uz energiju elektrona od 70 eV. U cilju hromatografskog razdvajanja primenjena je DB-5 MS kolona (30 m × 0.25 mm × 25 μm), uz temperaturu injektora od 250°C i protok gasa nosača (helijum) od 0,8 mL/min. Korišćen je sledeći temperaturni program: 50–130°C, 30°C/min i 130–300°C, 10°C/min. Po 1 μL svakog uzorka injektovan je uz split odnos 1:50.

Analiza podataka

Hromatogrami ispitivanih uzoraka ulja, dobijeni gasnom hromatografijom, analizirani su primenom ChemStation programa (Agilent Technologies). Pikovi metil-estara masnih kiselina identifikovani su korišćenjem NIST14 i WILEY7 biblioteka masenih spektara, sa kvalitetom meča od preko 90%. Površine pikova detektovanih metil-estara masnih kiselina automatski su integrisane i njihove numeričke vrednosti su uvrštene u PAST program u cilju izvođenja multivarijantne analize (Hammer i sar., 2001). Izvršena je hijerarhijska klaster analiza i analiza osnovnih komponenata na osnovu dobijenih numeričkih matrica.

REZULTATI I DISKUSIJA

GC-MS analizom ispitivanih uzoraka ekstra-devičanskog ulja i ulja šafranjike dobijeni su hromatogrami prikazani na slici 1. Prikazom preklopljenih TIC hromatograma (*total ion current*, hromatogrami totalne jonske struje) svih analiziranih uzoraka maslinovog ulja (slika 1A): O-1, O-2, O-3, O-4 i O-5, kao i preklopljenih TIC hromatograma ulja šafranjike (slika 1B): S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7 i S-8, uočavaju se sličnosti njihovih masno-kiselinskih profila. Prostim posmatranjem TIC hromatograma nije moguće uočiti značajne razlike između uzoraka ulja dve analizirane biljne vrste.



Slika 1. Preklopljeni TIC hromatogrami analiziranih uzoraka maslinovog ulja (A) i ulja šafranjike (B)

Figure 1. Overlaid TIC chromatograms of analyzed olive oil (A) and safflower oil (B) samples

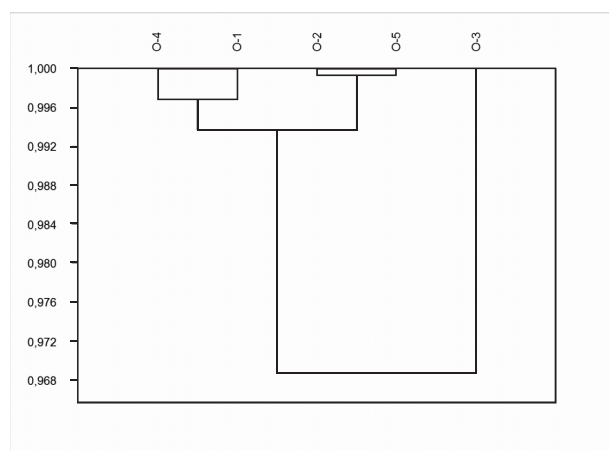
U cilju tačnog potvrđivanja identiteta svake eluirajuće lipidne komponente primenjena je kombinacija dve biblioteke masenih spektara. Masne kiseline, prisutne u analiziranim uzorcima ulja i detektovane u obliku svojih odgovarajućih metil-estara, izlistane su u tabeli 1. U tabeli su takođe prikazana i odgovarajuća retencionna vremena svih detektovanih komponenata, kao i njihove skraćene oznake.

Prisustvo palmitoleinske i α -linolenske kiseline tipično je za sve uzorke maslinovog ulja, a atipično za sve uzorke ulja šafranjike, dok je prisustvo godoleinske i eruka kiseline detektovano samo u uzorcima maslinovog ulja O-3, odnosno O-2, respektivno. Miristinska kiselina identifikovana je samo u uzorcima ulja šafranjike S-3 i S-6.

Tabela 1. Identifikovane komponente prisutne u analiziranim uzorcima maslinovog ulja i ulja šafranjike
Table 1. Identified compounds in analyzed olive oil and safflower oil samples

Rt (min)	Jedinjenje Compound	Skraćenica Abbreviation
11,60	Miristinska (tetradekanska) kiselina, metil estar Myristic (tetradecanoic) acid, methyl ester	C14:0
12,88	Palmitoleinska (9-heksadekenska) kiselina, metil estar Palmitoleic (9-hexadecenoic acid), methyl ester	C16:1 ω 7
13,00	Palmitinska (heksadekanska) kiselina, metil estar Palmitic (hexadecanoic) acid, methyl ester	C16:0
14,31	α -Linolenska (9,12,15-oktadekatrienska) kiselina, metil estar α -Linolenic (9,12,15-octadecatrienoic) acid, methyl ester	C18:3 ω 3
14,24	Linolna (9,12-oktadekadienska) kiselina, metil estar Linoleic (9,12-octadecadienoic) acid, methyl ester	C18:2 ω 6
14,29	Oleinska (9-oktadekenska) kiselina, metil estar Oleic (9-octadecenoic) acid, methyl ester	C18:1 ω 9
14,42	Stearinska (oktadekanska) kiselina, metil estar Stearic (octadecanoic) acid, methyl ester	C18:0
15,91	Godoleinska (11-eikozenska) kiselina, metil estar Gondoic (11-eicosenoic) acid, methyl ester	C20:1 ω 9
16,12	Arahinska (eikozanska) kiselina, metil estar Arachidic (eicosanoic) acid, methyl ester	C20:0
18,11	Eruka (13-dokozenska) kiselina, metil estar Erucic (13-docosenoic) acid, methyl ester	C22:1 ω 9
18,39	Behenska (dokozanska) kiselina, metil estar Behenic (docosanoic) acid, methyl ester	C22:0

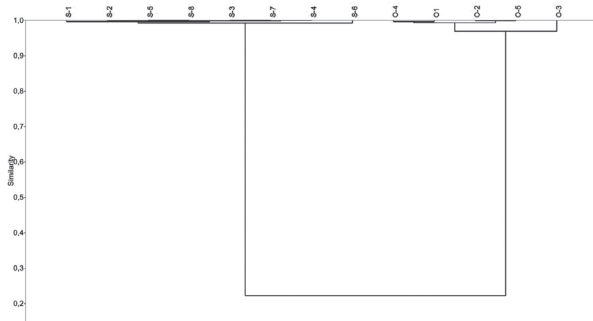
Primenom multivarijantne analize moguće je uspostavljanje relacija između varijabli veoma kompleksnih sistema podataka (Varmuza i Filzmoser, 2008). U tom smislu ispitana je mogućnost određivanja homogenosti između uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja na osnovu identifikovanih komponenata u datim uzorcima. Hijerarhijskom klaster analizom dobijenih numeričkih vrednosti automatski integriranih površina pikova detektovanih masnih kiselina, dobija se dendrogram, prikazan na slici 2. Na slici 2, posmatranjem vrednosti sa ordinate, uočava se sličnost između ispitanih uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja.



Slika 2. Dendrogram analiziranih uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja
Figure 2. Dendrogram of analyzed extra-virgin olive oil samples

Primenjen je *paired group* algoritam i *correlation* mera sličnosti. Dobijeni kofenetički koeficijent korelacije iznosi 0,9557, a najniža vrednost sličnosti između ispitivanih uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja iznosi čak 0,9656, pri čemu uzorak O-3 (Filippo-Berio) najviše odstupa u pogledu sličnosti u odnosu na ostale ispitivane uzorke, zbog prisustva godoleinske (11-eikozenske) kiseline, C20:1ω9.

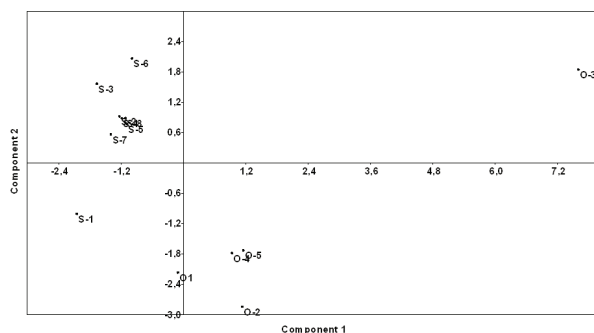
Hijerarhijskom klaster analizom numeričkih matrica automatski integrisanih površina pikova detektovanih masnih kiselina kako u uzorcima ekstra-devičanskog maslinovog, tako i u uzorcima ulja šafranjike dobija se dendrogram, prikazan na slici 3 (Ares, 2014). Na slici 3, posmatranjem vrednosti sa ordinate, uočava se vrednost sličnosti između ispitivanih uzoraka ulja.



Slika 3. Dendrogram analiziranih uzoraka maslinovog ulja i ulja šafranjike

Figure 3. Dendrogram of analyzed olive oil and safflower oil samples

Svi uzorci ulja šafranjike (levo) jasno su odvojeni od svih uzoraka maslinovog ulja (desno). Primenjen je *paired group* algoritam i *correlation* mera sličnosti. Dobijeni kofenetički koeficijent korelacije iznosi čak 0,9939, a vrednost sličnosti između ispitivanih uzoraka maslinovog ulja i ulja šafranjike je tek nešto viša od 0,2.



Slika 4. PCA dijagram analiziranih uzoraka maslinovog ulja i ulja šafranjike

Figure 4. PCA diagram of analyzed olive oil and safflower oil samples

Analizom osnovnih komponentata dobijenih numeričkih matrica analiziranih uzoraka ulja dobija se tzv. PCA dijagram (*principal component analysis*, dijagram analize osnovnih komponentata), prikazan na slici 4 (Grane i Jach, 2014).

Sa PCA dijagrama jasno se uočava razdvajanje i koncentrisanje uzoraka ulja šafranjike sa leve (S1-S7) i uzoraka maslinovog ulja (O1-O5) sa desne strane dijagrama.

ZAKLJUČAK

Primenom sistema gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom moguće je uspešno razdvojiti i identifikovati masne kiseline u obliku odgovarajućih metil-estara, prisutne u uzorcima ekstra-devičanskog maslinovog ulja na tržištu Republike Srbije uz simultano korišćenje dve bibliotečke baze masenih spektara. Hijerarhijskom klaster analizom moguće je utvrditi stepen sličnosti između masno-kiselinskih profila analiziranih uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja i u tom smislu potvrditi veoma visok nivo njihove homogenosti. Pored ekstra-devičanskog maslinovog ulja primenom iste metode moguće je i uspešno odrediti lipidne profile u uzorcima ulja šafranjike, kao markere njihove botaničke autentičnosti. Primenom istraživačkih tehnika u okviru multivarijantne analize: hijerarhijske klaster analize i analize osnovnih komponentata, slikovito se može prikazati jasno razdvajanje svih uzoraka ekstra-devičanskog maslinovog ulja različitih proizvođača od svih uzoraka ulja proizvedenih od različitih sorti šafranjike, na osnovu detektovanih lipidnih jedinjenja.

Zahvalnica

Autori se srdačno zahvaljuju Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije na finansijskoj podršci.

LITERATURA

- Ahmadzadeh, S., M. Kadivar, G. Saeidi (2014). Investigation of Oil Properties and Seed Composition in Some Safflower Lines and Cultivars. *Journal of Food Biochemistry*, 38 (5): 527-532.
- Ares, G., (2014). Cluster analysis: Application in food science and technology. In: *Mathematical and statistical methods in food science and technology*, Edited by D. Granato, and G. Ares, first edition, John Wiley & Sons, Chichester, pp. 103-121.

3. Dimić, E. (2005). Hladno ceđena ulja, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, pp. 226-230.
4. Fernández-Martínez, J., M. del Río, A. de Haro (1993). Survey of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm for variants in fatty acid composition and other seed characters. *Euphytica*, 69 (1): 115-122.
5. Gómez-Caravaca, A., R. Maggioc, L. Cerretanid (2016). Chemometric applications to assess quality and critical parameters of virgin and extra-virgin olive oil. A review. *Analitica Chimica Acta*, 913: 1–21
6. Grane, A., A. Jach (2014). Applications of principal component analysis (PCA) in food science and technology. In: *Mathematical and statistical methods in food science and technology*, Edited by D. Granato, and G. Ares, first edition, John Wiley & Sons, Chichester, pp. 77-87.
7. Hammer, O., D. A. T. Harper, P. D. Ryan (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis, *Palaeontologia Electronica* 1, Oslo, pp. 1-9. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf
8. Van Wetten, I. A., A. W. van Herwaarden, R. Splinter, R. Boerrigter-Eenling, S. M. van Ruth (2015). Detection of sunflower oil in extra virgin olive oil by fast differential scanning calorimetry, in *Chip Calorimetry*. *Thermochimica Acta*, 603: 237-243.
9. Jabeur, H., A. Zribi, J. Makni, A. Rebai, R. Abdelhedi, M. Bouaziz (2014). Detection of Chemlali extra-virgin olive oil adulteration mixed with soybean oil, corn oil, and sunflower oil by using GC and HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62: 4893-904.
10. López-Beceiro, J., R. Artiaga, C. Gracia, J. Tarrio-Saavedra, S. Naya, J. Mier (2011). Comparison of olive, corn, soybean and sunflower oils by PDSC. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 104: 169-175.
11. Martin-Moreno, J. M. (2000). The role of olive oil in lowering cancer risk: Is this real gold or simply pinchbeck? *Journal of Epidemiology and Community Health*, 54: 726-727.
12. Martínez, I., M. Aursand, U. Erikson, T.E. Singstad, E. Veliyulin, C. van der Zwaag (2003). Destructive and non-destructive analytical techniques for authentication and composition analysis of foodstuffs. *Trends in Food Science and Technology*, 14: 489-498.
13. Moumen, A., F. Mansouri, G. Richard, M. Abid, M.-L. Fauconnier, M. Sindic, A. Amrani, H. S. Caid (2015). Biochemical characterisation of the seed oils of four safflower (*Carthamus tinctorius*) varieties grown in north-eastern of Morocco. *International Journal of Food Science and Technology*, 50: 804–810.
14. Popescu, R., D. Costinel, O.R. Dinca, A. Marinescu, I. Stefanescu, R.E. Ionete (2015). Discrimination of vegetable oils using NMR spectroscopy and chemometrics. *Food Control*, 48: 84-90.
15. Primrose, S., M. Woolfe, S. Rollinson (2010). Food forensics: methods for determining the authenticity of foodstuffs. *Trends in Food Science and Technology*, 21: 582-590.
16. Ramos-Gómez, S., M. D. Busto, S. M. Albillos, N. Ortega (2016). Analytical Methods: Novel qPCR systems for olive (*Olea europaea* L.) authentication in oils and food. *Food Chemistry*, 194: 447-454.
17. Toma, W., L. Guimarães, A. Brito, A. Santos, F. Cortez, F. Pusceddu, A. Cesar, L. Júnior, M. Pacheco, C. Pereira (2014). Safflower oil: an integrated assessment of phytochemistry, antiulcerogenic activity, and rodent and environmental toxicity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24 (5): 538-544.
18. Varmuza, K., P. Filzmoser (2008). Chapter 6: Cluster Analysis. In: *Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics*, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 265-297.
19. [www.mn-net.com \(http://www.mn-net.com/tabid/10234/default.aspx\)](http://www.mn-net.com/tabid/10234/default.aspx)
20. Yu, W., T. Changyun, Z. Hao (2015). Hepatoprotective effects of kaempferol 3-O-rutinoside and kaempferol 3-O-glucoside from *Carthamus tinctorius* L. on CCl₄-induced oxidative liver injury in mice. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23 (2): 310-317.
21. Zheng Xu, R. Morris, M. Bencsik, M. Newton (2014). Detection of Virgin Olive Oil Adulteration Using Low Field Unilateral NMR. *Sensors*, 14: 2028-2035.

ISPITIVANJE MASNOKISELINSKOG SASTAVA PLODOVA ANISA, MIROĐIJE I KIMA

Milica G. Aćimović, Sanja J. Popović, Ljiljana M. Kostadinović, Olivera M. Đuragić, Jovanka D. Lević

Cilj rada bio je da se utvrdi masnokiselinski sasav plodova anisa, mirođije i kima gajenih tokom 2014. godine na oglednom polju u Mošorinu. Mast iz samlevenih plodova izdvojena je Soxhlet ekstrakcijom, a sadržaj masnih kiselina određen je gasnom hromatografijom (GC) nakon prevođenja masnih kiselina u znatno ispraljivije i stabilnije metil-estere. Na osnovu dobijenih rezultata, ustanovljeno je da plod anisa sadrži 6,31% masti u kojoj dominira miristinska kiselina (C14:0) sa 75,52%, a potom slede nezasićene kiseline sa 18 ugljenikovih atoma. Plod mirođije sadrži 1,89% masti u kojoj su dominantne mononezasićena masna kiselina sa 18 C-atoma čiji je sadržaj iznosio 46,29%, tridekanska kiselina (C13:0) sa sadržajem od 16,40% i pentadekanska kiselina (C15:1) sa 15,26%. Plod kima je sadržao 6,94% masti bogate nezasićenim masnim kiselinama sa 18 ugljenikovih atoma (C18:1 sa 57,78% i C18:2 sa 32,26%). Utvrđivanje sadržaja masti, kao i masnokiselinskog profila ispitivanih biljaka, značajno je obzirom da se anis, mirođija i kim koriste kao funkcionalna hrana, ali i kao pomoćna lekovita sredstva u brojnim galenskim preparatima.

Ključne reči: *Pimpinella anisum*, *Anethum graveolens*, *Carum carvi*, masnokiselinski profil

INVESTIGATION OF FATTY ACID PROFILE OF ANISE, DILL AND CARAWAY FRUITS

The aim of the present investigation was to determine the fatty acid composition of anise, dill and caraway fruits, obtained from plants grown during 2014 at the experimental field in Mošorin. Fat content was determined by the Soxhlet extraction, while fatty acid composition was determined by gas chromatography (GC) after esterification of fatty acids. It was established that anise fruit contain 6.31% of fat, while myristic acid (C14:0) was a dominant fatty acid with 75.52%, followed by unsaturated fatty acids with 18 carbon atoms. Dill fruit contained 1.89% of fat, wherein C18:1 (46.29%), C13:0 (16.40%) and C15:1 fatty acid (15.26%) were dominant in examined sample. In caraway fruit it was 6.94% of fat rich in unsaturated fatty acids with 18 carbon atoms (57.78% of C18:1 and 32.26% of C18:2 fatty acid), respectively. Determination of the fat content and fatty acid composition of these plants is important since these plants are used as functional food, as well as dietary supplements and in numerous galenic preperats.

Keywords: *Pimpinella anisum*, *Anethum graveolens*, *Carum carvi*, fatty acids.

UVOD

Anis (*Pimpinella anisum* L.), mirođija (*Anethum graveolens* L.) i kim (*Carum carvi* L.) su biljke iz familije Apiaceae, koje sadrže etarsko ulje karakterističnog mirisa i arome, zbog čega se koriste kao začini (Aćimović i sar., 2015a) i u lekovite svrhe (Aćimović i Dojčinović, 2014; Aćimović i Milić, 2015). Plod anisa (*Anisi fructus*) sadrži oko 3,7% etarskog ulja sa 94,8% *trans*-anetola (Aćimović i sar., 2015b), koji ovoj biljci daje sladak ukus i karakterističan topao miris. Plod mirođije (*Anethi fruc-*

tus) sadrži od 3,3-5,3% etarskog ulja, a plod kima (*Carvi fructus*) oko 4,0%. U etarskom ulju ove dve vrste dominiraju karvon i limonen (Aćimović i sar., 2015c; Aćimović i sar., 2014a), koji daju plodovima prepoznatljivu ostru i citrusnu aromu.

Pored etarskog ulja, plodovi pomenutih biljaka sadrže i proste lipide, proteine, celulozna vlakna i ugljene hidrate (Shojai i Fard 2012; EMA/HMPC 2014). Istraživanja hemijskog sastava semena je važno, jer se ove biljke koriste direktno u ishrani kako ljudi tako i životinja, ili se prerađuju destilacijom vodenom parom, čime se izdvaja etarsko ulje. Obzirom da je sadržaj etarskog ulja nizak (3-5%), velika količina proizvedenog biljnog materijala ostaje neiskorišćena (Gavaric i sar., 2015), te je neophodno ispitati i druge potencijale ovih biljaka kako bi se povećala iskoristljivost. Sa druge strane, postoji povećan interes za alternativnim izvorima

Milica G. Aćimović, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija; e-mail: acimovicbabcimilica@gmail.com, Sanja J. Popović, Ljiljana M. Kostadinović, Olivera M. Đuragić, Jovanka D. Lević, Univerzitet u Novom Sadu, Naučni institut za prehrambene tehnologije, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija

biodizela, među kojima se posebno ističu biljke iz familije Apiaceae (Moser i Vaughn, 2012). Stoga je, određivanje sadržaja masti i masnokiselinskog profila biljaka iz ove familije važno, naročito ako se uzme u obzir da se ove biljke koriste kao funkcionalna hrana, dijetetski suplementi, kao i u brojnim galenskim preparatima.

Na onovu gore navedenog, cilj istraživanja bio je da se odredi količina lipida u plodovima anisa, mirođije i kima, kao i da se determiniše masnokiselinski sastav ulja.

MATERIJAL I METODE

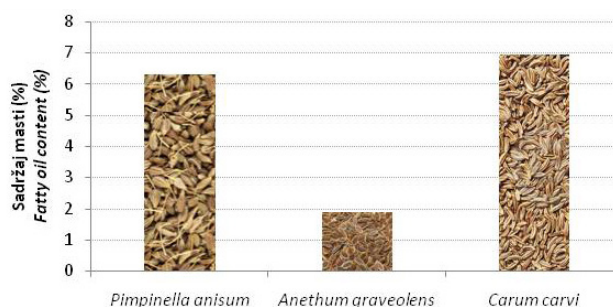
Anis, mirođija i jednogodišnji kim su gajeni tokom 2014. godine na eksperimentalnom polju u Mošorinu (45°18' N, 20°09' E, nadmorska visina 111 m), na zemljištu tipa karbonatni černoze. Vremenski uslovi tokom ispitivane godine su bili veoma nepovoljni. Proleće (mart – maj) je bilo toplije nego što je uobičajeno, sa velikom količinom padavina u poređenju sa višegodišnjim prosekom, dok je letnji period (jun – avgust) bio umereno topao i veoma kišovito.

Setva je izvedena u prvoj dekadi aprila, na razmak redova od 0,35 m, i gustom biljaka od 200 po m². Veličina jedne eksperimentalne parcele bila je 5 m². Korovi su suzbijani okopavanjem i plevljenjem po potrebi. Zaštita od bolesti i insekata nije sprovedena. Žetva je izvedena ručno, u stadijumu pune zrelosti. Posle žetve, plodovi su čuvani u višeslojnim papirnim vrećama na sobnoj temperaturi do daljih ispitivanja.

Sadržaj masti određen je ekstrakcijom po Soxhlet-u. Esterifikacija masnih kiselina izvedena je upotrebom 14% bor-trifluorid/metanol rastvora (Verešbaranji 1996). Azot je korišćen za sušenje i odstranjivanje rastvarača. Dobijeni uzorci analizirani su gasnom hromatografijom (Agilent 7890A) kuplovanom sa FID detektorom, i uz korišćenje silika kapilarne kolone (SP-2560, 100 m x 0.25 mm, I.D., 0.20 µm). Kao noseći gas korišćen je helijum (čistoća > 99.9997 vol %, protok = 1.26 ml/min). Masne kiseline identifikovane su poređenjem retencionih vremena pojedinih masnih kiselina iz uzorka sa retencionim vremenim masnih kiselina iz standarda (Supelco 37 component fatty acid methyl esters mix) kao i poređenjem sa internom bazom podataka, baziranoj na prethodnim istraživanjima. Rezultati su izraženi kao sadržaj pojedinačne masne kiseline ili grupe masnih kiselina (g) u 100 g ukupnih masnih kiselina.

REZULTATI I DISKUSIJA

Dobijeni rezultati pokazali su da je plod anisa (*Anisi fructus*) gajen u Mošorinu tokom 2014. godine sadržao 6,31% masti (Slika 1). Sadržaj masti u plodovima anisa gajenog u Iranu bio nešto viši, oko 7% (Jamshidzadeh i sar., 2014), dok je anis gajen u SAD imao znatno veću količinu masti (17%) (Moser i Vaughn, 2012), kao i anis poreklom iz Turske (29%) (Matthäus et al., 2015). U plodovima mirođije (*Anethi fructus*) zabeležen je sadržaj masti od 1,89%. Ispitivanjem Evropske mirođije (*A. graveolens*) ustanovljeno je da sadrži 0,58% masti u plodu (Badar i sar., 2008), dok Indijska mirođija (*A. sowa*) sadrži 9,36% masti (Saleheen i Royb, 2007). U plodovima kima (*Carvi fructus*) sadržaj masti bio je 6,94%. Istraživanja pokazuju da sadržaj masti u plodovima kima varira od 2,95% (Laribi i sar., 2010) do čak 19,2% (Ngo-Duy i sar., 2009).



Slika 1. Sadržaj masti (%) u plodovima anisa, mirođije i kima

Figure 1. Oil content (%) in anise, dill and caraway fruits

U ispitivanim uzorcima anisa, mirođije i kima gasnom hromatografijom ustanovljeno je prisustvo ukupno deset masnih kiselina (Tabela 1). Plodovi anisa i mirođije imali su po sedam a kima šest masnih kiselina.

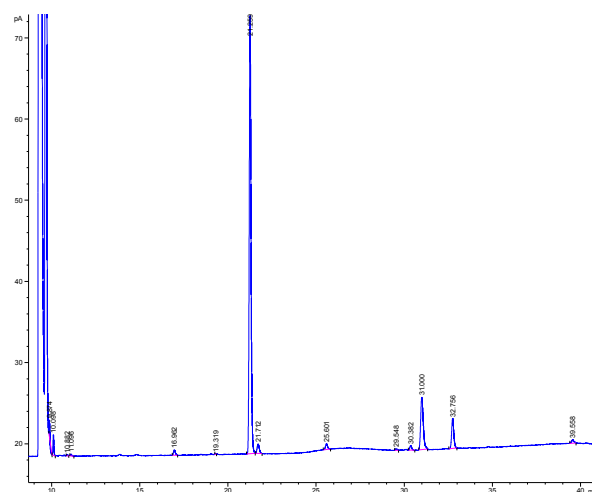
Tabela 1. Zastupljenost masnih kiselina u ulju plodova anisa, mirođije i kima
Table 1. Fatty acids content in anise, dill and caraway fruit oils

Masna kiselina (%) Fatty acid (%)	RT	Anis <i>Pimpinella anisum</i>	Mirođija <i>Anethum graveolens</i>	Kim <i>Carum carvi</i>
C4:0	10.102	1,67	8,17	2,12
C12:0	17.041	0,93	0,00	0,00
C13:0	18.974	0,00	16,40	0,00
C14:0	21.073	75,52	0,00	0,00
C15:1	24.936	0,00	15,26	0,00
C16:0	25.526	1,19	5,18	5,47
C18:0	29.982	0,87	1,34	2,08
C18:1	30.985	13,29	46,29	57,78
C18:2	32.692	6,53	7,36	32,26
C20:1	34.711	0,00	0,00	0,29
Zasićene masne kiseline Saturated fatty acids		80,19	31,09	9,67
Mononezasićene masne kiseline Monounsaturated fatty acids		13,29	61,56	58,07
Polinezasićene masne kiseline Polyunsaturated fatty acids		6,53	7,36	32,26

RT – retenciono vreme na SP-2560 koloni

RT – retention time on SP-2560 column

GC-FID analizom ploda anisa ustanovljeno je da je najzastupljenija zasićena miristinska kiselina (C14:0) sa 75,52%, a potom su sledile mononezasićene masne kiseline sa 18 ugljenikovih atoma (C18:1 u količini od 13,29% i C18:2 sa 6,56%) (Slika 2). Na osnovu dobijenih rezultata može se reći da u masti anisa dominiraju zasićene masne kiseline (80,19%), a potom slede mononezasićene (13,29%), i na kraju polinezasićene masne kiseline (6,53%). Međutim u studiji izvedenoj u SAD u masti anisa najzastupljenije su bile petroselinska masna kiselina (C18:1 Δ^6) sa 55%, potom su sledile linolna (C18:2 $\Delta^{9,12}$) sa 20,1%, miristinska (8,2%) i oleinska kiselina (7,4%) (Moser i Vaughn 2012). Sa druge strane, istraživanja u Pakistanu ukazuju da je najzastupljenija masna kiselina oleinska (C18:1 Δ^9) sa 74,55%, a potom sledi palmitinska (C16:0) sa 6,76% (Jamshidzadeh i sar., 2014).

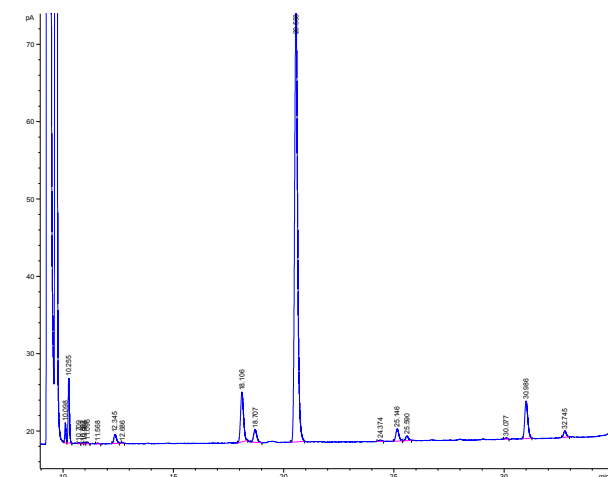


Slika 2. Tipični HPLC hromatogram masti ploda anisa

Figure 2. A typical HPLC chromatogram corresponding to anise oil

GC-FID analizom masti iz plodova mirođije ustanovljeno je da su mononezasićene masne kiseline dominantne sa 61,56% (Slika 3). Dve masne kiseline iz ove grupe, C18:1 i C15:1, bile su prisutne sa 46,29% i 15,26%. Na drugom mestu po zastupljenosti su bile zasićene masne kiseline sa ukupno 31,09%, od kojih je tetradekanska (C13:0) bila najzastupljenija sa 16,4%, a potom su sledile buterna (C4:0) sa 8,17% i palmitinska (C16:0) sa 5,18%, i na kraju stearinska kiselina (C18:0) sa 1,34%. Međutim, istraživanja u Pakistanu, pokazala su da

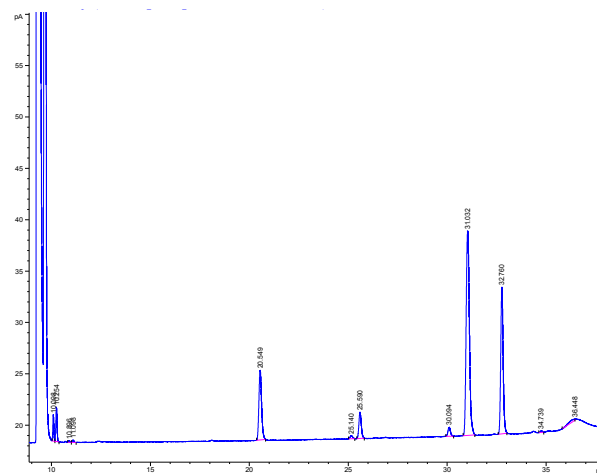
su u mirođiji najzastupljenije linolna (C18:2 $\Delta^{9,12}$) i oleinska (C18:1 Δ^9) masna kiselina sa 45,13% odnosno 37,05% (Badar i sar., 2008).



Slika 3. Tipični HPLC hromatogram masti ploda mirođije

Figure 3. A typical HPLC chromatogram corresponding to dill oil

GC-FID analizom plodova kima ustanovljeno je da su u najvećoj meri zastupljene masne kiseline sa 18 C-atoma, i to mononezasićene (C18:1) sa 57,78% i polinezasićene masne kiseline (C18:2) sa 32,26% (Slika 4). Od ostalih masnih kiselina prisutne su: palmitinska (5,47%), buterna (2,12%), stearinska (2,08%), kao i mononezasićena C20:1 (0,29%). Studije su pokazale da masnokiselinski profil plodova kima značajno varira u zavisnosti od klimatskih uslova i ekotipa (Laribi i sar., 2010; Laribi i sar., 2011). Ustanovljeno je da su mononezasićene masne kiseline C18 Δ^9 i C18 Δ^{12} najzastupljenije u kimu i njihov sadržaj se kreće od 17,89 do 22,33%, odnosno od 27,49 do 34,49%, respektivno. Sadržaj ove dve masne kiseline iznosio je između 45,36 i 56,82% u zavisnosti od vremenskih uslova (Laribi i sar., 2011). Istraživanja masnokiselinskog profila plodova kima u zavisnosti od ekotipa, sprovedena od strane Laribi i sar., (2010), pokazala su da su mononezasićene masne kiseline bile zastupljene u količini od 51,96 do 57,99%, i pri tome su petroselininska (C18 Δ^{12}) i oleinska (C18 Δ^9) masna kiselina bile najzastupljenije (31,53-38,36%, odnosno 30,76-31,41%).

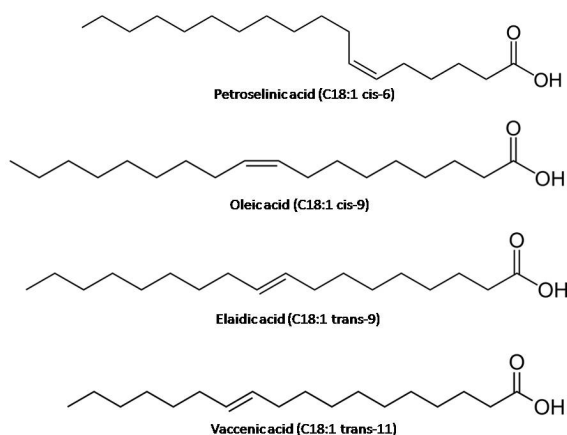


Slika 4. Tipični HPLC hromatogram masti ploda kima

Figure 4. A typical HPLC chromatogram corresponding to caraway oil

Količina masti u plodovima biljaka iz familije Apiaceae mogla bi da bude u direktnoj vezi sa masom semena. Na osnovu istraživanja koja smo prethodno uradili, masa 1000 semena mirođije se kretala od 1,2-1,4 g (Aćimović i sar., 2014b), kima 1,64-3,29 g (Aćimović i sar., 2015d) i anisa 3,9-4,4 g (Aćimović i sar., 2014c). Kao što se može videti iz prikazanog, masa semena mirođije je najmanja, kao i količina masti u plodovima. Ovo bi trebalo detaljno istražiti i utvrditi da li postoji korelacija između veličine ploda i sadržaja masti, kao što je to ustanovljeno za slačicu (Velasco i sar., 1999).

Pojedini autori navode da je najznačajnija masna kiselina u plodovima biljaka iz familije Apiaceae petroselininska masna kiselina (18:1 Δ^6) (Liu i sar., 1994; Reiter i sar., 1998). To je mononezasićena masna kiselina sa 18 C-atoma i dvostrukom vezom na šestoj poziciji. U zavisnosti od položaja dvostruke veze, mononezasićena masna kiselina sa 18 C-atoma pred petroselininske kiseline, može da se javi u još tri oblika, kao oleinska, elaidinska i vaksenska kiselina (Slika 5).



Slika 5. Izomeri mononezasićene masne kiseline sa 18 C-atoma

Figure 5. Isomers of monounaturated fatty acid with 18 C-atoms

Istraživanja koja smo izveli sa ostalim biljkama iz ove familije ustanovljeno je da je mononezasićena kiselina sa 18 C-atoma dominantna u kuminu sa 59,33% (Aćimović i sar., 2015e), dok je C14:0 najzastupljenija kod komorača (Aćimović i sar., 2015f), a u plodovima korijandra to je C10:0 (Aćimović i sar., 2015e).

Razlike u masnokiselinskom sastavu koje se javljaju kod biljaka iz familije Apiaceae mogu biti posledica vremenskih uslova tokom vegetacionog perioda (Laribi i sar., 2011), stadijuma zrelosti u kom je izvedena žetva (Nguyen i sar., 2015), kao i ekotipa (Azad i sar., 2012).

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja ploda anisa, mirođije i kima, može se zaključiti da je količina lipida u plodovima mirođije najmanja 1,89%, dok je kod anisa i kima značajno veća (6,31% i 6,94%). U plodovima anisa u najvećem procentu je zastupljena miristinska masna kiselina, dok u plodovima mirođije i kima dominira mononezasićena kiselina sa 18 C-atoma.

Napomena: Rad prethodno saopšten na skupu „Inovacije u ratarskoj i povrtarskoj proizvodnji“, Beograd, 10. Novembar 2015.

LITERATURA

1. Aćimović, M., N. Dojčinović (2014). Pregled farmakoloških osobina ploda anisa (*Pimpinella anisum* L.). *Lekovite sirovine*, 34:3-17.

2. Aćimović, M., S. Oljača, V. Tešević, M. Todosijević, J. Đisalov (2014a). Evaluation of caraway essential oil from different production areas of Serbia. *Horticultural Science (Prague)*, 41(3):122-130.
3. Aćimović, M., J. Stanković, M. Cvetković, G. Jaćimović, N. Dojčinović (2014b). Ispitivanje morfoloških karakteristika mirođije i kvaliteta etarskog ulja ploda. *Letopis naučnih radova, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu*, 38(1):69-79.
4. Aćimović, M., J. Korać, G. Jaćimović, S. Oljača, L. Đukanović, V. Vuga-Janjatov (2014c). Influence of ecological conditions on seeds traits and essential oil contents in anise (*Pimpinella anisum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42, 232-238.
5. Aćimović, M., N. Milić (2015). Mirođija u tradicionalnoj medicini i savremenoj fitoterapiji. *Lekovite sirovine*, 35:xx-xx.
6. Aćimović, M., Lj. Kostadinović, S. Popović, N. Dojčinović (2015a). Apiaceae seeds as functional food. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 60(3):237-246.
7. Aćimović, M., V. Tešević, M. Todosijević, S. Oljača, Ž. Dolijanović (2015b). Essential oil content and composition of aniseed. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 128(1):67-75.
8. Aćimović, M., J. Stanković, M. Cvetković, O. Đuragić, M. Petkova, J. Lević (2015c). Seasonal variation in dill essential oil. *Anniversary Scientific Conference with International Participation „Animal Science – Challenges and Innovations“*, November 4-6, 2015, Sofia, Bulgaria, Book of Abstracts, pg. 33.
9. Aćimović, M., V. Filipović, J. Stanković, M. Cvetković, L. Đukanović (2015d). The influence of environmental conditions on *Carum carvi* L. var. *annum* seed quality. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 52(3):91-96.
10. Aćimović, M., S. Popović, D. Čolović, O. Đuragić, Lj. Kostadinović, M. Petkova, J. Lević (2015e). Fatty acids composition of coriander and cumin grown in Serbia. *Anniversary Scientific Conference with International Participation „Animal Science – Challenges and Innovations“*, November 4-6, 2015, Sofia, Bulgaria, Book of Abstracts, pg. 32.
11. Aćimović, M., S. Popović, Lj. Kostadinović, J. Stanković, M. Cvetković (2015f). Characteristics of fatty acids and essential oil from sweet and bitter fennel fruits grown in Serbia. *Sixth International Scientific Symposium „Agrosym 2015“*, October 15-18, 2015, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, Book of Proceedings, 949-953.

12. Azad N.H., G.H., Nematzadeh, M. Azadbakht (2012). Investigation on fatty acids profile in sixteen ecotypes of Iranian ox tongue flower (*Echium amoenum* Fisch & Mey.). *Annals of Biological Research*, 3, 422-428.
13. Badar, N., M. Arshad, U. Farooq (2008). Characteristics of *Anethum graveolens* (Umbeliferae) seed oil: extraction, composition and antimicrobial activity. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10:329-323.
14. European Medicines Agency/Committee on Herbal Medicinal Products (2014). Assessment report on *Carum carvi* L., fructus and *Carum carvi* L. aetheroleum. EMA/HMPC/715093/2013.
15. Jamshidzadeh, A., A., Hamedi, A. Altalqi, A. Najibi (2014). Comparative evaluation of analgesic activities of aniseed essential and fixed oils. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*, 3(1):227-235.
16. Laribi, B., K. Kouki, A. Mougou, B. Marzouk (2010). Fatty acid and essential oil composition of three Tunisian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 90:391-396.
17. Laribi, B., K. Kouki, A. Sahli, A. Mougou, B. Marzouk (2011). Essential oil and fatty acid composition of a Tunisian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotype cultivated under water deficit. *Advances in Environmental Biology*, 5(2):257-264.
18. Liu, L., E.G. Hammond, E.S. Wurtele (1994). Accumulation of petroselinic acid in developing somatic carrot embryos. *Phytochemistry*, 37(3):749-753.
19. Matthäus, B., M.M. Özcan, F. Al Juhaimi (2015). Variations in oil, fatty acid and tocopherol contents of some *Labiatae* and *Umbelliferae* seed oils. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 7(2):103-107.
20. Moser, B.R., S.F. Vaughn (2012). Efficacy of fatty acid profile as a tool for screening feedstocks for biodiesel production. *Biomass and Bioenergy*, 37:31-41.
21. Ngo-Duy, C.C., F. Destailats, M. Keskitalo, J. Arul, P. Angers (2011). Triacylglycerols of Apiaceae seed oils: Composition and regiodistribution of fatty acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111:164-169.
22. Nguyen, Q.H., T. Talou, M. Cerny, P. Evon, O. Merah (2015). Oil and fatty acid accumulation during coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit ripening under organic cultivation. *The Crop Journal*, 3, 366-369.
23. Reiter, B., M., Lechner, E., Lorbeer (1998). Determination of petroselinic acid in Umbelliferae seed oils by automated Gas Chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography*, 21:133-136.
24. Saleheen, M., S.K. Royb (2007). Studies on fatty acid composition and proximate analyses of *Anethum sowa* L. (Dill) seed. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 42(4):455-464.
25. Shojaii, A., M.A. Fard (2012). Review of pharmacological properties and chemical constituents of *Pimpinella anisum*. *ISRN Pharmaceutics*, Article ID 510795.
26. Velasco, L., C. Möllers, H.C. Becker (1999). Estimation of seed weight, oil content and fatty acid composition in intact single seeds of rapeseed (*Brassica napus* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy. *Euphytica*, 106, 79-85.
27. Verešbaranji, I. (1996). Animal and vegetable fats and oils –Preparation of methyl esters of fatty acids. In: Karlović, Đ. Andrić, N. Kontrola kvaliteta semena uljarica. Tehnološki fakultet Novi Sad, Savezni zavod za standardizaciju, Beograd, Serbia, 311-314.

UTICAJ KVALITETA SEMENA NA KISELOST I SADRŽAJ VLAGE HLADNO PRESOVANOG ULJA SUNCOKRETA

Etelka Dimić, Tamara Premović, Vesna Vujasinović, Aleksandar Takači

U ovom radu ispitan je uticaj vremena skladištenja, sadržaja nečistoće i ljuske semena suncokreta na kiselost i sadržaj vlage u ulju izdvojenom postupkom presovanja pri niskim temperaturama. Kiselost i sadržaj vlage hladno presovanog ulja analizirani su primenom RSM metodologije (Response Surface Methodology) u funkciji navedenih parametara kvaliteta semena. Utvrđeno je da vreme skladištenja semena značajno utiče na kiselinski broj (b_{11} - $p=0,007$), a udeo ljuske u semenu se odražava na sadržaj vlage u ulju (b_{33} - $p<0,001$). Prisustvo različitog sadržaja nečistoće i ljuske semena u materijalu za presovanje takođe utiče na sadržaj slobodnih masnih kiselina u ulju, međutim njihov uticaj nije statistički značajan (b_7 - $p=0,452$; b_3 - $p=0,307$; b_{33} - $p=0,244$). Interakcije vremena skladištenja semena, sadržaja nečistoće i ljuske u polaznom materijalu, ispoljavaju izvestan efekat samo na vrednost kiselinskog broja ulja, koji, međutim, nije statistički značajan (b_{12} - $p=0,700$; b_{13} - $p=0,338$; b_{23} - $p=0,467$). Dobijeni rezultati ukazuju na činjenicu da je u cilju obezbeđenja niske kiselosti i sadržaja vlage u hladno presovanom ulju suncokreta potrebno sprovesti efikasno čišćenje i ljuštenje semena, a pri tom skladištenje semena može biti najduže do 7,5 meseci.

Ključne reči: hladno presovano ulje suncokreta, kiselost, vlaga, vreme skladištenja, sadržaj nečistoće i ljuske, RSM.

INFLUENCE OF SEED QUALITY ON ACIDITY AND MOISTURE CONTENT OF COLD-PRESSED SUNFLOWER OIL

This paper describes how the storage time and contents of impurities and sunflower seed hull influenced the acidity value and moisture content of the oil obtained by the seeds' pressing at low temperatures. Acidity and moisture content of the cold-pressed oil were outputs used in the optimization model (RSM - Response Surface Methodology) to determine the significance of the factors investigated in this study. It was determined that the storage time of seeds had a significant impact on the acidic value (b_{11} - $p=0.007$), while the hull content in the seeds had an impact on the moisture content of the oil (b_{33} - $p<0.001$). The presence of impurities and the seeds' hull in the raw material for pressing also had an impact on the free acid content of the oil. However, their influence was not statistically significant (b_7 - $p=0.452$; b_3 - $p=0.307$; b_{33} - $p=0.244$). Interaction between the seeds' storage time, impurities and hull contents in the raw materials had an impact on the acidic value of the oil, but it was not statistically significant (b_{12} - $p=0.700$; b_{13} - $p=0.338$; b_{23} - $p=0.467$). Obtained results indicated that effective cleaning and de-hulling of the seeds has to take place before processing in order to produce cold-pressed sunflower oil with low acidic value and moisture content, where the storage time of the seeds should not exceed 7.5 months.

Key words: cold-pressed sunflower oil, acidity, moisture, storage time, content of impurities and hulls, RSM.

UVOD

Tipičan i najpoznatiji predstavnik hladno presovanih ulja je maslinovo ulje, koje ima najdužu

tradiciju u procesu proizvodnje ulja postupkom hladnog presovanja. Međutim, u novije vreme asortiman hladno presovanih ulja je znatno proširen, budući da se primenom hladnog presovanja prerađuju, kako tradicionalne uljarske sirovine, tako i sve češće nekonvencionalne sirovine ili nuzproizvodi. Hladno presovano suncokretovo ulje je sve prisutnije na tržištu nerafinisanih ulja (De Leonardis i sar., 2001; Dimić, 2005; Bendini i sar., 2011).

Kvalitet hladno presovanog ulja suncokreta prvenstveno zavisi od kvaliteta sirovine, ali i drugi parametri imaju značajan uticaj, naročito tehnološki parametri

Dr Etelka B. Dimić, e-mail: edimic@uns.ac.rs, dr Tamara Đ. Premović, dr Aleksandar A. Takači, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Bul. cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija, dr Vesna B. Vujasinović, Visoka hotelijerska škola strukovnih studija, Kneza Višeslava 70, 11030 Beograd, Srbija

procesa prerade, vreme i uslovi čuvanja semena pre prerade, prisustvo nečistoće, kao i ljuske u materijalu za presovanje i dr. (Dimić, 2005; Raš i sar., 2008).

Pri ispitivanju kvaliteta hladno presovanih ulja veoma je važno odrediti osnovne hemijske parametre kvaliteta, budući da u velikoj meri uslovljavaju senzorski kvalitet i oksidativnu stabilnost ulja (Frega i sar., 1999; Broadbent and Pike, 2003). Značaj ovog aspekta kvaliteta potvrđuje i činjenica da je hemijski sastav jestivih nerafinisanih ulja takođe regulisan zakonskim propisima, kojima su definisani uslovi relevantnih parametara koji moraju biti ispunjeni u proizvodnji i prometu ulja (Codex standard, 1999; Pravilnik, 2006, 2013).

Kiselost ulja je jedan od najbitnijih parametara hemijskog kvaliteta jer najveće promene u kvalitetu sirovine, a samim tim i u ulju nastaju u vrednosti ovog pokazatelja (Dimić i Turkulov, 2000; Dimić, 2005). Slobodne masne kiseline nastaju hidrolitičkim cepanjem triacilglicerola pri neadekvatnom skladištenju i pripremi semena za presovanje i/ili tokom presovanja (Shukla i sar., 1992; Abramović i Abram, 2005; Tynek i sar., 2011). Prisustvo veće količine vlage u nerafinisanom ulju takođe može uzrokovati hidrolitičke promene, koje su praćene i narušavanjem senzorskog kvaliteta ulja (Dimić i Turkulov, 2000). Od parametara procesa presovanja na sadržaj slobodnih masnih kiselina u izdvojenom ulju najveći uticaj ispoljava temperatura, dok brzina presovanja i prečnik mlaznica nemaju bitnu ulogu (Matthäus i Brühl, 2004). Pripreme radnje u procesu presovanja, čišćenje i ljuštenje semena, takođe ispljavaju uticaj na hidrolitičke procese, budući da efikasno uklanjanje nečistoće i ljuske semena pre ceđenja ulja doprinosi smanjenju sadržaja slobodnih masnih kiselina (Zheng i sar., 2003; Šmit i sar., 2005) i sadržaja vlage u proizvedenom ulju (Isobe i sar., 1992; Dimić, 2005; Šmit i sar., 2005). Nasuprot tome, prilikom skladištenja semena, naročito u prisustvu visokog sadržaja nečistoće i vlage, intenziviraju se hidrolitički procesi. To dovodi do oštećenja semena čijim presovanjem na hladno nastaje ulje sa visokim sadržajem slobodnih masnih kiselina (Matthäus i Brühl, 2004; Bendini i sar., 2011) u kome se razvija i nepoželjan ukus, miris i aroma na užeglo. Nastale slobodne masne kiseline su veoma podložne oksidaciji, a ispoljavaju i prooksidativno delovanje, te nepovoljno utiču na održivost i oksidativnu stabilnost ulja. Zbog svega toga svako povećanje kiselosti u hladno presovanom ulju treba izbegavati (Frega i sar., 1999; Koski i sar., 2002; Vidrih i sar., 2010; Bendini i sar., 2011).

Imajući na umu činjenicu da je hemijski kvalitet veoma važan segment proizvođačkog, ali i po-

trošačkog kvaliteta ulja, cilj ovog rada bio je ispitivanje pojedinačnog i istovremenog uticaja dužine skladištenja semena, sadržaja nečistoće i ljuske u masi semena za presovanje na kiselost i sadržaj vlage hladno presovanog ulja suncokreta. Međutim, budući da je ova vrsta ulja relativno nova, literaturni podaci su oskudni, te uporedna analiza rezultata je ograničena. Značaj ovih ispitivanja ipak je u činjenici da je hladno presovano suncokretovo ulje najzastupljenije na našem tržištu i njegovo prisustvo se postepeno širi i na tržištu Evropske Unije. Iz tih razloga utvrđivanje uticaja kvaliteta i sastava polazne sirovine za presovanje na kvalitet izdvojenog ulja je od velikog značaja.

MATERIJAL I METODE RADA

Materijal

Za pripremanje uzoraka ulja korišćeno je seme suncokreta (*Helianthus annuus* L.) domaćeg hibrida Cepko, čiji je sadržaj ulja iznosio $40.9 \pm 0.26\%$, sa dominantnom linolnom masnom kiselinom (55.61%). Seme suncokreta je bilo proizvedeno u masovnoj proizvodnji na sirovinskom području za uzgoj suncokreta u AP Vojvodina i pre presovanja skladišteno je u silo čeliji kapaciteta 14 tona pri uslovima niske temperature i dobre ventilacije u periodu do 12 meseci. Ispitivanja su vršena sa svežim semenom, neposredno nakon žetve, zatim nakon 6 i 12 meseci. Kiselinski broj svežeg semena bio je 0.54 ± 0.003 mgKOH/g.

Priprema materijala za presovanje i proces presovanja

Uzorci hladno presovanog ulja su proizvedeni na tradicionalan način u pogonu mini-uljare na opremi koja obuhvata čistilicu, ljuštilicu i pužnu presu. Ljuštenje semena je izvršeno na ljuštilici sa uklanjanjem ljuske strujom vazduha i gravitacijom. Rezultujuća mešavina ljuske, jezgra i neoljuštenog semena je razdvojena, ljuska je uklonjena strujom vazduha, dok je oljušteno jezgro odvojeno od neoljuštenog i slomljenog semena gravitacijom. Ulja su proizvedena presovanjem oljuštenih jezgara, nakon različitog vremena skladištenja semena, sa dodatkom određenog sadržaja nečistoće i ljuske prema eksperimentalnom dizajnu (tabela 1). Uzorci su presovani korišćenjem svaki put po 5 kg pripremljenog materijala. Presovanje je obavljeno na pužnoj presi ("Anton Fries", Nemačka), kapaciteta $6-9 \text{ kg h}^{-1}$, i brzinom obrtaja puža 30-45 o/min. Temperatura ulja na izla-

zu iz prese iznosila je 40-45°C. Ispresovana ulja su držana na sobnoj temperaturi (20-25°C) u toku 24 časa radi sedimentacije rezidua, potom je gornji sloj dekantiran i filtriran kroz laboratorijski filter papir. Uzorci ulja su do analiza čuvani u staklenim bocama u frižideru pri temperaturi od 4°C.

Nečistoća koja je korišćena u eksperimentima je sadržala materije organskog porekla, uobičajeno prisutne u masi semena posle žetve (masna prašina, suvi delovi biljaka, stablo, list, ostaci cveta, razna semena i dr.). Vrednosti kiselinskog broja nečistoće bile su velike, od 38.75±0.13 (na početku) do 131.01±0.02 mgKOH/g (nakon 12 meseci skladištenja).

Metode ispitivanja

Kiselinski broj (Kbr) (SRPS EN ISO 660:2011), izražen kao mgKOH/g je određen titracijom rastvora ulja u 1:1 etanol:etar sa etanolnim rastvorom KOH u prisustvu indikatora.

Sadržaj vlage i isparljivih materija je određen konvencionalnom metodom sušenja pri temperaturi od 103±2°C do konstantne mase suvog ostatka (SRPS EN ISO 662:2009).

Eksperimentalni dizajn i statistička analiza

Primenjena je *RSM* metoda da bi se ispitao uticaj sastava materijala za presovanje na kiselost i sadržaj vlage uzoraka izvojenog ulja. Nezavisno promenljivi faktori bili su vreme skladištenja, sadržaj nečistoće i sadržaj ljuske. Na dobijenim rezultatima ispitivanih parametara analiziranih uzoraka ulja primenjen je trofaktorski plan eksperimenata na tri nivoa po Box-Behnken dizajnu (BBD) ($\alpha=3$) (Myers i sar., 2009) koji predviđa 13 nezavisnih merenja. Stvarne i kodirane vrednosti prediktora su prikazane u tabeli 1, za sve uzorke, izuzev za uzorke broj 5 i 15, koji nisu bili obuhvaćeni BBD dizajnom. To su ulja koja su, prema nepublikovanim rezultatima naših prethodnih istraživanja, dodata u ova istraživanja, budući da imaju minimalne (uzorak broj 5) i maksimalne (uzorak broj 15) vrednosti ispitivanih nezavisno promenljivih. Zavisno promenljive su bile vrednosti sadržaja vlage i kiselinskog broja kao odzivi modela. *RSM* metoda je primenjena na eksperimentalno dobijenim rezultatima primenom komercijalnog statističkog paketa *Statistica 12*. Eksperimentalno dobijeni podaci su predstavljeni kao model jednačine drugog stepena na bazi matematičkog modela, koji je prikazan jednačinom (1):

$$Y_i = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 \quad (1)$$

gde je: Y_i -odziv; X_1 -vreme skladištenja semena (mesec); X_2 -sadržaj nečistoće (%); X_3 -sadržaj ljuske (%); a $b_0, b_1, b_2, b_3, b_{11}, b_{22}, b_{33}, b_{12}, b_{13}, b_{23}$ su regresioni koeficijenti.

Višestruka regresiona analiza je sprovedena primenom istog softvera koji je korišćen i za eksperimentalni dizajn. Podaci su predstavljeni u obliku srednje vrednosti ± standardna devijacija (*SD*). Statistička značajnost koeficijenata u regresionoj jednačini je ispitivana pomoću analize varijanse, *ANOVA* metode, ($p<0.05$), za svaki odziv. Za dodatnu proveru modela korišćen je koeficijent determinacije (R^2). Jednofaktorijska analiza varijanse (*ANOVA*) i *Tukey* test primenjeni su radi određivanja statistički značajne razlike između rezultata ($p<0.05$). Trodimenzioni grafici odzivnih površina su korišćeni da bi se objasnio efekat nezavisno promenljivih-prediktora na vrednosti odzivnih varijabli.

REZULTATI I DISKUSIJA

1. Uticaj vremena skladištenja, sadržaja nečistoće i ljuske semena na kiselinski broj uzoraka hladno presovanih ulja suncokreta

Eksperimentalni dizajn, kao i vrednosti kiselinskog broja i sadržaja vlage, dobijeni analizom uzoraka ulja prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Stvarne i kodirane vrednosti nezavisno promenljivih u eksperimentalnom dizajnu i rezultati¹ kiselinskog broja (Y_1) i sadržaja vlage (Y_2) uzoraka hladno presovanih ulja suncokreta
Table 1. Real and coded values of independent variables in the experimental design and results¹ of acid value (Y_1) and moisture content (Y_2) of cold pressed sunflower oil samples

Broj uzorka	Vreme skladištenja (mesec)		Sadržaj nečistoće (%)		Sadržaj ljuske (%)		Y_1 (mgKOH/g)	Y_2 (%)
	Stvarna vrednost	Kodirana vrednost	Stvarna vrednost	Kodirana vrednost	Stvarna vrednost	Kodirana vrednost		
1	0	-1	0	-1	16	0	0.26±0.00 ^{aa ab}	0.03±0.01 ^{2 aaa}
2	0	-1	5	0	0	-1	0.49±0.01 ^{aba}	0.03±0.01 ^{aaa}
3	0	-1	5	0	32	+1	0.63±0.02 ^{abb}	0.05±0.02 ^{aaa}
4	0	-1	10	+1	16	0	0.74±0.03 ^{ac ab}	0.08±0.02 ^{aba}
5*	0	-	0	-	0	-	0.21±0.00 ^{aaa}	0.01±0.00 ^{aaa}
6	6	0	0	-1	0	-1	0.23±0.01 ^{aaa}	0.05±0.01 ^{aaa}
7	6	0	0	-1	32	+1	0.36±0.01 ^{aab}	0.06±0.01 ^{aaa}
8	6	0	5	0	16	0	0.59±0.04 ^{ab ab}	0.05±0.01 ^{aaa}
9	6	0	10	+1	0	-1	1.50±0.02 ^{aca}	0.06±0.01 ^{aba}
10	6	0	10	+1	32	+1	1.13±0.05 ^{acb}	0.06±0.01 ^{aba}
11	12	+1	0	-1	16	0	1.78±0.02 ^{ba ab}	0.05±0.01 ^{aaa}
12	12	+1	5	0	0	-1	1.95±0.02 ^{bba}	0.04±0.01 ^{aaa}
13	12	+1	5	0	32	+1	2.44±0.02 ^{bbb}	0.03±0.01 ^{aaa}
14	12	+1	10	+1	16	0	2.31±0.03 ^{bc ab}	0.05±0.01 ^{aba}
15*	12	-	10	-	32	-	3.07±0.01 ^{bc b}	0.06±0.00 ^{aba}
<i>Srednja vrednost</i>							<i>1.18±0.93</i>	<i>0.05±0.02</i>
<i>Opseg vrednosti</i>							<i>0.21-3.07</i>	<i>0.01-0.08</i>

¹Navedene vrednosti su srednja vrednost tri određivanja ± SD; ²Različita mala slova u kolonama ukazuju na postojanje statistički značajnih razlika ($p < 0.05$); *uzorci ulja koji su dodati u istraživanja

Matematičkom obradom rezultata dobijen je regresioni model za kiselinski broj ispitivanih ulja, u funkciji analiziranih varijabli, koji je prikazan jednačinom (2), koja sledi:

$$Y_1 = 0.396 - 0.124X_1 + 0.018X_1^2 + 0.046X_2 - 0.024X_3 + 0.001X_3^2 + 0.007X_1X_2 + 0.001X_1X_3 - 0.001X_2X_3 \quad (2)$$

Karakteristike primenjenog modela su: $F=10.85$, $p=0.002$; $R^2=0.97$ (tabela 2) i one ukazuje da je primenjeni model odgovarajući i da obezbeđuje dobro slaganje između predviđenih i postignutih vrednosti. To potvrđuje i primer ulja proizvedenog presova-

njem svežeg semena uz dodatak 5% nečistoće i 32% ljuske (uzorak broj 3) kod koga su predviđena i izmerena vrednost kiselinskog broja bile identične, 0.63 mgKOH/g. Slobodne masne kiseline u ulju su nepoželjne, budući da značajno narušavaju kvalitet hladno presovanih ulja (Matthäus i Brühl, 2008), pa je cilj primenjenog modela bilo postizanje minimalne vrednosti.

Tabela 2. Značajnost regresionog modela (F -vrednost) i efekat procesnih varijabli na kiselinski broj (Y_1) i sadržaj vlage (Y_2) hladno presovanih ulja suncokreta

Table 2. The significance of the regression model (F -value) and the effect of process variables on the acid value (Y_1) and moisture content (Y_2) of cold-pressed sunflower oil

Koeficijenti regresije	Y_1 (mgKOH/g)	Verovatnoća (p -vrednost*)	Y (%)	Verovatnoća (p -vrednost*)
b_0	0.396	0.227	-	-
b_1	-0.124	0.082	-	-
b_2	0.046	0.452	-	-
b_3	-0.024	0.307	-	-
b_{12}	0.007	0.700	-	-
b_{13}	0.001	0.338	-	-
b_{23}	-0.001	0.467	-	-
b_{11}	0.018	0.007	-	-
b_{22}	-	-	-	-
b_{33}	0.001	0.244	0.054	<0.001
F -vrednost modela	10.85	-	12.81	-
p -vrednost modela	0.002	-	0.001	-
R^2	0.97	-	0.70	-

b_1, b_2, b_3 -linearni regresioni koeficijenti; b_{12}, b_{13}, b_{23} -interakcion regresioni koeficijenti; b_{11}, b_{22}, b_{33} -kvadratni regresioni koeficijenti; R^2 -regresioni koeficijent modela; *značajnost od $p < 0.05$

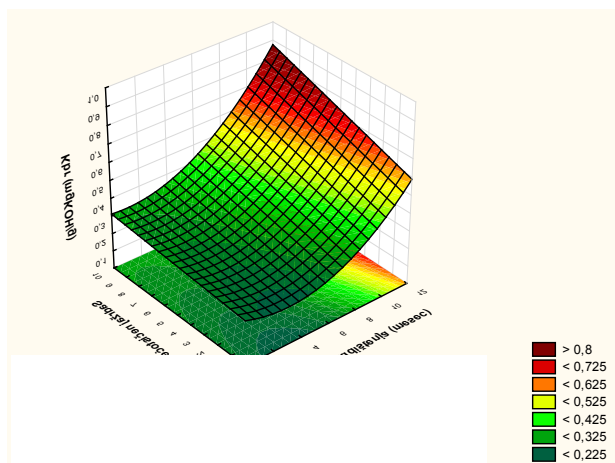
Matematičkom obradom rezultata (tabela 2), uočava se da vreme skladištenja semena i prisustvo ljuske u materijalu za presovanje ima negativan linearan uticaj na kiselost ulja. Kvadratni uticaji vremena skladištenja i dodate ljuske ispoljavaju pozitivan efekat budući da povećavaju kiselost ulja. Poznato je da stajanjem dolazi do razlaganja triacilglicerola (hemijska hidroliza, aktivnost lipaze) i povećanja kiselosti, a prisutna nečistoća i ljuska, koje takođe karakteriše određeni sadržaj slobodnih masnih kiselina, dodatno povećavaju vrednosti kiselinskog broja ulja (Dimić, 2005). Međutim, izuzev uticaja

kvadrata vremena skladištenja, koji je statistički značajan ($p=0.007$, tabela 2) uticaji ostalih koeficijenata u modelu na sadržaj slobodnih masnih kiselina u ulju postoje, ali nisu statistički značajni. Izuzetak je kvadratni uticaj dodate nečistoće, koji ne ispoljava dejstvo na vrednost ovog parametra kvaliteta ulja. Podaci iz literature ukazuju da se čuvanjem semena suncokreta narušava hemijski kvalitet semena, kao i ulja, pri čemu kiselost raste (Robertson i sar., 1984; Perretti i sar., 2004; Bax i sar., 2004). Dimić i sar. (2004), su ispitivali uticaj vremena skladištenja semena, u periodu od 12 meseci, na kvalitet hladno

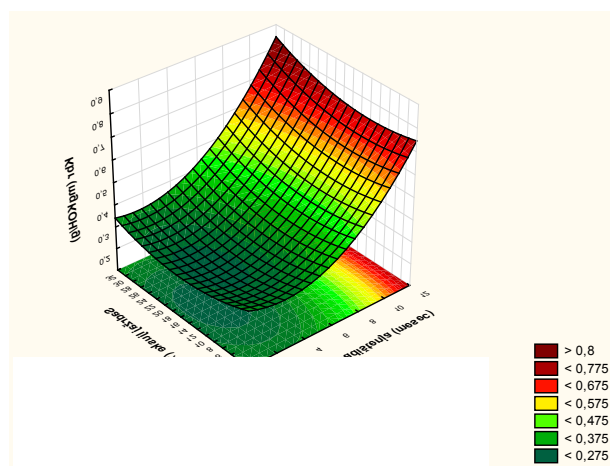
presovanih ulja suncokreta i zaključili da se produženjem vremena skladištenja semena povećava kiselost proizvedenog ulja. Tako u ulju iz semena standardnog, linolnog tipa, starog 3 meseca vrednost kiselinskog broja iznosila 1.66, a u ulju iz semena skladištenog godinu dana pri adekvatnim uslovima 2.44 mgKOH/g. Stoga je u ovim eksperimentima, očekivano, najveći sadržaj slobodnih masnih kiselina izmeren u uzorku dobijenom presovanjem semena starog 12 meseci (3.07 ± 0.01 mgKOH/g, uzorak 15) (tabela 1). Prema vrednosti kiselinskog broja, posle uzorka 15, sledi uzorak 13 (2.44 ± 0.02 mgKOH/g) i uzorak 14 (2.31 ± 0.03 mgKOH/g), dobijeni takođe presovanjem semena skladištenog godinu dana, i to u prisustvu 5-10% nečistoće i 16-32% ljuske.

O negativnom uticaju ljuske semena suncokreta na kiselost presovanog ulja govori i podatak koji su objavili Subramanian i sar. (1998), da je sadržaj slobodnih masnih kiselina ulja iz jezgra suncokreta 3.86 puta manji nego ulja iz neoljuštenog semena suncokreta (iznosi, redom, 0.99%, naspram 3.82%). Šmit i sar. (2005) su utvrdili da se i delimičnim uklanjanjem ljuske iz semena suncokreta presovanog na hladno, u odnosu na ulje proizvedenog iz celog semena, značajno smanjuje vrednost kiselinskog broja ulja, sa 3.88 na 1.06-1.73 mgKOH/g. O uticaju prisutne ljuske semena na povećanje kiselosti presovanih ulja lana govore podaci grupe autora Zheng i sar. (2003).

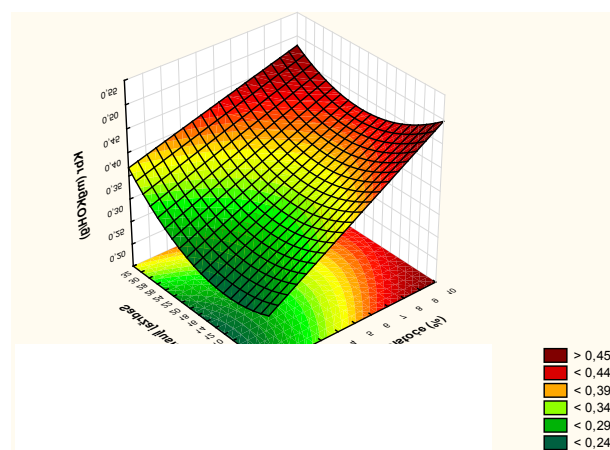
Nečistoća prisutna u masi semena suncokreta ima veći sadržaj slobodnih masnih kiselina u odnosu na samo seme, pa ona svojim prisustvom povećava kiselost presovanog ulja (Rac, 1964; Shukla i sar., 1992; Dimić, 2005). Primenjenim matematičkim modelom utvrđeno je da interakcija nečistoće i ljuske prisutne u masi semena doprinosi smanjenju vrednosti sadržaja slobodnih masnih kiselina ulja, ali njihov uticaj nije statistički značajan. Međutim, *p* vrednosti prikazane u tabeli 2 ukazuju da interakcije između vremena skladištenja i sadržaja nečistoće i vremena skladištenja i sadržaja ljuske utiču na povećanje kiselosti ulja suncokreta (slika 1, 2, 3).



Slika 1. Odzivna površina za kiselinski broj (Kbr) hladno presovanog ulja suncokreta u zavisnosti od vremena skladištenja i sadržaja nečistoće
Figure 1. Response surface plot for acid value (AV) of the cold pressed sunflower oil as affected by the time of storage and content of impurities



Slika 2. Odzivna površina za kiselinski broj (Kbr) hladno presovanog ulja suncokreta u zavisnosti od vremena skladištenja i sadržaja ljuske
Figure 2. Response surface plot for acid value (AV) of the cold pressed sunflower oil as affected by the time of storage and content of hull



Slika 3. Odzivna površina za kiselinski broj (Kbr) hladno presovanog ulja suncokreta u zavisnosti od sadržaja nečistoće i sadržaja ljuske
Figure 3. Response surface plot for acid value (AV) of the cold pressed sunflower oil as affected by the content of impurities and content of hull

Analizom rezultata vrednosti kiselinskog broja uočeno je postojanje statistički značajnih razlika među ispitivanim uzorcima ($p < 0.05$) (tabela 1). Najniža vrednost utvrđena je u ulju proizvedenom iz svežeg i čistog jezgra suncokreta, 0.21 mgKOH/g (uzorak 5), što upućuje na zaključak da je primenjeno polazno seme suncokreta bilo izuzetno dobrog kvaliteta.

Sadržaj slobodnih masnih kiselina u analiziranim uljima se kretao u rasponu od 0.21 ± 0.00 do 3.07 ± 0.01 mgKOH/g (tabela 1), što je u skladu sa podacima iz literature, koji za hladno presovano ulje suncokreta iznose od 0.66 (Romanić i Dimić, 2006) do 3.85 mgKOH/g (Radoičić i sar., 2002; Dimić i Dimić, 2002).

U jestivom nerafinisanom ulju suncokreta sadržaj slobodnih masnih kiselina kreće se u opsegu od 0.42 do 3.85 mgKOH/g (Cvengroš, 1995; De Panfilis i sar., 1998), u devičanskom ulju publikovana je vrednost od 0.33 mgKOH/g (Radoičić i sar., 2002), dok u hladno presovanom ulju oleinskog tipa od 0.37 mgKOH/g (Dimić i Romanić, 2004) do 0.75 mgKOH/g (Romanić i Dimić, 2006). Cvengroš (1995) je za ulje suncokreta proizvedeno presovanjem na hladno oljuštenog semena/jezgra suncokreta naveo podatak za kiselinski broj od 0.98 mgKOH/g.

U ulju ekstrahovanom iz neoljuštenog semena suncokreta, primenom n-heksana, sadržaj slobodnih masnih kiselina iznosi od 1.43 do 2.54% (Perez i sar., 2004), a Yoshida i sar. (2002) su takođe za ulje ekstrahovano rastvaračem objavili vrednosti do čak 17.2%. Rafinacijom se značajno eliminišu slobodne masne kiseline, stoga, rafinisana ulja imaju manju kiselost od nerafinisanih (Matthäus i Brühl, 2008; Vidrih i sar., 2010). U rafinisanom ulju suncokreta vrednost kiselinskog broja po literaturnim podacima se kreće do 0.40 mgKOH/g (Dimić i sar., 2003; Romanić i Dimić, 2006; Vidrih i sar., 2010), u rafinisanom visokooleinskom ulju od 0.015 do 0.055 (Vidrih i sar., 2010), dok u hladno presovanom ulju suncokreta nakon rafinacije 0.08 mgKOH/g (Cvengroš, 1995).

2. Uticaj vremena skladištenja, sadržaja nečistoće i ljuske semena na sadržaj vlage u uzorcima hladno presovanih ulja suncokreta

Sadržaj vlage je takođe parametar hemijskog kvaliteta jestivog nerafinisanog ulja, koji je definisan i zakonskom regulativom (Codex standard, 1999; Dimić i Turkulov, 2000; Pravilnik, 2006, 2013). Redukovan regresioni model prezentovan u jednačini (3) omogućava predviđanje efekata analiziranih nezavisnih varijabli na sadržaj vlage ulja:

$$Y_2 = 0.054X_3^2 \quad (3)$$

Primenjenim regresionim modelom za predviđanje sadržaja vlage može se objasniti 70% postignutih rezultata. *F*-vrednost, koja iznosi 12.81 sa ukupnim $p = 0.001$, ukazuje da je primenjeni model odgovarajući i da obezbeđuje dobro slaganje između predviđenih i postignutih vrednosti sadržaja vlage (tabela 2). Najbolje slaganje ovih vrednosti ustanovljeno je u uzorku 6, proizvedenom presovanjem potpuno čistog jezgra semena suncokreta starog 6 meseci (kod kojeg su predviđena i postignuta vrednost bile identične, 0.05%).

S obzirom da veći sadržaj vlage uslovljava pogoršanje kvaliteta ulja, pri optimizaciji vrednosti varijabli, za vrednost sadržaja vlage kao odziva, cilj modela bilo je postizanje minimalne vrednosti. Utvrđeno je da na sadržaj vlage u analiziranom ulju uticaj ispoljava samo kvadratni efekat dodate ljuške semena, koji statistički značajno doprinosi povećanju vrednosti ovog parametra kvaliteta ulja ($p < 0.001$; tabela 2). Šmit i sar. (2005) su utvrdili da se delimičnim uklanjanjem ljuške iz semena suncokreta smanjuje sadržaj vlage hladno presovanog ulja, sa 0.09-0.14 na 0.07-0.11%. Međutim, grupa autora Isobe i sar. (1992) su došli do suprotnih podataka. Naime ovi autori su naveli da se ljuštenjem semena povećava sadržaj vlage u ulju. Matematičkom obradom je sasvim neočekivano ustanovljeno i to da svi ostali koeficijenti u modelu uopšte ne ispoljavaju uticaj na sadržaj vlage (tabela 2).

Svi analizirani uzorci ulja su imali malu vrednost sadržaja vlage, a utvrđeno je i postojanje značajnih razlika u njihovom sadržaju u uzorcima pripremljenim presovanjem polaznog materijala različitog sastava i kvaliteta ($p < 0.05$) (tabela 1). Sadržaj vlage u ispitivanim uzorcima ulja se kretao u intervalu vrednosti od 0.01 ± 0.00 u uzorku 5 (ulje proizvedeno presovanjem potpuno čistog i svežeg jezgra semena suncokreta) do $0.08 \pm 0.02\%$ u uzorku 4 (ulje proizvedeno iz svežeg jezgra uz dodatak maksimalnog sadržaja nečistoće 10% i 16% ljuške).

Sadržaj vode u jestivom ulju suncokreta ima različite vrednosti. Tako u rafinisanom ulju najčešće iznosi od 0.03 do 0.05% (Dimić i sar., 2003), u ulju presovanom na hladno 0.10% (ulje oleinskog tipa) i od 0.03% (Radoičić i sar., 2002) do 0.10% za ulje linolnog tipa (Dimić, 2000). U hladno presovanom ulju poreklom iz Mađarske sadržaj vlage ima vrednost 0.08%, a u ulju iz Italije, 0.10 (Dimić i Dimić, 2002). U devičanskom ulju suncokreta sadržaj vlage iznosio je 0.22% (Radoičić i sar., 2002). U presovanom ulju poreklom iz različitih sirovina

vrednosti sadržaja vlage su takođe različite. Tako na primer, u hladno presovanom ulju konoplje, lana, susama, soje i tikve, sadržaj vlage iznosi, respektivno, 0.07 (Berenji i sar., 2005), 0.45-1.08 (Choo i sar., 2007), 0.08; 0.09 i 0.06-0.09% (Dimić, 2000).

Optimizacija odziva

Variranjem vremena skladištenja semena (0, 6, 12 meseci), sadržaja nečistoće (0, 5, 10%) i sadržaja ljuške (0, 16, 32%), optimizovan je sastav polaznog materijala za presovanje u cilju postizanja najboljeg kvaliteta hladno presovanih ulja suncokreta u pogledu postizanja minimalne vrednosti kiselinskog broja i sadržaja vlage, kao odziva. Generisani model adekvatno objašnjava variranje odziva sa veoma visokom vrednosti R^2 (minimum R^2 je iznosio 0.99). To ukazuje da se većina varijacija može dobro objasniti kvadratnim modelom i da se može smatrati adekvatnim sa $p < 0.05$.

Rezultatima sprovedenog istraživanja je utvrđeno i prikazano da se kiselinski broj i sadržaj vlage hladno presovanih ulja suncokreta mogu dobro predvideti korišćenjem *RSM* metode, kao pouzdane i efektivne tehnike za analiziranje uticaja tri selektovane variable i njihovih međusobnih interakcija za definisanje i predviđanje osnovnog hemijskog kvaliteta hladno presovanih ulja suncokreta. Grafici površi i matematički modeli su pokazali da je vreme skladištenja semena značajna variabla za kiselinski broj ulja, a sadržaj ljuške za sadržaj vlage u ulju, kao odziva ovog modela. Presovanjem oljuštenog jezgra skladištenog do 7.5 meseci u prisustvu do 0.03% nečistoće postiže se najbolji kvalitet u pogledu kiselinskog broja (0.200 ± 0.00 mgKOH/g) i sadržaja vlage ($0.001 \pm 0.00\%$) hladno presovanih ulja suncokreta.

ZAKLJUČAK

Matematički modeli i grafička interpretacija su pokazali da je vreme skladištenja semena značajna variabla za kiselinski broj, a udeo ljuške za sadržaj vlage u hladno presovanom ulju suncokreta, kao odziva ovog modela. Ustanovljeno je da prisustvo različitog sadržaja nečistoće i ljuške semena u materijalu za presovanje, utiče na povećanje sadržaja slobodnih masnih kiselina, ali da njihov uticaj nije statistički značajan. Interakcije vremena skladištenja semena, sadržaja nečistoće i ljuške, ispoljavaju efekat na vrednosti kiselinskog broja, koji međutim nije statistički značajan.

Najbolji hemijski kvalitet ulja, odnosno minimalan sadržaj slobodnih masnih kiselina i vlage, postiže se presovanjem efikasno oljuštenog i očišćenog jezgra (sadržaja nečistoće do 0.03%) skladištenog do 7.5 meseci.

ZAHVALNICA

Autori se zahvaljuju Ministarstvu za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije za finansijsku podršku (Projekat: TR 31014), a takođe i Miroslavu Đurka iz mini-uljare Vitastil-Erdevik, na ustupanju celokupnog neophodnog materijala, pribora i opreme, kao i pruženoj pomoći pri sprovođenju procesa presovanja.

LITERATURA

1. Abramović, H., V. Abram (2005). Physico-chemical properties, composition and oxidative stability of camelina sativa oil. *Food Technol. Biotechnol.*, 43: 63-70.
2. Bax, M. M., M. C. Gely, E. M. Santalla (2004). Prediction of crude sunflower oil deterioration after seed drying and storage process. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 81: 511-515.
3. Bendini, A., S. Berbieri, E. Valli, K. Buchecker, M. Canavari, T. Gallina Toschi (2011). Quality evaluation of cold pressed sunflower oils by sensory and chemical analysis. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113: 1375-1384.
4. Berenji, J., Dimić, E., Romanić, R. (2005). Konoplja - potencijalna sirovina za hladno ceđena ulja, *Zbornik radova*, 46. Savetovanja industrije ulja, Petrovac na moru, Tehnološki fakultet, Novi Sad, pp.131-133.
5. Broadbent C.J., Pike O.A. (2003). Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in canola oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 81: 59-63.
6. Choo, W. S., J. Birch, J. P. Dufour (2007). Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 202-211.
7. Codex standard (1999). Codex standard for named vegetable oils, Codex stan 210-1999 (Izmenjen 2003, 2005)
8. Cvengroš J. (1995). Physical refining of edible oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72: 1193-1196.
9. De Leonardis, A., V. Mcciola, M. De Felice (2001). Chemical and commercial characteristic of cold pressed sunflower seed oils. *Ital. Food Bever. Technol.*, 25: 46-52.

10. De Panfilis, F., T. Gallina Toschi, G. Lercker (1998). Quality control for cold-pressed oils, *INFORM*, 9: 212-221.
11. Dimić, E., J. Turkulov, Đ. Karlović, N. Keser (1977). Kvalitet jestivih nerafinisanih ulja suncokreta u zavisnosti od načina dobijanja, 38. Savetovanje industrije ulja, Zbornik radova, Budva, pp. 23-30.
12. Dimić, E. (2000). Kontrola kvaliteta hladno presovanih ulja. *Acta Periodica Technologica*, 31: 165-174.
13. Dimić, E., J. Turkulov, J. (2000). Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, pp. 17-51, 111-140.
14. Dimić, E., V. Dimić (2002). Természetbarát étolajtermelés. Tudományos tanácskozás: Környezetkímélő mezőgazdasági és élelmiszeripari termelés Vajdaságban, Zbornik radova, Novi Sad, pp. 110-119.
15. Dimić, E., D. Tešanovi, R. Romanić, V. Vukša (2003). Promene kvaliteta jestivih rafinisanih ulja suncokreta tokom čuvanja, I Deo: Senzorski i hemijski kvalitet. *Uljarstvo*, 34 (3-4): 25-31.
16. Dimić, E., D. Škorić, R. Romanić, V. Dimić (2004). Uticaj vremena čuvanja semena na kvalitet hladno ceđenog ulja suncokreta oleinskog i linolnog tipa. *Uljarstvo*, 35 (1-2): 5-10.
17. Dimić, E., R. Romanić (2004). Analiza kvaliteta maslinovog ulja i hladno ceđenog suncokretovog ulja oleinskog tipa. *Uljarstvo*, 35 (3-4): 17-26.
18. Dimić, E. (2005). Hladno ceđena ulja, Monografija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, pp. 208-211, 221-225.
19. Frega, N., M. Mozzon, G. Lercker (1999). Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76: 325-329.
20. Isobe, S., F. Zuber, K. Uemura, A. Noguchi (1992). A new twin-screw press design for oil extraction of dehulled sunflower seeds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69: 884-889.
21. Koski, A., E. Psomiadou, M. Tsimidou, A. Hopia, P. Kefalas (2002). Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 214: 294-298.
22. Matthäus, B., L. Brühl (2004). Cold-pressed edible rapeseed oil production in Germany. *INFORM*, 15: 266-268.
23. Matthäus, B., L. Brühl (2008). Why is it so difficult to produce high-quality virgin rapeseed oil for human consumption? Review Article. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 110: 611-617.
24. R.H. Myers, D.C. Montgomery, C.M. Anderson (2009). Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiment, 3rd ed., Wiley, New York.
25. Perez, E. E., A. A. Carelli, G. H. Crapiste (2004). Chemical characterization of oils and meals from wild sunflower (*Helianthus petiolaris Nutt*). *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 81: 245-249.
26. Perretti, G., E. Finotti, S. Adamuccio, R. Della Sera, L. Montanari (2004). Composition of organic and conventionally produced sunflower seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 81: 1119-1123.
27. Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za jestiva biljna ulja i masti, margarin i druge masne namaze, majonez i srodne proizvode, Sl. list SCG br. 23/2006 i Sl. glasnik RS br. 43/2013.
28. Rac, M. (1964). Ulja i masti, Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja, Beograd.
29. Radoičić, J., E. Dimić, P. Zečević, S. Demković, M. Grujić, Lj. Bekić (2002). Prvi koraci za proizvodnju devičanskog ulja suncokreta u AD „Vital“. 43. Savetovanje industrije bilja: Proizvodnja i prerada uljarica, Zbornik radova, Budva, Crna Gora, pp. 143-149.
30. Raß, M., C. Schein, B. Matthäus (2008). Virgin sunflower oil. *Eur. J Lipid Sci. Technol.*, 110: 618-624.
31. Robertson, J. A., G. W. Chapman, R. L. Wilson (1984). Effect of moisture content of oil type sunflower seed on fungal growth and seed quality during storage. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61: 768-771.
32. Romanić, R., E. Dimić (2006). Održivost hladno ceđenog ulja suncokreta oleinskog i linolnog tipa. 47. Savetovanja industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica, Zbornik radova, Herceg Novi, Crna Gora, pp. 31-40.
33. Shukla, B., P. K. Srivastava, R. K. Gupta (1992). Oilseeds processing technology, Central institute of agricultural engineering, Nabi Bagh, India.
34. Subramanian, R., M. Nakajima, T. Kimura, T. Maekawa (1998). Membrane process for premium quality expeller-pressed vegetable oils. *Food Research International*, 31 (8): 587-593.
35. Šmit, K., E. Dimić, R. Romanić, K. Bjelobaba-Bošnjak, B. Mojsin (2005). Uticaj ljuske na kvalitet hladno ceđenog ulja suncokreta. 46. Savetovanje industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica, Zbornik radova, Petrovac na moru, Crna Gora, pp. 89-93.
36. Tynek, M., R. Pawlovicz, J. Gromadzka, R. Tylingo, W. Wardencki, G. Karlovits (2011). Virgin rapeseed oils obtained from different rape

- varieties by cold pressed method-their characteristic, properties and differences. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 113: 1-14.
37. Vidrih, R., S. Vidakovič, S. Abramovič (2010). Biochemical parameters and oxidative resistance to thermal treatment of refined and unrefined vegetable edible oils. Czech J. Food Sci., 28 (5): 376-384.
38. Yoshida, H., Y. Hirakawa, S. Abea, Y. Mizushinaa (2002). The content of tocopherols and oxidative quality of oils prepared from sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds roasted in a microwave oven. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 104: 116-122.
39. Zheng, Y., P. Wiesenborn, K. Tostenson, N. Kangas (2003). Screw pressing of whole and dehulled flaxseed for organic oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 80: 1039-1045.

ENERGY VALUE AND FATTY ACID PROFILE OF COMMERCIAL FAT SPREADS BASED ON OILSEEDS IN SERBIAN MARKET

Etelka B. Dimić, Vesna B. Vujasinović, Snežana Ž. Kravić, Bojan D. Borić

This study investigated energy values, based on oil and protein contents, and functional characteristic, based on fatty acid profile, of commercially available spreads (butter) in serbian market made from sunflower kernels, naked pumpkinseed, sesame seed, roasted peanut, and walnut. The obtained results have shown that the oil content was very high, in the range of $48.32 \pm 2.14\%$ (pumpkin seed spread) to $65.02 \pm 2.47\%$ (walnut spread). The protein content was also high and varied in a very broad range: from $19.65 \pm 0.01\%$ (walnut spread) to $37.50 \pm 0.08\%$ (pumpkin seed spread). The fatty acid composition of the spreads was very different but typical for the oilseed that was used as a main ingredient. Trans fatty acids were not found in any of the investigated spreads. Omega-6 essential linoleic fatty acid was present in all spreads, regardless of the spread type in the range of 9.70 ± 0.3 (peanut spread) to 59 ± 1.5 w/w% (walnut spread). However, omega-3 alpha-linolenic fatty acid was identified only in the walnut spread in a relatively high amount, $12.90 \pm 1.5\%$. These results indicated that all spreads were high in energy and nutritive values (regarding fatty acid composition) and can therefore be recommended to the wide population (children, adults, athletes, etc.).

Key words: spreads, energy value, oil and protein content, fatty acid composition

ENERGETSKA VREDNOST I MASNOKISELINSKI PROFIL KOMERCIJALNIH MASNIH NAMAZA NA BAZI SEMENA ULJARICA PRISUTNIH NA TRŽIŠTU SRBIJE

U današnje vreme se veliki značaj pridaje pravilnoj ishrani, što podrazumeva svakodnevno konzumiranje namirnica koje sadrže sve makro- i mikronutrijente, neophodne za pravilan rast, razvoj i funkciju organizma. Zahvaljujući tome na tržištu je prisutan veoma veliki broj proizvoda koji se označavaju kao funkcionalna hrana. To su proizvodi koji zahvaljujući raznim sastojcima pozitivno deluju na opšte stanje i zdravstveni status organizma. Složeni masni namazi su prehrambeni proizvodi u obliku emulzija sa širokim opsegom sadržaja masti. Najpoznatiji namaz je kikiriki puter, međutim u novije vreme se pojavljuju namazi i na bazi semena raznih uljarica, kao i jezgra orašastog voća. U ovom radu je ispitan sadržaj osnovnih i najvažnijih konstitutivnih sastojaka, ulja i proteina, kao i elementi funkcionalnih atributa na bazi masnokiselinskog profila složenih masnih namaza. Ispitivanja su sprovedena na komercijalnim masnim namazima proizvedenim od sirovog jezgra suncokreta, semena tikve goliće, semena susama, pečenog kikirikija i jezgra oraha. Dobijeni rezultati su ukazali na visoku energetska vrednost svih namaza, pri čemu se sadržaj proteina kretao u granicama od $19,65 \pm 0,01\%$ (namaz od oraha) do $37,50 \pm 0,08\%$ (seme tikve). Sadržaj ulja u korelaciji sa proteinima je takođe bio visok, u opsegu od $48,32 \pm 2,14\%$ (tikva) do $65,02 \pm 2,47\%$ (orah). Nasuprot tome, sadržaj vlage je bio izuzetno nizak, od $0,62$ do $2,67\%$. Masnokiselinski profil svakog namaza je bio svojstven polaznoj sirovini. Trans masne kiseline nisu detektovane ni u jednom uzorku, dok je esencijalna linolna omega-6 masna kiselina bila prisutna, bez obzira na vrstu namaza, u količini od $9,70 \pm 0,3$ (kikiriki) do $59 \pm 1,5$ m/m% (orah). Alfa-linolenska, omega-3 masna kiselina je nađena jedino u namazu od oraha u količini od $12,90 \pm 1,5\%$. Dobijeni rezultati upućuju na zaključak da su svi namazi visoke energetske i nutritivne vrednosti (sa aspekta sastava masnih kiselina), te se mogu preporučiti širokom krugu potrošača (deca, odrasli, sportisti i dr.)

Ključne reči: masni namazi, energetska vrednost, sadržaj ulja i proteina, sastav masnih kiselina

INTRODUCTION

Much attention is given nowadays to healthy nutrition, which assumes daily intake of food that contains all macro- and micronutrients that are necessary for body growth and function. Some components in foods have the potential to modulate target functions

Dr Etelka B. Dimić, e-mail: edimic@uns.ac.rs; dr Snežana Ž. Kravić and Bojan D. Borić, University of Novi Sad, Faculty of Technology, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad; dr Vesna B. Vujasinović, The College of Hotel Management, Kneza Višeslava 70, 11030 Belgrade

in the body so as to enhance these functions and/or contribute towards reducing the risk of disease (Roberfroid, 2000). For that reason there are many food products currently available on the market that are sold as functional foods. The unique features of functional food by a European consensus are: being a conventional or everyday food, to be consumed as part of the normal diet, composed of naturally occurring components, have a positive effect on target function(s), may enhance well-being and health or reduce the risk of disease, provide health benefits so as to improve the quality of life (Roberfroid, 2000; Bellisle *et al.*, 1998). Fat based spreads are food products with a very broad range of oil/fat content and can be made without the addition of water. These are special products which include different nutrients that have a positive effect on general health (Dimić *et al.*, 2002). Although peanut butter is still the most popular fat based spread (Woodroof, 1983) other spreads based on oilseeds (Radočaj *et al.*, 2012; Dreher *et al.*, 1983) and nuts (Shakerardekani *et al.*, 2013), as natural food, are emerging into the market.

Spreads are products that are obtained using a very simple technological process, where the milling (particle size reduction) is the most important stage for production as that affects the textural, rheological characteristics and overall quality of the spreads. However, there is a wide variation in the quality of spreads as many types of ingredients can be used for their production. Proper combination of these ingredients during production is required to ensure a stable spread product. The basic formulation of fat spread based on oilseeds and nuts usually contains the following ingredients: (a) selected seeds or selected, blanched, dry roasted nuts, (b) sweeteners, (c) salt, (d) vegetable oils, (e) emulsifiers, (f) protein sources and (g) flavorings (Shakerardekani *et al.*, 2013; Dimić *et al.*, 2006; Borić, 2013). Considering the region of our country and the availability of oilseeds, the common raw materials for the manufacturing of fat-based spreads are sunflower and naked pumpkin seed. Apart from oilseeds, research has been conducted using hull-less pumpkin oil press cake, which is a by-product in the process of manufacturing cold-pressed and roasted pumpkin oils (Dimić *et al.*, 2006; Radočaj *et al.*, 2011).

The aim of this study was to investigate energy values, fatty acid profile and functional characteristics, highlighting essential and *trans* fatty acids of commercially available fat spreads based on oilseeds and walnuts purchased from the local market.

EXPERIMENTAL

Materials and methods

Five different fat spreads of plant origin labelled as: sunflower butter, pumpkin butter, sesame butter, peanut butter and walnut butter were evaluated in this study. All spreads were purchased randomly from local supermarkets. The spreads were packaged in small glass jars, net weight of 190 g (sesame and walnut butter) and 200 g (sunflower, peanut and pumpkin butter), and had a declared shelf life of 12 months.

Standard methods for oil, protein and water content were used: SRPS EN ISO 659:2011 – for oil content (where the extraction was carried during 8 hours using *n*-hexane); ISO 937:1978 – for proteins and SRPS EN ISO 662:2009 – for water content.

Fatty acid composition, including *trans* isomers, was determined by the gas chromatography (method SRPS EN ISO 15304:2009), while methylesters were prepared according to methodology as described in SRPS EN ISO 12966-2:2011. Oil was extracted from spreads using a cold extraction method (Dimić and Turkulov, 2000).

The experimental values are expressed as means of three determinations \pm standard deviation.

RESULTS AND DISCUSSION

Results of chemical analysis of investigated spreads, including protein and oil content, as the most important nutritive components, are shown in Table 1.

As results indicated, the highest percentage of product contents consisted of oils and proteins. Protein content varied from 19.65 to 37.50% in walnut and pumpkin seed spreads, respectively. Protein content is in direct correlation with oil content. In the fatty spreads based on oilseeds with higher oil content it is naturally lower the protein content.

The most important component of the spread was the oil, which was present at 50% or higher, except the pumpkin seed spread, which had an oil content of 46.32%. Protein and oil content was very high in all spreads, ranging from 77% in peanut butter to 85% in walnut spread. It is obvious that these spreads were prepared without addition of water. Water content was below 3%, what is typical value for the raw materials (seeds and nuts). Other components of spreads were polysaccharides, minerals and fibers. Since all spreads had oil in the highest quantities, energy value analysis based on the oil content was performed. These results are presented in Table 2.

Table 1. The basic chemical composition of investigated spread samples
Tabela 1. Osnovni hemijski sastav ispitanih uzoraka namaza

Content (% w/w) Sadržaj (% s.m.)	Sunflower Suncokret	Pumpkin Tikva	Sesame Susam	Peanut Kikiriki	Walnut Orah
Protein – P	23.45±0.23	37.50±0.16	24.95±0.06	25.90±0.08	19.65±0.00
Oil – O	54.77±7.60	46.32±2.14	57.74±6.00	51.00±1.41	65.02±2.47
Σ P+O	78.22±3.91	83.82±1.15	82.69±3.03	76.90±0.75	84.67±1.23
Water	2.24±0.04	0.62±0.02	1.67±0.14	1.28±0.02	2.67±0.01

Table 2. Energy values of investigated spread samples based on oil phase
Tabela 2. Energetska vrednost namaza na bazi udela masne faze

Energy value (KJ/ 100g product) Energetska vrednost (KJ/100g proiz.)	Sunflower Suncokret	Pumpkin Tikva	Sesame Susam	Peanut Kikiriki	Walnut Orah
Declared energy value	2589	2450	2609	2768	2685
- according to the oil content	2064	1746	2176	1992	2451
- share of the total energy value (%)	79.72	71.26	83.40	69.43	91.28

These fat spreads are considered to be high-energy value foods, as the total energy value of the spreads was between about 2500 to 2800 KJ per 100 g of the product. This is due to oil content which had an energy value in the spread of 1746 KJ/100 g product (pumpkin seed spread) to 2451 KJ/100 g product (walnut spread). Oil energy value compared to the total energy value was between 70-90%. Considering the energy profile

of the investigated spreads, they can be recommended to many consumer categories, primarily to those that need higher energy intake. These types of spreads would potentially increase the food uses of oilseeds and nuts and introduce consumers to a healthier, non-animal origin breakfast-type snack food. Besides being an energy source, these spreads also have very pleasant sensory characteristics (Dimić *et al.*, 2013).

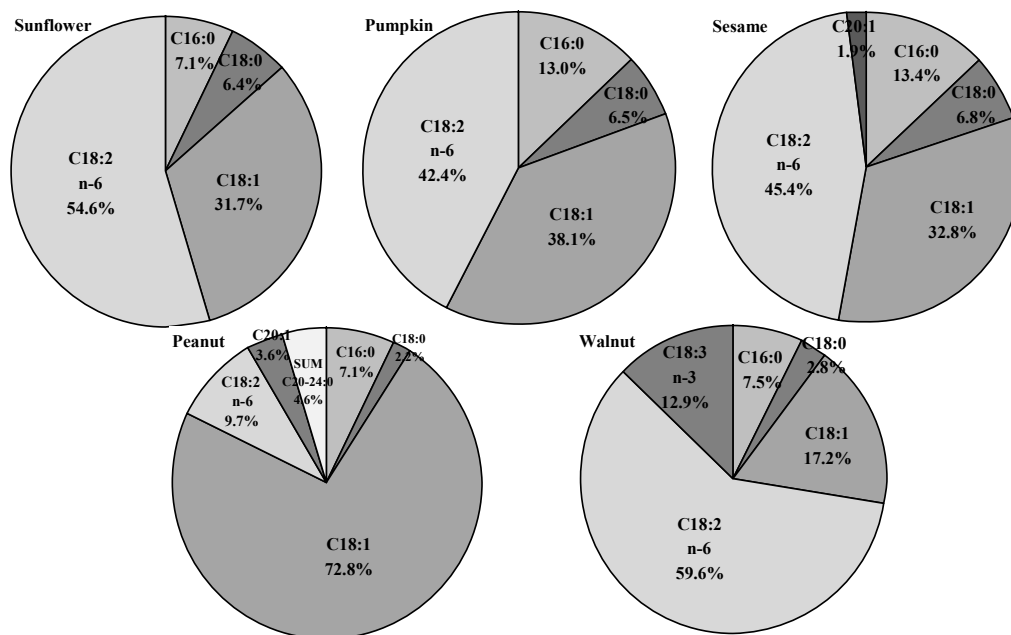


Figure 1. Fatty acid composition of oil from commercial fat spreads
Slika 1. Sastav masnih kiselina komercijalnih masnih namaza

Due to a very high content of oil, it is very important to consider the fatty acid profile of these spreads. Fatty acid analysis of cold extracted oils is presented in Figure 1.

There are significant differences in fatty acid profiles amongst the oils in investigated spreads (Figure 1). The lowest amount of fatty acids was from the saturated fatty acid group (SAFA), i.e. palmitic and stearic fatty acids. Palmitic fatty acid was found at 7% in sunflower, peanut butter and walnut spreads, while pumpkin seed and sesame spreads had about 13% of this fatty acid. Stearic acid content was around 6.5% (sunflower, pumpkin seed and sesame spreads), while the peanut butter and walnut spreads had much lower quantities of the stearic acid (2.3 and 2.8%, respectively). Other longer chain saturated fatty acids (C20:0-C24:0) were present in the peanut butter spread in small quantities (4.6%).

In terms of unsaturated fatty acids, oleic and linoleic were present in the highest quantities, and only walnut spread had alpha-linolenic omega-3/n-3 (ALA) fatty acid in relatively high quantity (12.9%). Oleic acid, as a monounsaturated fatty acid (MUFA), was present in the peanut butter in a very high quantity (72.8%), while its lowest content was found in the walnut spread (17.2%). In other spreads: sunflower, pumpkin and sesame seed, the oleic fatty acid content was 21.7, 38.1 and 32.8%, respectively.

Linoleic acid (omega-6 or n-6 essential fatty acid), as a representative of polyunsaturated fatty acids (PUFA), was present in all spreads; in the peanut butter spread in the amount of only 9.7%, while

in other spreads in the range of 42.4 to 59.6%. This fatty acid profile of spreads was in accordance with published literature (Dimić, 2005; Dubois *et al.*, 2007; Radočaj and Dimić, 2013).

The quality of oils, from the nutritive and health prospective in terms of the fatty acid profile and content, is very important for a modern diet worldwide. A number of fatty acids have the potential to be used as functional ingredients, because their intake has been found to be positively related to health. Coronary heart disease (CHD) is one of the major causes of death in adults in the Western world. Although there has been a trend of reduction in the rates of CHD, there has been an alarming increase in CHD in Eastern Europe. Many lines of evidence suggest that adverse dietary habits are contributing factor in CHD and so the first line of treatment levels is to modify the diet. This is implemented with a reduction of saturated fatty acids (SAFA). Candidate fats for the replacement of SAFA include polyunsaturated fatty acids of the omega-6 and omega-3 series and monounsaturated fatty acids. With regards to CHD, *trans* fatty acids appear to act similarly to SAFA in their effect on blood cholesterol, increasing the level of total and LDL (bad) cholesterol (Lovegrove and Jackson, 2000).

The main group of fatty acids, as well as their ratio in investigated spreads is shown in Table 3.

Table 3. *Trans* fatty acids and fatty acids ratio of investigated spread samples
Tabela 3. *Trans* masne kiseline i udeo pojedinih grupa masnih kiselina u namazima

Fatty acid Masna kiselina	Sunflower Suncokret	Pumpkin Tikva	Sesame Susam	Peanut Kikiriki	Walnut Orah
Σ <i>trans</i>	nd*	nd	nd	nd	nd
Σ SAFA	13.70	19.50	19.90	13.90	10.30
Σ MUFA	31.70	38.10	32.80	76.40	17.20
Σ PUFA	54.60	42.40	45.40	9.70	72.50
MUFA/SAFA	2.31	1.95	1.65	5.50	1.67
PUFA/SAFA	3.98	2.17	2.08	0.70	7.04
PUFA/MUFA	1.72	1.11	1.38	0.13	4.14

SAFA-saturated; MUFA-monounsaturated; PUFA-polyunsaturated fatty acids; * not detected $\leq 0.05\%$
SAFA-zasićene; MUFA-mononezasićene; PUFA-polinezasićene masne kiseline; *nije detektovano $\leq 0.05\%$

Absence of *trans* fatty acids is one of the major nutritional qualities of these spreads. Lower SAFA content is also desirable in vegetable oils and food,

due to undesirable health effects of these fatty acids. The highest content of SAFA was found in the sesame (19.9%) and pumpkin seed (19.5%) spreads,

while the content of palmitic fatty acid, which is found to cause atherosclerosis, was around 13% in both spreads.

Both sunflower and peanut butter spreads had SAFA content much lower than in sesame and pumpkin seed spreads (30% lower), while walnut spread had about 50% lower content of palmitic fatty acid than sunflower and peanut butter spreads. Palmitic fatty acid content in sunflower, walnut and peanut butter spreads was around 7%.

The nutritional value of oils is also measured by their MUFA/SAFA and PUFA/MUFA ratios. Generally, a higher content of MUFA and PUFA is desirable. The highest MUFA/SAFA ratio was determined in peanut spread, 5.5 (due to the high content of oleic fatty acid). It was 2.31 in the sunflower spread, while it was below 2 in other spreads.

The highest PUFA/MUFA ratio was determined in walnut butter (Woodroof, 1983; Dubois *et al.*, 2007), while it was much lower in other spreads (1.38 and 1.72 in sesame and sunflower spreads, respectively). The lowest PUFA/MUFA ratio was found in the peanut butter spread (0.13), while the ratio of 1.11 in the pumpkin seed spread indicated the best ratio between oleic and linoleic fatty acids.

It is also important to emphasize the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in the walnut spread (4.62) which is in the range recommended by the newest nutritional guidelines (Dubois *et al.*, 2007; Brinkman *et al.*, 2011; Schaefer, 2002). A very similar ratio of omega-6/omega-3 fatty acids in walnut oil was found by Radočaj and Dimić (2013), while in the sesame and pumpkin seed oils these values were very high (199.8 and 70, respectively), which indicated that ALA was present in this oils in negligible amounts.

CONCLUSIONS

Commercial spreads composed of oil seeds such as sunflower, hull-less pumpkin seed, sesame seed, peanut butter and walnut are high energy and nutritive value food products due to their very high oil and protein contents.

Oil content was between 48.32±2.14% (pumpkin seed spread) and 65.02±2.47% (walnut spread), which provided 69.43 to 91.28% total energy value of the spreads. Protein content was between 19.65% (walnut spread) to 37.50±0.16% (pumpkin spread) and it was in direct correlation with oil content. Based on the raw materials used, the fatty acid profile of spreads was very different. The most common fatty acids were oleic and linoleic, while walnut spread

had an alpha-linolenic essential fatty acid. The fatty acid profile of some spreads indicated high nutritive value, which was certainly enhanced by the fact that all were *trans* fatty acid free.

Acknowledgement

These results are part of the project No. TR 31014, Development of the new functional confectionery products based on oil crops, which is financially supported by the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia.

REFERENCES

1. Roberfroid, M. B. (2000). Defining functional food, in Functional foods – Concept to product. Eds. Gibson G.R. and Williams C.M., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp. 9-27.
2. Bellisle, F., Diplock, A.T., Hornstra, G., Koletzko, B., Roberfroid, M., Salminen, S. and Saris, W.H.M. (1998). Functional food science in Europe. *Br. J. Nutr.*, 80: supp. 1, S1-S193.
3. Dimić, E., Vukša, V. and Dimić, V. (2002). Margarin i masni namazi kao funkcionalna hrana. *Uljarstvo*, 33 (3-4): 3-8.
4. Woodroof, J. G. (1893). Peanuts: Production, processing, products. AVI Pub. Co., Westport, CT, USA, pp. 127-164.
5. Radočaj, O., Dimić, E. and Vujasinović, V. (2012). Development of a hull-less pumpkin (*Cucurbitapepo* L.) seed oil press-cake spread. *J. Food Sci.*, 77 (9): C1011-C1017.
6. Dreher, M.L., Schnatz, R.M., Holm, E.T. and Frazier, R.A. (1983). Sunflower butter: Nutritional evaluation and consumer acceptance. *J. Food Sci.*, 48 (1): 237-239.
7. Shakerardekani, A., Karim, R., Ghazali, H. M. and Chin, N. L. (2013). Textural, rheological and sensory properties and oxidative stability of nut spreads – a review. *Int. J. Mol. Sci.*, 14 (2): 4223-4241.
8. Dimić, E., Romanić, R., Peričin, D., Panić, B. (2006). Ispitivanje mogućnosti valorizacije nusproizvoda prerade semena uljane tikve golice. *Uljarstvo*, 37 (3-4): 29-36.
9. Borić, B. (2013). Characterization of spreads based on oilseeds, M.Sc. Thesis, University of Novi Sad, Faculty of Technology, 2013.
10. Radočaj, O., Dimić, E., Kakuka, Y. and Vujasinović, V. (2011). Chemical, nutritional and functional properties of a food by-product: Hull-less

- pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil press-cake. *Journal of Oil, Soap and Cosmetics*, 60 (1): 2-8.
11. Dimić, E., Turkulov, J. (2000). Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, pp. 151-153.
 12. Dimić, B. E., Vujasinović, B. V., Radočaj, F. O. and Borić, D. B. (2013). Sensory evaluation of commercial fat spreads based on oilseeds and walnut, *APTEFF*, 44: 21-30.
 13. Dimić, E. ((2005). Hladno ceđena ulja. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, pp. 53-145.
 14. Dubois, V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J. and Parmentier, M. (2007). Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109: 710-732.
 15. Radočaj, O. and Dimić, E. (2013). Physico-chemical and nutritive characteristics of selected cold-pressed oils found in the European market. *Rivista. Ital. Sost. Grasse*, 90 (4): 219-228.
 16. Lovegrove, J. A. and Jackson, K. G. (2000). Coronary heart disease, in *Functional foods – Concept to product*. Eds. Gibson G.R. and Williams C.M., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp. 97-139.
 17. Brinkman, M. T., Karagas, M. R., Zens, M. S., Schned, A. R., Reulen, R. C. and Zeegers, M. P. (2011). Intake of α -linolenic acid and other fatty acids in relation to the risk of bladder cancer; results from the new Hampshire case-control. *British Journal of Nutrition*, 106: 1070-1077.
 18. Schaefer, E. J. (2002). Lipoproteins, nutrition, and heart disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 75: 191-212.

ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET DEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA RAZLIČITIH MASLINARSKIH REGIJA LIBIJE PRI UMERENIM TEMPERATURAMA

Etelka Dimić, Tanja Lužaić, Vesna Vujasinović, Seddiq Esalami, Biljana Rabrenović, Aleksandar Fijat

Uvođenjem trenda zdrave ishrane maslinovo ulje postaje sve zastupljenije u ishrani stanovništva u Srbiji. Zahvaljujući bogatom antioksidativnom kapacitetu, maslinovo ulje ima pozitivan učinak na zdravlje ljudi i otpornije je od većine jestivih rafiniranih ulja na oksidaciju u uslovima skladištenja i pripreme ulja. U ovom radu ispitana je promena sadržaja komponenti sa antioksidativnim dejstvom u devičanskim maslinovim uljima proizvedenim na različitim maslinarskim područjima Libije, pri uslovima umereno povišenih temperature- Schaal-Oven testa. Ulja su temperirana na $63 \pm 2^\circ\text{C}$ u periodu od 28 dana a praćen je sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja, tokoferola i pigmenata. Temperiranje uzoraka dovelo je do opadanja sadržaja svih ispitivanih komponentata. Sadržaj ukupnih karotenoida u polaznim uzorcima kretao se u intervalu od 0,83 do 0,51 mg/kg, sadržaj ukupnih hlorofila od 39,50 do 21,10 mg/kg. Nakon 28 dana temperiranja sadržaj ukupnih karotenoida opao je na vrednosti od 0,02 do 0,13 mg/kg dok je sadržaj ukupnih hlorofila iznosio od 0,35 do 4,80 mg/kg. Sadržaj ukupnih fenola kretao su u intervalu od 49,69 do 244,20 mg/kg pre i od 12,53 do 108,34 mg/kg posle temperiranja, dok je sadržaj ukupnih tokoferola pre testiranja iznosio između 207,14 i 371,56 mg/kg i između 21,39 i 48,99 mg/kg posle testiranja.

Ključne reči: *devičansko maslinovo ulje, tokoferoli, fenoli, karotenoidi, hlorofili.*

ANTIOXIDANT CAPACITY OF VIRGIN OLIVE OIL FROM DIFFERENT GROWING AREAS OF LIBYA AT MODERATE TEMPERATURES

Introducing a trend of healthy alimentation olive oil is becoming more prevalent in the diet of the population in Serbia. Thanks to its rich antioxidant capacity, olive oil has a positive effect on human health and is resistant to most refined edible oils to oxidation under the conditions of storage and preparation of oil. In this study, the changes in the content of components with antioxidant activity in virgin olive oils produced in various olive growing areas of Libya in terms of moderate temperature-Schaal-Oven test. Oils are tempered at $63 \pm 2^\circ\text{C}$ over a period of 28 days followed by a content of phenolics, tocopherols and pigments. Tempered sample resulted in a decrease in the contents of all the tested components. The content of total carotenoids in the starting samples ranged from 0.83 to 0.51 mg/kg, the total chlorophyll content of 39.50 to 21.10 mg/kg. After 28 days of tempering the content of total carotenoids has decreased to the value of 0.02 to 0.13 mg/kg and the total chlorophyll content was between 0.35 and 4.80 mg/kg. Total phenol content varied in the range from 49.69 to 244.20 mg/kg before and from 12.53 to 108.34 mg/kg after tempering, while the content of total tocopherol before testing was between 207.14 and 371.56 mg/kg, and between 21.39 and 48.99 mg/kg after the test.

Key words: *virgin olive oils, tocopherols, phenolics, carotenoids, chlorophylls.*

UVOD

Zdravstveni benefiti konzumacije maslinovog ulja poznati su od davnina. Uzgoj maslina i proizvodnja maslinovog ulja datira iz perioda ranog

Dr Etelka Dimić, e-mail: edimic@uns.ac.rs; Tanja Lužaić, Seddiq Esalami, Aleksandar Fijat, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bul. cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija; dr Vesna B. Vujasinović, The College of Hotel Management, Kneza Višeslava 70, 11030 Belgrade; dr Biljana Rabrenović, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, Nemanjina 6, 11000 Beograd, Srbija

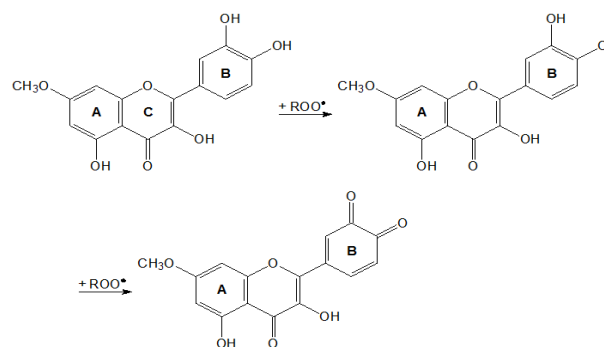
bronzanog doba (3150 do 1200 god. pre nove ere) (Vossen, 2007), a danas je maslinovo ulje široko rasprostranjeno u ishrani stanovništva, naročito na prostoru Mediterana. Mediteranski način ishrane Svetska zdravstvena organizacija preporučuje za zdrav i dugovečan život, a uticaj maslinovog ulja na zdravlje je višestruk (Garcia-Gonzales i sar., 2007). Maslinovo ulje je bogato komponentama sa antioksidativnim dejstvom koje su zaslužne za antiinflamatorno dejstvo ovog ulja, kao i za smanjenje rizika od nastanka kardiovaskularnih oboljenja (Garcia-Gonzales i sar., 2007).

Snažno antioksidativno dejstvo maslinovom ulju obezbeđuju bioaktivne komponente. U maslinovom,

kao i u drugim biljnim uljima, bioaktivne komponente su prisutne u malim količinama, svega oko 2%, hemijski su veoma heterogena grupa i mogu se klasifikovati u dve osnovne grupe jedinjenja, polarne i nepolarne (Murković i sar., 2004). Nepolarne komponente čine ugljovodoni, steroli, tokoferoli i masni alkoholi, dok polarne komponente čine fenoli, pigmenti i neka isparljiva jedinjenja. Glavne komponente bioaktivnih materija ulja čine fenolna jedinjenja, tokoferoli, karotenoidi i hlorofili.

Polifenoli su najvažnija grupa prirodnih antioksidanasa u maslinovom ulju. Ovi biomolekuli deluju tako što prekidaju lančanu reakciju oksidacije doniranjem vodonika slobodnim radikalima formiranim u procesu oksidacije, pri čemu nastaju stabilni radikali antioksidansa. Sastav polifenola je veoma složen, a najzastupljeniji polifenoli u maslinovom ulju su: tirozol, hidroksitirozol, proste fenolne kiseline, o-difenoli i esterifikovani derivati tirozola i hidroksitirozola. Tokom dužeg skladištenja devičanskog maslinovog ulja dolazi do porasta koncentracije tirozola i hidroksitirozola usled hidrolize njihovih složenih derivata (Cinquanta i sar., 1997). Međutim, aktivnost fenolnih jedinjenja u procesima pripreme hrane na visokim temperaturama drastično opada, jer dolazi do znatnog ubrzanja reakcije oksidacije i koncentracija hidroperoksida brzo opada, što smanjuje njihovu efikasnost. S obzirom da su hidroperoksidi proizvodi reakcije alkil-radikala ili peroksi-radikala i antioksidansa, njihova razgradnja bi čak dovela do lančanih, tzv. bočnih reakcija oksidacije, umesto do zaustavljanja oksidativnih procesa (Slika 1).

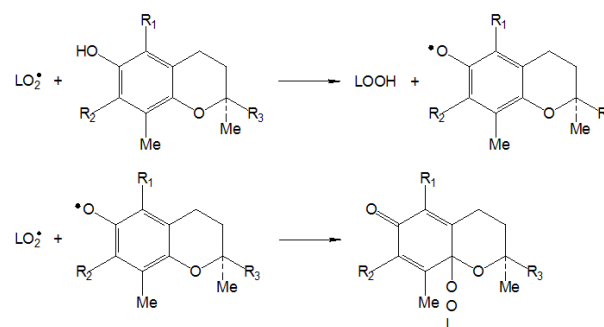
Tokoferoli pripadaju negliceridnim komponentama biljnih ulja čiji je sadržaj i sastav od posebnog značaja jer utiče na biološku vrednost ulja i doprinosi oksidativnoj stabilnosti. Tokoferoli predstavljaju zajedničko ime za grupu od četiri tokoferola (α , β , γ i δ) i četiri tokotrienola (takođe α , β , γ i δ). U maslinovom ulju pronađeni su α -, β - i γ -izomer tokoferola, dok tokotrienoli nisu prisutni u ovom ulju (Ezeh i sar., 2014). α -tokoferol, vitamin E, povećava biološku vrednost ulja, dok β - i γ -tokoferoli utiču na povećanje oksidativne stabilnosti. Sposobnost sintetisanja ove grupe jedinjenja imaju samo biljke. Zbog toga su biljna ulja i masti glavni izvor vitamina E. Vitamin E, zbog izrazite antioksidativne aktivnosti, ima važnu ulogu u ljudskom organizmu. Neutralisanjem slobodnih radikala i reaktivnih oblika kiseonika, tokoferoli sprečavaju oštećenja ćelija i smanjuju rizik od nastanka kancerogenih, kardiovaskularnih i drugih bolesti (Shekelle i sar., 2004).



Slika 1. Mehaniizam antioksidativnog dejstva polifenola (Chimi i sar., 1991)

Figure 1. The mechanism of antioxidant effects of polyphenols (Chimi *et al.*, 1991)

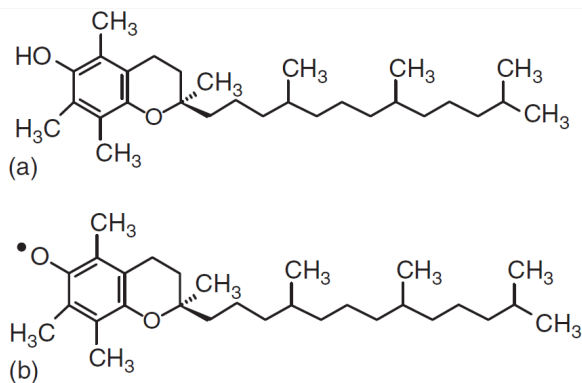
Pored blagotvornog dejstva na zdravlje ljudi, ova jedinjenja imaju veoma veliki uticaj na održivost ulja zbog svoje antioksidativne aktivnosti. Doprinos stabilnosti ulja ogleđa se u sprečavanju nastanka slobodnih radikala u fazi inicijacije, hvatanju nastalih slobodnih radikala, sposobnosti građenja helatnih kompleksa sa metalima i razgradnji hidroperoksida. Mehaniizam antioksidativnog dejstva tokoferola, prikazan na slici 2, zasniva se na tome da aktivni oblik vitamina E prenosi atom vodonika na lipidni slobodni radikal, pri čemu nastaje odgovarajući neradikalni proizvod i tokoferil radikal (Brigelius-Flohe, 1999).



Slika 2. Mehaniizam antioksidativnog dejstva tokoferola (Brigelius-Flohe, 1999)

Figure 2. The mechanism of antioxidant effects of tocopherols (Brigelius-Flohe, 1999)

Nastali tokoferil-radikal (slika 3) reaguje sa drugim slobodnim radikalom, ili međusobno, dajući novi neradikalni proizvod (Yamauchi, 1997). Jedan molekul tokoferola neutrališe dva slobodna radikala sa nezasićenim masnim kiselinama (Oral i sar., 2006). Na taj način, tokoferoli utiču na oksidativnu stabilnost lipida, što je dokazano u eksperimentima sa različitim uljima biljnog i životinjskog porekla (Jung i Min, 1990; Wagner i Elmadfa, 1999; Kulas i Ackman, 2001).

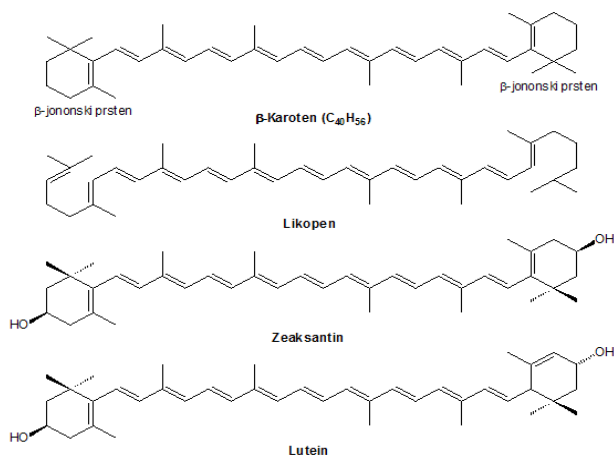


Slika 3. α -tokoferol (a) i α -tokoferil slobodni radikal (b) (Oral i sar., 2006)

Figure 3. α -tocopherol (a) and α -tocopheril free radical (b) (Oral *et al.*, 2006)

Antioksidativna aktivnost tokoferola nije ograničena samo na reakcije sa slobodnim radikalima. Nekoliko studija pokazuje da su ova jedinjenja u stanju da neutrališu singlet kiseonika ($1/2 O_2$), koji je takođe uzročnik lipidne oksidacije (Wagner i Elmadfa, 2000). Tokoferoli uklanjaju singlet kiseonika fizičkim ili hemijskim procesima. Fizički proces podrazumeva deaktivaciju putem mehanizma razmene naelektrisanja, dok hemijska deaktivacija predstavlja reakciju između tokoferola i singleta kiseonika, pri čemu nastaju oksidacioni produkti tokoferola (Kamal-Eldin i Appelqvist, 1996).

Hlorofil i derivati hlorofila su u prisustvu svetlosti najaktivniji promotori fotooksidacije ulja i u velikoj meri čine ulje podložnim oksidacionim procesima. Po nekim autorima derivati hlorofila, feofitin A, u mraku pokazuje blagi antioksidativni efekat, verovatno doniranjem vodonika slobodnim radikalima, čime se prekida lančana reakcija oksidacije (Velasco i Dobarganes, 2002).



Slika 4. Strukturne formule karotenoida (Chabera i sar., 2009)

Figure 4. Structural formulas of carotenoids (Chabera *et al.*, 2009)

Karotenoidi, posebno β -karoten, sprečavaju fotooksidaciju. Međutim, u odsustvu svetlosti i pri povišenim temperaturama karotenoidi i njihovi produkti oksidacije mogu da deluju i kao prooksidansi u uljima (Lee i Kim, 1992). Strukturne formule najzastupljenijih karotenoida u ulju prikazane su na slici 4.

MATERIJAL I METODE RADA

Ispitivana su tri uzorka devičanskih maslinovih ulja koja su proizvedena na različitim maslinarskim područjima Libije. Masline su bile roda 2013. godine, a plodovi su ručno skupljani i dopremljeni u uljaru manjeg kapaciteta (2-3t/24h). Opis primenjenog tehnološkog procesa izdvajanja ulja je sledeći: masline se najpre čiste, odstaranjuju se grančice, listovi i ostale nečistoće, zatim se plodovi peru vodom temperature 25-28°C. Beskrajnom trakom (sa ugrađenim preprekama) transportuju se do uređaja za mlevenje. Mlevenjem se plodovi usitnjavaju pri temperaturi 35-40°C, u periodu od 1-1,5h. Mlevenjem dobija se pasta u koju se dodaje voda temperature 40-60°C i meša 30-40 min. Cilj ove faze je da omogući odvajanje kapljica ulja iz mlevenih maslina. Zatim se pomoću centrifugalnog separatora (5000-7000 o/min) razdvaja vodeno-uljana faza od ostatka koji predstavlja kominu masline. Nakon centrifugiranja vodeno-uljana faza se upućuje na separator (2450-3000 o/min) gde se čisto ulje odvađa od vode. Izdvojeno ulje je filtrirano, punjeno u staklene boce i do ispitivanja čuvano u frižideru pri temperaturi od oko 8°C. Neporedno pred ispitivanja, uzorci su temperirani na sobnoj temperaturi tokom 24h (Lužaić, 2015).

Antioksidativna aktivnost ulja merena je određivanjem sadržaja komponenata sa antioksidativnim dejstvom pri uslovima Schaal-Oven testa. Uzorci ulja, sa karakteristikama prikazanim u tabeli 1, temperirani su u sušnici u kontaktu sa vazduhom, bez uticaja svetla, na temperaturi od $63 \pm 2^\circ C$, prema metodologiji koju su opisali Pokorny i sar. (1985), kao i Dimić i Turkulov (2000). Pojedinačni uzorci od svakog ulja u količini od po 50 ml, u otvorenim staklenim Petri pločama, temperirani su 28 dana u kontinuitetu, a ispitivanja su vršena periodično, nakon 2, 5, 7, 9, 14, 21 i 28 dana (Lužaić, 2015).

Tabela 1. Poreklo uzoraka devičanskih maslinovih ulja
Table 1. Origin of the samples of virgin olive oil

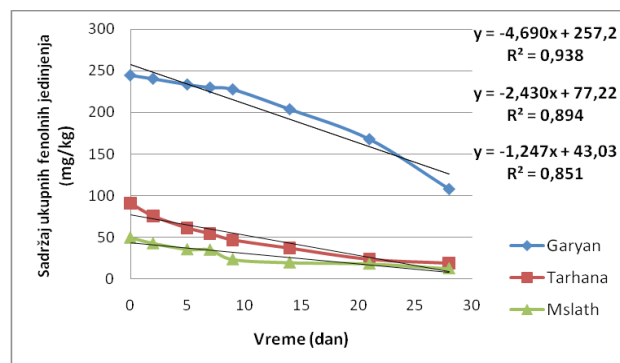
Sorta masline Cultivar	Područje proizvodnje Production region	Poreklo ulja Origin of oils
<i>Raghiani</i>	Garyan	Libija
<i>Hammudi</i>	Tarhana	Libija
<i>Raghiani</i>	Mslath	Libija

U uzorcima ulja analizirani su sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja (Haiyan i sar., 2007), sadržaj ukupnih tokoferola (Dimić i Turkulov, 2000), sadržaj ukupnih hlorofila, izražen kao sadržaj feofitina (Franzke, 1972) i sadržaj ukupnih karotenoida (Minguez Mosquera i sar., 1990). Svi rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost dva određivanja.

REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati svih analiza prikazani su grafički na slikama 5-8. Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri pojedinačna određivanja. Kao što je prikazano na slici 5, sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima maslinovog ulja opada sa porastom vremena provedenog pri uslovima Schaal-Oven testa. Pre podvrgavanja testu, uzorak sa područja Garyan imao je najveći sadržaj ukupnih fenola 299,68 mg/kg, nešto manje imao je uzorak Tarhana 90,98 mg/kg, zatim Mslath 49,69 mg/kg. Nakon 28 dana pod uslovima testa u uzorku Garyan pronađeno je 108,34 mg/kg (44,36 % od početne vrednosti), u uzorku Tarhana 18,82 mg/kg (20,69 %) i u uzorku Mslath 12,53 mg/kg (25,22 %). Vidljivo je da je u polaznom uzorku Garyan pronađena znatnija količina ukupnih fenolnih jedinjenja i da je nakon 28 dana pod uslovima Schaal-Oven testa u ovom uzorku i dalje prisutan značajan sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja, veći nego u polaznim uzorcima maslinovih ulja Tarhana i Mslath. Ovo ukazuje na veći antioksidativni kapacitet, odnosno na bolju održivost uzorka Garyan u odnosu na preostala dva uzorka.

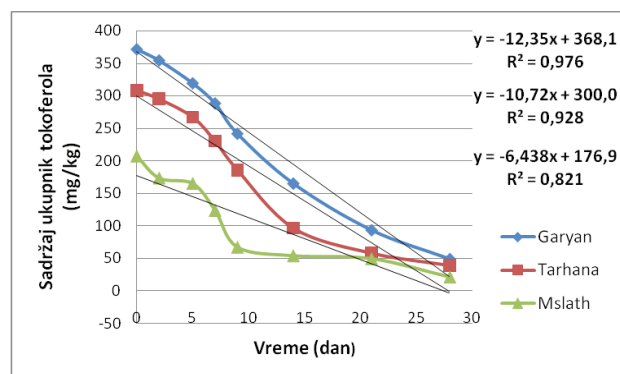
Iako je ulje sa područja Garyan i Mslath proizvedeno od istih sorti masline- *Raghiani*, velike razlike u sadržaju ukupnih fenolnih jedinjenja mogu biti rezultat uticaja područja proizvodnje maslina, uticaja različitih parametara tehnološkog procesa izdvajanja ulja ili uticaja različitog stepena zrelosti plodova masline.



Slika 5. Promena sadržaja ukupnih fenola tokom 28 dana čuvanja uzoraka ulja u uslovima Schaal-Oven testa

Figure 5. Change of total phenolics content in oil samples during 28 days at Schaal-Oven test

Na slici 5 vidi se da je smanjenje sadržaja fenolnih jedinjenja u uzorcima maslinovog ulja u zavisnosti od vremena provedenog pri uslovima Schaal-Oven testa skoro linearno sa koeficijentima korelacije bliskim jedinici. Promena sadržaja ukupnih tokoferola tokom 28 dana temperiranja uzoraka ulja u uslovima Schaal-Oven testa prikazana je na slici 6.



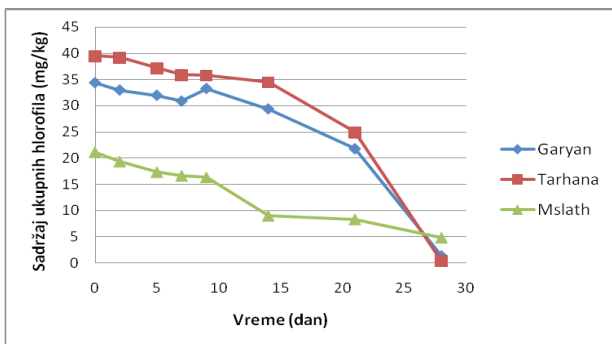
Slika 6. Promena sadržaja ukupnih tokoferola tokom 28 dana temperiranja uzoraka ulja u uslovima Schaal-Oven testa

Figure 6. Change of total tocopherols content in oil samples during 28 days at Schaal-Oven test

Primetno je da sadržaj ukupnih tokoferola u svim ispitivanim uzorcima opada tokom vremena izlaganja ulja povišenim temperaturama ($63 \pm 2^\circ\text{C}$), u prisustvu kiseonika. Najveća inicijalna koncentracija pronađena je u uzorku Garyan 371,56 mg/kg, nešto manja u uzorku Tarhana 307,77 mg/kg i najmanji inicijalni sadržaj ukupnih tokoferola pronađen je u uzorku Mslath 207,14 mg/kg. Sa porastom vremena provedenog pri uslovima testa zabeležen je skoro linearan pad sadržaja tokoferola sa koeficijentima korelacije veoma bliskim jedinici.

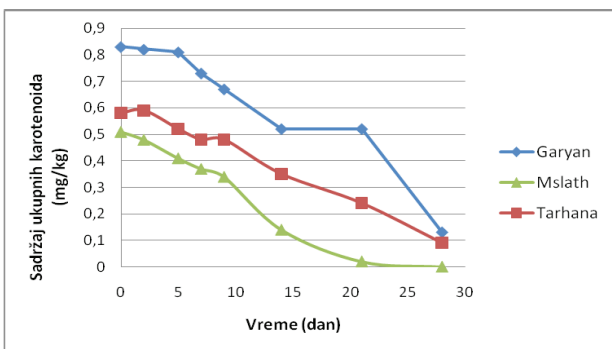
U uzorku Garyan nakon 28 dana testa sadržaj tokoferola iznosio je 48,99 mg/kg (što je svega 13,19% od inicijalne koncentracije), u uzorku Tarhana 39,02 g/kg (12,68% inicijalnog sadržaja) i Mslath 21,39 mg/kg (svega 10,33%).

Promene sadržaja nosioca zelene boje maslinovih ulja, tj. hlorofila prikazane su na slici 7. U polaznim uzorcima pronađen je nizak sadržaj ukupnih hlorofila: od 21,1 mg/kg (uzorak Mslath) do 39,5 mg/kg (uzorak Tarhana), da bi nakon 28. dana sadržaj hlorofila u ovim uzorcima opao na vrednosti od 4,8 do 0,35 mg/kg, respektivno.



Slika 7. Promena sadržaja ukupnih hlorofila u uzorcima ulja pri uslovima Schaal-Oven testa

Figure 7. Change of total chlorophyll content in oil samples at Schaal-Oven test



Slika 8. Promena sadržaja ukupnih karotenoida u uzorcima ulja pri uslovima Schaal-Oven testa

Figure 8. Change of total carotenoids content in oil samples at Schaal-Oven test

Ukoliko se razmatra sadržaj ukupnih karotenoida u posmatranim uzorcima, slika 8, vidi se da isti opada sa produženjem vremena provedenim pri uslovima testa, odnosno, temperiranjem ulja pri $63 \pm 2^\circ\text{C}$ bez uticaja svetla.

Polazni uzorak sa područja Garyan je bio najbogatiji ukupnim karotenoidima (0,83 mg/kg), a njihov sadržaj je blago opadao sve do 21. dana (0,52 mg/kg). Zatim je 28. dan zabeležen nagli pad na svega 0,13 mg/kg, odnosno u uzorku je zaostalo svega

15,66% u odnosu na početnu koncentraciju. U polaznim uzorcima ulja sa područja Tarhana i Mslath zabeležene su mnogo manje koncentracije ukupnih karotenoida (Tarhana-0,58 mg/kg i Mslath-0,51 mg/kg). Kod maslinovog ulja Tarhana javlja se značajan pad ukupnih karotenoida do 21. dana (58,62%), a zatim sadržaj još većim intenzitetom opada na svega 0,09 mg/kg (84,48% gubitka u odnosu na početni sadržaj). Kod uzorka Mslath smanjenje sadržaja karotenoida je bilo najveće, do 14. dana sadržaj je već opao za 72,55 %, da bi 21. dan ukupni karotenoidi pronađeni samo u tragovima (0,02 mg/kg). Nakon 28. dana karotenoidi više nisu bili prisutni u ovom uzorku, odnosno došlo je do njihove potpune degradacije ili oksidacije čime gube antioksidativna svojstva.

ZAKLJUČAK

Prateći sadržaj antioksidativnih komponenti u tri uzorka devičanskih maslinovih ulja sa područja Libije u uslovima Schaal-Oven testa, zaključuje se da najveći antioksidativni kapacitet ima ulje sa područja Garyan, dok se najlošijim pokazalo ulje sa područja Mslath, iako je ulje proizvedeno od iste sorte maslina. Ulje sa područja Mslath sadržalo je najmanje pigmenta, kako u polaznom uzorku (ukupni karotenoidi-0,51 mg/kg, ukupni hlorofili-39,50 mg/kg), tako i nakon temperiranja (ukupni karotenoidi-0,02 mg/kg, ukupni hlorofili-4,8 mg/kg). Uzorak sa područja Garyan sadržao je znatno veću količinu pigmenta pre i nakon testiranja. Sadržaj ukupnih karotenoida iznosio je 0,83 mg/kg, dok je sadržaj ukupnih hlorofila bio 34,4 mg/kg. Nakon temperiranja ove vrednosti iznosile su 0,13 mg/kg i 1,38 mg/kg, respektivno. Slični su i rezultati sadržaja ukupnih fenola i tokoferola. U inicijalnom uzorku sa područja Garyan pronađen je najveći sadržaj ukupnih fenola (299,68 mg/kg) i ukupnih tokoferola (371,56 mg/kg), dok su u uzorku Mslath ove vrednosti bile najniže (ukupni fenoli-49,69 mg/kg; ukupni tokoferoli-207,14 mg/kg). Posle 28 dana testa ove vrednosti znatno su opale. Uzorak sa područja Garyan sadržao je najviše ukupnih fenola (108,38 mg/kg), odnosno ukupnih tokoferola (48,99 mg/kg). U uzorku sa područja Mslath nakon testiranja zaostalo je znatno manje ovih komponentata (ukupnih fenola 12,53 mg/kg; ukupnih tokoferola 21,39 mg/kg).

Ukoliko se posmatra trend sadržaja ispitivanih komponenti pri uslovima testa, vidljivo je da je gu-

bitak tokoferola u prvoj polovini perioda izlaganja ulja uslovima Schaal-Oven testa nešto veći u odnosu na promene sadržaja u drugoj polovini. Ova pojava je posledica toga što se tokoferoli, kao izrazito jaki antioksidansi, odupiru oksidacionim promenama inhibirajući nastanak slobodnih radikala u prvoj fazi autooksidacije, zbog čega se njihova koncentracija u ulju znatno smanjuje, dok kod ostalih komponenata čiji je sadržaj određivan, ovaj trend nije zapažen. Ovi rezultati ukazuju da se prilikom izlaganja ulja oksidacionim uslovima najpre troše tokoferoli, tek zatim druge komponente sa antioksidativnim dejstvom.

Na osnovu generalne analize dobijenih rezultata može se reći da temperiranjem devičanskih maslinovih ulja pri temperaturi od $63 \pm 2^\circ\text{C}$ u vremenu do 5 dana ne dolazi do značajnijih promena antioksidativnog kapaciteta ulja. Iako se maslinovo ulje uglavnom preporučuje kao salatno ulje, dobijeni rezultati upućuju i na to da u kulinarskoj obradi ulja u pripremi jela, tj. pri umerenim temperaturama u kraćem vremenskom periodu, maslinovo ulje neće mnogo gubiti sadržaj bioaktivnih komponenata.

ZAHVALNICA

Autori se zahvaljuju Ministarstvu za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije za finansijsku podršku, Projekat: Razvoj novih funkcionalnih konditorskih proizvoda na bazi semena uljarica, TR 31014.

LITERATURA

1. Brigelius-Flohe, B. (1999). Vitamin E: function and metabolism, *F.A.S.E.B.*, 13: 1145-1155.
2. Chabera, P., M. Fuciman, P. Hribek, T. Polivka (2009). Effect of carotenoid structure on excited-state dynamics of carbonyl carotenoids, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11: 8795-8803.
3. Chimi, H., J. Cillard, P. Cillard, M. Rahmani (1991). Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68 (5): 307-312.
4. Cinquanta, L., M. Esti, E. La Notte (1997). Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74: 1259-1264.
5. Dimić, E., J. Turkulov (2000). Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
6. Ezech, O., M. H. Gordon, K. Niranjana (2014). Tiger nut oil (*Cyperus esculentus* L.): A review of its composition and physico-chemical properties. Department of Food and Nutritional Sciences, University of Reading, Reading, United Kingdom.
7. Franzke, C. L. (1972). Studien über das Verhalten und Bestimmung von Carotenoid und Chlorophyllfarbstoffen in Rapsölen unterschiedlichen Raffinationsgrades. *Nahrung.*, 16: 873-879.
8. Garcia-Gonzales, D. L., R. Aparicio-Ruiz, R. Aparicio (2007). Olive Oil. Instituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain.
9. Haiyan, Z., Jr. D. R. Bedgood, A. G. Bishop, P. D. Prenzler, K. Robards (2007). Endogenous bio-phenol, fatty acid and volatile profiles of selected oils. *Food Chem.*, 100: 1544-1551.
10. Jung, M. Y., D. B. Min (1990). Effects Of α -, γ -, And δ -Tocopherols On Oxidative Stability Of Soybean Oil, *J. Of Food Sci.*, 55(5): 1464-1465.
11. Kamal-Eldin, A., L. A. Appelqvist (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols, *Lipids*, 31: 671-701.
12. Kulas, E., R. G. Ackman (2001). Different tocopherols and the relationship between two methods for determination of primary oxidation products in fish oil, *J. Agric. Food Chem.*, 49(4): 1724-1729.
13. Lee, S. H., D. H. Kim (1992). Effects of β -carotene on the stability of soybean oil subject to autoxidation and photosensitized oxidation, *Food Biotechnol.*, 1: 1-7.
14. Lužaić, T. (2015). Ispitivanje promene boje devičanskih maslinovih ulja pri uslovima Schaal-Oven testa. Master rad, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
15. Minguez Mosquera, M.I., Rojas B.G., Fernandez J.G., Guerro L.G.J. (1990). Pigments present in virgin olive oil. *American Society of Oil Chemistry*, 67: 192-196.
16. Murković, M., V. Piironen, V. Lampi, T. Kraushofer, G. Sontag (2004). Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil Part 1: Non-volatile compounds. *Food Chemistry*, 84: 359-365.
17. Oral, E., S. Rowell, O. Muratoglu (2006). The Effect of α -Tocopherol on The Oxidation and Free Radical Decay in Irradiated UHMWPE., *Biomaterials*, 27(32): 5580-5587.
18. Pokorný, J., J. Velisek, J. Panek, J. Kanova, H. Parizkova, M. Holasova, R. Koplík, J. Cmolík (1993). Minor lipophilic components in crude rapeseed oil, *Potravinarske Vedy - UZPI* 11, (3): 189-196.

19. Shekelle, P.G., S.C. Morton, L. K. Jungvig, J. Udani, M. Spar, W. Tu, M. Suttorp, I. Coulter, S. J. Newberry, M. Hardy (2004). Effect of supplemental vitamin E for the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Journal of General Internal Medicine*, 19 (4): 380–9.
20. Velasco, J., C. Dobarganes (2002). Oxidative stability of virgin olive oil, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104: 661–676.
21. Vossen, P.M. (2007). *Olive Oil: History, Production, and Characteristics of the World's Classic Oils*. University of California Cooperative Extension.
22. Wagner, K. H., I. Elmadfa (1999). Nutrient antioxidants and stability of frying oils: tocopherols, β -carotene, phylloquinone, ubiquinone 10, In: *Frying of Foods*. Eds. D. Boskou and I. Elmadfa, Technomic Publishing, Lancaster, PE (USA), 163-182.
23. Wagner, K. H., I. Elmadfa (2000). Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 102 (10): 624-629.
24. Yamauchi, R. (1997). Vitamin E: Mechanism of Its Antioxidant Activity, *Food Sct. Technol. Int.*, Tokyo, 3(4): 301-309.

EVROPSKI STANDARD O KVALITETU ČISTOG REPIČINOG ULJA KAO DIZEL GORIVA

György Karlovits, Aleksandra Szydłowska-Czerniak

Goriva na bazi Čistih Biljnih Ulja (PURE PLANT OIL - PPO) koriste se u agrotehničkim mašinama koje su prilagođene za ovakvo gorivo i na taj način doprinose održivoj proizvodnji hrane. Posebno repičino ulje, kao gorivo, značajno smanjuje GHG (Greenhouse Gas) emisiju. Dodatno PPO goriva koja se koriste u traktorima sa novim motorima, u sinergističnoj kombinaciji sa proizvodnjom proteinskih hraniva na bazi semena uljarica, daju dodatnu vrednost i smanjuju nezavisnost od uvoza energenata na regionalnom nivou. U ovom radu su prikazane aktivnosti na nivou EU pri standardizaciji i implementaciji ovih obnovljivih goriva kroz rezultate EU projekta 2ndVegOil.

Key words: čisto repičino ulje, definicija, biodizel, evropski standardi, zahtevi.

EUROPEAN STANDARD ON QUALITY OF PURE RAPESEED OIL LIKE DIESEL FUEL

Pure vegetable oil fuels (PPO), used in vegetable oil compatible agricultural machinery contribute to secure sustainable food supply. Especially rapeseed oil fuel significantly reduces greenhouse gas emissions (GHGE) and thus, lowers the carbon footprint of agricultural products. Additional PPO fuel used for agricultural tractors features benefits such as the increase of regional added value synergy effects with combined feed production and reduce import dependency. The purpose of this work is to make overview of EU activities in standardization and implementation this renewable fuels thru results of EU 2ndVegOil Project.

Key words: pure rapeseed oil, biodiesel, european standars, requirements.

UVOD

Prva iskustva sa korišćenjem biljnih ulja kao dizel goriva u Srbiji u periodu embarga devedesetih godina prošlog veka bile su veoma gorka (1, 2, 3). Korišćenje dizel goriva sa većim dodatkom biljnih ulja ili biodizela neadekvatnog kvaliteta, čistog ili u mešavini sa dizel gorivom, prouzrokovalo je velike štete na traktorima. Čitajući dnevnu štampu iz Srbije se vidi da i danas zbog neinformisanosti preči slična situacija (4). U.S. Department za energiju - Odeljenje za energetske efikasnosti i Obnovljivu energiju upozorava da generalna upotreba biljnih ulja ili otpadnog ulja od prženja u tradicionalnim dizel motorima u većem obimu i na duži period nije preporučljivo (5, 6, 7).

Problemi sa upotrebom biljnih ulja u dizel motorima

Na bazi publikovanih tehničkih podataka se može zaključiti da mešavine dizela sa biljnim uljima skraćuje životni vek tradicionalnih dizel motora. Smanjenje životnog veka motora prouzrokovano je nastajanjem depozita-naslage-taloga ugljenika iz polimerizovanog ulja u unutrašnjosti motora, slika 1, i zbog negativnog uticaja biljnog ulja pri podmazivanju motora.



Slika 1. Karbonizacija ulja na klipnu motora i mehanički oštećen blok motora

Figure 1. Carbonized oil on piston and damages on block of diesel engine

Dr György Karlovits, Corvinus University in Budapest, e-mail: gyorgy.karlovits@gmail.com, dr Aleksandra Szydłowska-Czerniak Faculty of Chemistry, Nicolaus Copernicus University in Toruń, 7 Gagarin Street, 87-100 Toruń, Poland; e-mail: olasz@umk.pl

Stepen obrazovanja taloga ugljenika raste sa udelom biljnog ulja u dizel gorivu (5, 6, 7), slika 2.

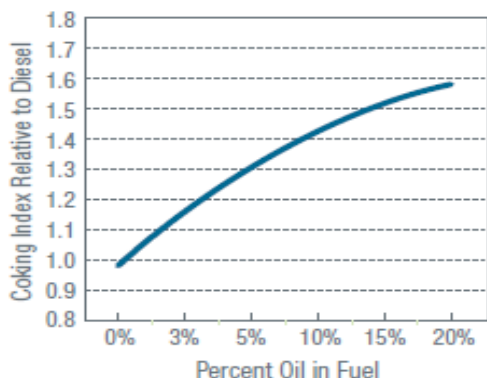
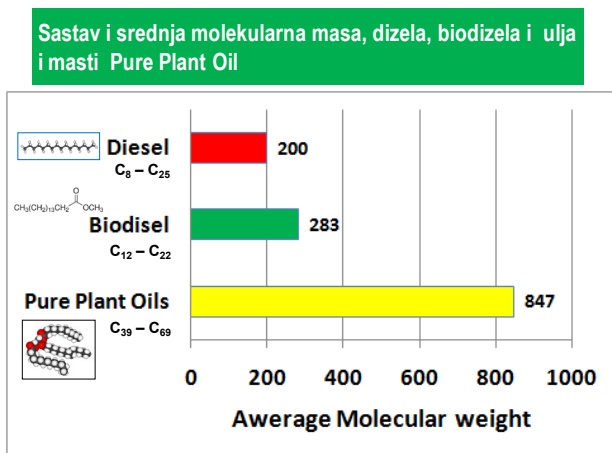


Figure 1. Buildup of Carbon Deposits in Engine as a Function of Oil in Fuel²

Slika 2. Zavisnost između količine dodatog ulja u dizelu i relativnog indeksa stvaranja ugljenika

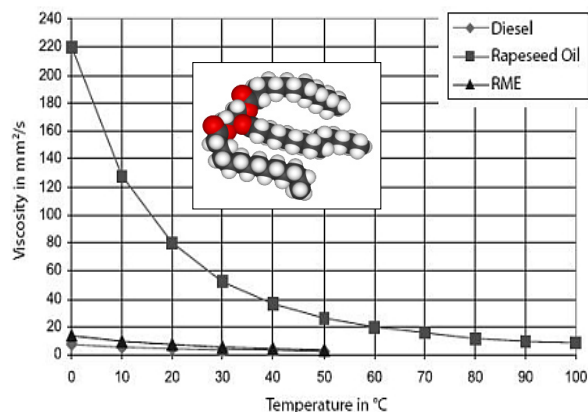
Figure 2. Buildup of carbon deposits in engine as a function of oil in fuel

Kako rast količine depozita ugljenika, tako i problem sa podmazivanjem vezani su za potpuno drugačiji sastav dizela i biljnih ulja. Naime, dizel je smeša ugljovodonika, a biljna ulja su smeše različitih triglicerida što daje kompletno drugačiji viskozitet (8), slika 3 i 4.



Slika 3. Sastav i srednja molekulska masa dizela, biodizela i PPO

Figure 3. Composition and average molecular weight of diesel, biodiesel and PPO



Slika 4. Zavisnost viskoziteta od temperature
Figure 4. The dependence of viscosity of temperature

Pri upotrebi čistih biljnih ulja ključni parametar je visoka viskoznost ulja pri nižim temperaturama. U poređenju sa dizelom No. 2 sva biljna ulja su mnogo viskozija, reaktivnija prema kiseoniku i imaju višu tačku zamućenja - početak kristalizacije na nižim temperaturama. Previsoka viskoznost može prouzrokovati prevremeno oštećenje pumpe i injektora za gorivo što može kompletno pogoršati strukturu mlaza goriva pri ubrizgavanju kroz injektor sa izmenom raspodele veličine kapljica i smanjivanjem ugla ubrizgavanja (5, 6, 7). Sa druge strane publikacije iz Evropske Unije o mogućnosti korišćenja biljnih ulja zaključuju da: Korišćenje **Čistog Biljnog Ulja-PPO** proizvedenog iz ulja repice, kao gorivo za transportna vozila, je moguće samo ukoliko je **motor modifikovan** prema karakteristikama PPO. Vožnja vozila sa nemodifikovanim motorom uz upotrebu mešavine dizela i PPO uništiće motor (8, 9, 10).

EU Definicija Čistog Biljnog Ulja kao goriva - Pure Plant Oil-PPO

Definicija PPO i Energetski sadržaj goriva namenjenih za upotrebu u transportu¹

Gorivo (Definicija)	Energetski sadržaj u % mas.	Energetski sadržaj u % vol.
	Donja kalorična vrednost MJ/kg	Donja kalorična vrednost MJ/L
Čisto biljno ulje PPO ² ulje proizvedeno od uljarica presovanjem ekstrakcijom ili sličnim postupcima sirovo ili rafinisano ali hemijski nepromenjeno, kad je njegova upotreba spojiva s modifikovanim tipom motora i odgovarajućim zahtevima koji se odnose na GHG emisiju	37	34
Dizel	43	36

1) Izvod iz Direktive 2009/28/EU Europskog Parlamenta i Veća, Službeni list Europske Unije L 140-16, 5.6.2009.
2) Pure Plant Oil – Terminologija u skladu sa projektom 2ndVegOil

Sledeća argumentacija za ovo je da pronalazač dizel motora Rudolf Diesel koristio je biljno ulje od arašida (kikirikija) (*Arachis hypogaea Linnaeus*) kao gorivo. Njegov motor je kasnije bio optimiziran za rad sa dizel gorivom koji je proizveden destilacijom iz nafte jer je bio jeftiniji (9).

Sa druge strane mnogo kasnije se počelo misliti o nekim alternativnim i obnovljivim gorivima, tako da dugo nije bilo ni industrijskog standarda o kvalitetu biljnog ulja kao goriva. Prvi standard o kvalitetu PPO donet je u Nemačkoj pre pet godina (DIN 51605:2010) (10). Činjenica je da biljna ulja dobijena raznim tehnološkim postupcima presovanja na toplo ili hladno i koja su prečišćena rafinacijom imaju promenljivi sastav u zavisno od proizvođača. Regionalne razlike u sastavu semena takođe menjaju sastav ulja. Te razlike u kvalitetu teško je ujednačiti samo mešanjem različitih proizvodnih šarži. To znači da će kvalitet ulja varirati u funkciji vremena i da i motori prilagodjeni čistom biljnom ulju neće moći raditi uvek po optimalnim uslovima (11, 12). Trebalo je ispitati i ključne parametre koji minimalizuju stvaranja depozita - taloga ugljenika, i stvaraju probleme pri radu dizel motora. To su pre svega sadržaj fosfora, kalcijuma i magnezijuma (11, 12).

PPO kao alternativno gorivo moralo je ispuniti i sve ekološke uslove u skladu sa direktivama EU kako bi imalo perspektivu da bude u širokoj upotrebi kao alternativno gorivo (11, 12, 13). Evropska

Unija već dugi niz godina investira značajna sredstva u istraživanja vezana za razvoj novih alternativnih goriva i takav projekat je bio i Projekat nazvan „2ndVegOil”, koji je imao sledeće ciljeve (11):

- Definirati industrijski standard za PPO *CWA 16379:2011*
- Modifikacija traktorskog dizel motora za PPO
- Ispitivanje pet vrsta sirovina za proizvodnju PPO
- Utvrđivanje agronomskih i tehnoloških parametara koji obezbeđuju proizvodnju PPO po *CWA 16379:2011*
- Proizvodnja PPO u decentralizovanoj instalaciji u Austriji i Francuskoj i Poljskoj
- Optimizacija kvaliteta PPO sa aditivima
- Funkcionalna provera kvaliteta pripremljenih PPO sa niskim sadržajem P, Ca i Mg u traktorima nove konstrukcije u Poljskoj, Nemačkoj, Austriji
- Analiza uticaja PPO na ekološke zahteve pri eksploataciji.

U projektu je učestvovalo 11 organizacija iz raznih zemalja Austrije, Nemačke, Poljske, Francuske, Holandije, a Lider projekta je bila Kompanija „John Deere” proizvođač poljoprivrednih mašina. Period realizacije projekta bio je 2008 – 2012.



Slika 5. Lista učesnika i finalni izveštaj 2ndVegOil projekta
Figure 5. List of participants and Final Project Report-2ndVegOil

U okviru projekta ispitana je mogućnost proizvodnje PPO iz pet vrsta sirovina: uljane repice, suncokreta, kameline, kukuruznih klica i ploda Jatrope. Rezultati ispitivanja su pokazali da parametri

kvaliteta PPO iz standarda zavise, kako od vrste semena, sorte, uslova gajenja, tako i uslova sušenja, skladištenja i načina proizvodnje ulja (11), tabela 1.

Tabela 1. Kriterijumi kvaliteta za izbor semena
Table 1. Quality criteria for seed selection

1. Quality Criteria for Seed Selection

Parameters	Seed								Oil pressing	Oil filtration	Oil storage	Oil delivery
	Sort	Age	Corn break	Maturity	Out growth	Soiling	Drying	Storage				
Density									Oil specific – no influence			
Flash point									Oil specific – no influence			
Kin. viscosity									Oil specific – no influence			
Heating value									Oil specific – no influence			
Combustibility									Oil specific – no influence			
Carbon residue	x											
Iodine number				x			x	x				
Purity									x	x	x	x
Acid value	x	x	x	x	x	x	x	x				
Oxidation stability	x	x	x	x	x	x	x	x			x	
P content			x	x	x	x			x			
Ca content			x	x	x	x			x			
Mg content			x	x	x	x			x			
Water content		x					x				x	x

Dogovor o izradi Standard za PPO na Evropskom nivou (12)

CWA 16379:2011 Fuels and biofuels – Pure plant oil fuel for diesel engine concept – Requirements and Test methods

Ovaj standard je nastao na bazi Nemačkog standarda za repičino ulje, DIN 51605:2010. Standard je objavljen 7 decembra 2011. godine i pripremljen za adaptaciju na nacionalnom nivou, s tim da se planiraju dodatna ispitivanja. Standard u ovoj formi primenljiv je za ulje repice iz koga je nastao. Za ulje suncokreta nema još rezultata o uticaju voskova na stvaranje depozita. Kao što se vidi predviđaju se dva kvaliteta PPO i to PPO1 i PPO2 na bazi kriterijuma

za GHG emisiju, koji se očekuje pri upotrebi ovih goriva.

Klasa PPO1 ispunjava maksimalne zahteve za Tier 3a-Stage III A, što znači da se količina NOx emisije smanjuje 40% u odnosu na kriterijume Tier2-Stage II (12, 13).

Klasa PPO2 ima veoma nizak sadržaj P/Ca/Mg što sprečava stvaranje pepela i pozitivno utiče na sastav izduvnih gasova, te na taj način ispunjava trenutno najstrožije zahteve koristeći dizel motore sa naprednim konceptom.

U Nemačkoj su doneti i odgovarajući zakonski akti o identifikaciji i obeležavanju takvog goriva, a proizvođači dizel motora moraju dati atest da se u motoru može koristiti PPO (12, 13). U tabeli 2 su prikazani zahtevi i test metode za PPO1 i PPO2.

Tabela 2. CWA 16379:2011 Goriva i biogoriva – Čista biljna ulja namenjena za dizel motore koncept - Zahtevi i test metode

Table 2. CWA 16379:2011 Fuels and biofuels – Pure plant oil fuel for diesel engine concept – Requirements and Test methods

Generally applicable requirements and test methods

Property	Unit	Limits				Test method ^a
		Direct processed		Improved quality		
		PPO1 minimum	PPO1 maximum	PPO2 minimum	PPO2 maximum	(See Clause 2)
Visual aspect	--	Free from visible contamination, sediment and free water				
Density at 15 °C	kg/m ³	910,0	940,0	910,0	940,0	EN ISO 3675 EN ISO 12185
Flash point	°C	101	–	101	–	EN ISO 2719 ^c EN ISO 3679 ^d
Lower heating value	kJ/kg	36 000		36 000		DIN 51900-1 and -2, or DIN 51900-1 and -3
Sulfur content	mg/kg	–	10,0	–	10,0	EN ISO 20846 EN ISO 20884 prEN ISO/DIS 13032
Ignition quality ^e						
Water content	mg/kg	–	750	–	750	EN ISO 12937
Total contamination	mg/kg	–	24	–	24	EN 12662 ^f
Oxidation stability	h. at, 110 °C	6,0	–	6,0	–	EN 14112 EN 15751
Acid value	mg KOH/g	–	2,0 ^g	–	2,0 ^g	EN 14104
Phosphorus content ^h	mg/kg	–	12,0 ⁱ	–	1,0	DIN 51627-6
Ca + Mg ^h	mg/kg	–	20,0 ⁱ	–	1,0	DIN 51627-6

^a See 7
^b See 6.5.
^c Procedure A to be applied. Only a flash point test apparatus equipped with a suitable detection device (thermal or ionization detection) shall be used.
^d A 2 ml sample and apparatus equipped with a thermal detection device shall be used.
^e See 6.6
^f The test method developed for diesel may show analytical problems when applied to PPO. Lower levels are advisable for long term correct functioning of the engine.
^g This limit may increase if future engine tests present positive results
^h See 6.7.1.
ⁱ Lower limits may apply for specific countries or regions

Treba primetiti da sadržaj sumpora, fosfora, kalcijuma i magnezijuma je limitiran na veoma niskom nivou. Pri proizvodnji jestivih ulja, izuzev fosfora, ti parametri se obično ne kontrolišu. Ispitivanja su pokazala da ovi elementi dolaze iz semena i da na primer prolećna varijanta repice ima viši sadržaj ovih elemenata nego jesenja varijanta (11). Kao važan faktor uključen je i oksidativna stabilnost pri 110 °C. Kod suncokretovog ulja tako visoku stabilnost (min. 6h) je problem postići. Verovatno biće potrebno koristiti antioksidante ili ulje suncokreta sa visokim sadržajem oleinske kiseline. Drugi tehnološki limit je kiselinski broj ulja maksimum 2 mgKOH/g (sadržaj SMK maksimum 1%). To znači da uslovi skladištenja i šušenja semena moraju biti adekvatni da bi se sprečila hidroliza ulja, slično kao kod proizvodnje hladno presovanih ulja. U međuvremenu u Nemačkoj je izdat je novi DIN SPEC 51623:2012 standard koji sadrži još neke nove kriterijume, kao što je limit na sadržaj linolenske kiseline i primenljiv je i na druga PPO ulja, a ne samo na repičino ulje.

Adaptacija motora (11, 14)

U okviru projekta intenzivno je radjeno na rekonstrukciji (hardvera i softvera) motora namenjenog

za rad na PPO. Glavni cilj bio je dobiti povoljne funkcionalne i ekološke parametre GHG emisije, slika 6.

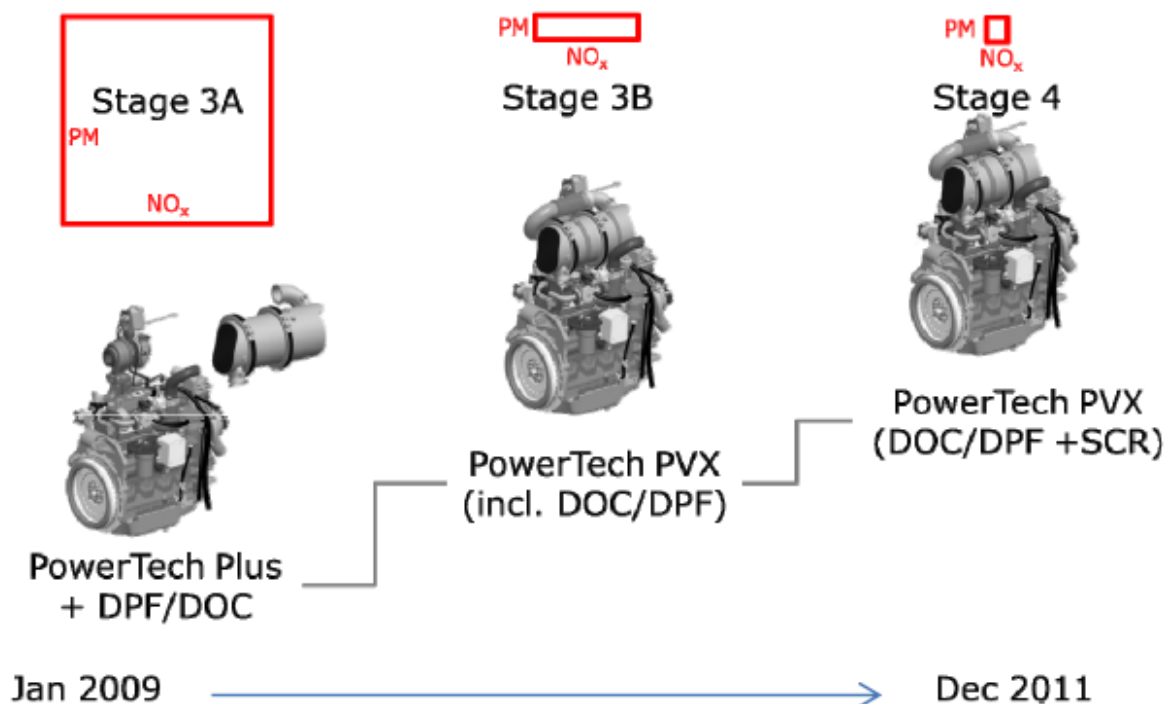
Proizvodnja PPO u decentralizovanoj instalaciji u Austriji, Francuskoj i Poljskoj (11)

U okviru projekta 2ndVegOil proizvodnja PPO radjena po prostoj tehnološkoj šemi, slika 7, u decentralizovanom pogonu u Austriji prema patentiranom postupku (15,16). Cilj je bio eliminacija fosfora, kalcijuma i magnezijuma, kao i natrijuma i kalijuma koristeći sledeće kriterijume:

$$\text{Suma P/Ca/Mg} \leq 1,5 \text{ mg/kg i}$$

$$\text{Suma K/Na} \leq 2 \text{ mg/kg.}$$

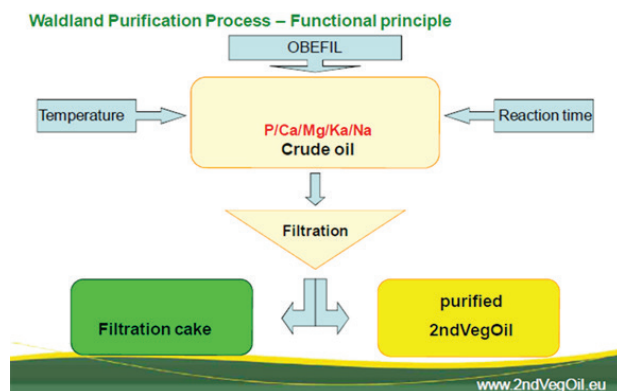
Cilj je bio, takođe, i koristiti najjednostavniji postupak – adsorpciju elemenata na adsorbentu i filtracija. Za uklanjanja P/Ca/Mg korišteni su razni adsorbenti, zemlja za belenje, sintetički silikat, kieselguhr, celuloza i perlit. Svi oni su snižavali sadržaj ovih elemenata u toku procesa prečišćavanja ulja. Ispitano je i devet aditiva za filtraciju. Upotrebom ove relativne proste tehnologije uspeli su ostvariti traženi cilj.



Slika 6. Prototipovi motora korišteni u projektu sa njihovom GHG emisijom
Figure 6. Prototype engines used for engine development on test stand

Tehnologija za proizvodnju PPO

Uprošćena tehnološka šema proizvodnje PPO prikazana je na slici 7. Koristeći ovu tehnologiju pripremljeni su uzorci goriva koji su bili testirani u modifikovanim traktorima.



Slika 7. Uprošćena tehnološka šema proizvodnje PPO

Figure 7. Simplified technological scheme of PPO production

Aditivi za poboljšanje karakteristika PPO (11)

Ispitivanja su pokazala da obrada hladno presovanih ulja adsorbentom znatno smanjuje oksidativnu stabilnost ulja. Taj problem je rešen dodatkom antioksidanta. Osim toga, u okviru projekta razvijena su i dva aditiva koja su obezbeđivala bolji/lepši rad motora.

Ekološki parametri PPO (11)

Rezultati ispitivanja su pokazali da korišćenjem PPO od semena repice kao gorivo znatno se smanjuje GHG Emisija u skladu sa Direktivom (RED) (2009/28/EC i EU Fuel Quality Directive (FQD) (2009/30/EC) i manja je od standardne vrednosti za 57% do 60%.

LITERATURA

1. Turkulov J., Karlović Đ., Tehnologija proizvodnje biljnih ulja. Poglavlje u monografiji: Proizvodnja i korišćenje metilestara biljnih ulja kao gorivo za motore SUS, str.99-112, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1995.
2. Karlović Đ., Turkulov J., Tehnologija proizvodnje metilestara biljnih ulja. Poglavlje u monografiji: Proizvodnja i korišćenje metilestara biljnih ulja kao gorivo za motore SUS, str.141-170, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1995.

3. Tešić M., F.Kiss, V. Janković, Mogućnost proizvodnje i korišćenja biodizela u Srbiji. Elaborat, Jefferson Institute, 2010.
4. Sremci u traktore sipaju zejtin, Dnevnik <http://made-in-germany.rs/sremci-u-traktore-sipaju-zejtin/>
5. Anon: U.S. Department of Energy – Energy Efficiency & Renewable Energy, Straight Vegetable Oil as a Diesel Fuel? , http://biodiesel.org/docs/default-source/ffs-engine_manufacturers/clean-cities-fact-sheet-straight-vegetable-oil-as-a-diesel-fuel-.pdf?sfvrsn=6
6. Babu, A.K.; Devaradjane, G., Vegetable Oils and Their Derivatives as Fuels For CI Engines: An Overview.” SAE Technical Paper No. 2003-01-0767.
7. Jones, Samuel T.; Peterson, Charles L.; Thompson, Joseph C., Used Vegetable Oil Fuel Blend Comparisons Using Injector Cooking in a DI Diesel Engine. ASAE Annual International Meeting, Sacramento, California, July 30–August 1, 2001. Paper No. 01-6051.
8. Reent Martens,Eliseo Antonini, (*Editorial coordination*) Pure plant oil as fuel, Technical aspects and legislative context, 2011,This document can be downloaded at agryforenergy.com
9. Croezen H., B. Kampman, L.C. den BoerI.de Keizer, SenterNovem, The road to pure plant oil? The technical, environment-hygienic and cost-related aspects of pure plant oil as a transport fuel. Report 2GAVE-05.05 (NL)
10. DIN 51605:2010 Fuels for vegetable compatible combustion engines – Requirements and test methods
11. The 2ndVegOil consortium: Publishable Final Project Report, Demonstration of 2nd Generation Vegetable Oil Fuels In Advanced Engines (2nd-VegOil) – TREN/FP7EN/219004/”2nd VegOil”, Agrartechnische Berichte aus Sachsen-Anhalt, Nr. 6, Martin-Luther-Universitet, Halle-Wittenberg Institutbereich Agrartechnik, 2012, WWW, 2nd-vegOil.eu
12. CWA 16379:2011 *Fuels and biofuels* – Pure plant oil fuel for diesel engine concept – Requirements and Test methods
13. Non-road emissions reductions: https://www.deere.com/en_US/services_and_support/engine-information/understanding-emission-regulations/understanding-emission-regulations.page?
14. DIN 51623:2015-12 Title (german) Kraftstoffe für pflanzenöлтаugliche Motoren - Pflanzenölkraftstoff - Anforderungen und Prüfverfahren

15. Waldland Patent: Method for the production of a fuel from vegetable oil, US Patent for Method for the production of a fuel from vegetable oil (Patent # 8,439,985) Dec 23, 2007.
16. WALDLAND Pflanzenöltechnik, Oberwaltenreith 10 A-3533 Friedersbach: Pure Plant Oil Fuel Our Technology for Optimal Purity, Technical Information, obe@waldland.at, www.waldland.at

LECITIN IZ ULJANE REPICE KAO EMULGATOR U PROIZVODNJI MAZIVOG KREM PROIZVODA

Ivana Lončarević, Biljana Pajin, Jovana Petrović, Vladimir Šarac, Vladimir Tomović, Danica Zarić, Zoran Nikolovski

Sojin lecitin je najzastupljeniji emulgator u prehrambenoj industriji u Srbiji i u svetu. S druge strane, postupkom predefinicije u fazi rafinacije ulja iz uljane repice dobija se repičin lecitin, koji, kao i sojin lecitin, predstavlja mešavinu materija nerastvornih u acetonu, zaostalog ulja i minornih komponenata. U radu je ispitana mogućnost upotrebe lecitina iz uljane repice kao emulgatora u konditorskoj industriji Srbije, upoređivanjem fizičkih i senzorskih karakteristika mazivog krem proizvoda, proizvedenog u laboratorijskom kugličnom mlinu, sa dodatkom lecitina iz uljane repice i standardnog lecitina iz soje.

Ključne reči: mazivi krem proizvod, lecitin iz uljane repice, fosfolipidi, kvalitet

RAPSEED LECITHIN AS EMULSIFIER IN CONFECTIONERY CREAM PRODUCTION

Soy lecithin is the most widely used emulsifier in the food industry in Serbia and worldwide. On the other hand, the rapeseed lecithin is obtained during rapeseed oil refining process. As well as soy lecithin, rapeseed lecithin can be defined as a mixture of acetone insoluble polar lipids and vegetable oil alongside other minor components. This paper investigated the possibility of using rapeseed lecithin as an emulsifier in confectionery industry of Serbia, by comparing the results of physical and sensory characteristics of confectionery cream product with rapeseed and commonly used soy lecithin, produced in a laboratory ball mill.

Key words: Confectionery cream product, rapeseed lecithin, phospholipids, quality

UVOD

Fosfolipidi su lipidi koji sadrže ostatke fosforne kiseline i predstavljaju prirodne površinski aktivne materije. Nalaze se u najvećoj koncentraciji u proizvodima životinjskog porekla kao što su iznutrice, meso, riba, jaja, mleko/sir, a u biljkama ih najviše ima u semenima, jezgrastom voću i žitaricama. Kao građivni elementi ćelijske membrane i aktivni učesnici u metaboličkim procesima, fosfolipidi su neophodni za život (Szuhaaj, 2005). Pri preradi semena uljarica presovanjem ili ekstrakcijom, pod uticajem toplote, vlage ili rastvarača, fosfolipidi prelaze u ulja. Njihov sadržaj u sirovom ulju zavisi od količine fosfolipida u semenu, stepena zrelosti i uslova

čuvanja semena, kao i načina tehnološkog postupka izdvajanja ulja (Dimić, 2005).

Lecitin ima široku upotrebu u prehrambenoj industriji, pre svega kao emulgator u proizvodnji čokolade i srodnih kakao proizvoda, pekarskih proizvoda, margarina i majoneza (Ramadan, 2008; Cabezas i sar., 2009; Fernández i sar., 2012). Tehnološko-funkcionalne osobine lecitina potiču od površinski aktivne frakcije fosfolipida, koje se sastoje od trohidroksilnog alkohola glicerola čije su dve hidroksilne grupe esterifikovane sa po jednom masnom kiselinom, a na treću alkoholnu grupu glicerola estarski je vezana fosforna kiselina, za koju su vezani monovalentni alkoholi – holin ili etanolamin ili polivalentni alkoholi – glicerol ili inozitol (Arnold i sar., 2013). Lecitin biljnog porekla sadrži prvenstveno fosfatidilholin (PC), fosfatidiletanolamin (PE) i fosfatidilinozitol (PI). Dobija iz uljarica, najčešće iz soje, suncokreta i uljane repice (Vujasinović i Vrbaški, 2015; Lončarević i sar., 2016a).

Mazivi krem proizvod sadrži najveći udeo šećera i masti te je njegov kvalitet prvenstveno uslovljen ponašanjem masne faze koja čini i preko 30% gotovog proizvoda (Lončarević i sar., 2016b). Krem

Ivana Lončarević, e-mail: ivana.radujko@tf.uns.ac.rs, Biljana Pajin, Jovana Petrović, Vladimir Tomović, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija; Vladimir Šarac, Victoriaoil d.o.o., Branka Erića 2, 22240 Šid, Srbija;

Danica Zarić, IHIS Tehno experts d.o.o., Istraživačko razvojni centar, Batajnički drum 23, 11080 Beograd, Srbija; Zoran Nikolovski, Sojaprotein a.d., Industrijska 1, 21220 Bečej, Srbija

proizvod, kao i čokolada, predstavlja reološki sistem u kojem je čvrsta faza (čestice saharoze, kakao praha i mleka u prahu) dispergovana u masnoj fazi (Bueschelberger, 2004). Odlikuje se neuniformnom raspodelom veličina čvrstih čestica i pokazuje tiksotropne osobine koje karakterišu prinosni napon i plastično proticanje (Pajin i sar., 2012). U mazivom krem proizvodu se često javlja tehnološka greška razdvajanja masne faze i migracija ulja prema površini, što utiče na pogoršanje senzorskih osobina i povećanje čvrstoće. Da bi se sprečilo razdvajanje faza, koje je sa tehnološkog aspekta veoma nepoželjno, od presudnog je značaja upotreba pravilno izabranog emulgatora (Pajin i sar., 2006).

Lecitin se koristi kao emulgator u proizvodnji čokolade i mazivog krem proizvoda u cilju poboljšanja reoloških karakteristika čokoladne i krem mase, a takođe i otpornosti čokolade i mazivog krem proizvoda na vlagu i temperaturu. Površinski aktivne komponente lecitina su amfifilni molekuli, gde se hidrofilni deo, odnosno fosfatidil grupa, orijentiše ka hidrofilnoj površini čvrstih čestica dok su dva lanca masnih kiselina lipofilnog karaktera i usmereni su ka kontinualnoj masnoj fazi. Na ovaj način lecitin obezbeđuje lakše proklizavanje čestica, odnosno smanjuje se trenje pri čemu se smanjuje i viskozitet sistema (Lončarević i sar., 2013a). Dodaje se u veoma malim udelima (0,1-2%) pri čemu ne utiče na boju, miris i ukus gotovog proizvoda (Oke i sar., 2010). Međutim, povećanjem količine lecitina iznad optimalne koncentracije dolazi do suprotne pojave odnosno do porasta prinosnog napona i viskoziteta. Objašnjenje za ovo je fazno ponašanje fosfolipida i njihova tendencija da grade laminarne strukture (Whitehurs, 2004).

Konditorska industrija Srbije uglavnom koristi sojin lecitin kao emulgator. S druge strane, proizvodnja ulja iz uljane repice otvara mogućnost

proizvodnje repičinog lecitina i njegove upotrebe u proizvodnji različitih konditorskih proizvoda. Iz tog razloga je neophodno usmeriti istraživanja na uticaj lecitina iz uljane repice na sam tok proizvodnje i kvalitet gotovih konditorskih proizvoda sa kontinualnom masnom fazom, kao što su čokolada, masna punjenja, kremovi itd. (Lončarević i sar., 2013b).

Cilj ovog rada je da se ispita uticaj lecitina iz uljane repice na kvalitet mazivog krem proizvoda kako bi se utvrdila optimalna koncentracija dodatog lecitina i vreme mlevenja u laboratorijskom kugličnom mlinu. Rezultati su upoređeni sa rezultatima dobijenim za standardni mazivi krem proizvod sa dodatkom sojinog lecitina.

MATERIJAL I METODE

U cilju proizvodnje mazivog krem proizvoda korišćene su sledeće sirovine: kakao-krem masa usitnjena na trovaljku u industrijskim uslovima (mešavina šećera, kakao praha, mleka u prahu i biljne masti bez *trans* masnih kiselina); biljna mast bez *trans* masnih kiselina, proizvedena u fabrici ulja "Dijamant" iz Zrenjanina; suncokretovo ulje „Iskon“, proizvedeno u fabrici ulja "Victoriaoil" iz Šida; sojin i repičin lecitin, proizvedeni u fabrici ulja "Victoriaoil" iz Šida, aroma vanile i lešnika.

Sirovine su dozirane u laboratorijski kuglični mlin, kapaciteta 5kg. Temperatura u kugličnom mlinu iznosila je 35°C, a brzina obrtaja mešača 50 o/min.

Uzorci mazivog krem proizvoda sa dodatkom različitih koncentracija (0,3; 0,5 i 0,7%) sojinog i repičinog lecitina, u zavisnosti od vremena mlevenja (30, 40 i 50 min) u kugličnom mlinu, proizvedeni su prema sledećoj šemi (Tabela 1).

Tabela 1. Plan eksperimenta
Table 1. Plan of experiments

Standardni krem proizvod sa sojinim lecitinom - Ks									
%*	0,3			0,5			0,7		
Min**	30	40	50	30	40	50	30	40	50
Uz.***	Ks/0,3/30	Ks/0,3/40	Ks/0,3/50	Ks/0,5/30	Ks/0,5/40	Ks/0,5/50	Ks/0,7/30	Ks/0,7/40	Ks/0,7/50
Krem proizvod sa repičinim lecitinom - Kr									
%*	0,3			0,5			0,7		
Min **	30	40	50	30	40	50	30	40	50
Uz.***	Kr/0,3/30	Kr/0,3/40	Kr/0,3/50	Kr/0,5/30	Kr/0,5/40	Kr/0,5/50	Kr/0,7/30	Kr/0,7/40	Kr/0,7/50

*Koncentracija dodatog lecitina (%), **Vreme mlevenja u kugličnom mlinu (min), ***Uzorak

Određivanje sadržaja osnovnih fosfolipida u sojinom i repičinom lecitinu

Sadržaj najzastupljenijih fosfolipida u lecitinima određen je primenom kvantitativne P NMR tehnike, na spektrometru *Bruker Avance III 600*. Uređaj je opremljen automatskim dozatorom *Bruker B-ACS 120*. Kao standard korišćen je trifetil-fosfat, molarne mase 326,29 g/mol.

Određivanje reoloških karakteristika krem proizvoda

Krive proticanja određene su na rotacionom viskozimetru *Rheo Stress 600*, Haake. Korišćen je pribor Z20 DIN (cilindar). Krive proticanja određene su merenjem histerezisnih petlji (krive τ -napon smicanja u zavisnosti od D-brzine smicanja) u opsegu brzine smicanja od 0 - 100 1/s. Uzorak je najpre temperiran 300 s na temperaturi 35°C. Brzina smicanja povećavana je od 0 - 100 1/s u trajanju od 180 sekundi, zatim je održavana 180 sekundi na maksimalnoj brzini od 100 1/s, a smanjivanje brzine smicanja od 100 - 0 1/s takođe je trajalo 180 sekundi.

Određivanje raspodele veličina čvrstih čestica u krem proizvodu

Raspodela veličina čvrstih čestica u uzorcima krem proizvoda sa sojinim i repičinim lecitinom određena je primenom uređaja *Mastersizer 2000*, Malvern Instruments. Približno 3 grama krem proizvoda sa 0,5% lecitina dispergovano je u suncokegovom ulju na sobnoj temperaturi i dodavano u *Hydro 2000* μ P jedinicu do postizanja adekvatne obiskuracije.

Određivanje održivosti krem proizvoda

U cilju praćenja održivosti krem proizvoda u vremenskom intervalu od šest meseci sprovedena je senzorska analiza, a takođe je i instrumentalnim putem praćena promena boje na površini krem proizvoda. Uzorci su čuvani na tamnom mestu i sobnoj temperaturi, pri čemu su prikazani rezultati analiza sprovedenih 24h nakon pripreme uzoraka, kao i nakon 2, 4 i 6 meseci čuvanja.

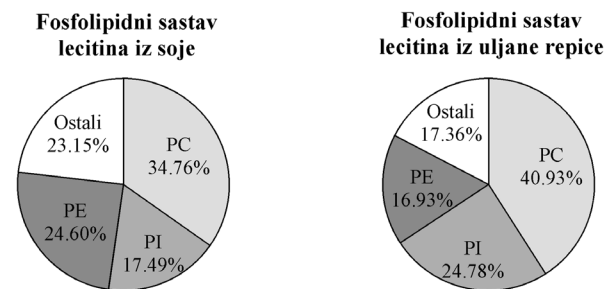
U cilju sprovođenja senzorske analize uzorci su servirani u plastičnim posudama obeleženim trocifrenim brojevima. Učestvovalo je 10 ocenjivača koji su ocenjivali svaki uzorak koristeći skalu sa 7 ocena. Ispitani su sledeći atributi: boja na površini (1- ekstremno svetla, 4 - optimalna, 7 - ekstremno

tamna), sjaj površine (1 – mat; 7 - sjajna), čvrstoća (1 - ekstremno meko; 4 – optimalno; 7 - ekstremno tvrdo), mazivost (1 - loša; 7 – dobra), zrnavost (1 – peskovito; 7 - glatko), adhezivnost (1 - ne prijanja; 4 – optimalno; 7 - lepljivo), miris i ukus (1 - ekstremno loš, stran; 7 - ekstremno dobar, svojstven) (Lawless, 2010).

Merenje boje na površini krem proizvoda izvedeno je u tri probe za svaki uzorak. Svetloća površine (L^*), učešće crvene (a^*) i zelene boje (b^*), određene su korišćenjem tristimulusnog kolorimetra *Minolta Chroma Meter CR-410* (Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan) u D65 osvetljenju, standardnim uglom zaklona od 2° i otvorom na mernoj glavi od 8 mm. Instrument je pre merenja zagrejan i kalibrisan korišćenjem standardne procedure.

REZULTATI I DISKUSIJA

Sastav fosfolipida u lecitinu najviše zavisi od vrste ulja i uslova proizvodnje (Arnold i sar., 2013), dok je sastav masnih kiselina diglicerida veoma sličan sastavu masnih kiselina triglicerida ulja iz kojeg je lecitin izdvojen (Nieuvenhuzen i Tomas, 2008). Na Slici 1 prikazan je sadržaj (%/ukupan sadržaj fosfolipida) fosfatidilholina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) i fosfatidilinozitola (PI) u lecitinima iz soje i uljane repice.

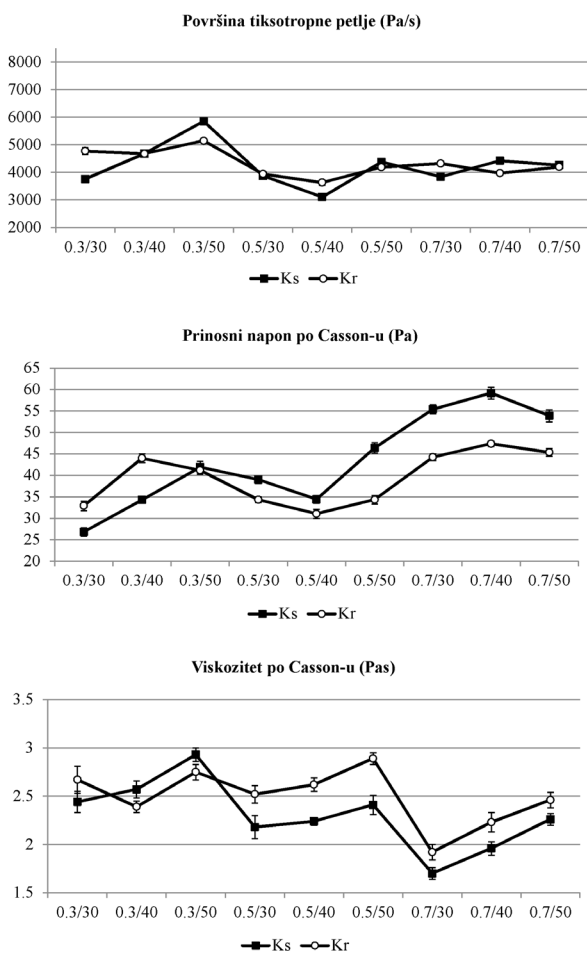


Slika 1. Sadržaj najzastupljenijih fosfolipida u lecitinu iz soje i uljane repice (%/ukupan sadržaj fosfolipida)

Figure 1. The most common phospholipids in soy and rapeseed lecithin (% / total phospholipid content)

Obe vrste lecitina sadrže najveći udeo fosfatidilholina (PC), pri čemu je sadržaj veći u lecitinu iz uljane repice. Lecitin poreklom iz soje sadrži veći udeo fosfatidiletanolamina (PE), dok je sadržaj fosfatidilinozitola (PI) veći u repičinom lecitinu.

Reološki parametri uzoraka krem proizvoda prikazani su na Slici 2.



Rezultati predstavljaju 95% interval poverenja srednje vrednosti, n=3

Slika 2. Reološki parametri krem proizvoda sa sojinim i repičinim lecitinom

Figure 2. Rheological parameters of confectionery cream with soy and rapeseed lecithin

Pri koncentraciji obe vrste lecitina od 0,3% produžavanje vremena mlevenja generalno dovodi do dodatnog povećanja vrednosti prinosnog napona, površine tiksotropne petlje i viskoziteta krem proizvoda. Naime, produžavanjem vremena mlevenja dolazi do većeg stepena usitnjenosti čvrstih čestica, što uslovljava kompaktnije pakovanje čestica i veću količinu lecitina koja je neophodna za oblaganje čestica, pri čemu koncentracija od 0,3% nije dovoljna.

Za sve uzorke je karakteristično da se prinosni naponi povećavaju sa povećanjem koncentracije dodatog lecitina, pri čemu uzorci sa dodatkom maksimalne koncentracije sojinog lecitina imaju najveće prinosne napone po Casson-u. S druge strane, uzorci sa najvećim vrednostima prinosnog napona imaju najmanji viskozitet po Casson-u, odnosno povećanje koncentracije oba lecitina utiče na smanjenje

viskoziteta.

Najhomogeniju strukturu u odnosu na ostale uzorke sa dodatkom sojinog lecitina, odnosno najmanju vrednost površine tiksotropne petlje ima uzorak mazivog kakao-krem proizvoda sa dodatkom 0,5% sojinog lecitina i vremenom zadržavanja od 40 minuta u kugličnom mlinu.

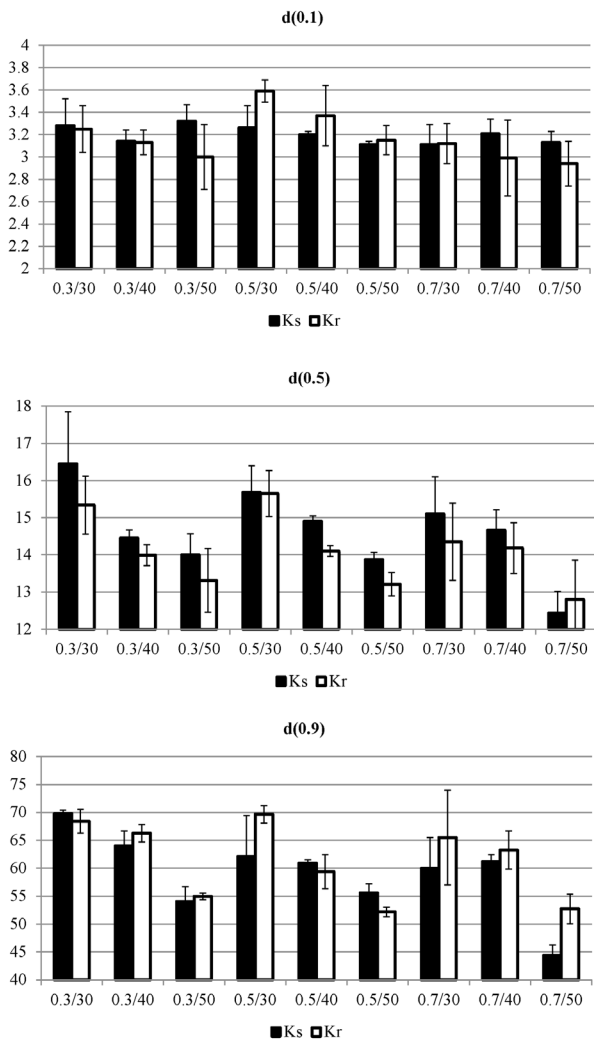
Uzorci krem proizvoda sa dodatkom repičinog lecitina pokazuju veoma slične reološke karakteristike kao uzorci sa dodatkom sojinog lecitina. Najhomogeniju strukturu ima uzorak krem proizvoda sa dodatkom 0,5% repičinog lecitina i vremenom zadržavanja od 40 minuta u kugličnom mlinu.

Dodatak 0,7% obe vrste lecitina ne dovodi do povećanja složenosti sistema i formiranja lamela, budući da se vrednosti viskoziteta ne povećavaju u odnosu na uzorke sa dodatkom 0,3 i 0,5% lecitina, čak se i smanjuju. S druge strane, dodatak 0,7% lecitina dovodi do povećanja vrednosti prinosnog napona, naročito pri dodatku sojinog lecitina.

Uzorci krem proizvoda sa sojinim lecitinom imaju niže vrednosti Casson-ovog viskoziteta u poređenju sa uzorcima sa repičinim lecitinom, posmatrano pri dodatku lecitina od 0,5 i 0,7%, pri svim primenjenim vremenima mlevenja.

Parametri raspodele veličine čvrstih čestica u krem proizvodu sa dodatkom 0,5% sojinog i repičinog lecitina prikazani su na Slici 3.

Dobijeni parametri $d(0.1)$ i $d(0.5)$ pokazuju približno jednake vrednosti pri svim primenjenim vremenima mlevenja. Parametri $d(0,9)$ i d_{mm} imaju vrednosti od $46,38 - 71,14 \mu\text{m}$ i $17,44 - 28,98 \mu\text{m}$, respektivno gde svi uzorci sa maksimalnim vremenom zadržavanja u kugličnom mlinu imaju niže vrednosti parametara $d(0,9)$ i d_{mm} (srednji prečnik zapreminske raspodele). S druge strane, uzorci kremova sa repičinim lecitinom imaju veće vrednosti svih parametara u odnosu na uzorke sa sojinim lecitinom, pri posmatranom vremenu mlevenja, što se najviše odnosi na parametre $d(0,9)$ i d_{mm} . Evidentno je da veće vrednosti parametara raspodele veličina čestica kod krem uzoraka sa repičinim lecitinom, pri istoj posmatranoj koncentraciji lecitina, utiču na smanjenje prinosnog napona u poredjenju sa krem uzorcima sa sojinim lecitinom, odnosno minimalne sile koju je neophodno primeniti kako bi sistem počeo da protiče.



Rezultati predstavljaju 95% interval poverenja srednje vrednosti, n=3

Slika 3. Parametri raspodele veličine čestica u krem proizvodu sa sojinim i repičinim lecitinom

Figure 3. Particle size parameters of cream samples with soy and rapeseed lecithin

U Tabeli 2 prikazana je promena parametara boje CIE L*a*b* uzoraka krem proizvoda sa dodatkom 0,5% lecitina iz soje i uljane repice, dobijenih nakon zadržavanja od u vremenskom intervalu od šest meseci čuvanja.

Uzorci krem proizvoda sa dodatkom repičinog lecitina imaju veće vrednosti svetloće površine (L*), odnosno svetliju boju na površini u poređenju sa uzorcima sa sojinim lecitinom, tokom svih šest meseci čuvanja uzoraka. Uočljivo je da se vrednosti parametra L* u obe vrste kremova neznatno povećavaju do četvrtog meseca čuvanja uzoraka, a zatim opadaju do kraja šestog meseca. Učešće crvenog (a*) i žutog (b*) tona neznatno varira tokom šest

meseci čuvanja uzoraka pri čemu najveće vrednosti imaju uzorci sa repičinim lecitinom, nakon četvrtog meseca čuvanja (10,31 i 14,56).

Tabela 2. Boja na površini krem proizvoda u vremenskom intervalu od šest meseci čuvanja (CIE L*a*b* sistem)

Table 2. Surface color of confectionery cream product in a period of six months of storage (CIE L*a*b* system)

Mesec	Uzorak	CIE L*a*b* parametri boje		
		L*	a*	b*
0	Ks	35,51±0,32	9,97±0,06	14,00±0,04
	Kr	36,28±0,81	9,91±0,25	13,83±0,37 ^e
2	Ks	35,72±0,49	9,76±0,05	13,35±0,18
	Kr	37,07±0,21	9,74±0,06	13,52±0,11
4	Ks	37,12±0,55	9,78±0,19	13,42±0,35
	Kr	37,30±0,44	10,31±0,06	14,56±0,21
6	Ks	35,33±0,17	9,88±0,16	13,64±0,34
	Kr	36,22±1,05	9,96±0,22	13,82±0,37

Rezultati predstavljaju 95% interval poverenja srednje vrednosti, n=3

Senzorske osobine krem proizvoda sa dodatkom lecitina iz soje i uljane repice u vremenskom intervalu od šest meseci čuvanja prikazane su u Tabeli 3. Oba uzorka krem proizvoda imaju su svojstvenu boju po kakau, bez prisustva bele i sive boje na površini. Stajanjem uzorka krem proizvoda sa repičinim lecitinom šest meseci došlo je do pojave svetlije boje na površini, što je u skladu sa instrumentalni određivanjem boje.

Sjaj površine uzoraka mazivog kakao-krem proizvoda sa dodatkom lecitina različitog porekla u prvoj nedelji proizvodnje je izražen, bez izdvajanja ulja na površini. Stajanjem uzoraka krem proizvoda šest meseci nije došlo do gubitka intenziteta sjaja, niti do migracije ulja na površinu.

Uzorci krem proizvoda sa dodatkom lecitina iz soje i uljane repice imaju veoma sličnu čvrstoću, gde je senzornim ocenjivanjem veoma teško uočiti razliku u konzistenciji između pojedinih uzoraka. S druge strane, senzorske ocene pokazuju da je čvrstoća svih uzoraka veća od optimalne. Čvrstoću povećava namenska mast koja je plastična, ali na sobnoj temperaturi ipak čvršće konzistencije od optimalne. Nakon šest meseci čuvanja čvrstoća se neznatno smanjuje kod oba uzorka, najverovatnije usled hemijskih promena nastalih u periodu čuvanja uzoraka od šest meseci.

Bez obzira na vrstu lecitina, uzorci krem proizvoda imaju dobru mazivost i pri nanošenju na keks ostavljaju tanak sloj i ne zaostaju na nožu. Međutim, nešto veća čvrstoća uzoraka od optimalne utiče na

primenu veće sile pri mazanju, te ni jedan uzorak ne pokazuje optimalnu mazivost. Nakon šest meseci čuvanja uzoraka nisu uočene promene u mazivosti.

Tabela 3. Senzorske osobine krem proizvoda u vremenskom intervalu od šest meseci čuvanja
Table 3. Sensory properties of confectionery cream product in a period of six months of storage

Mesec	Uzorak	Senzorske karakteristike			
		Boja na površini	Sjaj površine	Čvrstoća	Mazivost
0	Ks	4,3±0,05	3,8±0,04	4,9±0,20	6,3±0,32
	Kr	4,3±0,06	4,3±0,02	4,8±0,22	6,3±0,20
2	Ks	4,3±0,01	3,9±0,05	4,8±0,13	6,4±0,15
	Kr	4,4±0,02	3,9±0,01	4,8±0,17	6,4±0,12
4	Ks	4,2±0,04	3,8±0,05	4,8±0,10	6,2±0,19
	Kr	4,3±0,07	3,8±0,04	4,8±0,16	6,3±0,25
6	Ks	4,3±0,04	3,8±0,03	4,8±0,20	6,3±0,22
	Kr	4,2±0,03	4,2±0,05	4,7±0,14	6,3±0,20
	Uzorak	Senzorske karakteristike			
		Zrnavost	Adhezivnost	Miris	Ukus
0	Ks	6,0±0,25	4,4±0,36	6,7±0,00	6,3±0,02
	Kr	6,0±0,12	4,5±0,50	6,7±0,02	6,4±0,01
2	Ks	6,0±0,45	4,5±0,50	6,7±0,00	6,3±0,00
	Kr	6,0±0,75	4,4±0,42	6,7±0,02	6,4±0,02
4	Ks	6,0±0,45	4,7±0,50	6,5±0,05	6,0±0,02
	Kr	6,0±0,75	4,5±0,35	6,5±0,03	5,8±0,02
6	Ks	5,8±0,20	4,5±0,20	6,5±0,02	5,2±0,06
	Kr	5,8±0,14	4,4±0,24	6,6±0,02	5,6±0,04

Rezultati predstavljaju 95% interval poverenja srednje vrednosti, n=3

Vreme zadržavanja uzoraka u kugličnom mlinu ima uticaj na veličinu čestica i celokupni utisak pri konzumiranju mazivog kakao-krem proizvoda, kako u prvoj nedelji tako i posle šest meseci čuvanja. Vreme mlevenja od 40 minuta doprinelo je neznatnom osećaju peskovitosti u ustima tokom žvakanja kod oba uzorka, te nije dovoljno kako bi se uzorci optimalno mazali po ustima i topili prilikom konzumiranja.

Miris svih uzraka je svojstven, zaokružen i aromatičan, bez izdvajanja mirisa po pojedinim sirovinama. Stajanjem uzoraka miris oba uzorka se za nijansu pogoršava, pri čemu je i dalje prijatan i zaokružen, ali je manje izražen.

U prvoj nedelji oba uzorka krem proizvoda imaju svojstven, zaokružen i aromatičan miris i ukus, pri

čemu je ukus još više naglašen kod uzorka sa dodatkom repičinog lecitina. Nakon dva meseca čuvanja uzoraka ne dolazi do promene mirisa i ukusa, dok se miris i ukus neznatno pogoršavaju nakon četiri meseca čuvanja, pri čemu se slabije zaokruženi. Nakon šest meseci čuvanja uzoraka miris i ukus oba uzorka je slabije aromatičan, pri čemu se ističe ukus po masti i naglašava osećaj slatkosti. Pri tome krem sa repičinim lecitinom ima zaokruženiji miris i ukus u poređenju sa uzorkom koji sadrži sojin lecitin.

ZAKLJUČAK

Obe vrste lecitina sadrže najveći udeo fosfatidil-holina, pri čemu je sadržaj veći u lecitinu iz uljane

repice. Krem proizvodi sa sojinim i repičinim lecitinom, pri istim uslovima proizvodnje u laboratorijskom kugličnom mlinu, razlikuju se po raspodeli veličina čvrstih čestica, gde uzorci sa repičinim lecitinom imaju veće vrednosti svih parametara raspodele u odnosu na uzorke sa sojinim lecitinom. Optimalno reološko ponašanje pokazuju uzorci krem proizvoda sa dodatkom 0,5% obe vrste lecitina pri vremenu mlevenja od 40 minuta, gde povećanje koncentracije sojinog i repičinog lecitina na 0,7% utiče na povećanje prinosnog napona krem proizvoda. Generalno, uzorci kremova sa sojinim lecitinom imaju veće vrednosti prinosnog napona i manje vrednosti viskoziteta u poređenju sa kremovima proizvedenim sa repičinim lecitinom, posmatrano pri određenoj koncentraciji lecitina i vremenu mlevenja.

Instrumentalnim merenjem boje i senzorskom analizom utvrđeno je da uzorak krem proizvoda sa repičinim lecitinom ima svetliju boju površine nakon šest meseci čuvanja. Nakon četvrtog meseca čuvanja došlo je do senzorskih promena prvenstveno ukusa, koji je slabije aromatičan i nezaokružen, pri čemu je pogoršanje izraženije kod uzorka sa sojinim lecitinom.

ZAHVALNICA

Rad je finansiran od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (Projekat TR 31014).

Napomena

Rezultati iz ovog rada su prezentovani na 57. Savetovanju industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica u Herceg Novom, 19-24. juna 2016. godine.

LITERATURA

1. Arnold, G., S. Schuldt, Y. Schneider, J. Frederichs, F. Babick, C. Werner, H. Rohm (2013). The impact of lecithin on rheology, sedimentation and particle interactions in oil-based dispersions. *Colloids Surf. A. Physicochem. Eng. Asp.*, 418: 147-156.
2. Bueschelberger, H.G. (2004). Lecithins. In: *Emulsifiers in Food Technology*, Ed. Whitehurst R.J., Northampton, Blackwell., pp.18.
3. Cabezas, D.M., B. Diehl, M.C. Tomas (2009). Effect of processing parameters on sunflower phosphatidylcholine-enriched fractions extracted with aqueous ethanol. *Eur J Lipid Sci Technol*, 111: 993-1002.
4. Dimić, E. (2005). Hladno ceđena ulja, Monografija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Novi Sad, Srbija.
5. Fernández, M.B., E.E. Perez, G.H. Crapiste, S.M. Nolasco (2012). Kinetic study of canola oil and tocopherol extraction: Parameter comparison of nonlinear models. *J. Food Eng.*, 111: 682-689.
6. Lawless, H.T, H. Heymann (2010). *Sensory evaluation of food, principles and practices*, second edition, Springer, USA.
7. Lončarević, I., B. Pajin, J. Petrović, D. Zarić, M. Sakač, A. Torbica, D.M. Lloyd, R. Omorjan (2016a). The impact of sunflower and rapeseed lecithin on the rheological properties of spreadable cocoa cream. *J. Food Eng.*, 171: 67-77.
8. Lončarević, I., B. Pajin, Lj. Dokić, D. Zarić, R. Omorjan, Z. Šereš, D. Šoronja Simović (2013a). Kvalitet mazivog kakao-krem proizvoda sa sunčokretovim lecitinom, *Journal of edible oil industry – Uljarstvo*, 44 (1): 27-33.
9. Lončarević, I., B. Pajin, M. Sakač, D. Zarić, M. Rakin, J. Petrović, A. Torbica (2016b). Influence of rapeseed and sesame oil on crystallization and rheological properties of cocoa cream fat phase and quality of final product. *J. Texture Stud.*, DOI: 10.1111/jtxs.12179.
10. Lončarević, I., B. Pajin, R. Omorjan, A. Torbica, D. Zarić, J. Maksimović, J. Švarc Gajić (2013b). The influence of lecithin from different sources on crystallization and physical properties of non trans fat. *J. Texture Stud.*, 44: 450-458.
11. Nieuwenhuyzen, W., M.C. Tomas (2008). Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies, *Eur J Lipid Sci Technol*, 110: 472-486.
12. Oke, M., J.K. Jacob, G. Paliyath (2010). Effect of soy lecithin in enhancing fruit juice/sauce quality. *Food Res. Int.*, 43: 232-240.
13. Pajin, B., Đ. Karlović, Lj. Dokić, M. Hadnadev (2006): Karakterizacija mazivih krem proizvoda. *Journal of Edible Oil Industry - Uljarstvo*, 37 (1-2): 13-16.
14. Pajin, B., Lj. Dokić, D. Zarić, D. Šoronja-Simović, I. Lončarević, I. Nikolić (2012). Crystallization and rheological properties of soya milk chocolate produced in a ball mill. *J. Food Eng.*, 114: 70-74.
15. Ramadan, M.F. (2008). Quercetin increases antioxidant activity of soy lecithin in a triolein model system. *LWT-Food Sci Technol*, 41: 581-587.
16. Szuhaj, B.F. (2005). Lecithins. In: *Bailey's industrial oil and fat products*, Ed. Shahidi F., 6th edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

17. Vujasinović, V., Ž. Vrbaški (2015). Fosfolipidi industrije ulja. *Uljarstvo*, 46: 55-63.
18. Whitehurs, R.J. (2004). *Emulsifiers in food technology*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford OX4 2DQ, UK.

FIZIČKE OSOBINE EMULZIJA TIPA ULJE U VODI DOBIJENIH TEHNIKOM MEMBRANSKOG EMULGOVANJA UPOTREBOM SHIRASU STAKLENIH MEMBRANA

Nikola Maravić, Zita Šereš, Aleksandar Takači, Žana Šaranović, Ivana Nikolić, Dragana Šoronja Simović, Ljubica Dokić, Nemanja Bojanić

Izrada stabilnih emulzija tipa ulje u vodi i ispitivanje uticaja primenjenih parametara i promene sastava na njihove osobine je osnovni cilj ovog rada. Pripremane su emulzije sa različitim sadržajem uljane faze i pri različitom broju obrtaja magnetne mešalice. Iste emulzije su pripremane korišćenjem SPG membrana različite veličine pora i pri različitim pritiscima azota. Upotreba membrane sa veličinom pora od 1 μm rezultuje manjim srednjim prečnikom kapi disperzne faze i širom raspodelom veličine kapi u poređenju sa emulzijama dobijenim upotrebom membrane sa veličinom pora od 5 μm . Na dobijenim krivama proticanja emulzija proizvedenih SPG membranom sa porama 1 μm uočava se histerezisna petlja kao rezultat uspostavljanja izvesne unutrašnje strukture vezama koje se oslobađaju tokom smicanja i tokom prvobitnog ograničenog razrušavanja strukture. Povećavanjem količine ulja u emulziji dolazi do blagog porasta srednje veličine kapi.

Ključne reči: membransko emulgovanje, SPG, emulzije, veličina kapi, reološke osobine.

PHYSICAL CHARACTERISTICS OF THE O/V EMULSIONS OBTAINED BY USING MEMBRANE EMULSIFICATION TECHNIQUE WITH SHIRASU POROUS GLASS MEMBRANES

The aim of this paper is the production of stable oil-in-water emulsions and the investigation of applied operational parameters and changes in the composition on the properties of the obtained emulsions. Emulsions containing particular oil content were produced by using various rotating speed of the mixer. Emulsions were prepared by using SPG membranes with different pore size under different operating pressure. The use of membranes with a pore size of 1 μm resulted in a smaller mean droplet diameter of the disperse phase and more wide-ranging distribution of particle size in comparison with the emulsion obtained using a membrane with a pore size of 5 μm . Hysteresis loop, as a result of establishing a certain internal structure links that are released during the shearing and during the limited destruction of original structure, is observed in the flow curves of the emulsions produced by using the SPG membranes with the pore size of 1 μm . By increasing the amount of oil in the emulsion, a slight increase in the size of the medium drops is noticed.

Keywords: membrane emulsification, SPG, emulsion, droplet size, rheological properties.

UVOD

Emulzije su koloidno disperzni sistemi i sastoje se od emulgatora i dve ili više tečnih faza, koje su međusobno nemešljive. Kao višefazni sistemi, emulzije veliku primenu imaju u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji (Piacentini i sar., 2014). Po

Nikola Maravić e mail: maravic@tf.uns.ac.rs, Zita Šereš, Aleksandar Takači, Ivana Nikolić, Dragana Šoronja Simović, Ljubica Dokić, Nemanja Bojanić, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bul. cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija.
Žana Šaranović, "FIDELINKA –SKROB" d.o.o., Čantavirski put br. 1 24000 Subotica, Srbija.

jedine aktivne lekovite supstance mogu biti rastvorne u vodi, dok su druge rastvorne u mastima. Stoga su emulzije vrlo pogodne za korišćenje u farmaceutskoj industriji kao nosači za aktivne lekovite supstance. Pored toga, mnogi kozmetički preparati, kreme za negu i zaštitu kože koriste emulzije kao aplikatore.

U prehrambenoj industriji primena emulzija je takođe vrlo rasprostranjena. Majonez, jogurt, razne vrste mlečnih i voćnih napitaka, prelive za salatu, šlag pene i kremovi samo su neki od prehrambenih proizvoda koji su po prirodi emulzije (Charcosset, 2009). Glavni zadatak i izazov u pripremi proizvoda na bazi emulzije jeste produkt koji će biti dugotrajan i stabilan. Pored toga, tendencije su takve da se emulzijama koje se koriste u ishrani smanji procenat masne faze, zbog nepovoljnog uticaja koje ona može

da ima na zdravlje potrošača (Nakashima i sar., 2000). Stoga je potrebno napraviti dobar balans kako bi se očuvale prepoznatljive osobine proizvoda, kao i njegova stabilnost i dugotrajnost, a istovremeno štetan uticaj na zdravlje potrošača sveo na minimum.

Stabilnost i reološka svojstva emulzije zavise od raspodele veličine kapi emulzije, dok presudan uticaj na veličinu kapi ima način na koji se emulzija priprema. Priprema emulzija može se obaviti bez spoljnog mehaničkog dejstva, odnosno može doći do spontanog emulgovanja ili samoemulgovanja, a pored toga emulzije mogu nastati mućkanjem, mešanjem, ubrizgavanjem kroz injektore, pomoću homogenizera, dispergatora, koloidnih mlinova ili upotrebom ultrazvučnih talasa (Đaković, 1985).

Pored ovih opcija koje funkcionišu na upotrebi jakih smicajnih sila, moguće je i delovanjem mehaničkom silom dobiti emulzije. Najčešće korišćen uređaj zasnovan na primeni mehaničke sile je homogenizer. Razvojem novih tehnologija unapređuju se stare tehnike emulgovanja i pronalaze novi načini za dobijanje emulzija, u cilju postizanja efikasnijeg i ekonomski isplativijeg procesa.

Interesovanje za membransko emulgovanje pojavilo se pre 25 godina, a razvoj ove tehnike doveo je do toga da je ona danas, uz mikrofiltraciju, ultrafiltraciju i reversnu osmozu, jedna od osnovnih tehnika prehrambene industrije (Daufin i sar., 2001). Za potrebe prehrambene industrije, najčešće se koriste staklene membrane, mada one mogu napravljene i od drugih materijala kao što su plastika, keramika, metal ili neki drugi.

Kod membranskog emulgovanja, dobijanje emulzije postiže se kretanjem diskontinualne faze kroz pore membrane u kontinualnu fazu. Da bi se obezbedilo odgovarajuće otkidanje kapi od površine membrane, potrebno je obezbediti određenu silu smicanja uzrokovanu kretanjem kontinualne faze (Kukizaki, 2009).

Osnovne prednosti ove tehnike su što je vrlo jednostavna i što je moguće dobiti emulziju koja je uniformna po pitanju veličine kapi. Pored toga, dodatna prednost je što se veličina kapi može kontrolisati veličinom pora membrane. Postupak emulgovanja upotrebom membrana pogodan je i ekonomski, imajući u vidu da se postže velika efikasnost emulgovanja uz nisku energetska potrošnju (Piacentini i sar., 2014).

Cilj ovog rada je da se ispituju fizičke osobine emulzija tipa ulje u vodi, dobijenih membranskim emulgovanjem, pri čemu su ispitivani nezavisni fizički parametri brzina mešanja, veličina pore staklenih membrana za emulgovanje i sadržaj ulja

u emulziji. Iste emulzije su pripremane korišćenjem SPG membrana različite veličine pora i pri različitim pritiscima azota.

MATERIJAL I METODE

U eksperimentalnom radu je korišćeno suncokretovo ulje „Dijamant“, (DIJAMANT AD, Srbija), emulgator Tween 80 (polioksietilen sorbitan monooleat, n ca. 20, HLB: 15.0, Nemačka) i destilovana voda. Za potrebe membranskog emulgovanja korišćena je oprema Internal pressure Type Micro Kit (MN-20) koja potiče iz Japana, prikazana na slici 1. Pogonska sila je pritisak azota, koji obezbeđuje kretanje diskontinualne faze kroz pore membrana. Staklene membrane korišćene u eksperimentima imaju pore prečnika 1 μm i 5 μm .

Emulzije su pripremljene sa 40 i 50% sadržaja uljane faze. Količina emulgatora je bila 5% računato na uljanu fazu. U cilju lakšeg rastvaranja, emulgator je rastvoren u kontinualnoj fazi pre emulgovanja, uz blago zagrevanje. Priprema emulzija se odvijala u staklenoj čaši, uronjenoj u vodeno kupatilo temperature 30 $^{\circ}\text{C}$, u kojoj se nalazila magnetna mešalica. Broj obrtaja magnetne mešalice tokom emulgovanja je podešen na 800 i 1000 o/min.



Slika 1. Aparatura za membransko emulgovanje, sa redukcionim ventilom i magnetnim mešačem.

Figure 1 Apparatus for membrane emulsification, with a reducing valve and a magnetic stirrer.

Proces emulgovanja je trajao između 15 i 45 minuta u zavisnosti od primenjene membrane. Sa završetkom procesa usledilo je ispitivanje osobina emulzija: „creaming”, veličine i raspodele čestica i reoloških osobina. Nakon pripreme svake emulzije usledilo je čišćenje membrana. Prvi korak je otvaranje graduisanog rezervoara za ulje i ispunjavanje rezervoara sa etilalkoholom. Potom se rezervoar zatvara i alkohol pod dejstvom pritiska azota prolazi kroz membranu. Nakon ispiranja etilalkoholom proces pranja se ponavlja sa rastvorom 4% natrijumhidroksida.

Ispitivanje „creaming-a”

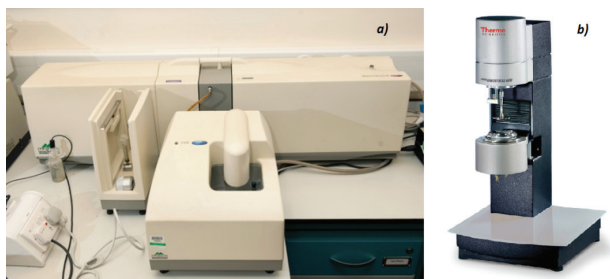
Ispitivanje „creaming-a” počinje odmah nakon pripreme emulzije. Iz gotove emulzije 10 ml je postavljeno u menzuri od 10 ml. „Creaming” se prati na sobnoj temperaturi sa vizuelnim očitavanjem visine donjeg izbistrenog sloja (HS) u menzuri.

„Creaming” se izražava preko „creaming” indeksa (KI), koja se dobija pomoću ukupne visine uzoraka (HE) i donjeg izbistrenog sloja (HS). „Creaming” indeks se izražava u %, i računa pomoću jednačine (1):

$$KI = \frac{HS}{HE} \times 100 \quad (1)$$

Ispitivanje veličina i raspodela veličina čestica sa uređajem Mastersizer 2000®

Veličina i raspodela veličine kapi u emulzijama određeni su pomoću metode difrakcije laserske



Slika 2. Optički instrument Mastersizer 2000® za merenje srednje veličine i rasporeda veličine kapi (a) i instrument za merenje reoloških osobina HAAKE RheoStress 600 (b).

Figure 2 Optical instrument Mastersizer 2000® for determination of droplet size and size distribution (a) and instrument for determination of rheological characteristics HAAKE RheoStress 600 (b).

svetlosti. Laserska difraktometrija bazira na merenju rastojanja i intenziteta difrakcionih prstenova tj. prostornih uglova i pravca upadne svetlosti. Merenja su izvršena na uređaju Mastersizer 2000®. Glavni delovi uređaja su optički instrument, Hydro 2000G, koji služi za dispergovanje uzoraka i računar sa programom Mastersizer 2000 v5.60 (Slika 2).

Instrumentom je moguće izmeriti čestice čije se veličine nalaze u intervalu od 0.02 do 2000 μm (Stojanović i sar., 2010; Huang i sar., 2001).

Ispitivanje reoloških osobina sa uređajem HAAKE RheoStress 600

Reološke osobine emulzija su ispitivane pomoću rotacionog viskozimetra HAAKE RheoStress 600 (Slika 2), pri stalnoj temperaturi od 30±0,1°C. Cilindar Z 20 DIN je korišćen za merenje, sa 0,9 mm rastojanja između unutrašnjeg i spoljašnjeg cilindra. Merenja su obavljena odmah nakon pripreme emulzija. Korišćena metoda za analizu je metod histerezne petlje. Na početku ispitivanja uzorak se u toku 180 s podvrgava postepenom porastu brzine smicanja od 0 do 100s⁻¹, nakon čega sledi konstantan period od 180 s, i zadnji korak merenja je smanjenje brzine smicanja u toku 180 s do nulte vrednosti.

2.1. Plan eksperimenta

Parametri izrade pojedinačnih emulzija su navedeni u Tabeli 1. Povećani pritisak kod membrane sa veličinom pora od 1 μm je opravdan zbog većeg otpora membrane, nadpritisak od 0,05 MPa nije bio dovoljan da pokrene kretanje diskontinualne faze kroz membranu.

Tabela 1. Plan eksperimenata
Table 1. Experimental plan

Broj uzorka	Intenzitet mešanja (o/min)	Sadržaj ulja (%)	Veličina pora (μm)	Pritisak (MPa)
1	800	40	5	0,05
2	800	50	1	0,263
3	800	40	1	0,263
4	800	50	5	0,05
5	1000	40	1	0,263
6	1000	50	1	0,263
7	1000	40	5	0,05
8	1000	50	5	0,05

REZULTATI I DISKUSIJA

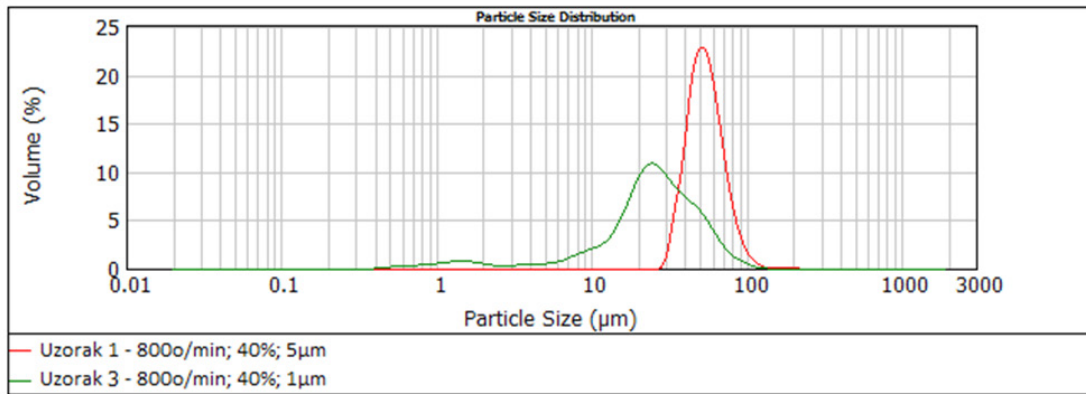
1. Uticaj primenjenih parametara na veličinu i raspodelu veličine kapi

U toku procesa izrade emulzija uspostavlja se ravnoteža između stvorenih kapi i koalescencije, i ova pojava utiče na osobine obrazovanih sistema. Navedeni proces zavisi od vrste tj osobine i koncentracije emulgatora. Vreme trajanja postupka, koje daje očekivane osobine produkta i energetski je efikasan (ima male operativne troškove), se naziva optimalno vreme emulgovanja (Krstonošić, 2010). Rezultati srednjeg prečnika kapi u emulzijama dobijeni sa primenom odgovarajućih parametara su navedeni u tabeli 2.

Konačne vrednosti veličine i raspodele veličine kapi u velikoj meri zavise od brzine nastajanja slobodne površine i od toga da li je emulgator sposoban da prati brzinu sa adsorpcijom na ovu površinu. Lako se uočava da kapi dobijene sa membranom od 1 μm su od 25 do 50% manje od kapi dobijenih sa membranom od 5 μm . Ovakve razlike su se i mogle očekivati zbog značajne razlike u prečniku pore staklene membrane. Uzorci dobijeni pri istim uslovima (količina ulja i brzina mešanja) upotrebom membrane od 1 μm daju od 50 (uzorak broj 1 i 3) do čak 75% (uzorak broj 2 i 4) manje kapi u odnosu na membranu sa većim porama (Slika 3).

Tabela 2. Srednji prečnik kapi u emulzijama
Table 2. The mean diameter of the emulsion droplets

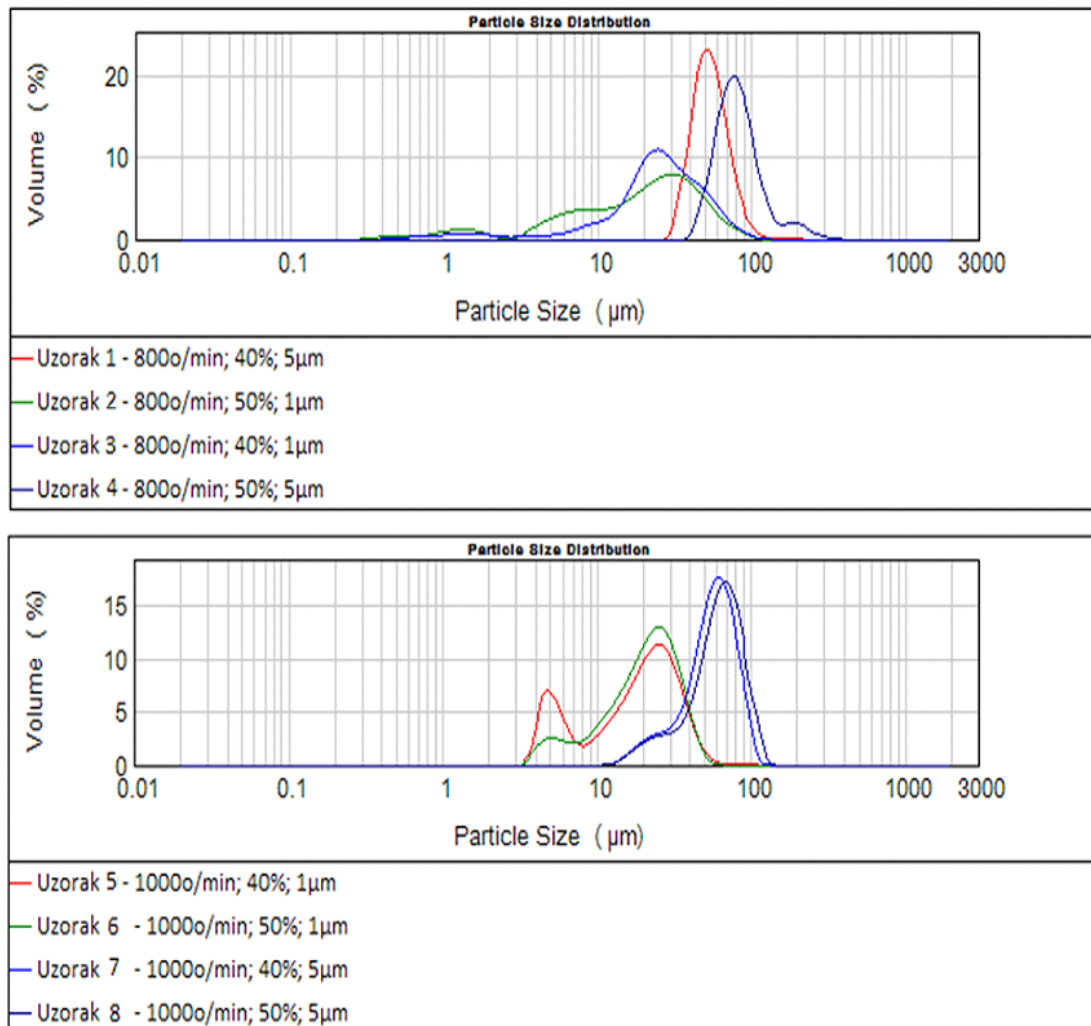
Broj uzoraka	Intenzitet mešanja (o/min)	Sadržaj ulja (%)	Veličina pora (μm)	Prečnik kapi (μm)
1	800	40	5	53,148
2	800	50	1	21,062
3	800	40	1	25,416
4	800	50	5	79,604
5	1000	40	1	19,608
6	1000	50	1	21,190
7	1000	40	5	57,161
8	1000	50	5	63,029



Slika 3. Grafik širine raspodele čestica u uzorku 1 i 3.
Figure 3 Particle size distribution in the samples 1 and 3

Veličina pora je od velikog značaja, pošto ne utiče samo na veličinu kapi sa spoljašnje strane membrane, nego i na otpor membrane proticanju diskontinualne faze i fluida za čišćenje. Usled većeg otpora membrane sa manjim porama bilo je neophodno da

se koristi veći pritisak kako bi se pokrenula diskontinualna faza kroz pore membrane. Na osnovu dijagrama raspodele vidi se da se kod uzoraka sa manjim porama dobijaju emulzije sa širom raspodelom veličine čestica (Slika 4). Upotrebom membrane od



Slika 4. Grafik širine raspodele čestica dobijenih emulzija pri različitim brzinama obrtaja mešača, udelu ulja i veličine pora membrana.

Figure 4 Particle size distribution in the emulsions obtained at different rotating speed of the mixer, oil content and pore size of the membrane

1 μm proizvode se kapi sa širom raspodelom veličine jer je površina diskontinualne faze koja se stvara na membrani veća, zbog čega emulgator sporije prekriva i štiti kapi od koalescencije. Takođe, zbog veće specifične površine kapi emulzije, otežana je zaštita kapi jer ista količina emulgatora, neophodna za ovu količinu ulja, iz kontinualne faze, ima zadatak da prekriva veću površinu sitnijih kapi. Iz navedenih razloga veća je aktivna površina sitnih kapi i dolazi do koalescencije, usled nedovoljne pokrivenosti površine kapi, i stvaranja većih čestica koje pomeraju krivu raspodele ka oblasti većih srednjih prečnika i na taj način šire krivu raspodele. Ova pojava se može sprečiti upotrebom veće količine emulgatora ili upotrebom emulgatora veće efikasnosti.

Na slici 4. jasno se vidi značajno smanjenje vrednosti srednjeg prečnika emulzija proizvedenih upotrebom membrane manjih prečnika pora, pri upotrebi iste količine ulja i istog broja obrtaja mešača. Takođe, može se uočiti da su krive raspodele emulzija proizvedenih membranom većih prečnika pora više, odnosno ovakve emulzije su homogenije po pitanju veličine kapi u samoj emulziji.

Uz proporcijalno veću količinu emulgatora u proizvodnji emulzija upotrebom manjih pora membrane pretpostavlja se da bi ova razlika u veličini kapi bila još veća, odnosno da bi se kriva raspodele pomerila ka oblasti manjih prečnika kapi i, što je još bitnije, visina krive raspodele bila bi značajno veća jer bi se sprečila koalescencija nastalih sitnih kapi emulzija.

Brzina obrtaja magnetne mešalice je veoma važna, pošto direktno utiče na silu koja deluje na diskontinualnu fazu kada se pojavi na spoljašnjoj površini membrane u obliku kapi. Ta sila utiče na odvajanje kapi od membrane tj. na veličinu dobijene kapi. Brzinu obrtaja nije bilo moguće povećati više od 1000 o/min u ovom eksperimentu zbog pojave vrtloga oko membrane koji je smanjio visinu kontinualne faze u posudi ispod nivoa površine same membrane. U budućim eksperimentima sa većim brzinama mešanja potrebno je smanjiti rastojanje između membrane i zida posude i na taj način omogućiti upotrebu većih smicajnih sila.

Takođe, veliki uticaj ima i viskozitet same kontinualne faze. Kod emulzija sa većim sadržajem ulja viskozitet tečnosti u posudi srazmerno raste i na taj način povećava silu smicanja koja deluje na novostvorene kapi na površini membrane. Ova pojava se može primetiti kod uzoraka 4 i 8 gde se očekivalo da veličina kapi bude značajno veća u poređenju sa emulzijama gde je bilo za 20% manje ulja. Kod ovih uzoraka, iako je količina ulja bila značajno veća,

veličina kapi je blago porasla (5 i 6) ili čak ostala približno ista (uzorci 2 i 3) naglašavajući uticaj samog viskoziteta kontinualne faze. Sa druge strane, količina ulja negativno utiče na srednji prečnik kapi jer povećava udeo diskontinualne faze (ulja) i na taj način smanjuje zapreminu kontinualne faze između kapi tj. manje će biti i rastojanje između samih kapi i uz mešanje lakše dolazi do koalescencije. Prema tome, na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da pri korišćenom obimu brzine mešanja, manja količina ulja daje kapi manjeg srednjeg prečnika ali da se dalja ispitivanja moraju usmeriti ka ispitivanju uticaja promene viskoziteta kontinualne faze na rezultate membranskog emulgovanja.

2. Reološke osobine dobijenih emulzija

Tokom ispitivanja reoloških karakteristika dobijenih emulzija, određene su krive proticanja za svaku emulziju. Krive proticanja opisuju vezu između napona smicanja i promene brzine smicanja, i tako daju informaciju o strukturi i stepenu uređenosti sistema. U ovom radu kao diskontinualna faza korišćeno je suncokretovo ulje.

Pseudoplastično proticane opisuje jednačina (2):

$$\tau = K \cdot (\dot{\gamma})^n \quad (2)$$

gde su:

τ – Napon smicanja [Pa]

K – Merilo konzistencije

$\dot{\gamma}$ – Brzina smicanja [s^{-1}]

n – Stepennjenjutnovskog ponašanja.

U jednačini (2) je K konstanta, koja predstavlja merilo konzistencije ispitivanog sistema, dakle promena prividnog viskoziteta se održava na njenu vrednost. Stepennjenjutnovskog ponašanja određuje konstanta n , sa opadanjem vrednosti n -a, nenjutnovski karakter sistema je izraženiji. Vrednosti reoloških parametara za ispitivane emulzije dobijene upotrebom membrane prečnika pora 1 μm. su prikazane u tabeli 3. Prema vrednostima prikazanim u tabeli 3. može se uočiti da uzorci najmanjeg prosečnog prečnika kapi (5, 2, 6) pokazuju najizraženiji nenjutnovski karakter. Pored toga, ovi uzorci imaju i najviše K vrednosti, odnosno predstavljaju sisteme veće konzistentnosti u poređenju sa ostalim ispitivanim emulzijama. Krive proticanja uzoraka 2, 5 i 6 su prikazane na slici 5. Ovakve emulzije imaju i više vrednosti napona smicanja pri proticanju. Ovakav reološki rezultat u skladu je sa prikazanom raspodelom čestica (slika 4), gde su uzorci 2, 3, 5 i 6

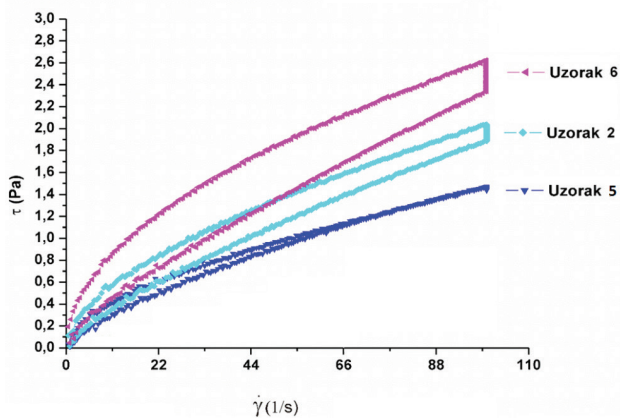
izraženije polidisperznosti u odnosu na uzorke 1, 4, 7 i 8. To omogućava bolje prostorno pakovanje kapi gde se u prostoru između velikih kapi uklapaju kapi manjih prečnika. Ova pojava omogućava veći stepen uredenosti sistema, odnosno izraženiju konzistentnost i veći otpor proticanju.

odnosno viskoziteta tokom vremena. Uzrok ovakvog ponašanja je uspostavljanje izvesne unutrašnje strukture vezama koje se oslobađaju tokom smicanja i tokom prvobitnog ograničenog razrušavanja strukture (Wang i sar., 2011). Ovaj ciklus povećanja i smanjenja jačine strukture je u potpunosti reverzi-

Tabela 3. Reološki parametri i krive proticanja emulzija dobijenih membranom prečnika pora 1 μm
Table 3. The rheological parameters and flow curves of the emulsions obtained by emulsification using membrane pore 1 μm diameter of

Broj uzorka	Brzina mešanja (o/min)	Sadržaj ulja (%)	Prečnik kapi (μm)	$K \cdot 10^{-3}$	n	r	A_0 (1/Pa)
3	800	40	25,416	0,0038	1,027	0,9698	5,54
5	1000	40	19,608	0,0787	0,6336	0,9973	-4,699
2	800	50	21,062	0,0945	0,6579	0,9871	-19,70
6	1000	50	21,190	0,1441	0,6171	0,9664	-41,16

Na dobijenim krivama proticanja emulzija proizvedenih SPG membranom sa porama 1 μm uočava se histerezisna petlja (Slika 5.). Negativne vrednosti površine petlje A_0 kod uzoraka broj 2, 5 i 6, i porast viskoziteta pri laganim brzinama mešanja ukazuje na reopektični karakter histerezisnih petlji.



Slika 5. Krive proticanja uzoraka 2, 5 i 6, koji su dobijeni emulgovanjem membranom prečnika pora 1 μm.

Figure 5 Flow curves of the samples 2, 5 and 6, obtained by emulsification using membrane pore size of 1 μm.

Ovak tip proticanja je Nenjutnovsko proticanje, suprotno od tiksotropnog ponašanja disperznih sistema, koje se reflektuje povećanjem napona smicanja

bilan proces koji se nekada naziva i antitiksotropija ili negativna tiksotropija (Mezger, 2006).

Stabilnost emulzije je određena pomoću „creaming” indeksa (jednačina 1). Dobijene vrednosti „creaming” indeksa su navedene u tabeli 4.

Na osnovu rezultata „creaming” indeksa može se zaključiti da emulzije proizvedene membranom prečnika pora 1 μm pokazuju bolju stabilnost od emulzije proizvedenih membranom sa porama od 5 μm. „Creaming” se pojavljuje zbog gravitaconog razdvajanja faza tj. isplivanja lakše (uljne) faze, što će biti sporije ako su čestice sitnije. Dakle isplivanje otežava i šira raspodela veličina kapi, jer veće čestice sporije prolaze kroz gusto pakovane kapi.

ZAKLJUČAK

U ovom radu su varirani sadržaj ulja u emulzijama u opsegu od 40 i 50%, što spada u oblasti koncentrovanih emulzija. Sadržaj emulgatora se računa u odnosu na količinu ulja u emulzijama i kod svake emulzije iznosi 5%. Brzina obrtanja magnetne mešalice je bila 800 i 1000 o/min. Veličina pore membrane iznose 1 i 5 μm. Primenjeni parametri tokom izrade emulzije i korišćene membrane u velikoj meri utiču na osobine pojedinih emulzija.

Pregledom i detaljnim analiziranjem dobijenih rezultata za stabilnost, disperzione i reološke osobine izrađenih emulzija pomoću membranskog emulgovanja može se zaključiti da upotreba mem-

brane sa veličinom pora od 1 μm rezultuje manjim srednjim prečnikom kapi disperzne faze i širom raspedelom veličine kapi. Kapi dobijene sa membranom od 1 μm su od 25 do 50% manje od kapi dobijenih sa membranom od 5 μm . Šira raspodela veličina kapi i manji srednji prečnici kapi se javljaju zbog veće površine diskontinualne faze sa spoljašnje strane membrane, koju emulgator sporije prekriva, i dolazi do pojave koalescencije. Drugi razlog za pojavu šireg raspodela kapi je da se sa manjim porama dobija veća specifična površina diskontinualne faze, tako ista količina emulgatora ima za zadatak da štiti veću površinu, što rezultuje veću aktivnu površinu i pojavu koalescencije. U slučaju korišćenja mem-

konzistentnost ako ih uporedimo sa emulzijama sa većim srednjim prečnikom kapi. Sa druge strane one sa manjim srednjim prečnikom kapi disperzne faze pokazuju veći napon smicanja, i izraženiju polidisperznost, odnosno bolje prostorno pakovanje samih kapi emulzije. U ovom slučaju manje kapi ispunjavaju prostor između većih, što rezultuje u povećanoj konzistentnosti i otporu pri proticanju. Veća stabilnost emulzije je postignuta korišćenjem membrane sa veličinom pora od 1 μm . Manje kapi sa širom raspedelom veličine otežavaju isplivavanje krupnijih čestica na površinu zbog njihovog gustog rasporeda i sporijeg kretanja kroz kontinualnu fazu.

Tabela 4. Vrednosti "creaming" indeksa pojedinih emulzija
Table 4. Creaming index values regarding corresponding emulsions

Broj uzorka	Brzina mešanja (o/min)	Sadržaj ulja (%)	Veličina pora (μm)	HS (cm)	„Creaming” indeks
1	800	40	5	4	40
2	800	50	1	0	0
3	800	40	1	1	10
4	800	50	5	3	30
5	1000	40	1	0	0
6	1000	50	1	0	0
7	1000	40	5	4	40
8	1000	50	5	4	40

brane sa manjom veličinom pora (u ovom slučaju 1 μm) uz povećanje količine emulgatora očekuje se dalje smanjenje srednje veličine kapi i povećanje visine krive tj. dobijanje homogenijih emulzija, zbog sprečavanja koalescencije manjih kapi. U budućim eksperimentima sa većim brzinama mešanja potrebno je smanjiti rastojanje između membrane i zida posude i na taj način omogućiti upotrebu većih smicajnih sila. Povećavanjem količine ulja u emulziji dolazi do blagog porasta srednje veličini kapi. Povećani udeo diskontinualne faze dovodi do povećavanja viskoziteta, tako i sile koja tokom mešanja deluje na novostvorene kapi, blago smanjujući veličinu. Sa smanjenjem udela kontinualne faze smanjuje se i rastojanje između kapi diskontinualne faze i lakše dolazi do koalescencije. Međuzavisnost ove dve pojave zahteva dalja istraživanja. Emulzije sa najmanjim prečnicima kapi disperzne faze pokazuju najizraženiji nenjutnovski karakter, i veću

LITERATURA

1. Charcosset, C. (2009). Preparation of emulsions and particles by membrane emulsification for the food processing industry. *Journal of Food Engineering*, 92: 241–249.
2. Daufin, G., Escudier, J.P., Carrère, H., Bérot, S., Fillaudeau, L., Decloux M. (2001). Recent and emerging applications of membrane processes in the food and dairy industry. *Food and Bioproducts Processing*, 79: 89–102.
3. Đaković, Lj. (1985). Koloidna hemija. Tehnološki fakultet u Novom Sadu, Zavod za izdavanje udžbenika, Novi Sad.
4. Huang, X., Kakuda, Y., Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsion: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids* 15: 533-542.

5. Krstonošić, V. (2010). Uticaj oktenik sukcinata skroba na reološke i disperzione osobine emulzija ulja u vodi. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
6. Kukizaki, M. (2009). Shirasu porous glass (SPG) membrane emulsification in the absence of shear flow at the membrane surface: Influence of surfactant type and concentration, viscosities of dispersed and continuous phases, and transmembrane pressure. *Journal of Membrane Science*, 327: 234-243.
7. Mezger, T. G. (2006). *The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers*. Vincentz Network GmbH & Co KG.
8. Nakashima, T., Shimizu, M., Kukizaki, M. (2000). Particle control of emulsion by membrane emulsification and its applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 45: 47-56.
9. Piacentini, E., Drioli, E., Giorno, L. (2014). Membrane emulsification technology: Twenty-five years of inventions and research through patent survey. *Journal of Membrane Science*, 468: 410-422.
10. Stojanović, Z., Marković, S., Uskoković, D. (2010). Merenje raspodele veličina čestica metodom difrakcije laserske svetlosti. *Novi Materijali*, 19: 1-15.
11. Wang, B., Wang, L., Dong, L., Zhou, Y., Özkan, N. (2011). Shear-thickening properties of waxy maize starch dispersions. *Journal of Food Engineering*, 107: 415-423.

NUTRITIVNA SVOJSTVA HLADNO PRESOVANOG ULJA SEMENKI BUKVE (*FAGUS SYLVATICA*)

Biljana Rabrenović, Ivana Mutavdžić, Vladimir Šarac, Mirjana Demin, Zorica Basić

*U radu su ispitivane semenke bukve (*Fagus sylvatica*) kao potencijalni izvor jestivog ulja. Ukupan sadržaj ulja u semenkama je bio 41,76%. Postupkom hladnog presovanja iz semenki je izdvojeno ulje i određene su osnovne fizičko-hemijske karakteristike standardnim metodama. Sastav i sadržaj masnih kiselina određen je metodom gasne hromatografije. Dobijeni rezultati ukazuju na veoma kvalitetno ulje s obzirom na visok sadržaj linolne, esencijalne masne kiseline, 42,34% i oleinske masne kiseline 35,40%. Visoki sadržaj nezasićenih masnih kiselina (89,57%) kvalifikuje ulje semenki bukve kao nutritivno veoma vredno ulje. Sadržaj ukupnih tokoferola je bio 192 mg/kg ulja, a dominantan po sadržaju je bio γ -tokoferol.*

Ključne reči: *semenke bukve, hladno presovanje, fizičko-hemijske karakteristike, masne kiseline, tokoferoli*

NUTRITIVE CHARACTERISTICS OF COLD PRESSED BEECH (*FAGUS SYLVATICA*) SEED OIL

*The objective of this study was to evaluate the seeds of beech (*Fagus sylvatica*) as a potential source of edible oil. Total oil content in seeds was 41.76%. Physico-chemical characteristics of beech seed oil obtained by cold pressing were determined by using of the standard methods. The content and the fatty acid composition was determined by gas chromatography. The results indicate a very high quality oil due to the high content of linoleic acid, as essential fatty acid, 42.34% and oleic fatty acid 35.40%. The high content of unsaturated fatty acids (89.57%) qualifies beech (*Fagus sylvatica*) seed oil as nutritionally valuable oil. Total tocopherols content was 192 mg/kg of oil, predominant tocopherol was γ -tocopherol.*

Key words: *beech seed, cold pressing, physico-chemical characteristics, fatty acids, tocopherols*

UVOD

Bukva i njene šume su po brojnosti, rasprostranjenosti i demografskoj strukturi, odmah iza hrastovih šuma. Obična bukva (*Fagus sylvatica*) dolazi prirodno u velikom delu Evrope. Njena severna granica je u južnoj Švedskoj, istočna granica joj je Kaliningrad u Rusiji, Poljska, Karpati i Besarabija. Zapadna granica bukve je zapadna Francuska i južna Engleska. U južnoj Evropi se javlja u planinskim predelima. Najjužnije se javlja na Balkanu na planinama Atosu, Olimpu i Pindu, u Italiji je ima u masivima Apenina, u planinskim predelima severne Sicilije i na Korzici. Iz Mediteranskih Alpa rasprostire se u Pirineje (Isajev i sar., 2013).

Dr Biljana Rabrenović, e-mail: biljanar@agrif.bg.ac.rs, Ivana Mutavdžić, prof. dr Mirjana Demin, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, Nemanjina 6, 11000 Beograd, Srbija; Vladimir Šarac, Victoriaoil AD, Šid, Srbija; Zorica Basić, Vojno medicinska akademija, Crnotravska 17, 11000 Beograd, Srbija

Evropska bukva dostiže visinu 30-40 m i prečnik stabla do 2 m. Na gornjoj granici areala stabla su znatno niža, iskrivljena i žbunastog oblika. Kora evropske bukve je tanka, siva i glatka. Pupoljci vretenasti, zašiljenog vrha, dugi do 2 cm, na granama spiralno raspoređeni. Listovi su ovalni, dugi 4-10 cm, po obodu celi ili blago valoviti. Lice lista je tamno zeleno, sjajno i golo, a naličje svetlije, u mladosti dlakavo duž nerava i po obodu. Cvetovi su jednopolni. Muški grupisani do 20 u loptastim cvastima na visećim drškama dužine do 20 cm. Ženski grupisani po 2-4 u kupuli u pazuhu lista, na drškama dužine 2 cm. Kupula je obrasla končastim ljuspama. Plod (semenka) je trouglast, kožasto odvrnevo, a poznat je kao bukunica. Dug je oko 16 mm, zri u septembru i oktobru (slika 1). Semenke se ne smeju jesti sirove u većoj količini, jer sadrže alkaloid fagin. Pečenjem semenki na temperaturi višoj od 100°C, fagin se razgrađuje, pa se pečeni plodovi mogu konzumirati u većoj količini. Samlevene, pečene semenke se mogu koristiti i kao zamena za kafu ili kao dodatak hlebom brašnu. Semenke ukusom podsećaju na lešnik. Pretpostavlja se da su služile za ishranu još praistori-

jskim ljudima, a danas se pečene rado konzumiraju u nekim delovima Makedonije, zapadne i južne Srbije, Bosni i Slavoniji (Grlić, 1990). Semenke bukve sadrže visok procenat ulja, koji se kreće i preko 40% (Prasad i Gülz, 1989). Tokom hladnog presovanja, alkaloid fagin ne prelazi u ulje, a pogača koja zaostaje posle presovanja može se koristiti za pripremu hrane za domaće životinje.

Prema Pravilniku o kvalitetu ulja (2006, 2013), među sirovinama koje se koriste za proizvodnju jestivog ulja nisu navedene semenke bukve, ali se one mogu svrstati pod „*drugi plodovi i delovi biljaka koji sadrže ulje*”. U literaturi su veoma retki podaci o karakteristikama ulja semenki bukve, dok potpuniji hemijski sastav do sada nije ispitivan.



Slika 1. Plod i semenke bukve (*Fagus sylvatica*)
Figure 1. Fruits and seeds of beech (*Fagus sylvatica*)

MATERIJAL I METODE RADA

Materijal

Za ispitivanje su korišćene semenke bukve (*Fagus sylvatica*) sa lokaliteta planine Zlatibor. Semenke su sakupljane tokom oktobra meseca 2014. godine. Posle sakupljanja na terenu, semenke su očišćene, probrane i osušene na sobnoj temperaturi. Do momenta ispitivanja i izdvajanja ulja, čuvane su u zatvorenim papirnim kesama pri temperaturi od 4 °C, u mraku.

Ispitivanje sastava semena

Sadržaj vlage u semenkama je izmeren standardnom gravimetrijskom metodom (SRPS EN ISO 665:2008), a sadržaj ulja standardnom metodom

SRPS ISO 659:2004. Princip metode zasnovan je na ekstrakciji uzorka za ispitivanje u laboratorijskom cevnom ekstraktoru pomoću heksana. Zatim sledi uparavanje rastvarača na rotacionom vakuum uparivaču na 40 °C i merenje dobijenog ekstrakta.

Izdvajanje ulja

Ulje iz semenki bukve izdvojeno je postupkom hladnog presovanja na ručnoj, pužnoj presi (“Piteba”, Holandija) kapaciteta 5 kg semena na sat. Presovane su sirove, ručno očišćene semenke, jer je visok udeo ljuske u semenkama onemogućavao pravilan rad prese.

Temperatura ulja na izlasku iz prese se kretala od 42 °C do 45 °C. Izdvojeno ulje je, posle 24 h sedimentacije, dekantiranjem odvojeno od taloga i do momenta analize čuvano u tamno zelenoj staklenoj ambalaži koja je bila zatvorena plastičnim navojnim zatvaračem. Boce su čuvane u frižideru na temperaturi od 4°C.

Određivanje fizičko-hemijskih karakteristika ulja

Fizičko-hemijske karakteristike izdvojenog ulja određene su standardnim SRPS ISO i SRPS EN ISO metodama prikazanim u tabeli 1.

Tabela 1. Standardne SRPS ISO i SRPS EN ISO metode za određivanje fizičko-hemijskih karakteristika ulja

Table 1. Standard methods for the determination of physical and chemical characteristics of oil

Fizičko-hemijska karakteristika Physico-chemical characteristic	Standardna metoda Standard method
Jodni broj	SRPS ISO 3961:2001
Saponifikacioni broj	SRPS EN ISO 3657:2014
Indeks refrakcije	SRPS EN ISO 6320:2014
Sadržaj neosapunjivih materija	SRPS EN ISO 18609:2012
Relativna gustina	SRPS ISO 6883:2014
Peroksidni broj	SRPS ISO 3960:2001
Kiselinski broj	SRPS ISO 660:2000

Određivanje sastava i sadržaja masnih kiselina

Metilestri masnih kiselina pripremljeni su standardnom metodom (ISO 5509:2000), a sastav masnih kiselina je određen metodom gasne hromatografije (ISO, 1990) na aparatu Varian, model 1400, sa plameno jonizujućim detektorom (FID). Korišćene su metalne kolone dimenzija 300x0,32 cm pakovane sa LAC-3R-728 (20%; Cambridge Ind. Co., Cambridge, UK) na Chromosorb W/AW (80 -100 mesha; Merck, Darmstadt, Germany). Kao gas nosač služio je azot protoka 24 mL/min. Temperatura kolone je bila 175 °C, a temperatura injektorskog bloka i FID detektora 200 °C. Analiza je rađena u splitless modu. U gasni hromatograf injektiran je po 1 µl referentnog rastvora i test rastvora. Kao referentni rastvor korišćena je komercijalna smeša metilestara masnih kiselina (37 Component FAME Mix, 47885-U, Supelco, razblaženo 10x u n-heksanu). Pri navedenim uslovima određivanja nisu korišćeni korekcionni faktori za preračunavanje, jer je analizom standardnog referentnog rastvora utvrđeno da dobijeni površinski udeli odgovaraju masenim udelima.

Sadržaj i sastav tokoferola

Sadržaj ukupnih tokoferola - spektrofotometrijska metoda

Sadržaj ukupnih tokoferola u ulju određen je spektrofotometrijski, metodom prema Paquotu i sar. (1967). Metoda se zasniva na redukcionim osobinama tokoferola, koji redukuju Fe^{3+} iz $FeCl_3$ u prisustvu 2-2' dipiridila i stvaraju crveno obojeni kompleks sa jonima Fe^{2+} .

Budući da je reakcija veoma osetljiva, svi drugi antioksidansi i redukcione supstance, osim tokoferola, se moraju ukloniti iz ulja, te se određivanje vrši iz neosapunjivih materija. Najpre se izvrši saponifikacija ulja i ekstrakcija neosapunjivih materija, koje se rastvaraju u benzenu. Iz benzenskog rastvora neosapunjivih materija razvija se bojena reakcija čija se apsorbancija meri na talasnoj dužini od 520 nm uz slepu probu. Sadržaj ukupnih tokoferola, izražen u mg po kg ulja, se izračunava prema jednačini:

Sadržaj ukupnih tokoferola (mg/kg)

$$= \frac{(A_1 - A_0) \cdot V \cdot 10^4}{39,2 \cdot v \cdot m}$$

gde je:

A_1 - apsorbancija probe,

A_0 - apsorbancija slepe probe koja se priprema na identičan način kao i proba, ali bez ulja,

V - zapremina benzenskog rastvora neosapunjivih materija, 50 ml,

v - zapremina rastvora za razvijanje boje (ml),

m - masa uzorka za ispitivanje (g).

Sastav tokoferola – metoda HPLC (Ball, 2006; Blake, 2007)

Sastav tokoferola određen je metodom tecne hromatografije visokog pritiska HPLC sa fluorescentnim detektorom. Uzorci su pripremani na sledeći način: u odmerenu zapreminu uzorka ulja (0,5 mL) dodavano je 20 mL 95% etanola i 3 mL vodenog rastvora KOH. Ovako pripremljen rastvor zagrevan je 30 min na $t = 60$ °C uz povratni hladnjak i mešanje. Kada je saponifikacija bila završena, rastvor je ohlađen i prenesen u odmerni sud od 50 mL, koji je dopunjen 95% etanolom. Alikvot je odmeravan u epruvetu sa šlifovanim zatvaračem i dodavane su jednake zapremine heksana i vode. Sve je promešano na vibracionom mešaču u trajanju od 3 min. Heksanski sloj je zatim odvojen i uz dodatak 0,5 mL KH_2PO_4 promešan još 30 s na vibracionom mešaču. Odmerena zapremina heksanskog rastvora uparavana je do suva u struji azota i nakon toga rekonstituisana u metanolu. Posle filtriranja kroz membranski špic-filter (Cronus Syringe Filter Nylon 25 mm, 0,45 µm, Cronus, UK), 10 µl ovog rastvor injektirano je u HPLC sistem. Razdvajanje je izvedeno na HPLC sistemu Waters M600E, izokratsko eluiranje, uz protok mobilne faze 1,0 mL/min i 95% MeOH koji je korišćen kao mobilna faza, uz Rheodyne 7125 injektor, na analitičkoj koloni Nucleosil 50-5 C18. Spektrofotometrijska detekcija analita je izvedena na fluorescentnom detektoru RF/535 (Shimadzu, Japan) na talasnim dužinama 295 nm za ekscitaciju i 330 nm za emisiju. U analizi su korišćeni standardi tokoferola proizvođača Sigma Co (Supelco, USA), od kojih su pripremani rastvori za ispitivanje limita detekcije i limita kvantifikacije (serija rastvora od 0,01 do 0,5 µg/mL), kao i rastvori za kalibracionu krivu (1,0, 2,5; 5,0; 10,0 i 20,0 µg/mL). Obrada podataka je obavljena pomoću Clarity chromatography station for Windows.

REZULTATI I DISKUSIJA

Sastav semena

Sadržaj vlage u semenama bukve je bio 6,50%, što se pokazalo optimalnim za presovanje. Na-

jznačajniji podatak sa stanovišta ispitivanja kvaliteta semena, namenjenog izdvajanju ulja, odnosi se na sadržaj ulja. U ispitivanom uzorku sadržaj ulja je bio dosta visok, 41,76% računato na suhu materiju. Dobijena vrednost je nešto viša u odnosu na literaturni podatak gde se navodi sadržaj od 40,7% (Prasad i Gülz, 1989).

Fizičko-hemijske karakteristike i kvalitet ispitivanog ulja

Osnovne fizičko-hemijske karakteristike ispitivanog ulja prikazane su u tabeli 2.

Tabela 2. Fizičko-hemijske karakteristike ispitivanog ulja semenki bukve
Table 2. Physical and chemical characteristics of beech (*Fagus sylvatica*) seed oil

Karakteristike Characteristics	Ulje semena bukve Beech seed oil
Jodni broj (g/100g)	102
Saponifikacioni broj (mg KOH/g)	195
Indeks refrakcije, 20°C	1,4725
Sadržaj neosapunjivih materija (%)	0,7
Relativna gustina (20°C/voda 20°C)	0,9220
Kiselinski broj (mg KOH/g)	3,2
Peroksidni broj (mmol/kg)	0,2

Dobijene vrednosti za jodni i saponifikacioni broj, indeks refrakcije i relativnu gustinu bile su u skladu sa vrednostima koje navodi Firestone (2013) za ulje semenki istočne bukve (*Fagus orientalis*), 101–111(g/100g); 181–196; 1,4725; 0,9220-0,9225, respektivno. Direktno poređenje nije bilo moguće, s obzirom da u literaturi nema podataka za ulje semenki evropske bukve (*Fagus sylvatica*).

Sadržaj neosapunjivih materija u ispitivanom ulju iznosio je 0,7%, što se dovodi u vezu sa postupkom dobijanja ulja. Kod sirovih ulja sadržaj neosapunjivih materija se najčešće kreće od 0,2 do 2% (Dimić i Turkulov, 2000).

Vrednosti dobijene za kiselinski i peroksidni broj bile su u okviru vrednosti koje su propisane

Pravilnikom (2006, 2013) i iznosile su 3,2 mg KOH/g za kiselinski i 0,2 mmol/kg za peroksidni broj. Iako kiselinski broj ispitivanog ulja nije prešao Pravilnikom maksimalno dozvoljenu vrednost od 4 mgKOH/g ulja, nešto viša vrednost ukazuje na nedovoljnu zrelost semena ili da je seme možda bilo zaraženo plesnima koje luče lipaze što je dovelo do hidrolize triacilglicerola još tokom čuvanja.

Sastav i sadržaj masnih kiselina

Sastav i sadržaj pojedinih masnih kiselina u ulju semenki bukve prikazan je u tabeli 3.

Tabela 3. Sastav masnih kiselina u ulju semenki bukve (*Fagus sylvatica*)
Table 3. Fatty acid composition of beech (*Fagus sylvatica*) seed oil

Masna kiselina Fatty acid	Sadržaj (% m/m) Content (%wt)
C 14:0	0,33
C 16:0	6,81
C 17:0	0,18
C 17:1	0,11
C 18:0	2,07
C 18:1	35,40
C 18:2	42,34
C 18:3	3,15
C 20:0	0,43
C 20:1	7,16
C 20:2	0,31
C 22:0	0,60
C 22:1	1,10
Ukupne zasićene masne kiseline	10,42
Ukupne nezasićene masne kiseline	89,57
Odnos zasićene/ nezasićene	0,11

Prema sastavu masnih kiselina ulje semenki bukve pripada grupi ulja oleinsko-linolnog tipa. Kao što se vidi iz tabele 3. sadržaj linolne masne kiseline je bio 42,34%, a oleinske 35,40%. Od zasićenih masnih kiselina u značajnom procentu je bila zastupljena palmitinska sa sadržajem od 6,81%. Interesantno je prisustvo gadoleinske masne kiseline (C20:1) sa sadržajem od 7,16%. U tragovima su identifikovane miristinska (C14:0), heptadekanska (C17:0), linolenska (C18:3), arahinska (C20:0), be-

henska (C22:0), eruka (C22:1) itd.. Dobijene vrednosti su u skladu sa rezultatima koji su objavljeni u literaturi (Prasad i Gülz, 1989; Firestone, 2013).

Sličan profil masnih kiselina, sa dominantnom oleinskom i linolnom masnom kiselinom, imaju još i ulja tikve (*Cucurbita pepo* L.), suncokreta (*Helianthus annuus*), kukuruznih klica (*Zea mais*), pšeničnih klica (*Triticum aestivum*), semenki grožđa (*Vitis vinifera*) (Dimić, 2000), semena artičoka (*Cynara scolymus*), susama (*Sesamum indicum*), luka (*Allium cepa*), kumina (*Cuminum cymimum*), borražine (*Borago officinalis*) i kvinoe (*Chenopodium quinua*) (Dubois i sar., 2007). S obzirom da pripada uljima sa visokim sadržajem nezasićenih masnih kiselina (89,57%), ulje semenki bukve se kvalifikuje kao idealna komponenta nutritivno i biološki vredne ishrane.

Odnosu zasićenih i nezasićenih masnih kiselina jestivih ulja u savremenoj ishrani takođe se poklanja velika pažnja. Zbog visoko aterogenog potencijala zasićenih masnih kiselina preporučuje se da ovaj odnos bude ispod 1 (Lepšanović i Lepšanović, 2000; Vujasinović, 2011). Na osnovu podataka iz tabele 3. se može zaključiti da je odnos zasićenih i nezasićenih masnih kiselina ulja semenki bukve daleko ispod 1, što je veoma poželjno.

Sadržaj i sastav tokoferola

S obzirom na izuzetno važna vitaminska i antioksidativna svojstva tokoferola, poznavanje njihovog sastava i sadržaja u biljnim uljima je od izuzetne važnosti. Zaštitna svojstva tokoferola kada je u pitanju oksidacija nezasićenih masnih kiselina, podjednako je značajna kako „*in vivo*“ u biološkim sistemima, tako i „*in vitro*“ pri čuvanju ili korišćenju ulja (Shahidi i Zhong, 2005).

Sadržaj ukupnih tokoferola u ispitivanom ulju je bio 192,4 mg/kg ulja. Ukoliko se ovaj rezultat uporedi sa sadržajem tokoferola u uljima poreklom iz drugih sirovina, kao na primer sa uljem iz semenki tikve, gde se sadržaj ukupnih tokoferola kod deset različitih hibrida kretao od 38,03 do 64,11 mg/100g ulja (Rabrenović, 2012) ili sa uljem iz jezgra pistaća, badema, lešnika, oraha i kikirikija gde se sadržaj redom kretao, 530, 250, 455, 249 i 48 mg/kg ulja, kako navode Arranz i sar. (2008), može se reći da je sadržaj ukupnih tokoferola u ulju poreklom iz semenki bukve relativno visok. U tabeli 4. dat je sastav i sadržaj tokoferola ulja semenki bukve.

Tabela 4. Sadržaj i sastav tokoferola u uzorku ulja semenki bukve

Table 4. Tocopherol content and composition in beech (*Fagus sylvatica*) seed oil

Tokoferol Tocopherols	Sadržaj u ulju (mg/kg) Content in oil (mg/kg)
α tokoferol	8,4
$\beta+\gamma$ tokoferol	103,0
δ tokoferol	81,0
Ukupni tokoferoli	192,4

Iz prikazanih rezultata vidi se da su dominantni $\beta+\gamma$ tokoferol sa sadržajem od 103,0 mg/kg ulja. β -tokoferol je prisutan u zanemarljivo maloj količini i bilo ga je vrlo teško razdvojiti od γ -tokoferola, zato je izražen ukupan sadržaj $\beta+\gamma$ tokoferola. Posebno je interesantan sadržaj δ -tokoferola, izomera koji najviše doprinosi oksidativnoj stabilnosti i koji je bio zastupljen sa 81,0 mg/kg ulja. Sadržaj α tokoferola je bio veoma nizak, 8,4 mg/kg ulja.

ZAKLJUČAK

Semenke bukve karakteriše visok procenat ulja što ukazuje na mogućnost njihove upotrebe kao izvora novog specifičnog ulja. S obzirom na pozitivan zdravstveni efekat oleinske i linolne masne kiseline, koje su dominante u ovom ulju, i njihovu važnost u pravilnoj ishrani čoveka možemo zaključiti da ulje semenki bukve ima visoku nutritivnu vrednost. Relativno visok sadržaj ukupnih tokoferola dodatno doprinosi nutritivnoj vrednosti ispitivanog ulja, a dominantni γ -tokoferol oksidativnoj stabilnosti.

LITERATURA

1. Arranz S., Cert R., Pérez-Jiménez J., Cert A., Saura-Calixto F. (2008). Comparison between free radical scavenging capacity and oxidative stability of nut oils. *Food Chem.* 110: 985-990.
2. Ball, F.M.G. (2006). *Vitamins in foods, Analysis, Bioavailability and Stability*, Taylor & Francis, USA, 423-426.
3. Blake, C.J. (2007). Committee on Food Nutrition / Fat Soluble Vitamins, *Journal of AOAC International*, 90 (1): 18B-21B.
4. Dimić, E. (2005). *Hladno ceđena ulja, Monografija*, Univerzitet u Novom sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.

5. Dimić, E., J. Turkulov (2000). Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
6. Dubois V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J., Parmentier, M. (2007). Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109: 710–732.
7. Firestone, D. (2013). *Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats, and Waxes*, AOCS Press, Urbana, Illinois.
8. Grlić, Lj. (1990). Enciklopedija samoniklog jestivog bilja, August Cesarec, Zagreb.
9. Isajev, V., V. Ivetić, M. Vukin (2013). Prirodni semenski objekti bukve u Srbiji – osnova za unapređenje proizvodnje semena i sadnica, *Šumarstvo*, 1-2: 85-96.
10. Lepšanović, L., Lj. Lepšanović (2000). Klinička lipidologija, Savremena administracija, Beograd.
11. Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za jestiva biljna ulja i masti, margarin i druge masne namaze majonez i srodne proizvode, Službeni list Srbije i Crne Gore br. 23/2006 i Službeni glasnik Republike Srbije br. 43/2013.
12. Paquotu, C., J. Mercier, D. Lefort, A. Mathieu, R. Perron (1967). Metode analize lipida, Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja, Beograd, pp. 175-179.
13. Prasad, R. B. N., Gülz, P.-G. (1989). Composition of Lipids of Beech Seed Oil. *Z. Naturforsch.*, 44c: 735—738.
14. Rabrenović, B. (2012). Uticaj fizičko-hemijskih karakteristika semena uljane tikve (*Cucurbita pepo* L.) na kvalitet i nutritivna svojstva hladno presovanog ulja, Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
15. Shahidi, F., Zhong, Y. (2005). Antioxidants: Regulatory status. pp. 491-512. u: Editor, F. Shahidi, *Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects*, Vol.1., J. Wiley & Sons, New Jersey, USA.
16. Vujasinović, V. (2011). Uticaj termičke obrade na nutritivnu vrednost i oksidativnu stabilnost ulja semena uljane tikve golicice *Cucurbita pepo* L., Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
17. SRPS EN ISO 665 (2008). Seme uljarica - Određivanje sadržaja vlage i isparljivih materija.
18. SRPS ISO 659 (2004). Seme uljarica - Određivanje heksanskog ekstrakta (ili petroletarskog ekstrakta) nazvanog kolicina ulja.
19. SRPS ISO 3961 (2001). Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla - Određivanje jodnog broja.
20. SRPS EN ISO 3657 (2014). Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla — Određivanje saponifikacionog broja.
21. SRPS EN ISO 6320 (2012). Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla - Određivanje indeksa refrakcije.
22. SRPS EN ISO 18609 (2012). Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla - Određivanje sadržaja neosapunjivih materija - Metoda ekstrakcije heksanom.
23. SRPS ISO 6883 (2014). Masti i ulja biljnog i životinjskog porekla — Određivanje konvencionalne zapreminske mase („litarske mase na vazduhu”).
24. SRPS ISO 3960 (2001). Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla - Određivanje peroksidnog broja.
25. SRPS ISO 660 (2000). Masti i ulja životinjskog i biljnog porekla - Određivanje kiselog broja i kiselosti.
26. ISO 5509 (2000). Animal and vegetable fats and oils — Preparation of methyl esters of fatty acids.

UTICAJ VREMENA SKLADIŠTENJA NA ODRŽIVOST NAMAZA NA BAZI POGAČE SEMENA TIKVE GOLICE (*CUCURBITA PEPO* L.) I HLADNO PRESOVANOG ULJA SEMENA KONOPLJE (*CANNABIS SATIVA* L.) U TOKU 3, 6 I 9 MESECI

Olga Radočaj, Etelka Dimić

Ovo istraživanje je obuhvatilo ispitivanje svih parametara određivanja kvaliteta namaza u toku skladištenja od 3, 6 i 9 meseci sa ciljem da se utvrdi optimalan rok trajanja istih. Metoda odzivnih površina je potvrđena kao veoma efikasan način za optimizaciju sadržaja konopljinog ulja i stabilizatora u formulaciji namaza da bi se sprečilo izdvajanje ulja i dobila poželjna tekstura proizvoda u toku određenog roka trajanja namaza. Rezultati istraživanja su potvrdili da količina dodatog konopljinog ulja ima znatan uticaj na oksidativnu stabilnost namaza, kao što je peroksidni broj i u skladu sa tim, rok trajanja namaza. Sa porastom količine konopljinog ulja u sastavu namaza, smanjila se oksidativna stabilnost namaza, što se manifestovalo porastom peroksidnog broja. Najviša vrednost peroksidnog broja je zabeležena kod uzorka 8 pripremljenog dodatkom 100% konopljinog ulja (6.20 meqO₂/kg). Utvrđeno je da rok trajanja namaza zavisi od stepena oksidacije ulja u sastavu proizvoda, pre svega od količine dodatog konopljinog ulja i može biti najduže do 6 meseci, pri sobnoj temperaturi skladištenja. Izdvajanje ulja na površini namaza zavisi od količine dodatog stabilizatora. Najbolji rezultati su postignuti dodatkom 1.6% stabilizatora. Optimalna vrednost za minimalno izdvajanje ulja je namaz sa sadržajem stabilizatora od 1.2-1.4% uz 40-60% dodatog konopljinog ulja. Dobijeni proizvod na bazi pogače semena tikve golice, sa rokom trajanja od 6 meseci, čuvan pri sobnoj temperaturi (21°C), bi se mogao plasirati na tržištu kao funkcionalna hrana (bogata proteinima, mineralima i omega masnim kiselinama), s obzirom na to da ne sadrži alergene, a uz to ima bolji nutritivni sastav od kikiriki maslaca, koji je trenutno najpopularniji namaz na bazi uljarica.

Ključne reči: namaz, seme tikve golice, pogača, hladno ceđeno konopljino ulje, održivost, skladištenje

EFFECT OF STORAGE TIME ON SHELF LIFE OF SPREAD BASED ON PUMPKIN SEED CAKE (*CUCURBITA PEPO* L.) AND COLD PRESSED HEMPSEED OIL (*CANNABIS SATIVA* L.) DURING 3, 6 AND 9 MONTHS

This study included the investigation of all parameters necessary to determine the spreads' quality during storage of 3, 6 i 9 months, with the goal to determining their optimal shelf life. It was proven that response surface methodology is a very effective method for optimization of the hemp oil i stabilizer content in the spreads' formulations in order to prevent oil separation i to achieve a desirable texture of the product during the spreads' shelf life. Obtained results confirmed that the amount of added hemp oil had a significant impact on the oxidative stability of the spreads, specifically peroxide value, i the ultimate shelf life of the spreads. With the increase of hemp oil in the spreads, the oxidative stability decreased, which manifested in the increased peroxide values. The highest PV was determined in sample no. 8; prepared using 100% hemp oil (6.20 meqO₂/kg). It was also determined that the shelf life of the product mostly depended on the oil oxidation degree, primarily hemp oil content. Moreover, it was found that it could be stored for 6 months at most at ambient temperature. Oil separation on the spreads' surface depended on the amount of added stabilizer. The best results were obtained using 1.6% of the stabilizer. Optimal values for minimal oil separation were achieved using 1.2-1.4% of the stabilizer i 40-60% of the hemp oil. Spreads prepared using the hull-less pumpkin seed cake, with a shelf life of 6 months, stored at ambient temperature (21°C), could be marketed as functional foods (rich in protein, minerals i omega fatty acids), as they do not contain allergens i have a better nutritional profile than peanut butter, which is still the most popular spread.

Key words: spread, naked pumpkin seed, oil cake, cold-pressed hempseed oil, shelf life, storage.

Dr Olga Radočaj, e-mail: dr.olga.radocaj@gmail.com,
dr Etelka Dimić, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki
fakultet Novi Sad, Bul. cara Lazara 1, 21000 Novi Sad,
Srbija

UVOD

Istraživanje prikazano u ovom radu je nastavak prethodno objavljenih istraživanja o upotrebi pogače semena tikve golice (Radočaj i sar., 2011c) kao nusproizvoda proizvodnje hladno presovanog ulja semena tikve golice pri proizvodnji funkcionalnih namaza za ljudsku upotrebu. Orašice i semenke su vekovima poznate i korišćene kao značajan izvor hrane, ali su isto vreme veoma podložni oksidaciji zbog visokog sadržaja masti i polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) (Tian, 2016).

Pogača semena tikve golice ima sedeće karakteristike: dobar je izvor proteina, ima visoku biološku vrednost (83.2); izuzetno je bogata mikro-nutrijentima kao sto su Ca, K, P, Mg, Fe i Zn. Proteini imaju veoma izbalansirani sadržaj amino-kiselina koji se mogu uporediti sa proteinima jajeta. Osim toga, pogača sadrži značajne količine zaostalog ulja koje je veoma bogato PNMK, posebno ω -6 masnim kiselinama. Sadržaj γ -tokoferola je takođe veoma visok (704 ± 10.0 mg/kg), što objašnjava odličnu održivost ovog ulja i oksidativnu stabilnost namaza (Radočaj i sar., 2011c). Veronezi i Jorge (2012) su utvrdili da količina bioaktivnih komponenata u ulju semena tikve zavisi od vrste tikve. Seymen i sar. (2016) su ispitivali seme i ulje semena tikve golice i objavili visok sadržaj fenola, kalijuma, fosfora i magnezijuma.

Definicija namaza je prilično široka, pošto namazi mogu imati veliki opseg sadržaja masti, od 25 do 80%. Današnji potrošač zahteva ne samo niži sadržaj lipida u namazu, već i kvalitet tih lipida u smislu sadržaja esencijalnih, odnosno omega masnih kiselina. Generalno, namaz na bazi ulja sa nižim sadržajem lipida ili namaz obogaćen komponentama koje ga svrstavaju u grupu funkcionalne hrane, se sve više kreira i nudi na tržištu. Iz tih razloga je neophodno poznavati funkcionalne karakteristike i značaj dodavanja ulja i drugih sastojaka kako bi se postigao stabilan namaz sa željenim karakteristikama gotovog proizvoda, što nije ni malo jednostavno. Za proizvodnju prihvatljivog namaza je neophodno znati i određene fizičke osobine ulja kao što su sposobnost formiranja kristala, osobine topivosti i sastav masnih kiselina (Young i Wassel, 2008). Detalji u vezi opisa pripreme namaza i ispitivanja nekih karakteristika su objavljeni u našim prethodnim radovima (Radočaj i sar., 2011a; Radočaj i sar., 2012a).

Savremeni potrošač ima određene zahteve u vezi namaza, tj. želi funkcionalni, ali održiv, kvalitetan namaz. U cilju zaštite zdravlja, idealan namaz na bazi ulja treba da poseduje sledeće nutricionističke karakteristike: da je na bazi biljnih ulja; da ima nizak

sadržaj zasićenih masnih kiselina; potpuno odsustvo *trans* masnih kiselina; odgovarajući sadržaj omega masnih kiselina prema nutritivnim preporukama; zadovoljavajući odnos omega-6 i omega-3 masnih kiselina (1-3:1); visok sadržaj PNMK; nizak sadržaj natrijuma; minimalan sadržaj ugljenih hidrata i odsustvo holesterola. Dodatne povoljne karakteristike bi bile sadržaj vlakana, nekih vitamina i minerala. U smislu teksture, mora biti dobro maziv, glatke površine, da se ne lepi za zube i nepce. Proizvod mora biti poželjnog izgleda i boje, prijatnog ukusa i mirisa (Radočaj i sar., 2011a). Osim toga, što je veoma važno za uspeh namaza na tržištu je da proizvod ne sme pokazivati izdvajanje ulja na površini i mora imati odgovarajuću održivost pri sobnoj temperaturi (21°C), tj. što duži rok trajanja.

Ovakav opis namaza na bazi semena orašica ili uljarica nas dovodi do opisa funkcionalne hrane, koja je potekla iz Japana 1980-ih godina, i kao trenutnog trenda na tržištu usled promene stanja zdravlja u mnogim zemljama sveta. Definicija funkcionalne hrane se razlikuje u različitim zemljama sveta i objavljene od strane različitih agencija. Definicija funkcionalne hrane se svodi na pripremljenu prirodnu ili procesovanu hranu koja sadrži poznate ili nepoznate biološki aktivne komponente; hrana koja u definisanoj, efektivnoj i ne toksičnoj količini doprinosi zdravlju ili tretmanu bolesti (Martirosyan i Singh, 2015).

Zbog sve veće popularnosti namaza na bazi orašica ili uljarica i potrebe za dodatnim informacijama koje bi bile od koristi proizvođačima namaza, pregled teksturalnih, reoloških i senzornih karakteristika je detaljno opisan od strane Shakerardekani i sar. (2013) sa osvrtom na strategiju industrije koja proizvodi ovakve namaze.

Većina objavljenih radova koji opisuju sastav za pripremu namaza je na bazi kikirikija ili suncokreta. Do sada je objavljeno nekoliko istraživanja na temu obogaćivanja namaza na bazi ulja dodatkom omega-3 masnih kiselina iz ribljeg ulja (Kolanowski i sar., 2006) ili ulja kameline i suncokretovog ulja (Eidhin i sar., 2003). U pokušaju da se proizvede namaz koji sadrži omega-3 masne kiseline, korišćeno je ulje kameline koje je stabilnije od lanenog ili ribljeg ulja, i ulje suncokreta, kao osnovnih komponenti namaza (Eidhin i sar., 2003). Oba namaza su pokazala relativno lošu oksidativnu stabilnost u toku skladištenja pri niskim temperaturama. Ovaj proizvod je imao nezadovoljavajući odnos omega-6 i omega-3 masnih kiselina (svega 0.4). Nasuprot tome, namaz pripremljen upotrebom suncokretovog ulja i drugih dodatnih ulja je imao vrednost čak 42, odnosa omega-6 i omega-3 masnih kiselina.

Fizičko stanje sirovina (tečnost ili prah), veličina čestica i njihova količina imaju presudnu ulogu u teksturi namaza, a stoga utiču i na njegov ukus.

Dimić i sar. (2006) su utvrdili da je za namaz pripremljen korišćenjem pogače semena uljane tikve golice, veličina čestica od 0.40-0.62 mm proizvela gladak namaz. Za dobru stabilnost namaza, tj. sprečavanje razdvajanja faza i izdvajanja ulja, koriste se emulgatori i stabilizatori, tako što smanjuju međufazni napon. Emulgatori omogućavaju finu i stabilnu disperziju ulja i vodene faze, čime omogućavaju homogenu teksturu proizvoda sa dobrim funkcionalnim i mikrobiološkim osobinama. Upotreba stabilizatora u kikiriki maslacu i drugim namazima na bazi ulja je veoma važna da bi omogućila čvrstu, ali mazivu konzistenciju i teksturu bez izdvajanja ulja u toku određenog roka trajanja datog proizvoda, pri čemu izbor stabilizatora ima presudnu ulogu.

Ispitivanjem grupe potrošača je utvrđeno da je stabilizovani kikiriki maslac dobio najvišu ocenu, pri čemu je njegova tekstura opisana kao glatka i uniformna, bez izdvajanja ulja (McWatters i Young, 1978).

How i Young (1985) su testirali tri vrste kikiriki maslaca (veličina čestica-tekstura) na grupi od 320 potrošača i utvrdili da 85% degustatora nije povoljno ocenilo izdvajanje ulja na površini, a čak 71% je nepovoljno ocenilo njihovu adhezivnost (lepljivost).

Utvrđeno je da proteini, kao sastavni deo disperzije, mogu da reaguju sa lipidima na taj način što utiču na stabilnost rastvora/disperzije i njihovo ponašanje na dodirnim površinama. Vezivanje uzrokuje ispravljanje molekula proteina i povećanje njegove hidrofobnosti, što dovodi do povećanog afiniteta ka površini. Ovaj "ispravljeni" molekul proteina može da bude mnogo više "rastvorljiv u uljima" od prirodnog oblika. Dejstvo između emulgatora i proteina je upravljano elektrostatičkim ili hidrofobnim interakcijama, ili je proizvod njihove kombinacije. U zavisnosti od tipa emulgatora, vezivanje može da dovede do stabilizacije strukture proteina pri niskim koncentracijama i nižem odnosu količina emulgatora i proteina (Nylrier i sar., 2008). Na osnovu iznetog se može zaključiti da je prisustvo proteina u namazu neophodno za stabilizaciju namaza.

Poznavanje oksidativne stabilnosti ulja je veoma važno, da bi se utvrdilo vreme tokom kojeg se ulja mogu sačuvati bez bitnih promena kvaliteta, kao i radi definisanja roka upotrebe ulja, kao i drugih proizvoda na bazi ulja ili masti. Iako zakonskim propisima održivost nije definisana, ona je obavezan parameter kvaliteta u prometu jestivih ulja. Održivost jestivih ulja se najčešće sagledava preko oksi-

dativne stabilnosti i predstavlja vreme za koje se ulje može sačuvati od jače izražene oksidacije (užegnuće). Poznavanje održivosti je posebno važno i radi definisanja roka upotrebe ulja (Dimić i sar., 2009).

Emami i sar. (2014) su utvrdili da je oksidativna stabilnost maslaca obogaćenog brašnom lešnika kao i senzorna ocena namaza u toku skladištenja od 4 nedelje znatno opala.

Testiranje proizvoda i ambalaže na uslove skladištenja je obavezan deo procesa razvoja novog prehrambenog proizvoda, pa tako i ulja i namaza na bazi ulja. Testirani proizvod se skladišti pod uslovima koji se preporučuju za dati proizvod, pri čemu se prati njegov kvalitet po unapred utvrđenim kriterijumima. Periodično određivanje oksidativnih promena lipida se vrši određivanjem količine i tipa stvorenih oksidacionih produkata hemijskim metodama kao što su peroksidni broj i sl., zatim i senzorna ocena ulja i namaza na bazi ulja, uključujući i utvrđivanje promene boje. Održivost ulja dobijenih presovanjem zavisi od mnogobrojnih faktora, kao što je već objašnjeno ranije, a oksidativna stabilnost tikvinog ulja zavisi u prvom redu od specifičnog sastava tokoferola, fenola, fitosterola i karotenoida prisutnih u ulju. Ovo ulje je jedno od najstabilnijih ulja na tržištu, uprkos činjenici da sadrži hlorofil koji u toku procesa ceđenja prelazi u ulje, što mu daje tipičnu, tamno-zelenu nijansu boje (Radočaj i sar., 2011a).

Prema Pravilniku o kvalitetu jestivih ulja (2006), sadržaj slobodnih masnih kiselina mora da bude ispod 2% (računajući na oleinsku kiselinu), a peroksidni broj ispod 7.5 mmol/kg (15 meqO₂/kg) za jestiva nerafinisana ulja.

Indeks oksidativne stabilnosti (OSI) određuje stabilnost ulja, pa ulja sa višim vrednostima (indukcioni period meren u satima) imaju duži rok trajanja. Parry i sar. (2006) su ispitivali oksidativnu stabilnost ulja raznih biljaka Rancimat metodom pri 80 °C i utvrdili da je za tikvino ulje vrednost bila 61.7 h, što je bila najviša vrednost od svih ispitivanih uzoraka. Isti autori su utvrdili snažnu aktivnost komponenata ulja tikve na eliminisanje slobodnih radikala. Murković i Pfannhauser (2000) su utvrdili da stabilnost ulja semena tikve golice (ispitivanje Rancimat metodom pri 120 °C) prvenstveno zavisi od odnosa linolne i oleinske kiseline, pri čemu vitamin E nije pokazao nikakvu korelaciju. Naprotiv, kada je vitamin E bio dodat tikvinom ulju, bio je primećen jak pro-oksidativni efekat. Prema objavljenim literaturnim podacima (Dimić i sar., 2009a), upotrebom Rancimat testa i praćenjem peroksidnog i anisidinskog broja, utvrđeno je da je devičansko ulje tikve golice imalo

oko dva puta veću oksidativnu stabilnost i održivost od hladno presovanog ulja.

Istraživanjem održivosti hladno presovanog ulja semena uljane tikve golice, koje je praćeno tokom perioda od dve godine, je utvrđen stabilan senzorni kvalitet ulja u periodu od 12 meseci, nakon čega je ulje počelo da gubi kvalitet. Uprkos tome, postignut je zadovoljavajući hemijski kvalitet po zakonskim propisima za period od dve godine. Na osnovu ovog istraživanja, preporučen rok trajanja hladno ceđenog ulja semena tikve golice vrhunskog kvaliteta je bio 12 meseci (Dimić i sar., 2008).

Proizvod ne bi trebalo da se nalazi na tržištu i konzumira u slučaju da znatno izgubi svoj prvobitni kvalitet. Gubitak kvaliteta uključuje neprihvatljiv pad nutritivne vrednosti, nepoželjnu promenu u aromi ili boji, ili razvoj neželjene teksture, obično očvršćavanje ili izdvajanje faza. Užeglost, kao rezultat oksidacije lipida je jedan od najčešćih uzroka kvarenja i neprijatnog ukusa i mirisa hrane, kako ulja, tako i namaza na bazi ulja.

Što se tiče promena fizičko-hemijskih i senzornih karakteristika namaza na bazi uljarica tokom skladištenja, kao što su kikiriki maslac ili maslac dobijen preradom drugih orašica, istraživanja su vrlo oskudna. Interesantno je istarživanje kikiriki maslaca u koji je dodato potpuno hidrogenizovano ulje semena fliks korova (Flixweed), kao alternativa komercijalnim stabilizatorima, pri čemu su pratili izdvajanje ulja i teksturu namaza u toku 24 nedelje i dobili pozitivne rezultate (Ahmadi i Shahmir, 2016). Senzorne osobine, kao i izdvajanje ulja pet vrsta namaza sa tržišta su ispitivanjem pokazala da je kikiriki maslac imao najbolje karakteristike u smislu prihvatanja od strane ocenjivača (Dimić i sar., 2013).

Objavljenja istraživanja ukazuju na promene u teksturi namaza na bazi uljarica, kao što je slučaj kod obogaćenog kikiriki maslaca tokom skladištenja pri različitim temperaturama. Promena je bila identifikovana instrumentalnom analizom teksture (TPA), ali ne i senzornim ocenjivanjem namaza od strane ocenjivačkog tima. Promene na namazima su praćene u toku tri meseca pri čemu nisu primećene oksidativne promene. Promena arome je bila glavni znak gubitka kvaliteta namaza u toku skladištenja pri različitim temperaturama (Yeh i sar., 2002). Optimizacija teksture namaza, sekundarne TPA karakteristike kao i senzorna ocena namaza na bazi pogače tikve golice su detaljno ispitana, opisana i objavljena u nekoliko radova (Radočaj i sar., 2011b; Radočaj i sar., 2011 d; Radočaj i sar., 2013; Dimić i sar., 2013).

Uticaj sadržaja vlage, količine šećera, antioksidanata i dužine skladištenja na kikiriki maslac je bio

proučavan od strane Abegaz i sar. (2004), pri čemu je određivan peroksidni broj. Utvrđeno je da vreme skladištenja znatno doprinosi promeni ne samo arome, već i kvaliteta namaza. Uzorci koji su imali dodati šećer (4 g/100 g uzorka) su imali niži peroksidni broj od onih bez dodatog šećera. Vreme skladištenja je imalo značajan uticaj na Pbr. Uzorci bez dodatog konzervansa su zadržali kvalitet do perioda od 32 nedelje, nakon čega je Pbr naglo počeo da raste.

Namaz na bazi niskog sadržaja sojinog ulja, uz dodatak konzervansa i mleka u prahu, imao je superiornu mazivost, a održivost mu je bila 3 meseca pri niskim temperaturama (u hladnjaku) (Patel i Gupta, 1988).

Istraživanja oksidativne stabilnosti namaza na bazi hladno ceđenog ulja kameline i suncokretovog ulja, uz dodatak hladno ceđenog ulja kukuruza, susama i maslinovog ulja, su pokazala da je u toku 16 nedelja skladištenja (temperatura od 4 do 8 °C), došlo do povećanja Pbr u namazima na bazi ulja kameline, dok su namazi na bazi suncokretovog ulja imali povoljnu senzornu ocenu (Eidhin i sar., 2003).

Cilj ovog rada je bio da se ispita održivost, odnosno, fizičko-hemijske karakteristike funkcionalnih masnih namaza, pripremljenih na osnovu dvofaktorskog experimentalnog plana na pet nivoa, upotrebom pogače semena tikve golice u toku više mesečnog skladištenja, tj. u toku 3, 6 i 9 meseci pri sobnoj temperaturi (21 °C). Pregledom najnovije objavljenih radova je utvrđeno da ovako istraživanje do sada nije objavljeno.

MATERIJAL I METODE

Materijal

Namazi su pripremljeni korišćenjem pogače semena tikve golice (*Cucurbita pepo* L.) i hladno ceđenog konopljinog uja, kao glavnih sastojaka, prema dvofaktorskom experimentalnom planu na pet nivoa, kako je detaljno opisano u prethodno objavljenoj literaturi (Radočaj i sar., 2011b; Radočaj i sar., 2012a, Radočaj i sar., 2012b).

Metode

Metode određivanja fizičko-hemijskih parametara namaza u toku i na kraju određenog roka trajanja proizvoda, tj. 3, 6 i 9 meseci su opisane detaljno u literaturi Radočaj i sar. (2011a), a uključivale su sledeće analize:

Kiselost ulja – sadržaj slobodnih masnih kiselina izražena kao maseni procenat oleinske kiseline (%)

oleinske kiseline). Male vrednosti kiselosti ukazuju na odsustvo proizvoda hidrolize ulja.

pH vrednost namaza je utvrđena aparatom pH series 1100 (Hygrolab 3, Oaktron Instruments, Vermont Hills, USA).

Oksidativna stabilnost ulja – rok trajanja namaza je određena neposredno nakon pripreme namaza, a zatim je praćena mesečno u toku 9 meseci skladištenja. Optimizacija procesa je urađena na osnovu rezultata nakon 3 meseca skladištenja. Oksidativna stabilnost ulja je praćena određivanjem indukcionog perioda (h) na Rancimat 670 aparatu, pri 100 °C, uz protok vazduha od 18 l h⁻¹.

Rok trajanja - održivost namaza, u smislu oksidativne stabilnosti, je bio praćen mesečno, određivanjem Pbr i kiselosti namaza, kao i senzornom ocenom na užeglost (miris i ukus), jednom nedeljno, u toku 9 meseci skladištenja.

Senzorna ocena mirisa i ukusa je obuhvatila testiranje svih uzoraka pri čemu je korišćena sledeća skala intenziteta: ocena "0" koja je označavala miris i ukus bez tragova užeglosti; ocena "1-2" je bila indikator blage (1) do primetne (2) užeglosti; ocena "2-3" je korišćena da označi prisustvo jače užeglosti; ocena "4" je bila indikator veoma jake užeglosti, dok je ocena "5" označavala neprihvatljivu užeglost, tj. nejestivi proizvod. Rezultati praćenja roka trajanja uzoraka su predstavljeni tromesečno, da bi se utvrdio optimalni rok trajanja.

Panel za senzorno ocenjivanje namaza se sastojao od dve grupe ocenjivača: prva grupa od pet eksperata i druga grupa od pet potrošača. Miris namaza je ocenjen odmah po otvaranju posude sa namazom, a ukus testiranjem male količine namaza (pola kafene kašike) direktnim žvakanjem (Radočaj i sar., 2011a).

Izdvajanje ulja (separacija faza). Procenat izdvajanja ulja je bio određen merenjem izdvojenog ulja na površini namaza i preračunavanjem ove količine na ukupnu početnu masu uzorka (m/m). Osim toga, mesečno je praćena i tekstura svih uzoraka pomoću instrumentalne TPA u toku 3 meseca.

Statistička obrada rezultata. Statistički značaj parametara jednačina (interakcije promenljivih) je određen za svaki uzorak pomoću analize varijanse (ANOVA). Regresionom analizom je ispitana zavisnost između dve promenljive, kao i uticaj promene jedne na promenu druge promenljive. Ovom se analizom dobija odgovor na uticaj komponenata prvog ili drugog stepena za svaki faktor pojedinačno, kao i njihova interakcija, za potpuno sagledavanje uticaja komponenata.

Za optimizaciju sastava i tehnološkog procesa proizvodnje je korišćena metoda odzivnih površi-

na-RSM (Response Surface Methodology) upotrebom centralno kompozitnog eksperimentalnog dizajna. RSM je primenjena na dobijene eksperimentalne podatke korišćenjem komercijalnog statističkog paketa Design-Expert®, version 7.1 software for Design of Experiments (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA) za dobijanje odzivnih površina. Eksperimentalni podaci su zamenjeni u matematički model drugog stepena (1):

$$Y_i = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 \quad (1)$$

pri čemu su: Y_i odzivna funkcija, X_1 prva promenljiva (sadržaj dodatog stabilizatora), X_2 druga promenljiva (sadržaj konopljinog ulja), a $b_0, b_1, b_2, b_{11}, b_{22}$ i b_{12} su koeficijenti regresije. Sistem jednačina je rešen metodom najmanjih kvadrata. U ovom radu je takođe primenjena višestepena regresiona analiza upotrebom istog softvera koji je korišćen za dizajn eksperimenata. Odzivne površine i konturni dijagrami su za sve modele bili predstavljeni kao funkcije dve promenljive, kao što je prethodno objašnjeno. Podaci su dobijeni kao srednja vrednost ± standardna devijacija (SD) za svaki uzorak koji je analiziran u tri ponavljanja.

Statistički značaj modela je testiran analizom varijanse i upotrebom Fišerovog testa (F-test), pri čemu su vrednosti ≤ 0.05 . Ostale vrednosti verovatnoće su takođe uzete u obzir ($p \leq 0.01$ i $p \leq 0.001$), s tim da je verovatnoća od 95% bila minimum za prihvatanje hipoteze na osnovu statistički značajnih razlika između uzoraka. U ovom radu je za zavisne promenljive, koje mogu da se opišu polinomnim modelom, korišćen kriterijum koeficijenta korelacije $R^2 \geq 0.80$. Dakle, samo su razmatrane vrednosti modela koje su ispunile ovaj zahtev, stoga su neke jednačine redukovane (postale linearne). Studentov t-test je korišćen da se odredi značaj individualnih faktora i njihov efekat za svaki izračunati koeficijent.

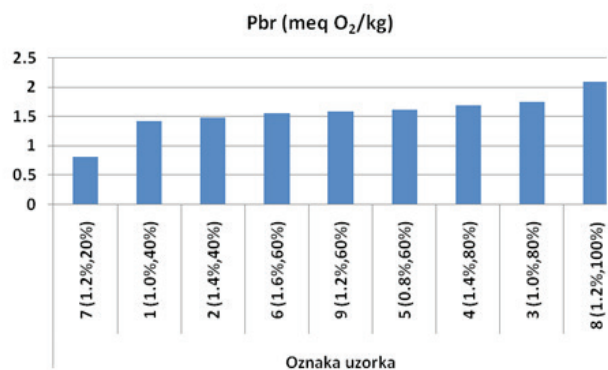
Dobijeni statistički obrađeni rezultati za sve odzive su upoređeni sa rezultatima instrumentalne TPA za komercijalni kikiriki maslac, koji je korišćen kao kontrolni uzorak, da bi se na kraju izveli pravilni zaključci.

REZULTATI I DISKUSIJA

KARAKTERISTIKE SVEŽIH NAMAZA

Peroxidini broj masne faze je bio ispod maksimalnih vrednosti koje propisuje Pravilnik o kvalitetu jestivih ulja (Pravilnik, 2006). Kod svih uzoraka vrednost Pbr je bila ispod 2.5 meqO₂/kg. Sa slike 1

se može videti da je na osnovu početnih rezultata Pbr moguće predvideti ponašanje uzoraka sa vremenom, pri čemu je očigledno da je konopljinu ulje, usled veoma visokog sadržaja PNMK, imalo najveći uticaj na oksidativne promene (užegnuće) namaza.

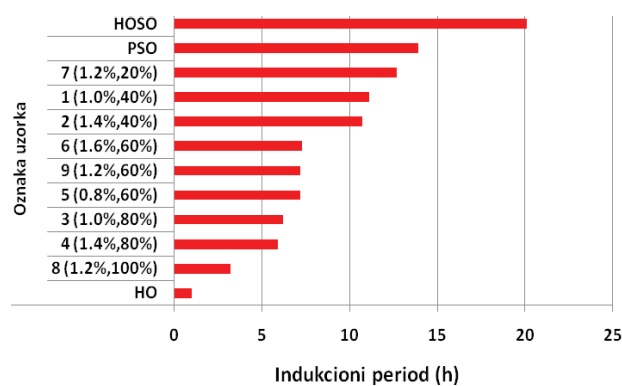


Slika 1. Peroxidni broj svežih uzoraka namaza
Figure 1. PV of fresh spread samples

Što se tiče **kiselosti** uzoraka (indikatora stepena hidrolitičkog kvarenja ulja), izražene u procentima oleinske kiseline, primećen je sličan trend (slika 2) u smislu korelacije sadržaja konopljinog ulja i stepena kiselosti. Kiselost je, takođe bila daleko ispod granice utvrđene Pravilnikom o kvalitetu jestivih ulja i masti (Pravilnik, 2006).



Slika 2. Sadržaj slobodnih masnih kiselina u uzorcima svežih namaza
Figure 2. FFA content of fresh spread samples



HOSO: Visoko - oleinsko suncokretovo ulje
PSO: Ulje semena tikve golice
HO: Hladno ceđeno konopljinu ulje

Slika 3. Indukcioni period u uzorcima svežih namaza
Figure 3. Induction period of fresh spread samples

Na osnovu rezultata induktionog perioda prema Rancimat testu (slika 3) bi se moglo zaključiti da će oksidativna stabilnost namaza sa većim sadržajem konopljinog ulja (koje ima najlošiju oksidativnu stabilnost), biti proporcionalno manja. Stoga se na osnovu ovih rezultata može predvideti održivost namaza i ranija pojava užeglosti kod uzoraka sa većim sadržajem konopljinog ulja u njihovom sastavu. Ovde treba istaći činjenicu da iako su ispitivana ulja u ovom radu bila najmanje mesec dana stara, imala su niži induktioni period (devičansko ulje tikve golice) upoređeno sa literaturnim podacima u odnosu na sveža ulja koja su ispitivali drugi autori (Dimić i sar., 2006). Osim toga ispitivana ulja u ovom radu su imala niži induktioni period za hladno ceđeno konopljinu ulje od vrednosti koje su dobili Dimić i sar. (2009) za sveže ceđena ulja. Prema rezultatima Dimić i sar. (2009a), ispitivanja stabilnosti ulja tikve golice nakon 10 i 20 dana pri temperaturi od $63 \pm 2^\circ\text{C}$ su pokazala da induktioni period drastično opada sa vremenom, tako da je devičansko ulje tikve golice nakon 10 dana imalo induktioni period od 18.2 h, a nakon 20 dana 13.6 h, dok je ulje dobijeno presovanjem srednje pečenog semena imalo induktioni period od 2.35 h nakon 20 dana. Devičansko ulje tikve golice ispitivano u ovom radu je imalo induktioni period od 13.9 h.

SKLADIŠTENJE I ROK TRAJANJA NAMAZA

a) Uticaj količine dodatog stabilizatora na stabilnost emulzije (izdvajanje ulja iz namaza)

Senzornom analizom je utvrđeno da nijedan uzorak nije ispoljio vidljive znake izdvajanja ulja na površini

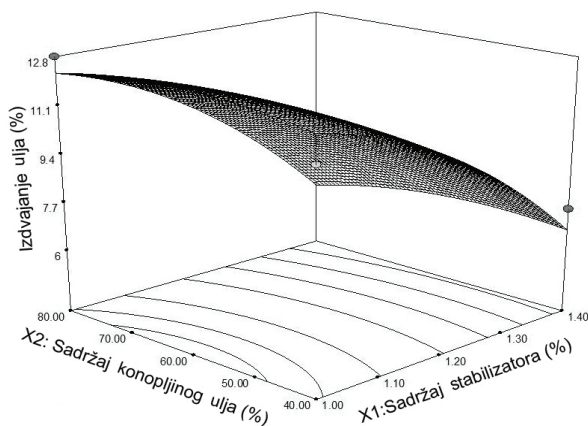
namaza posle mesec dana skladištenja, što ukazuje na dobar izbor i količinu dodatog stabilizatora. Promene su nastupile nakon tog perioda. Iz tih razloga uzorci su bili ispitani na količinu izdvojenog ulja nakon 3, 6 i 9 meseci skladištenja. Rezultati dobijeni nakon tri meseca skladištenja su obrađeni statistički, pri čemu je dobijena sledeća jednačina (2):

$$\text{Količina izdvojenog ulja (\%)} = 10.70 - 2.93 X_1 - 0.17 X_2 - 0.17X_1X_2 - 0.92 X_1^2 - 0.47 X_2^2 \quad (2)$$

Regresionom analizom je utvrđeno da je za F - vrednost 16.90 i $p < 0.0009$ model bio značajan. F - vrednost za sadržaj stabilizatora je bila 70.20 pri $p < 0.0001$, što ukazuje da je ovaj ispitivani faktor bio veoma značajan. Oba faktora, X_1 i X_1^2 , su takođe bila značajni faktori za model ($R^2 = 0.9235$).

Sa slike 4 se može videti da sa porastom količine dodatog stabilizatora, količina izdvojenog ulja drastično opada.

Nakon 3 meseca, uzorak 6 nije pokazao znake separacije ulja, dok je kod svih ostalih uzoraka došlo do izdvajanja određenog dela ulja. Najmanja količina ulja se izdvojila kod uzorka oznake 1 (9.3%), a zatim uzorka oznake 2 (9.6%) i oznake 7 (10.5%). Optimalna vrednost sadržaja stabilizatora je bila 1.2-1.4% uz 40-60% dodatog konopljinog ulja.



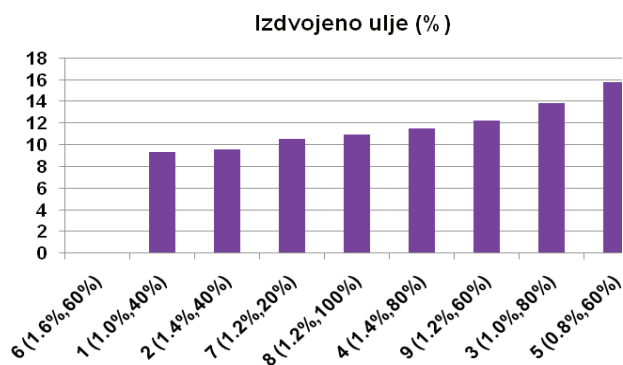
Slika 4. Uticaj sadržaja konopljinog ulja i stabilizatora na izdvajanje ulja iz namaza

Figure 4. Impact of the hemp oil and stabilizer content on spreads' oil separation

Dobra stabilnost, bez izdvajanja ulja iz namaza na površini je najverovatnije bila prisutna ne samo zbog stabilizatora, već i emulgatora kao i maltodekstrina i chia semena koji su verovatno formirali jaku strukturu gela, u interakciji proteina i ugljenih hidrata sa uljima prisutnim u namazu.

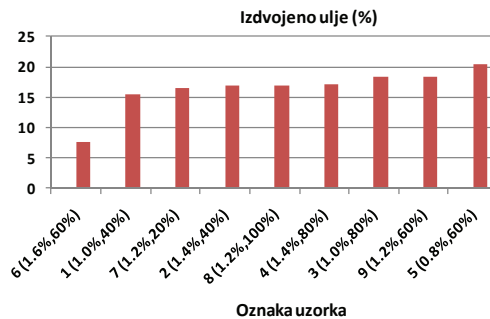
Nakon 6 meseci, zbog izdvojenog ulja na površini, namazi su još uvek bili prihvatljivog izgleda, osim uzoraka oznake 3 i 5 (slika 5), kod kojih se izdvojilo 13.8% i 15.8% ulja, resepektivno.

Nakon 9 meseci skladištenja, uzorci oznake 3, 9 i 5 su pokazali znatno veće količine izdvojenog ulja na površini (18.3%, 18.4% i 20.5%, respektivno), te se stoga ovi uzorci ne mogu smatrati prihvatljivim za rok trajanja od 9 meseci (slika 6).



Slika 5. Sadržaj izdvojenog ulja na površini namaza nakon 6 meseci skladištenja

Figure 5. Content of the separated oil on surface of spreads after 6 months of storage



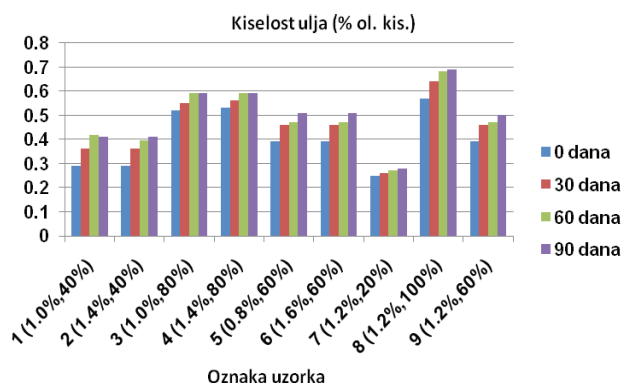
Slika 6. Sadržaj izdvojenog ulja na površini namaza nakon 9 meseci skladištenja

Figure 6. Content of separated oil on surface of spreads after 6 months of storage

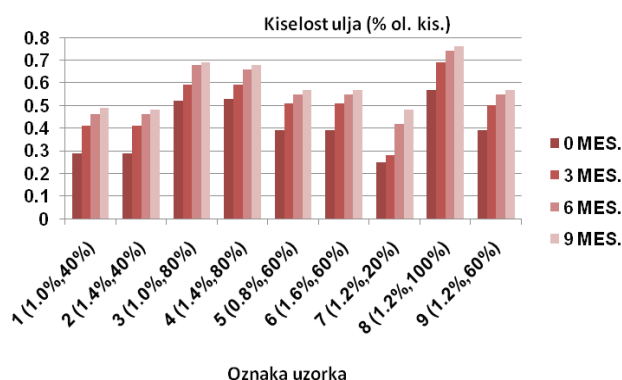
b) Uticaj dodatka konopljinog ulja na kiselost namaza

Prema Pravilniku o kvalitetu (Pravilnik, 2006) kod jestivih nerafinisanih ulja, kiselost mora biti niža od 2%, računato na količinu oleinske kiseline. Sa slike 7 se može videti da se u toku prva 3 meseca kiselost ulja nije bitno menjala i za sve uzorke je bila niža od 0.7%, što ukazuje na veoma slabo hidrolitičko razlaganje triacilglicerola u sastavu namaza. Na slici 8 su prikazane hidrolitičke promene u toku 9 meseci skladištenja na bazi tromesečnih promena.

Na osnovu dobijenih vrednosti kiselosti se može reći da su svi ispitani uzorci bili u okviru zakonskih propisa i nakon 9 meseci čuvanja. Kiselost ulja je direktno zavisila od količine dodatog konopljinog ulja.



Slika 7. Promena kiselosti ulja u sastavu namaza u periodu od 3 meseca čuvanja (mesečne promene)
Figure 7. FFA content of the spreads after 3 months of storage (monthly changes)



Slika 8. Promena kiselosti ulja u sastavu namaza u periodu od 9 meseci čuvanja (tromesečne promene)
Figure 8. FFA content of the spreads after 9 months of storage (tri-monthly changes)

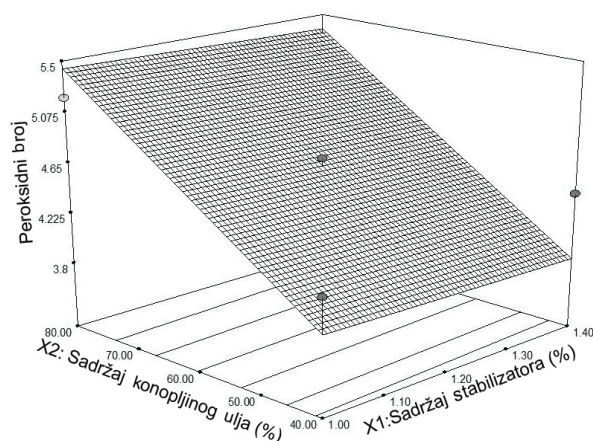
Stabilnost namaza u toku skladištenja je pokazala male promene vrednosti kiselosti, kao meru hidrolitičkih promena masne faze. Rezultati ispitivanja su pokazali da su svi uzorci bili veoma dobri u smislu kiselosti do kraja praćenog roka trajanja od 9 meseci (slika 8), sa minimalnim promenama u toku prvih 3 meseca (slika 7).

c) Uticaj dodatka konopljinog ulja na oksidativnu stabilnost namaza

Prema Pravilniku o kvalitetu (Pravilnik, 2006) kod jestivih nerafinisanih ulja, peroksidni broj mora biti niži od 15 meq O₂/kg. Peroksidni broj je bio određen na početku eksperimenta za sve uzorke, kao i posle 3 meseca. Regresionom analizom je dobijena sledeća jednačina (3):

$$Pbr(\text{meqO}_2/\text{kg}) = 4.64 - 0.033 X_1 + 0.77 X_2 \quad (3)$$

F - vrednost za model je bila 31.43, $p < 0.0001$, što znači da je model bio značajan. Jedini značajan faktor (F - vrednost 62.75 pri $p < 0.0001$) je bio sadržaj konopljinog ulja. Model je bio linearan ($R^2 = 0.8628$). Sa slike 9 se može videti da sa povećanjem sadržaja konopljinog ulja linearno raste i Pbr. Najniža vrednost za Pbr, kao rezultat određivanja u ulju izdvojenom iz namaza, nađena je kod uzorka 7 (2.40 meqO₂/kg), zatim uzorka oznake (4.20 meqO₂/kg), kao i uzorka oznake 2 (4.40 meqO₂/kg). Optimalna vrednost Pbr je bila pri uslovima pri kojima je dodata količina stabilizatora iznosila 1.2%, a količina konopljinog ulja 20%. Najviša vrednost Pbr je zabeležena kod uzorka oznake 8 (6.20 meqO₂/kg). Ovaj model je bio minimiziran za Pbr vrednost.



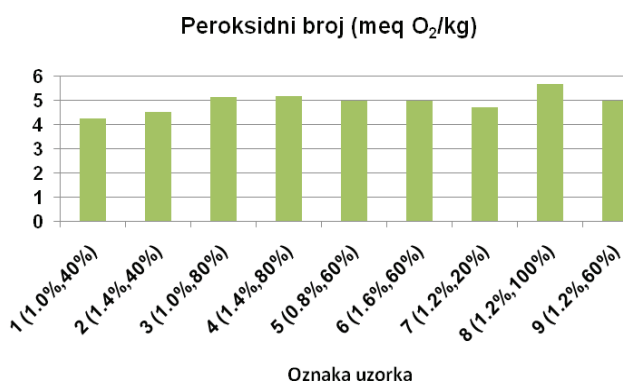
Slika 9. Uticaj sadržaja konopljinog ulja i stabilizatora na promenu peroksidnog broja namaza tokom čuvanja
Figure 9. Impact of hemp oil and stabilizer content on PV during storage

Oksidativne promene tokom skladištenja pri sobnoj temperaturi (21°C) su pokazale određenu kinetiku. Naime, Pbr je bio relativno stabilan u toku prvih tri meseca skladištenja kod svih uzoraka (slika 10), tj. početna vrednost se nije mnogo promenila i kretala se oko 5 meqO₂/kg (od 4.2 do 5.6 meqO₂/kg). U periodu između 3 i 6 meseci su nastupile blage promene kod uzoraka oznake 1, 2, 7 i 8, pri čemu su se nakon 6 meseci vrednosti Pbr kretale od 6-10 meqO₂/kg (slika 11). Drastične promene Pbr su registrovane kod uzoraka oznake 3, 4, 5, 6 i 9, pri čemu je Pbr dostigao maksimalnu vrednost propisanu Pravilnikom, a za uzorak 6 je čak bio viši (15.84 meqO₂/kg). Između šestog i devetog meseca skladištenja, vrednost Pbr je naglo porasla, i osim kod uzoraka oznake 1 i 2, za sve ostale uzorke je

prekoračila dozvoljenu vrednost nakon 9 meseci skladištenja (slika 12).

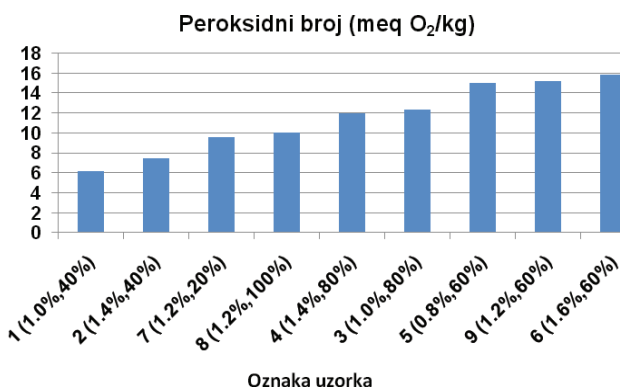
Na osnovu dobijenih rezultata Pbr se može zaključiti da maksimalni rok trajanja namaza može biti najviše do 6 meseci (slika 13).

Upoređenjem rezultata ovog istraživanja sa rezultatima koje su dobili Edhin i sar. (2003) ispitivanjem oksidativne stabilnosti omega-3 namaza, može se videti da su njihovi namazi dostigli vrednost Pbr od 15 meqO₂/kg već nakon 4 nedelje skladištenja i to pri veoma niskim temperaturama od 4 i 8 °C. Boljoj oksidativnoj stabilnosti, tj. dužoj održivosti namaza na bazi mlevene pogače uljane tikve golice, sigurno je doprinelo zaostalo tikvino ulje, sa velikim udelom γ-tokoferola, kao i visoko-oleinsko suncokretovo ulje, sa visokim udelom oleinske kiseline, koje je korišteno u formulaciji namaza.



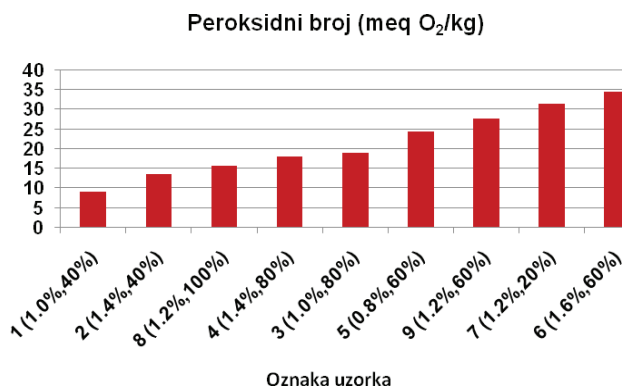
Slika 10. Promena peroksidnog broja ulja u sastavu namaza u periodu od 3 meseca čuvanja

Figure 10. PV change of spreads during storage of 3 months



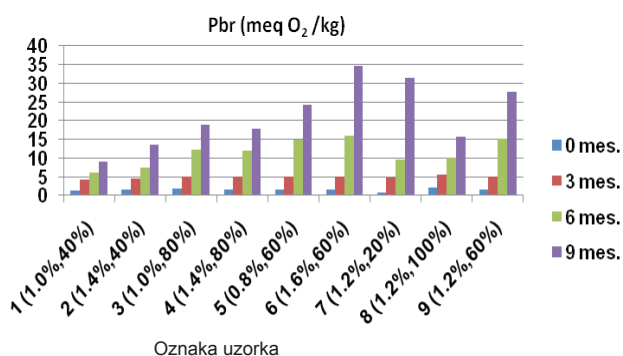
Slika 11. Promena Pbr ulja u sastavu namaza u periodu od 6 meseci čuvanja

Figure 11. PV change of spreads during storage of 6 months



Slika 12. Promena peroksidnog broja ulja u sastavu namaza u periodu od 9 meseci čuvanja

Figure 12. PV change of the spreads during the storage of 9 months



Slika 13. Porast peroksidnog broja ulja u sastavu namaza u funkciji vremena skladištenja

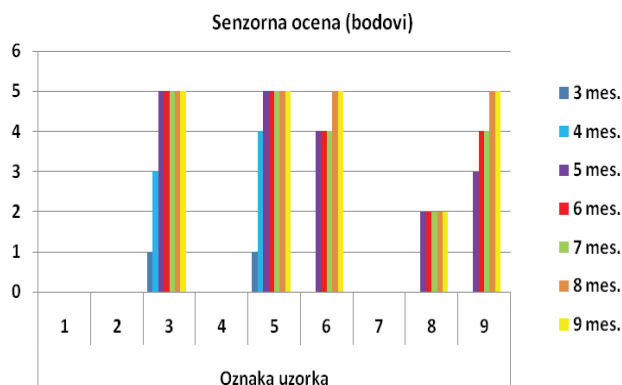
Figure 13. Increase of PV value in spreads with storage time

d) Ispitivanje promene užeglosti namaza tokom čuvanja (senzorski testovi)

Svi uzorci namaza su senzorno testirani na pojavu užeglosti jednom nedeljno, u toku 9 meseci. Uzorci su testirani na miris i ukus prema skali u rasponu ocena od 0 (bez tragova užeglosti) do 5 (izuzetno izražena užeglost – neprihvatljivo).

Kao što se na histogramu vidi (slika 14), nijedan uzorak nije pokazao tragove užeglosti u toku prva dva meseca skladištenja. Promene su počele kod uzoraka oznake 3 i 5 između drugog i trećeg meseca, pri čemu su uzorci imali blagu užeglost posle trećeg meseca. Nakon 4 meseca skladištenja, jedino su uzorci oznake 3 i 5 bili užegli i imali čak veći stepen promena okarakterisanih kao “jača” i “veoma jaka užeglost”. Nakon 5 meseci skladištenja uzorci oznake 3 i 5 su bili neprihvatljivi, dok su uzorci oznake 6, 8 i 9 pokazali nagle promene u toku jednog meseca i dostigli nivo oksidativnih promena (užeglost) izraženo ocenama od 4, 2 i 3, respektivno. Nakon 6 i 7 meseci, uzorci oznake 6

i 8 nisu pokazali dalje oksidativne promene, dok je uzorak oznake 9 pokazao jaku užeglost. Nakon osam meseci skladištenja, uzorci oznake 6 i 9 su bili neprihvatljivi, dok je uzorak oznake 8 zadržao istu ocenu - "blaga užeglost" do kraja perioda ispitivanja.



Ocena:	
Bez tragova	0
Blaga užeglost	1-2
Jača užeglost	2-3
Veoma jaka užeglost	4
Neprihvatljiva	5

Slika 14. Senzorna ocena užeglosti namaza u tokom skladištenja

Figure 14. Increase of PV value in spreads with storage time

Uzorci oznake 1, 2, 4 i 7 nisu uopšte pokazali nikakve oksidativne promene koje su se mogle senzorno detektovati kao užeglost u toku 9 meseci skladištenja, i kao takvi su ocenjeni najboljom ocenom.

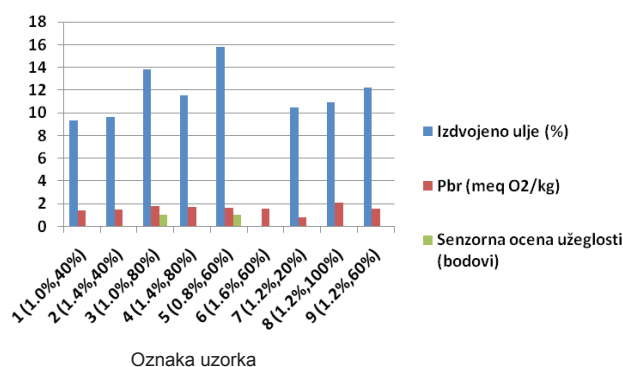
Promena ukusa i mirisa tokom skladištenja je najverovatnije bila uslovljena oksidativnim promenama polinezasićenih masnih kiselina ulja i bila pod zaštitom tokoferola do granice njihove iscrpljenosti kada je peroksidni broj, kao pokazatelj oksidativnih promena, nakon 6 meseci, dostigao vrednost propisanu Pravilnikom o kvalitetu ulja i masti.

e) Ispitivanje kvaliteta izdvojenog ulja tokom čuvanja namaza

Stabilnost uzoraka je određena i na osnovu rezultata dobijenih praćenjem količine izdvojenog ulja, peroksidnog broja i senzorne užeglosti namaza u toku 3, 6 i 9 meseci skladištenja.

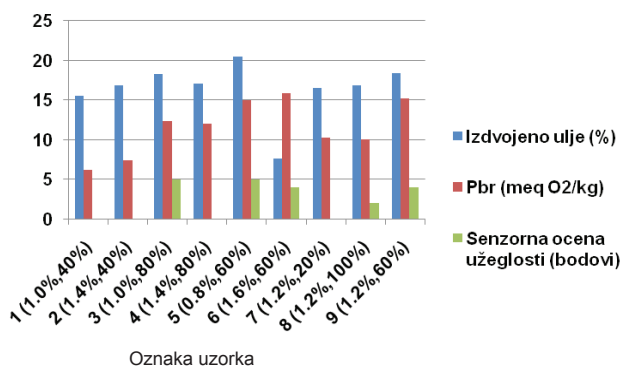
Na slici 15 je prikazana količina i kvalitet izdvojenog ulja iz namaza (Pbr i senzorni kvalitet) koji je skladišten u toku tri meseca na sobnoj temperaturi (21°C). Isti pokazatelji nakon 6 meseci čuvanja na-

maza prikazani su na slici 16, a nakon 9 meseci na slici 17.



Slika 15. Sadržaj i kvalitet izdvojenog ulja nakon 3 meseca skladištenja namaza pri sobnoj temperaturi

Figure 15. Content and quality of separated oil after 3 months of spread's storage at room temperature



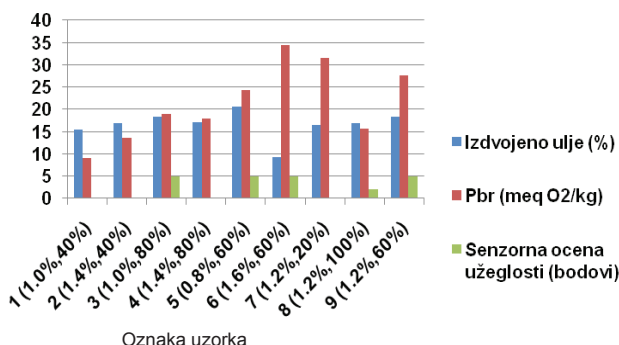
Slika 16. Sadržaj i kvalitet izdvojenog ulja nakon 6 meseci skladištenja namaza pri sobnoj temperaturi

Figure 16. Content and quality of separated oil after 6 months of spreads' storage at room temperature

Izdvajanje ulja je prestalo nakon 6 meseci za sve uzorke osim uzorka 6, gde su promene, tj. izdvajanje ulja tek počelo posle trećeg meseca. Ovaj uzorak se pokazao najstabilnijim u pogledu izdvajanja ulja, pošto je sadržao najveću količinu stabilizatora (slika 16).

Posle tri meseca skladištenja svi uzorci su bili prihvatljivog izgleda u pogledu količine izdvojenog ulja (slika 15). Neki uzorci su imali manje ili više sjajnu površinu, uzorci oznake 3 i 5 su pokazali vidljivo izdvajanje ulja, dok su Pbr i senzorni kvalitet namaza bili prihvatljivi. U toku naredna 3 meseca skladištenja (ukupno 6 meseci), Pbr je naglo porastao tako da su uzorci oznake 3 i 5 postali neprihvatljivi, a uzorci oznake 6 i 9 su bili u podmakloj fazi oksidacije (slika 16). Izdvojeno ulje je bilo izraženo u većem stepenu kod svih uzoraka, a primećeno je i kod uzorka 6. Nakon 6 meseci, uzorci oznake 1, 2, 4

i 7 su bili bez ikakvih tragova senzorne užeglosti, što se produžilo kao takvo do kraja posmatranja – nakon 9 meseci (slika 17). Ovo su izuzetno dobri rezultati u poređenju sa rezultatima drugih ispitivanja.



Slika 17. Sadržaj i kvalitet izdvojenog ulja nakon 9 meseci skladištenja namaza pri sobnoj temperature
Figure 17. Content i quality of separated oil after 9 months of spreads' storage at room temperature

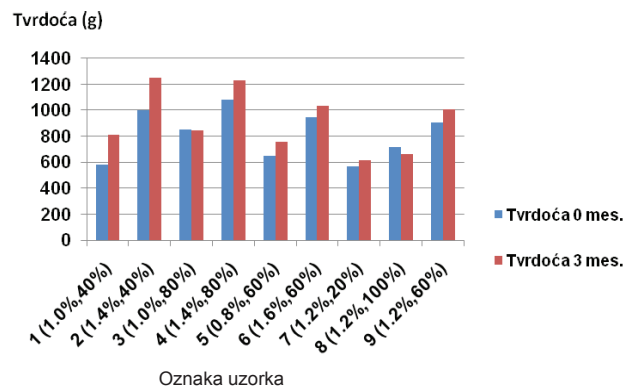
Stabilnost kikiriki maslaca stabilizovanog upotrebom palminog ulja je bilo praćena tokom 5 meseci skladištenja pri različitim temperaturama. Rezultati su pokazali da je došlo do veoma vidnog izdvajanja ulja (17%) i senzornih oksidativnih promena kod svih uzoraka, nakon 39 i 74 dana skladištenja (Gills i Resurrection, 2000).

Aryana i sar. (2003) su takođe ispitivali stabilnost kikiriki maslaca upotrebom palminog ulja i komercijalnog stabilizatora, praćenjem izdvajanja ulja u toku 23 nedelje, pri različitim temperaturama skladištenja. Autori su primetili da se već nakon sedme nedelje, pri temperaturi skladištenja od 21 °C, formirao tanak, otvrdli sloj na dnu namaza. Nakon petnaest nedelja, ovaj sloj je bio vrlo primetan. Posle 23 nedelje, namazi su imali od 15 do 18% izdvojenog ulja, što je u skladu sa rezultatima ovih istraživanja (nakon 6 meseci skladištenja pri temperaturi od 21 °C).

f) Promena teksture namaza tokom skladištenja u periodu od 3 meseca

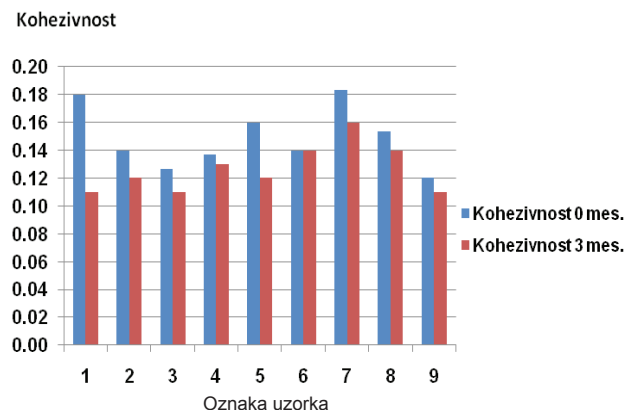
Promena teksture svih uzoraka je utvrđena instrumentalnim merenjem (TPA) nakon 3 meseca čuvanja. Promena tvrdoće polaznih uzoraka i nakon 3 meseca je prikazana na slici 18. Tvrdoća skoro svih uzoraka je neznatno porasla, što je bilo i očekivano, osim kod uzoraka oznake 1, 2 i 4. Tvrdoća je, međutim, još uvek bila u granicama prihvatljivosti, dok je najnižu vrednost imao uzorak oznake 7, a zatim uzorci oznake 8 i 5. Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima Kolanowski i sar. (2006), koji su

takođe primetili blagi porast tvrdoće namaza na bazi repičinog i ribljeg ulja u toku 3 meseca skladištenja.



Slika 18. Promena tvrdoće (TPA) namaza tokom skladištenja u periodu od 3 meseca
Figure 18. TPA hardness change after spreads' storage of 3 months

Kohezivnost svih uzoraka je neznatno opala sa vremenom, a najveće promene su pretrpeli uzorci oznake 1 i 5. Kohezivnost uzorka oznake 6 se uopšte nije promenila (slika 19).

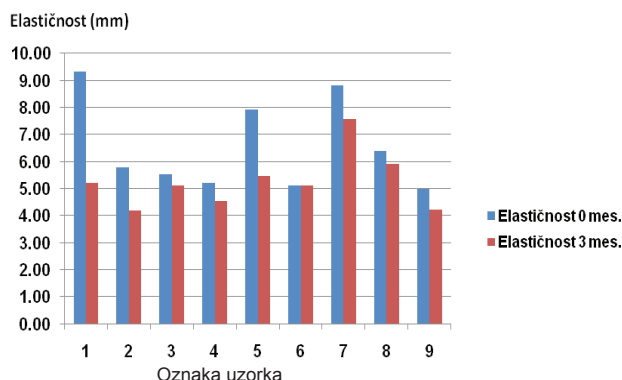


Slika 19. Promena kohezivnosti (TPA) namaza tokom skladištenja u periodu od 3 meseca
Figure 19. TPA spreads' cohesiveness change after spreads' storage of 3 months

Elastičnost svih uzoraka se smanjila, sa neznatnim promenama na svim uzorcima, osim uzoraka oznake 1 i 5, čija se elastičnost izrazito smanjila, što nije bilo očekivano (slika 20).

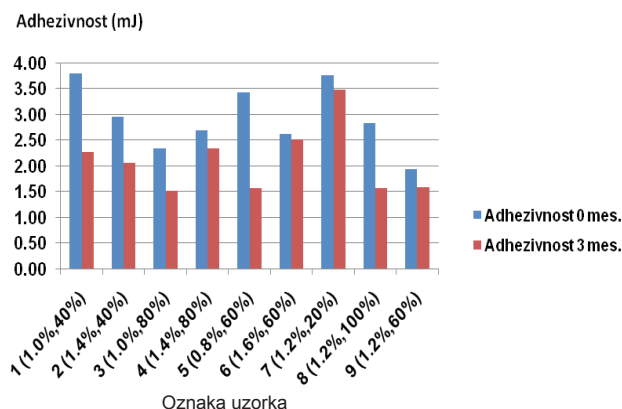
Jedina osobina teksture, kod koje je opadanje vrednosti bilo povoljno, je adhezivnost, i slično kao u ostalim analizama, uzorci oznake 1 i 5 su pretrpeli drastične promene, dok su ostali uzorci imali manje promene, a uzorak oznake 6 je ostao nepromenjen (slika 21). Ovi rezultati su takođe u skladu sa istraživanjima Kolanowski i sar. (2006) (namazi na

bazi repičinog i ribljeg ulja) i Yeh i sar. (2002) (kikiriki maslac) koji su primetili smanjenje adhezivnosti ispitivanih namaza u toku 3 meseca skladištenja.



Slika 20. Promena elastičnosti namaza tokom skladištenja u periodu od 3 meseca

Figure 20. Spreads' elasticity changes during storage of 3 months



Slika 21. Promena adhezivnosti (lepljivosti) namaza tokom skladištenja u periodu od 3 meseca

Figure 21. Spreads' adhesiveness changes during storage of 3 months

ZAKLJUČAK

Količina dodatog konopljinog ulja ima znatan uticaj na oksidativnu stabilnost namaza, kao što je Pbr. Sa porastom količine konopljinog ulja u sastavu namaza smanjuje se oksidativna stabilnost namaza, odnosno raste Pbr. Najviša vrednost Pbr je zabeležena kod uzorka 8 (6.20 meqO₂/kg). Rok trajanja namaza zavisi od stepena oksidacije ulja u sastavu proizvoda, pre svega od količine dodatog konopljinog ulja i može biti najduže do 6 meseci, pri sobnoj temperaturi skladištenja. Izdvajanje ulja na površini namaza zavisi od količine dodatog stabilizatora. Najbolji rezultati su postignuti dodatkom 1.6% stabilizatora (uzorak oznake 6 ni nakon 3 meseca nije

pokazao znake izdvajanja ulja). Optimalna vrednost za minimalno izdvajanje ulja je namaz sa sadržajem stabilizatora od 1.2-1.4% uz 40-60% dodatog konopljinog ulja. Dobijeni proizvod, sa rokom trajanja od 6 meseci, čuvan pri sobnoj temperaturi (21 °C), bi se mogao plasirati na tržištu kao funkcionalna hrana (bogata proteinima, mineralima i omega masnim kiselinama), s obzirom na to da ne sadrži alergene, a uz to ima bolji nutritivni sastav od kikiriki maslaca, koji je trenutno najpopularniji namaz na bazi uljarica.

LITERATURA

1. Abegaz E.G., Kerr W. L., Koehler P. E. (2004). The role of moisture in flavor changes of model peanut confections during storage. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 37 (2): 215-225.
2. Ahmadi L., Shahmir F. (2016). Physical characteristics of peanut butter influenced by fully hydrogenated flaxseed oil (*Descurainia sophia* L.) as a stabilizer. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 93:743-746.
3. Aryana K. J., Resurreccion A. V. A., Chinnan M. S., Beuchat L. R. (2003). Functionality of palm oil as a stabilizer in peanut butter. *Journal of Food Science* 68 (4): 1301-1307.
4. Dimić B. E., Vujasinović B. V., Radočaj F.O., Borić B. D. (2013). Sensory evaluation of commercial fat spreads based on oilseeds and walnut. *Acta Periodica Technologica*, 44: 21-30.
5. Dimić E., Peričin, D., Panić, B. (2006). Ispitivanje mogućnosti valorizacije nusproizvoda prerade semena uljane tikve goliće. *Uljarstvo*, 37 (3-4): 29-35.
6. Dimić E., Romanić R., Vujasinović V. (2009). Essential fatty acids, nutritive value i oxidative stability of cold pressed hempseed (*Cannabis sativa* L.) oil from different varieties. *Acta Alimentaria*, 38 (2): 229-236.
7. Dimić E., Romanić R., Vujasinović V., Berenji J. (2008). Održivost hladno presovanog ulja semena uljane tikve goliće. *Uljarstvo*, 39 (1-2): 17-26.
8. Dimić E., Vujasinović V., Romanić R., Parenta G. (2009a). Održivost hladno presovanog i devičanskog ulja semena tikve goliće. 50. Savetovanje industrije ulja: "Proizvodnja i prerada uljarica", Zbornik radova, pp. 167-172, Herceg Novi.
9. Eidhin D.Ní., Burke J., O'Beirne D. (2003). Oxidative stability of ω3-rich camelina oil and camelina oil-based spread compared with plant and fish oils in sunflower spread. *Journal of Food*

- Science, 68 (1): 345-353.
10. Emami Sh., Azadmard-Damirchi S., Hesari J., Peighambardoust S. H., Ramezani Y., Nemati M., Esmaili M., Rafat S. A. (2014). Production of butter incorporated with hazelnut powder. *J. Agr. Sci. Tech.*, 16: 1623-1632.
 11. Gills L. A., Resurreccion A. V. A. (2000). Sensory and physical properties of peanut butter treated with palm oil and hydrogenated vegetable oil to prevent oil separation. *Journal of Food Science*, 65 (1): 173-180.
 12. How J., Young C. T. (1985). Factors affecting of peanut butter preference. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62 (3): 538-540.
 13. Kolanowski W., Jaworska D., Weissbrodt J. (2006). Texture assessment of industrially produced spreadable fat fortified with fish oil. *International Journal of Food Engineering*, 2(5): Article 4, 1-10.
 14. Martirosyan D. M., Singh J. (2015). A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6): 209-223.
 15. McWatters K. H., Young C. T. (1978). Quality and compositional characteristics of stabilized, unstabilized, and imitation peanut butter. *Journal of Food Science*, 43 (2): 370-384.
 16. Murkovic M., Pfannhauser W. (2000). Stability of pumpkin seed oil. *European Journal of Lipid Science Technology*, 102 (10): 607-611.
 17. Nylier T., Arnebrant T., Bos M., Wilde P. (2008). Protein/emulsifier interactions. In Hasenhuettl G.L. and Hartel R.W. (Eds.), *Food emulsifiers and their applications*, Springer Science i Business Media, Second edition, pp. 89-171.
 18. Parry J., Hao Z., Luther M., Su L., Zhou K., Yu L. L. (2006). Characterization of cold-pressed onion, parsley, cardamom, mullein, roasted pumpkin, and milk thistle seed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83 (10): 847-854.
 19. Patel A. A., Gupta S.K. (1988). Studies on a soy-based low-fat spread. *Journal of Food Science*, 53 (2): 455-459.
 20. Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za jestiva biljna ulja i masti, margarine i druge masne namaze, majonez i srodne proizvode, Službeni List SCG br. 23/2006.
 21. Radočaj O. (2011a). Optimization of technology of hull-less pumpkin press-cake spread rich in omega fatty acids. PhD thesis, Univeristy of Novi Sad, Faculty of Technology, Novi Sad, Serbia.
 22. Radočaj O., Dimić E., Diosady L. L., Vujasinović V. (2011b). Optimizing the texture attributes of a fat-based spread using instrumental measurements. *Journal of Texture Studies*, 42: 394-403.
 23. Radočaj O., Dimić E., Kakuda Y., Vujasinović V. (2011c). Chemical, nutritional and functional properties of a food by-product: hull-less pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil presscake, *Olaj Szappan Kozmetika (Oil Soap Cosmetics)*, 60: 3-9.
 24. Radočaj O., Dimić E., Vujasinović V. (2011d). Secondary TPA characteristics of a spread containing hull-less pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil press-cake and cold-pressed hemp (*Cannabis sativa* L.) oil. *Journal of Edible Oil Industry (Uljarstvo)*, 42 (1-2): 33-41.
 25. Radočaj O., Dimić E., Vujasinović V. (2012a). Development of a hull-less pumpkin seed (*Cucurbita pepo* L.) oil press-cake spread. *Journal of Food Science*, 77 (9): C1011-C1017.
 26. Radočaj O., Vujasinović V., Dimić E. (2013). Sensory characteristics of hull-less pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) oil press-cake spreads. *Journal of Edible Oil Industry (Uljarstvo)*, 44 (1): 51-60.
 27. Seymen M., Uslu N., Türkmen Ö., Juhaimi F. A., Özcan M. M. (2016). Chemical compositions and mineral contents of some hull-less pumpkin seed and oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 93: 1095-1099.
 28. Shakerardekani A., Karim R., Ghazali H. M., Chin H.L. (2013). Textural, Rheological, Sensory Properties and Oxidative Stability of Nut Spreads—A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 4223-4241.
 29. Tian C. (2016). Storage stability of roasted nuts and stabilization strategy using natural antioxidants. *INFORM*, 27 (8): 6-8.
 30. Veronezi M. C., Jorge N. (2012). Bioactive compounds in lipid fractions of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds for use in food. *Journal of Food Science and technology*, 77 (6): C653-C657.
 31. Yeh J.-Y., Resurreccion A. V. A., Phillips R. D., Hung Y. C. (2002). Overall acceptability and sensory profiles of peanut spreads fortified with protein, vitamins, and minerals. *Journal of Food Science*, 67 (5): 1979-1985.

HLADNO PRESOVANO ULJE KOŠTICA GROŽĐA – REALNOST I BUDUĆNOST

Vesna Vujasinović, Miloš Bjelica, Tanja Lužaić, Sanja Dimić

Porastom broja stanovnika na planeti raste i potreba za industrijskom proizvodnjom i preradom hrane, a povećava se i količina nusproizvoda koji zaostaju nakon proizvodnje. Nusproizvodi često predstavljaju veliki ekološki problem koji nastoji da se reši iskorišćenjem otpada u neke druge svrhe. Tako, prilikom prerade grožđa zaostaje komina koja može da se iskoristi kao prirodno đubrivo, u ishrani životinja, ali i za dobijanje jestivog biljnog ulja. Ulje koštica grožđa po masnokiselinskom sastavu slično je suncokretovom ulju. Spada u grupu ulja sa visokim sadržajem nezasićenih masnih kiselina. Najzastupljenija je linolna kiselina, sa udelom od preko 70%; zatim oleinska kiselina, sa udelom od oko 15%; linolenska kiselina sa udelom ispod 1%, dok je arahidonska kiselina zastupljena u veoma maloj količini. Što se tiče tokoferola, u ovom ulju najzastupljeniji je α -tokoferol, oko 10 mg/100g, a dokazano je i prisustvo β - i γ -tokoferola, oko 15 mg/100g ulja. U velikoj meri su prisutni i tokotrienoli. Posebno se ističe γ -tokotrienol, a prati ga manji sadržaj α -tokotrienola. Najzastupljeniji sterol u ulju koštica grožđa je β -sitosterol, sa udelom između 67% i 70% u ukupnim sterolima, praćen manjim sadržajima kampesterola, stigmasterola, Δ^7 -avenasterola, Δ^7 -stigmasterola i Δ^7 -avenasterola. Ulje koštica grožđa bogato je oligomernim fenolnim jedinjenjima (OPC) u čiji sastav ulaze katehin, epikatehin, epikatehin-3-O-galat kao i različiti oligomerni proantocijanidini.

Ključne reči: ulje koštica grožđa, proizvodnja, sastav masnih kiselina, nutritivna vrednost, održivost

COLD-PRESSED GRAPE SEED OIL – REALITY AND FUTURITY

As the number of people on the planet is growing, there is the need for enormous industrial production and processing of food and this increases the amount of by-products which remain after production. By-products often represent a major environmental problem that seeks to solve the waste use for other purposes. During the processing of grapes is generated grape-pomace that can be used as a natural fertilizer, in animal nutrition, either to obtain edible vegetable oil. The fatty acid composition of grape seed oil is similar to sunflower oil. It belongs to the group of oils with a high content of unsaturated fatty acids. The most common is linoleic acid, with a share of over 70%; followed by oleic acid, with a share of about 15%; linolenic acid with a share of less than 1%, while the arachidonic acid is present in very small quantity. In this oil is most frequently presence α -tocopherol, about 10 mg/100g, and it has been proved the presence of β - and γ -tocopherol, about 15 mg/100 g oil. Tocotrienols are present to a large extent, too. Particularly noteworthy is the γ -tocotrienol, followed by lower content of α -tocotrienol. The most common sterol in grape seed oil is β -sitosterol, with a share between 67% and 70% of total sterols, followed by a smaller content of campesterol, stigmasterol, Δ^5 -avenasterola, Δ^7 -stigmasterol and Δ^7 -avenasterol. Grape seed oil is rich in oligomeric phenolic compounds (OPC), which includes catechin, epicatechin, epicatechin-3-O-gallate and various oligomeric proanthocyanidins.

Key words: grape seed oil, production, fatty acid composition, nutritive value, stability

UVOD

Zahtevi savremenog, razvijenog društva današnjice po pitanju kvaliteta hrane se usmeravaju na

Prof. dr Vesna Vujasinović, e-mail: vesnavujasinovic@gmail.com, Visoka hotelijerska škola strukovnih studija, Kneza Višeslava 70, 11030 Beograd; Miloš Bjelica, Tanja Lužaić, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, 21000 Novi Sad, Bul. cara Lazara 1; Sanja Dimić, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Srbija.

sledeće: da namirnice tokom proizvodnje i prerade ostanu „čiste”, bez hemikalija, da se sačuvaju izvorne nutritivne vrednosti proizvoda i da budu provereno bez štetnih materija po zdravlje potrošača.

Jestiva biljna ulja, kao osnovni prehrambeni proizvod, zauzimaju veoma značajno mesto u ishrani, kako zbog njihovog udela u potrošnji, tako i zbog višestrukog nutritivnog značaja, budući da predstavljaju glavni izvor energije, izvor liposolubilnih vitamina, esencijalnih masnih kiselina i ostalih veoma važnih minornih bioaktivnih sastojaka (Hernandes i Kamal-Eldin, 2013).

Asortiman hladno ceđenih ulja u novije vreme je znatno proširen. Naime, neprestano se traga za novim izvorom sirovine specifičnog masnokiselinskog i nutritivnog profila (Radočaj i Dimić, 2013). Osim toga istražuju se i mogućnosti valorizacije nusproizvoda određenih tehnoloških procesa prerade prehrambenih proizvoda (Radočaj i sar., 2011). Valorizacija velikih količina otpada koji nastaje u prehrambenoj industriji predstavlja ozbiljan problem sa više aspekata. Zbog toga su permanentno u toku razna istraživanja koja imaju za cilj razradu novih procesa za prevođenje otpada u druge biološki aktivne i iskoristljive proizvode, odnosno, u nove proizvode sa dodatnom vrednošću. Ovakvi procesi mogu znatno doprineti rešavanju problema zagađenja životne sredine, a sa druge strane stvoriti dodatne izvore prihoda.

Bobice grožđa *Vitis vinifera* L. ssp *sativa* se od davnina koriste u različite svrhe. Grožđe se danas sve više konzumira, kako sveže tako i sušeno, koristi se u vinarstvu ili u proizvodnji sokova, dok se ekstrakti iz njihove kožice i koštica/semenci koriste u farmaceutske svrhe zbog velikog sadržaja fenola i resveratrola (Bail i sar., 2008).

U literaturi se za **koštice** grožđa često koristi izraz **semenke** grožđa, međutim, u Pravilniku o kvalitetu ulja (Pravilnik, 2006) u članu 10 navedeno je da se kao sirovina za proizvodnju jestivih ulja mogu koristiti „koštice grožđa (*Vitis vinifera* L.)”. Iz tih razloga autori ovog rada primenjuju izraz koštice grožđa.

Proizvodnja grožđa je najzastupljenija u umereno toplim klimatskim zonama kao što su Italija (9,256.814 t/god.), Francuska (6,787.000 t/g), SAD (6,414.610 t/god), Španija (5,880.800 t/g) i Kina (5,698.000 t/g) (FAOSTAT, 2007). Prema Yang i sar. (2009) oko 80% grožđa se koristi za proizvodnju vina, dok se oko 13% konzumira kao stono grožđe. Pri preradi ovih količina grožđa nastaje oko 10 miliona tona komine u vremenu od svega par nedelja tokom kampanje. Prerada komine u razvijenim zemljama se usmerava u pravcu proizvodnje ulja iz koštica i proizvodnje bioaktivnih komponenata, kako iz ljuske, tako i koštica. Udeo koštica u komini je značajan, iznosi oko 38-52% na bazi suve materije (Yang i sar., 2009), dok se po drugim autorima komina grožđa sastoji od 20-26% koštica, oko 7-11% proteina i 10-20% ulja u zavisnosti od uslova presovanja (Bockish, 1993; Schieber i sar., 2002). Ulje koštica grožđa se proizvodi uglavnom u Italiji, Francuskoj i Španiji, međutim u poslednje vreme je značajno povećana potražnja za ovim ulje i u drugim delovima Evrope (Kamel i sar., 1985).

Vinogradarstvo je veoma značajna delatnost u oblasti poljoprivredne proizvodnje i u Republici Srbiji. Prirodni potencijal, klimatski uslovi, tradicija, kao i subvencionisanje novih zasada vinove loze omogućavaju jačanje vinogradarstva i vinarstva. Ukupne površine pod vinovom lozom u našoj zemlji zauzimaju oko 25.000 ha, sa planom daljeg proširenja u narednim godinama sa bar novih 50.000 ha (Ivanišević i sar., 2015). Pri prosečnom prinosu grožđa od 6 t/ha dobija se oko 300 kg koštica po hektaru, od čega bi se moglo dobiti 35-40 kg ulja. Računato sa cenom ulja koštica grožđa na svetskom tržištu to iznosi oko 150 €/ha (Dimić, 2005).

Primarnom preradom grožđa nastaje komina koja se klasifikuje kao čvrst otpad i potencijalno predstavlja problem budući da može ispoljiti veoma negativan uticaj na životnu sredinu. Upravljanje velikim količinama organskog otpada predstavlja ozbiljan ekološki problem i u našoj zemlji. Zbog toga su konstatno u toku istraživanja koja bi omogućila nove procese za kontrolisano odlaganje otpada ili njegovu valorizaciju u nove proizvode da dodatnom vrednošću. Međutim, kako bi se komina mogla efikasno valorizovati u bilo koji novi proizvod, budući da se sastoji od ostataka peteljki, opne i koštice, neophodno je pažljivo, ali i brzo sušenje komine. Ovo je posebno važno kako bi se dobilo visoko kvalitetno ulje koštica grožđa. U suprotnom kvalitet dobijenog ulja, njegov ukus i miris mogu da naruše različite vrste mikroorganizama (Matthäus, 2008).

IZDVAJANJE ULJA IZ KOŠTICA GROŽĐA

Za koštice grožđa je karakterističan veoma veliki udeo čvrstog dela-“ljuske”, čak 75%, dok udeo jezgra/klice iznosi 25%. Sadržaj ulja u koštici evropskih sorti grožđa je 12-18%, a prosečan sadržaj ulja u koštici domaćih sorti grožđa je oko 13%. Prosečan hemijski sastav koštice grožđa prikazan je u tabeli 1 (Dimić, 2005).

S obzirom na relativno mali sadržaj ulja u koštici grožđa, primena postupka ekstrakcije organskim rastvaračem za njegovo izdvajanje je najefikasnija. U novije vreme, međutim, primenjuje se i presovanje pužnim i hidrauličnim presama u cilju dobijanja prirodnog jestivog nerafinisanog ulja.

Tabela 1. Hemijski sastav koštice grožđa (Dimić, 2005)

Table 1. Chemical composition of grape seed (Dimić, 2005)

Komponenta (%) Compound (%)	Vlažna koštica Wet seed	Suva koštica Dry seed
Vlaga	30-52	-
Ulje	8-12	12-22
Pepeo	1,2-2,0	-
Sirovi proteini	-	12
Sirova vlakna od toga celuloza	-	46-48 10-12
Polisaharidi	-	8-10
Ugljeni hidrati	-	3,0-8,5
Tanin	-	5,7
Lecitin	-	0.12
Fitin	-	0.72

Izdvajanje ulja iz koštica grožđa postupkom ekstrakcije

Klasična ekstrakcija se temelji na korišćenju odgovarajućeg rastvarača za uklanjanje rastvornih materija iz unutrašnjosti biljnog tkiva. Izbor optimalnog rastvarača u kombinaciji sa određenim mehaničkim tretmanom (mešanje) poboljšava prenos mase i efikasnost ekstrakcije. Najčešće korišćen rastvarač za ekstrakciju jestivih ulja iz biljnih sirovina je komercijalni n-heksan, smeša ugljovodonika koja ključa pri temperaturi od 65 – 69 °C. Heksanom se ekstrahuje najveći deo ulja prisutan u koštici ili u pogači koja zaostaje nakon procesa presovanja; ovaj rastvarač je dostupan, jeftin i efikasan u smislu izdvajanja ulja (Fils, 2000; Malićanin, 2014).

Nakon ekstrakcije, ulje se mora prečistiti rafinacijom zbog toga što se tokom ekstrakcije mnoge nepoželjne komponente prenose u ulje, i one naknadno moraju biti uklonjene. Tako dobijeno ulje je neutralnog mirisa i ukusa (De Greyt i Kellens, 2000). Metod ekstrakcije je veoma značajan sa ekonomske tačke gledišta za koštice grožđa, budući da je sadržaj ulja u njima relativno nizak u poređenju sa ostalim uljaricama.

Tehnološki proces proizvodnje hladno presovanog ulja koštica grožđa

Na slici 1 prikazana je tehnološka šema proizvodnje hladno ceđenog ulja koštice grožđa primenom pužne prese.



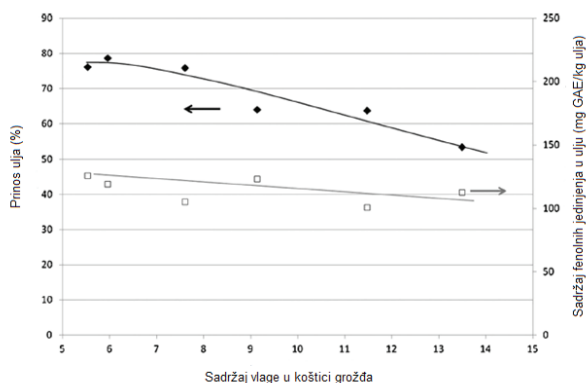
Slika 1. Blok šema proizvodnje hladno presovanog ulja iz koštica grožđa

Figure 1. Block diagram of cold pressed oil processing from grape seed

Presovanje/cedenje je tehnološki postupak u toku kojeg se iz pripremljenih koštica, mehaničkim putem, primenom sile pritiska, izdvaja (cedi) ulje. Cedenje može da se obavlja na pužnim ili hidrauličnim presa-ma. Ukoliko se za cedenje koristi pužna presa, mora

se voditi računa da ona bude odgovarajuće snage-jačine i specijalne konstrukcije. Naime, zbog velike čvrstine materijala masa se lako zaguši (zapeče) u delovima prese, a zbog velikog udela celuloze ulje može da se apsorbira (i time izgubi) u njoj. Ukoliko se koristi hidraulična presa suve koštice se uz dodatak vode fino samelju, u dobijenu masu se ponovo dodaje voda i uz stalno mešanje se zagreva—“prži” dok se ne opazi izdvajanje ulja (pojava sjaja). Masa se tada sipa u vreće i presuje na hidrauličnoj presi (Dimić, 2005).

Jedan od najvažnijih faktora koji utiče na efikasnost ceđenja ulja je sadržaj vlage u sirovini. Stalna kontrola sadržaja vlage u procesu ceđenja je od izuzetnog značaja, jer vlaga neposredno utiče, kako na kapacitet prese i sadržaj zaostalog ulja u pogači, tako i na kvalitet izdvojenog ulja. Veoma mala odstupanja sadržaja vlage u materijalu za ceđenje, daju velika odstupanja u sadržaju zaostalog ulja. Prema Rombaut i sar. (2014), glavni uticaj na prinos ulja i ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja u ulju ima vrsta koštica grožđa. Porastom sadržaja vlage u koštici smanjuje se procenat izdvojenog ulja, slika 2. Optimalni parametri procesa hladnog presovanja za maksimalan prinos ulja i polifenolni sadržaj, prema ovom autoru, zavise od pripreme sirovine.



Slika 2. Uticaj sadržaja vlage na prinos ulja i sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u ulju koštica grožđa (Rombaut i sar., 2014)

Figure 2. Influence of moisture on oil yield and phenolic compounds of grape seed oil (Rombaut *et al.*, 2014)

SENZORSKA SVOJSTVA ULJA KOŠTICA GROŽĐA

Senzorska svojstva ulja predstavljaju najvažniji segment potrošačkog kvaliteta. Grupa autora, Vuja-sinović i sar. (2016) je ispitala senzorska svojstva

hladno presovanih ulja koštica crnog i belog grožđa u poređenju sa rafiniranim uljem koštica grožđa. Po senzorskim karakteristikama ispitanih uzoraka autori su velike razlike uočili između hladno ceđenih (nerafiniranih) ulja u odnosu na rafinirano. Dok hladno ceđena ulja karakterišu određena svojstvena boja, miris i ukus, rafinirano ulje je, pre svega, neutralnog mirisa i ukusa i znatno svetlije boje. Ove karakteristike su u potpunosti u skladu sa svojstvima jestivih nerafiniranih i rafiniranih ulja (Dimić, 2005). Osim navedenog, značajne razlike u pojedinim senzorskim atributima autori su utvrdili i između ulja semena belog grožđa bez fermentacije u odnosu na ulje semena crnog grožđa nakon fermentacije. Naime, boja ulja semena belog grožđa je bila tamnija i izrazito zelena, slično boji devičanskog maslinovog ulja proizvedenog od zelenih plodova masline, dok je boja ulja semena crnog grožđa bila znatno svetlija i žućkasto-zelena. Miris je, takođe bio jače izražen kod ulja od semena crnog grožđa. Ipak, najznačajnija razlika između ova dva uzorka hladno ceđenih ulja koja su dobijena od različite sirovine je bila u aromi, koja je okarakterisana kao „voćna“, odnosno, „vinska“. Zahvaljujući izraženoj aromi, hladno ceđena ulja koštica grožđa su namenjena za upotrebu prvenstveno kao salatna ulja, a usled prijatnih senzorskih svojstava mogu se ubrajati u grupu tzv. gurmanska ulja (Lampi i Heinonen, 2009).

Međutim, treba reći da ukoliko se ne koristi kvalitetna sirovina nije moguće proizvesti hladno presovano ulje visokog senzorskog kvaliteta, budući da tokom procesa dobijanja ulja nema mogućnosti za poboljšanje njegovog kvaliteta, kao što je to slučaj kod rafiniranih ulja. Za proizvodnju visokokvalitetnog ulja koštice grožđa, neophodno je odmah osušiti ostatke nakon proizvodnje vina ili soka. U ostatku-komini od grožđa, nalaze se ostaci voćnog dela koji sadrže veliki udeo vlage i pogodni su brzim mikrobiološkim i enzimskim procesima kvarenja. Kao rezultat aktivnosti mikroorganizama i enzima razvijaju se neprijatne arome koje tokom presovanja prelaze (apsorbuju) u ulje, budući da je ulje veoma dobra podloga za razvoj aroma. Dakle, proizvodnja ulja visokog senzorskog kvalitetnog uslovljena je brzo osušenom sirovinom. U vlažnoj komini se za svega nekoliko sati indukuju procesi kvarenja koji se veoma snažno reflektuju i na aromu ulja (Matthäus, 2008).

Bail i sar. (2008) su zaključili da još ništa nije poznato, između ostalog, o sastavu isparljivih materija ulja koštica grožđa. Iako je vredno istražiti ove parametre u okviru osnovnih istraživanja i u pogledu osiguranja kvaliteta, te cilj njihovih istraživanja je bio karakterisanje različitih vrsta ulja koštica grožđa

(rafinisanog i nerafinisanog) u pogledu isparljivih komponenti (koristeći HS-SPME-GC-MS). Prema njihovim rezultatima u grupi devičanskih ulja koja su proizvedena iz komine dobijene prilikom proizvodnje belog vina, sorte „Welschriesling“ i identifikovani su veći sadržaji sirćetne kiseline, etil acetata, heksanola, heksil acetata i 2,3-butandiola, dok su kod ulja dobijenog od sorte „Chardonnay“ identifikovane veće koncentracije 3-metilbutanola, izoamil acetata, 2-heptanona, benzaldehida, etil heksanoata i etil oktanoata kao i manje koncentracije 3-hidroksibutanol. Od isparljivih komponenata među devičanskim uljima detektovane su alkoholne i esterifikovane komponente kao što je 2,3-butandiol (0,4–1,1%) koji može biti detektovan u svim devičanskim uljima koja se dobijaju iz koštica nakon fermentacije grožđa. Autori su mišljenja da izuzetno visok sadržaj heksanala u dva ispitana uzorka, 25 i 30%, je verovatno posledica degradacije linolne kiseline koja je glavna kiselina u ulju koštica grožđa. Komponente kao što su trans-2-heksenal i trans-2-heptenal koje daju ulju voćnu, zelenu notu su detektovane u većini ulja koštica grožđa, dok su komponente kao što su heksanska kiselina, trans-2-heksenal, heptanal i 2-heptanon pronađene u uzorcima i rafinisanog i nerafinisanog ulja.

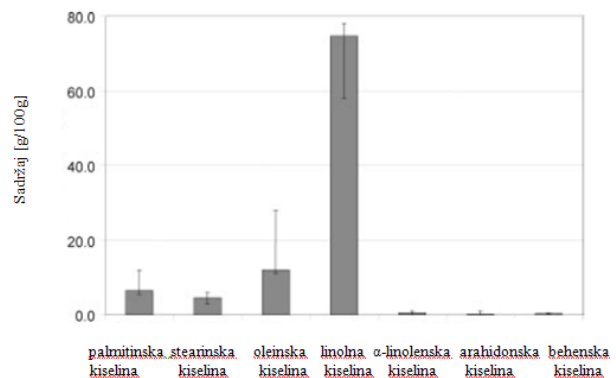
BIOAKTIVNE KOMPONENTE ULJA KOŠTICA GROŽĐA

Najvažniji sastojci, na osnovu kojih se sagledava nutritivna vrednost ulja koštica grožđa, predstavljaju razne biološki aktivne komponente, kao što su: masne kiseline, tokoferoli, steroli, fenolna jedinjenja i dr. Ovi sastojci, iako su prisutni u veoma malim količinama u ulju, imaju veliki metabolički značaj u organizmu, ispoljavajući antioksidativno dejstvo, antiradikalnu aktivnost, vitaminsko delovanje, zaštitni efekat i sl. Ulje koštica grožđa je proučavano kao mogući izvor posebnih lipidnih komponenti, poput linolne masne kiseline. Pored toga ulje koštica grožđa sadrži i određeni nivo tokoferola, koji obezbeđuju značajnu antioksidativnu aktivnost (Fagundes Assumpção i sar., 2015). Važan argument za korišćenje ulja koštica grožđa u zdravstvenom pogledu je visok sadržaj „oligomernih fenolnih jedinjenja“ (OPC) u ovom ulju (Matthäus, 2008). Ulje koštica grožđa obiluje i biljnim sterolima, iako postoje velike varijacije u sadržaju ovih jedinjenja u odnosu na različite sorte grožđa (Lampi i Heionen, 2009). Bioaktivne komponente su od velikog značaja za primenu ulja u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji zahvaljujući njihovom antiupalnom, antikanceroge-

nom i antimutagenom dejstvu kao i njihovom povezanošću sa smanjenjem rizika od kardiovaskularnih bolesti (Fagundes Assumpção i sar., 2015).

Sastav masnih kiselina

Ulje koštica grožđa pripada biljnim uljima sa visokim sadržajem nezasićenih masnih kiselina. Sadržaj nezasićenih masnih kiselina iznosi oko 90 % od ukupnog sadržaja masnih kiselina. Linolna kiselina je glavna komponenta sa udelom od više od 70 %, dok je sadržaj oleinske kiseline oko 15 % u ovom ulju. Sadržaji ove dve kiseline pokazuju velike varijacije. U drugim publikacijama rasponi su nešto manji, sa količinom od 60-75 % linolne kiseline i 14-22 % oleinske kiseline. Sadržaj zasićenih masnih kiselina od oko 10 % je samo malo veći nego kod uljane repice, ali sličan kao kod drugih uobičajeno korišćenih jestivih biljnih ulja. Ostale masne kiseline prisutne su samo u malim količinama. Sadržaj linolenske kiseline je ispod 1 %. Slika 3 i tabela 2 pokazuju varijabilnost glavnih masnih kiselina ulja koštica grožđa. Sa ovim sastavom, ulje koštica grožđa slično je suncokretovom ulju koje sadrži 60-70% linolne kiseline i 15-25% oleinske kiseline, kao i veoma male količine linolenske kiseline (Matthäus, 2008).



Slika 3. Sastav masnih kiselina ulja koštica grožđa (Matthäus, 2008)

Figure 3. Fatty acid composition of grape seed oil (Matthäus, 2008)

Tabela 2. Sastav masnih kiselina ulja koštica grožđa (Hassanien i sar., 2014)**Table 2.** Fatty acid composition of grape seed oil (Hassanien i sar., 2014)

Masna kiselina/Fatty acid	Udeo/Share (% m/m)
C _{14:0}	0,04±0,01
C _{16:0}	8,62±0,41
C _{16:1}	0,65±0,03
C _{18:0}	4,4±0,16
C _{18:1 n-9}	16,77±0,84
C _{18:2 n-6}	66,6±3,12
C _{18:3 n-6}	2,08±0,10
C _{18:3 n-3}	0,33±0,02
C _{20:0}	0,06±0,01
C _{20:1}	0,07±0,01
SFA	13,1
MUFA	17,5
PUFA	69,0
PUFA/SFA	5,3
n-6/n-3	208,1

SFA-zasićene masne kiseline MUFA-mononezasićene masne kiseline PUFA-polinezasićene masne kiseline

Lutterodt i sar. (2011) su, takođe, ispitivali profil masnih kiselina hladno ceđenih ulja koštica različitih sorti grožđa, tabela 3.

Prema njihovim rezultatima od svih masnih kiselina u sva četiri uzorka hladno ceđenih ulja koštica grožđa najzastupljenija je bila linolna kiselina sa udelom od 66,0 do 75,3% od ukupnih masnih kiselina. Najveći sadržaj linolne kiseline od 75,3% je imalo ulje sorte Konkord dok je najmanji sadržaj od 66,0% imalo ulje sorte Rubin crveno. Ulje koštica grožđa je imalo i značajne količine oleinske kiseline i to od 13,9% (sorta Konkord) do 21,9% (sorta Rubin crveno). Od drugih masnih kiselina izdvajaju se stearinska (2-4%) i palmitinska kiselina (oko 7%). Sadržaj ukupnih zasićenih masnih kiselina je bio ispod 13% dok su mono- i polinezasićene masne kiseline bile prisutne u količinama od 22,2% i 75,8%, respektivno. Ovi rezultati su u skladu i sa drugim podacima iz literature (Beveridge i sar., 2005; Crews i sar., 2006; Kamel i sar., Dawson i Kakuda, 1985; Rayan i sar., 1998). Beveridge i sar. (2005) su ispitujući 7 ulja različitih sorti grožđa utvrdili udeo linolne kiseline od 66,8–73,6%. Takođe su utvrdili i sadržaj oleinske kiseline od 12% do 19%, kao i sadržaj palmitinske i stearinske kiseline od 6,28% do 8,62% i od 3,60% do 5,26%, respektivno. Neki autori su, međutim objavili veće ili manje vrednosti u zavis-

nosti od sorte i porekla koštica i načina izdvajanja ulja. El-Shami i sar. (1992) su u uljima poreklom iz Egipta otkrili veći sadržaj oleinske kiseline. Rezultati koje su predstavili Crew i sar. (2006) su pokazali različite odnose prisutnih masnih kiselina u uljima koštica grožđa iz Francuske, Italije i Španije. Takođe je prikazan i uticaj načina ekstrakcije na masnokiselinski sastav ulja kao što je prikazano poređenjem ulja koja su ekstrahovana superkritičnim ugljen-dioksidom i petroletrom (Beveridge i sar., 2005). Ista studija je objavila i razlike između različitih ulja koštica grožđa koja potiču od različitih sorti. Može se reći da ulje koštica grožđa pripada grupi ulja koja sadrže visok procenat nezasićenih masnih kiselina (oko 90%) i mali procenat zasićenih masnih kiselina (oko 10%).

Tabela 3. Profil masnih kiselina ulja koštica grožđa različitih sorti (Lutterodt i sar., 2011)**Table 3.** Fatty acid profile of grape seed oils from different origin (Lutterodt i sar., 2011)

Masna kiselina (% m/m) Fatty acid (%wt)	Sorta grožđa/Origin of grape			
	Ruby red	Muscadine	Concord	Chardonnay
16:0	7,10a±0,00	7,70b ± 0,45	7,05a±0,07	7,75b ± 0,02
18:0	4,24c±0,03	4,72d ± 0,22	2,52a±0,04	3,63b ± 0,03
18:1	21,9d±0,03	15,4b ± 2,49	13,9a±0,09	19,3c ± 0,06
18:2	66,0a±0,06	70,2b ± 3,82	75,3b±0,51	68,8a ± 0,11
18:3	0,29a±0,04	1,14a ± 1,30	0,41a±0,03	0,25a ± 0,04
20:0	0,15a±0,01	0,15a ± 0,01	tr	tr
20:1	0,18a±0,02	0,59a ± 0,71	0,57a±0,71	0,12a ± 0,11
20:4	tr	0,12a ± 0,04	0,12a±0,01	nd
SFA	11,5a±0,02	12,6ab ± 0,67	9,66a±0,10	11,5b ± 0,07
MUFA	22,2c±0,06	16,0b ± 3,16	14,5a±0,62	19,5b ± 0,10
PUFA	66,3a±0,08	71,4b ± 2,50	75,8c±0,52	69,0ab ± 0,10

tr - u tragovima ($\leq 0,1\text{g}/100\text{g}$; nd - nije detektovan. Različita slova u istom redu predstavljaju značajnu razliku ($P < 0,05$).

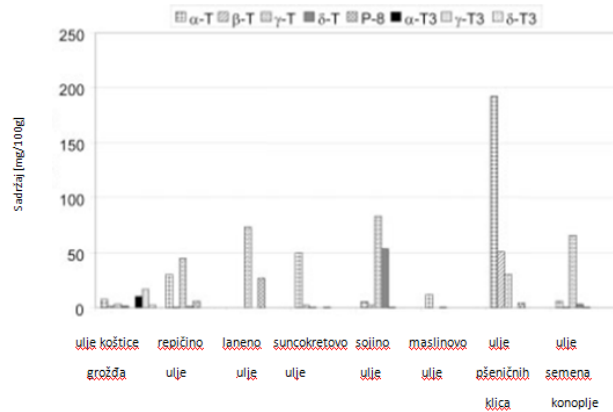
Pre nekoliko godina biljna ulja sa visokim sadržajem linolne kiseline imala su prednost u ljudskoj ishrani zbog pozitivnog efekta na smanjenje ukupnog nivoa holesterola u krvi kao i LDL holesterola. Danas, ova masna kiselina smatra se još kompleksnijom. Važna činjenica je da je linolna kiselina osetljivija na oksidaciju nego mononezasićena oleinska kiselina. Pošto su monoenske masne kiseline prvenstveno integrisane u LDL česticama, veći unos oleinske kiseline rezultuje manjim stepenom oksidacije LDL-holesterola koji je odgovoran za formiranje ateroskleroze. Sa druge strane, esencijalne masne kiseline linolna i linolenska konvertuju se u različita hormonima slična jedinjenja, takozvane eikosanoide, daljim uvođenjem dvostrukih veza i produžavanjem ugljovodoničnog lanca. Eikosanoidi kontrolišu različite procese u telu i javljaju se kao posrednici u pojedinim metaboličkim procesima. Eikosanoidi koji potiču od linolne kiseline učestvuju u zgrušavanju krvi, dok eikosanoidi koji su formirani od α -linolenske kiseline pokazuju suprotan efekat. Važno je istaći i da su eikosanoidi iz linolne kiseline dominantni prilikom posredovanja u upalnim procesima za razliku od onih koji su sintetisani iz α -linolenske kiseline. Unos linolne kiseline pospešuje upalne procese, dok α -linolenska kiselina prilikom ishrane utiče na smanjenje istih. Ovo je veoma važno za lečenje upalnih oboljenja, na primer reumatoidnog artritisa (Matthäus, 2008).

Tokoferoli

Tokoferoli i tokotrienoli nisu glavne komponente biljnih ulja, ali je njihovo prisustvo od presudnog značaja za zaštitu nezasićenih masnih kiselina od oksidativne degradacije, tj. kvarenja/užegnuće (Kamal-Eldin, 2005).

Prema rezultatima Matthäus (2008) devičansko ulje koštica grožđa sadrži 10 mg α -tokoferola/100g, kao i 35 mg tokotrienola/100g ulja (Slika 4). α i γ -tokoferol predstavljaju najzastupljenije aktivne komponente vitamina E, sa sadržajem od 10 i 15 mg/100g.

Tokotrienoli takođe pokazuju izvesnu biološku i antioksidativnu aktivnost, ali slabijeg intenziteta od tokoferola. U poređenju sa drugim jestivim uljima, ukupan iznos aktivnih komponenti vitamina E (aktivnost svih izomernih oblika tokoferola i tokotrienola izražen kao α -tokoferol) u ulju koštica grožđa znatno je niži. Dok ulje koštica grožđa sadrži oko 50 mg aktivnih komponenti vitamina E u 100 g ulja, repičino i sojino ulje sadrže 70 i 150 mg/100g (Matthäus, 2008).



Slika 4. Sastav aktivnih komponenti vitamina E u različitim jestivim uljima.

T = tokoferol; T3 = tokotrienol (Matthäus, 2008)

Figure 4. Composition of active tocopherol-compounds some edible oils (Matthäus, 2008)

Ulje koštica grožđa predstavlja ulje u kome su u velikoj meri zastupljeni tokotrienoli (Lampi i Heinonen, 2009). γ -tokotrienol predstavlja dominantni tokol ovog ulja u raznim istraživanjima, a praćen je manjim sadržajima α -tokotrienola, kao i α -, β - i γ -tokoferola (Beveridge i sar., 2005; Crews i sar., 2006). Ukupan sadržaj tokoferola i tokotrienola u osam uzoraka ulja koštica grožđa prema Beveridge i sar. (2005) kreće se od 60 do 100 mg/100g ulja, dok sadržaj tokoferola i tokotrienola u uzorcima ovog ulja iz 3 različite zemlje prema Crews i sar. (2006) iznosi od 6 do 121 mg/100g, što ukazuje na varijaciju među sortama i u proizvodnom poreklu.

Sirovo ulje koštica grožđa sadrži 101 mg/100g ukupnih tokoferola, ali se njihov sadržaj smanjuje za 10% nakon procesa fizičke rafinacije. Korišćenjem natkritične ekstrakcije pod optimalnim uslovima, sadržaj α -tokoferola u ulju koštica grožđa dostigao je 26,5 mg/100g, što predstavlja 6 puta veći nivo od ulja dobijenog ekstrakcijom pomoću heksana (Lampi i Heinonen, 2009).

Steroli

Steroli (visokomolekularni ciklični alkoholi) su glavne komponente neosapunjivih frakcija biljnih ulja (Kamal-Eldin, 2005; Malićanin, 2014). Oni predstavljaju grupu jedinjenja sa osnovnom strukturom ciklopentanofenantrena, koji se sastoji od 4 kondenzovana prstena sa 17 C atoma. Svi pojedinačni steroli sadrže -OH grupu vezanu za C3 atom, a u položaju C17 nalazi se alifatični lanac sa 8-10 C atoma. Zavisno od porekla, steroli se dele na: fitosterole (prisutni u biljnim uljima) i zoosterole (prisutni u animalnim mastima) (Dimić, 2005).

Veoma malo informacija je dostupno u vezi sadržaja sterola u ulju koštica grožđa. Crews i sar. (2005; 2006) su objavili sadržaj fitosterola u ulju rasponu od 2580 do 11250 mg/kg, prosečna vrednost 5710 mg/kg. U poređenju sa drugim jestivim uljima, β -sitosterol je glavni sterol pronađen u ulju koštica grožđa i to u količini između 67 i 70%. Uz to, u relativno većim količinama prisutni su kamposterol (9-14%) i stigmasterol (9-17%), dok je sadržaj Δ^5 -avenasterola (1-3%), Δ^7 -stigmasterola (1-3%) i Δ^7 -avenasterola (1%) nizak (Matthäus, 2008). Crews i sar. (2005) su, takođe, objavili i širok spektar sitostanola (86-404 mg/kg) prisutnih u ulju koštica grožđa, ali ne i brasikasterola.

Sadržaj neosapunjivih materija, od kojih su najzastupljeniji steroli i tokoferoli, je između 0,8 i 1,5% (Malićanin, 2014).

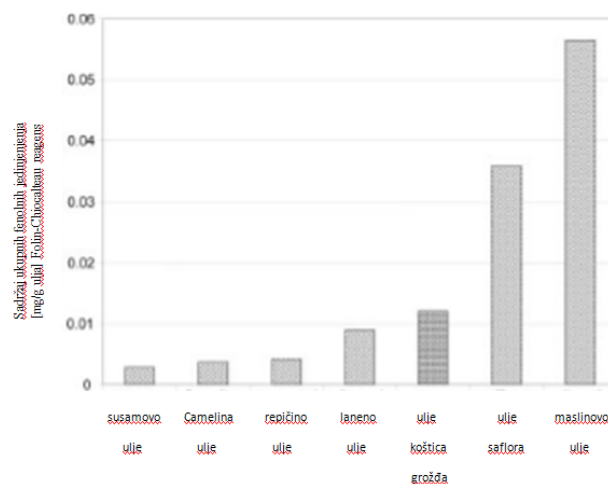
Fenolna jedinjenja

Fenolna jedinjenja su veoma rasprostranjeni proizvodi sekundarnog metabolizma biljaka. Poznat je velik broj fenolnih jedinjenja, polifenola, koji se po svojoj strukturi znatno razlikuju, od jednostavnih molekula, kao što su fenolne kiseline, do visoko polikondenzovanih jedinjenja, kao što su tanini. U svojoj strukturi sadrže aromatični prsten sa jednom ili više hidroksilnih grupa (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Boscou, 2006; Vujasinović, 2011).

U toku sazrevanja bobice grožđa dolazi do brzog nakupljanja fenolnih jedinjenja koja su posebno važna za crvene sorte. Kao sekundarni proizvodi katabolizma šećera, fenolna jedinjenja počinju da se nakupljaju sa sazrevanjem bobice (Malićanin, 2014).

Važno je napomenuti da je ulje koštica grožđa bogato oligomernim fenolnim jedinjenjima (OPC) koji su veoma korisni za ljudsko zdravlje. Sastav im je veoma složen i sadrži neke monomerne flavanole kao što su katehin, epikatehin i epikatehin-3-O-galat kao i različite oligomerne proantocijanidine. Sve ove supstance pokazuju snažnu antioksidativnu aktivnost, što se ispoljava hvatanjem slobodnih radikala. Tokom procesa presovanja značajna količina ovih jedinjenja zaostaje u pogači, jer je njihova rastvorljivost u ulju ograničena. Određivanjem ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja pomoću Folin-Chiocalteu reagensa dokazano je da je pogača obogaćena fenolnim jedinjenjima, dok je u ulju pronađeno svega oko 0,01 mg/g istih. Poređenja radi, koncentracija određena u pogači je oko 2000 puta veća od one u ulju (Matthäus, 2008).

Količina fenolnih jedinjenja prisutna u ulju koštica grožđa nije naročito visoka kada se uporedi njihov sadržaj u drugim uljima (slika 5).



Slika 5. Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u različitim devičanskim jestivim uljima (Matthäus, 2008)

Figure 5. The total phenolic content of different virgin edible oils (Matthäus, 2008)

Za sadržaj i sastav fenolnih jedinjenja za ulja i brašna koštice grožđa opširna ispitivanja sproveli su Lutterodt i sar. (2011). Sadržaj ukupnih fenola u njihovoj studiji je varirao od 0,16 do 0,80 mg GAE/g u uljima, i od 5,93 do 89,6 mg GAE/g u brašnu (GAE - ekvivalent galne kiseline). Ove vrednosti su u skladu, odnosno nešto veće sa vrednostima od 0,51 mg kafeinske kiseline koje su objavili Siger i sar. (2008). Prema Parry i sar. (2005) vrednosti sadržaja fenolnih jedinjenja hladno ceđenih ulja koštica grožđa su bile manje od vrednosti hladno ceđenih ulja koštica bobičastog voća (kupine, maline i dr.) kod kojih su se kretale od 1,27 do 2,00 mg GAE/g ulja. Niže vrednosti ukupnih fenolnih jedinjenja u uljima se mogu objasniti malom rastvorljivošću fenola male molekulske mase u uljima u kombinaciji sa vezivanjem nekih fenolnih kiselina sa košticama. Slična zapažanja su objavljena u publikacijama Matthäus (2008; 2002). Prema Demirtas i sar. (2013) sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u ulju koštica turskih sorti grožđa se kreće od 2,19 do 4,70 mg GAE/100g.

Procesi kvarenja i održivost ulja

Kako proces hladnog ceđenja ne uključuje hemikalije niti visoke temperature pre ili za vreme postupka proizvodnje, hladno ceđena ulja mogu da sadrže fitohemikalije kao što su antioksidansi koji u velikoj meri mogu uticati i na održivost ulja. Ulja i masti su proizvod ograničenog vremena trajanja i veoma brzo podležu nepoželjnim promenama kao

što su: hemijske reakcije i enzimski ili mikrobiološki procesi. Posledica ovih reakcija je kvarenje ulja. Koje kvarenje i u kom obimu će nastupiti zavisi od vrste i kvaliteta ulja, kao i uslova čuvanja. Bez obzira o kojoj se vrsti kvarenja radi, posledice su iste: stvaraju se jedinjenja, od kojih najveći broj daju ulju neprijatan miris i ukus. Takvi proizvodi postaju neprihvatljivi u ishrani. Neka od nastalih jedinjenja tokom kvarenja su čak štetna po zdravlje (peroksidi, polimeri, razgradni produkti idr.). Stoga je veoma važno da se spreči kvarenje ulja u samom procesu proizvodnje, zatim i tokom čuvanja, da bi ostali nepromenjeni do momenta potrošnje (Dimić, 2005).

Hidrolitičko kvarenje ulja

Sadržaj vlage (vode) je važan pokazatelj kvaliteta jestivih nerafinisanih ulja. Prisustvo vlage u ulju je nepoželjno, pre svega, zbog pogoršanja kvaliteta, budući da pri određenim uslovima vlaga dovodi do hidrolize triacilglicerola. Oslobodene masne kiseline predstavljaju kiselost ulja, koja je zakonski regulisana. Osim toga, slobodne masne kiseline smanjuju i oksidativnu stabilnost ulja delujući kao prooksidansi.

U tabeli 4 su predstavljene vrednosti kiselinskog broja ulja koštice grožđa dobijenih hladnim ceđenjem i ekstrakcijom n-heksanom uz tretman ultrazvukom. Utvrđene vrednosti kiselinskog broja se nalaze u opsegu od 0,520 do 0,813 mgKOH/g i ove vrednosti su daleko ispod maksimalne koju propisuju Codex standard (2005) i Pravilnik o kvalitetu ulja (2006 i 2013) za hladno presovana i devičanska ulja (4 mgKOH/g).

Tabela 4. Kiselinski broj ulja iz koštica crvenih sorti grožđa dobijenih metodama HC i UAE (Malićanin, 2014)

Table 4. Acid value of red grape seed oil obtained by different methods of extraction (Malićanin, 2014)

Ulje iz koštica grožđa-sorte Grape seed oil - sort	Kiselinski broj (mg KOH/g) Acid value (mgKOH/g)	
	HC	UAE
Pinot Noir	0,653 _E ^a ±0,006	0,710 _B ^b ±0,010
Gamay	0,573 _C ^a ±0,006	0,813 _D ^b ±0,006
Prokupac	0,613 _D ^a ±0,006	0,677 _A ^b ±0,006
C. Sauvignon	0,547 _B ^a ±0,006	0,757 _C ^b ±0,006
Merlot	0,520 _A ^a ±0,010	0,717 _B ^b ±0,006
Prosek/ Average	0,581	0,735

Vrednosti u istoj koloni i u istom redu koje nose različite oznake u subskriptu (sorte) i superskriptu (metode) su značajno različiti ($p < 0,05$)

HC-hladno ceđeno ulje; UAE-ekstrakcija n-heksanom uz tretman ultrazvukom u trajanju od 90 min.

Oksidacija ulja

Lipidi podležu autooksidaciji, fotooksidaciji, termičkoj i enzimskoj oksidaciji pod različitim uslovima, od kojih većina uključuje neki oblik slobodnih radikala ili vrstu kiseonika. Autooksidacija je najčešći proces oksidativnih promena u uljima i definisana je kao spontana reakcija atmosferskog kiseonika sa nezasićenim masnim kiselinama, odnosno, lipidima (Shahidi i Zhong, 2005).

Oksidacija je uzrok pojave najčešćeg kvara koji se javlja kod ulja, a to je užeglost. Određivanjem peroksidnog broja (**Pbr**), ispituje se prisustvo primarnih proizvoda procesa oksidacije (hidroperoksidi i peroksidi). Obzirom da su hidroperoksidi ujedno i prekursori stvaranja sekundarnih proizvoda oksidacije, veoma su važni indikatori kvaliteta i održivosti ulja. Zbog toga, određivanje peroksidnog broja kod ulja spada u rutinsku kontrolu kvaliteta. Prema Pravilniku o kvalitetu jestivih ulja i masti (Pravilnik, 2006), peroksidni broj kod jestivih rafinisanih ulja se dozvoljava do 5 (mmol/kg), a kod jestivih neraf-

iniranih ulja do 7,5 (mmol/kg). U tabeli 5 prikazane su vrednosti Pbr određenog u uljima koštica grožđa različitih sorti.

Tabela 5. Peroksidni broj ulja iz semenki crvenih sorti grožđa, dobijenih metodama HC i UAE (Malićanin, 2014)

Table 5. Peroxide value of red grape seed oil obtained by different methods of extraction (Malićanin, 2014)

Ulje iz koštica grožđa-sorte Grape seed oil - sort	Peroksidni broj (mmol/kg) Peroxide value (mmol/kg)	
	HC	UAE
Pinot Noir	3,467 _C ^{a±0,058}	4,100 _B ^{b±0,100}
Gamay	3,067 _B ^{a±0,058}	6,800 _C ^{b±0,000}
Prokupac	3,800 _D ^{b±0,000}	3,467 _A ^{a±0,058}
C. Sauvignon	2,533 _A ^{a±0,058}	7,500 _E ^{b±0,000}
Merlot	3,100 _B ^{a±0,100}	7,067 _D ^{b±0,058}
Prosek/ Average	3,193	5,787

Vrednosti u istoj koloni i u istom redu koje nose različite oznake u subskriptu (sorte) i superskriptu (metode) su značajno različiti ($p < 0,05$)

HC-hladno ceđeno ulje; UAE-ekstrakcija n-heksanom uz tretman ultrazvukom u trajanju od 90 min.

Ansidinski broj (**Abr**), omogućuje direktno određivanje sadržaja neisparljivih karbonilnih jedinjenja, tj. sekundarnih proizvoda oksidacije, koji su prisutni u ulju, a nastali su razgradnjom primarnih proizvoda oksidacije. Neisparljiva karbonilna jedinjenja negativno utiču na senzorsku i oksidativnu stabilnost ulja. Ova jedinjenja, takođe, ukazuju na "oksidativnu prošlost" ulja, i što je njihov sadržaj veći znači da je ulje bilo jače oksidovano. Određivanje anisidinskog broja je našlo široku primenu kod ispitivanja kvaliteta kako sirovih tako i jestivih ulja, jer omogućuje potpuniju procenu kvaliteta. Iako zakonski propisi kvaliteta za anisidinski broj nemaju ograničenja, smatra se da bi za ulje dobrog kvaliteta anisidinski broj trebalo da bude manji od 10 (Dimić

i Turkulov, 2000). U tabeli 6 date su vrednosti Abr određene u uljima koštica različitih sorti grožđa.

Tabela 6. Anisidinski broj ulja iz semenki crvenih sorti grožđa, dobijenih metodama HC i UAE (Malićanin, 2014)

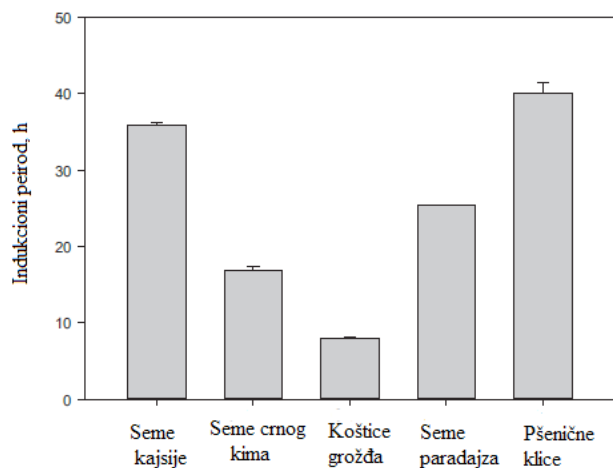
Table 6. Anisidine value of red grape seed oil obtained by different methods of extraction (Malićanin, 2014)

Ulje iz koštica grožđa-sorte Grape seed oil - sort	Anisidinski broj (100 A ^{1%} _{350nm}) Anisidine value (100 A ^{1%} _{350nm})	
	HC	UAE
Pinot Noir	10,70 _C ^{b±0,000}	10,13 _A ^{a±0,058}
Gamay	10,33 _A ^{a±0,058}	10,37 _C ^{a±0,058}
Prokupac	10,33 _A ^{b±0,058}	10,20 _{AB} ^{a±0,000}
C. Sauvignon	11,07 _D ^{b±0,058}	10,33 _{BC} ^{a±0,058}
Merlot	10,50 _B ^{a±0,000}	11,03 _D ^{b±0,058}
Prosek/ Average	10,59	10,41

Vrednosti u istoj koloni i u istom redu koje nose različite oznake u subskriptu (sorte) i superskriptu (metode) su značajno različiti ($p < 0,05$)

HC-hladno ceđeno ulje; UAE-ekstrakcija n-heksanom uz tretman ultrazvukom u trajanju od 90 min.

Oksidativna stabilnost ulja koštica grožđa pri temperaturi od 98 °C iznosi od 6,38 do 8,14 sati (Pardo i sar., 2009). Indeks oksidativne stabilnosti ulja koštica grožđa u poređenju sa drugim uljima prikazan je na slici 6.



Slika 6. Indeks oksidativne stabilnosti za različite vrste ulja (Hassanien i sar., 2014)

Figure 6. OSI indeks of different oils (Hassanien i sar., 2014)

NUTRITIVNI ZNAČAJ ULJA

Sa nutritivne i terapijske tačke gledišta, ulje koštica grožđa ima visok sadržaj esencijalne linolne masne kiseline (koja je važna za sintezu prostanglandina, što utiče na agregaciju trombocita i upalne procese), visok sadržaj vitamina E (koji pomaže pri smanjenju rizika od ateroskleroze i u sprečavanju bilo kakvih povreda ćelijske membrane) i nizak sadržaj holesterola, pa je stoga prepoznatljivo je da njegov unos može biti koristan kod kardiovaskularnih poremećaja i problema sa cirkulacijom (Pardo i sar., 2009). Iako su koštice grožđa bogate fenolnim jedinjenjima, uglavnom proantocijanidinima, prirodnim antioksidantima sa jakim antiradikalnom aktivnošću, količine ovih jedinjenja koji se dobijaju u izdvojenom ulju su veoma ograničene, zbog polarne prirode njihove hemijske strukture (Pardo i sar., 2009). Fenolna jedinjenja deluju kao hvatači slobodnih radikala, koji imaju pozitivne efekte kod raznih bolesti usled oksidativnog stresa. Nedavna istraživanja pokazala su da ova jedinjenja mogu biti odgovorna za smanjenje učestalosti srčanih oboljenja (Matthäus, 2008).

Pri dijetetskoj ishrani uz malo masnoće pod uticajem ulja koštica grožđa rizik od srčanih oboljenja smanjuje se za 41-55%. Isto tako, ulje koštica grožđa izaziva porast nivoa HDL-a (dobar holesterol) uz istovremeno smanjenje nivoa LDL-a (loš holesterol). Prilikom upotrebe ovog ulja smanjuje se i mogućnost tromboogeneze (Dimić, 2005). Očigledno je da bi se ulje koštica grožđa moglo svrstati u grupu zanimljivih jestivih ulja koje karakteriše slična zdravstvena korist kao i maslinovo ulje (Matthäus, 2008).

Budući da je kozmetička industrija utvrdila da je ovo ulje odličan nosač za mnoge proizvode, danas se ulje koštica grožđa koristi za proizvodnju širokog spektra krema i losiona. Balzami za usne, kreme za lice, balzami za kosu, razna hidrirajuća sredstva kao i mnogi drugi proizvodi za negu kose i kože sadrže ulje koštica grožđa jer je bogato polifenolima.

ZAKLJUČAK

Budući da je sirovina od koje se dobija ovo ulje nusproizvod prilikom prerade grožđa, proizvodnja ovog ulja ima ekonomsku i ekološku opravdanost. Sadržaj ulja u samoj koštici je relativno mali (13-18%), te je izdvajanje ulja najefikasnije ekstrakcijom. Međutim, zbog nutritivnog aspekta prednost se daje postupcima hladnog presovanja jer se dobija ulje sa sačuvanim prirodnim sastojcima koji utiču na formiranje boje, arome i nutritivno-zdravstvenu vrednost ulja.

Ulje koštica grožđa spada u grupu ulja sa visokim sadržajem nezasićenih masnih kiselina. Najzastupljenija je linolna kiselina, sa udelom od preko 70%; zatim oleinska kiselina, sa udelom od oko 15%; linolenska kiselina sa udelom ispod 1% i arahidonska kiselina zastupljena u veoma malom sadržaju. Od zasićenih masnih kiselina čiji je udeo u ovom ulju oko 10%, dokazano je prisustvo palmitinske, stearinske kao i behenske kiseline. Što se tiče tokoferola, u ovom ulju prisutni su α -tokoferol, oko 10 mg/100g, a dokazano je i prisustvo β - i γ -tokoferola, oko 15 mg/100g ulja. Ulje koštica grožđa predstavlja ulje u kome su u velikoj meri prisutni tokotrienoli. Posebno se ističe γ -tokotrienol, a prati ga manji sadržaj α -tokotrienola. Najzastupljeniji sterol u ulju koštica grožđa je β -sitosterol, sa udelom između 67% i 70% u ukupnim sterolima, praćen manjim sadržajima kampesterola, stigmasterola, Δ^5 -avenasterola, Δ^7 -stigmasterola i Δ^7 -avenasterola. Ulje koštica grožđa bogato je oligomernim fenolnim jedinjenjima (OPC) u čiji sastav ulaze katehin, epikatehin, epikatehin-3-O-galat kao i različiti oligomerni proantocijanidini.

Pri dijetetskoj ishrani, uz unos ulja koštica grožđa rizik od srčanih oboljenja smanjuje se za 41-55%. Ono izaziva porast nivoa HDL-a, uz istovremeno smanjenje nivoa LDL-a. Isto tako, upotrebom ovog ulja smanjuje se i mogućnost tromboogeneze. Stoga, ovo ulje ima sličnu zdravstvenu korist kao maslinovo i druga specifična biljna ulja.

LITERATURA

1. Bail, S., Stuebiger G., Krist S., Unterweger H., Buchbauer G. (2008). Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 108 (3):1122-1132.
2. Beveridge, T. H. J., Girard, B., Kopp, T., Drover, J. C. G. (2005). Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: Varietal effects. *J. Agric. Food Chem.*, 53:1799–1804.
3. Bockish, M. (1993). *Nahrungsfette und Öle*, Ulmer Verlag, Stuttgart.
4. Boscou, D. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 505-512.
5. Crews, C., Hough P., Godward J., Brereton P., Lees M., Guiet S., Winkelmann W. (2005). A study of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 4853-4860.
6. Crews, C., Hough P., Godward J., Brereton P., Lees M., Guiet S., Winkelmann W. (2006). Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 6261-6265.
7. De Greyt, W., Kellens M. (2000). Refining practice. In: *Edible oil processing*. Eds: Wolf Hamm and Richard J. Hamilton, Sheffield Academic Press Ltd., England, pp. 79-128.
8. Demirtas, I., Pelvan E., Özdemir I.S., Alasalvar C., Ertas E. (2013) Lipid characteristics and phenolics of native grape seed oils grown in Turkey. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 115:641–647.
9. Dimić, E. (2005): *Hladno ceđena ulja*, Monografija. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
10. Dimić, E., Turkulov J. (2000). Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
11. El-Shami, S. M., El-Mallah M. H., Mohamed S. S. (1992). Studies on the lipid constituents of grape seeds recovered from pomace resulting from white grape processing. *Grasas y Aceites*, 43 (3): 157-160.
12. Fagundes Assumpção C., Larroza Nunes I., Alcântara Medonça T., Calixto Bortolin R., Jablonski A., Hickmann Flôres S., Oliviera Rios A. (2015). Bioactive compounds and stability of organic and conventional *Vitis labrusca* grape seed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 93: 115-124.
13. FAOSTAT (2007). *FAO Statistical Database*, <http://www.fao.org>
14. Fils, J-M. (2000). The production of oils. In: *Edible oil processing*. Eds: Wolf Hamm and Richard J. Hamilton, Sheffield Academic Press Ltd., England, pp. 47-78.
15. Hassanien, M., Abdel-Razek M., Rudzinska M., Siger A., Ratusz K., Przbylski R. (2014). Phytochemical contents and oxidative stability of oils from non-traditional sources. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 116: 1563–1571.
16. Hernandez, E. M., Kamal-Eldin A. (2013). *Processing and nutrition of fats and oils*. John Wiley and Sons, Ltd., UK.
17. Ivanišević, D., Jakšić D., Korać N. (2015). *Vinogradarski atlas*. Republika Srbija, Republički zavod za statistiku, Beograd.
18. Kamal-Eldin, A. (2005). Minor components of fats and oils. In: *Shahidi F. (ed), Bailey's Industrial oil and fat products*, Sixth Edition. John Wiley & Sons, Inc., pp. 319-359.
19. Kamel, B.S., Dawson H., Kakuda Y. (1985). Characteristics and composition of melon and grape seed oils and cakes. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62 (5): 881-883.
20. Lampi A., Heinonen M. (2009). Berry seed and grapeseed oils. In: *Gourmet and health-promoting specialty oils*, Eds: Moreau R. A., A. Kamal-Eldin, AOCS Press, Urbana, Illinois, pp. 215-235.
21. Lutterodt, H., Slavin M., Wenth M., Turner E., Yu L. (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry*, 128: 391-399.
22. Malićanin, M. (2014). *Izolovanje i fizičko-hemijska karakterizacija ulja iz semena crvenih sorti grožđa*, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd, Zemun.
23. Matthäus, B. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oil-seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 3444-3452.
24. Matthäus, B. (2008). Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 110:645-650.
25. Pardo, J. E., Fernández E., Rubio M., Alvarruiz A., Alonso G. L. (2009). Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 111: 188-193.
26. Parry, J., Su L., Luther M., Zhou K., Yurawecz M.P., Whittaker P. (2005). Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed mari-

- onberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 566-573.
27. Pićurić-Jovanović, K., Milovanović M. (2005). Autooksidacija lipida i antioksidanti flore Srbije. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd, Zemun.
28. Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za jestiva biljna ulja i masti, margarin i druge masne namaze, majonez i srodne proizvode, Sl. list SCG, br. 23/2006 i Sl. glasnik RS, br. 43/2013 - dr. pravilnik.
29. Radočaj, O., Dimić E. (2013). Physico-chemical and nutritive characteristics of selected cold-pressed oils found in the European market. *Rivista Ital Sost Grasse*, 90 (4): 219-228.
30. Radočaj, O., Dimić E., Kakuda Y., Vujasinović V. (2011). Chemical, nutritional and functional properties of a food by-product: hull-less pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil press-cake. *Olaj Szappan Kozmetika*, (Journal of oil, soap and cosmetics), 60 (1): 2-8.
31. Rayan, M. A. A., Abdel-Nabey A. A., Samaha O. R. A., Moahmed M. K. (1998). Characteristics and composition of grape seed oil. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 43 (1): 67-79.
32. Rombaut, N., Savoie R., Thomasset B., Castello J., Van Hecke E., Lanoiselle J. (2014). Optimization of oil yield and oil total phenolic content during grapeseed cold screw pressing. *Industrial Crops and Products*, 63: 26-33.
33. Schieber, A., Müller D., Röhring G., Carle R. (2002). Effects of grape cultivar and processing on the quality of cold-pressed grape seed oils. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 52: 29-33.
34. Shahidi, F., Zhong Y. (2005). Antioxidants: Regulatory status. In: Shahidi F. (Ed.), *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, Sixth Edition. John Wiley & Sons, Inc., pp. 491-512.
35. Vujasinović, V. (2011). Bioaktivne komponente specijalnih ulja: ulja semena tikve, jezgra koštunjavog voća i semena bobičastog voća, *Uljarstvo*, 42 (1-2): 35-52.
36. Vujasinović, V., Bjelica M., Večei-Funda V., Vuksanović N. (2016). Valorizacija komine grožđa – hladno ceđeno ulje iz koštica. 12. Regionalne konferencije »Životna sredina ka Evropi«, Zbornik radova EnE16-ENV.net, 26.jun, Beograd, Srbija, pp. 181-184.
37. Yang, J., Martinson T. E., Liu R. H. (2009). Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. *Food Chemistry*, 116 (1): 332-339.

UPUTSTVO ZA UREĐIVANJE I PRIPREMU RADOVA

OPŠTE NAPOMENE

Časopis "Uljarstvo" objavljuje originalne naučne radove, pregledne i stručne radove i druge priloge (prikazi knjiga, izveštaji sa naučnih i drugih skupova, informacije i drugo).

Originalni naučni rad sadrži neobjavljene rezultate sopstvenih istraživanja koji moraju da budu tako obrađeni i izloženi da eksperimenti mogu da se ponove, a rezultati da se provere.

Pregledni rad predstavlja sveobuhvatni pregled jedne oblasti ili problematike, zasnovan na objavljenim podacima iz literature, koji se u radu prikazuju, analiziraju i raspravljaju.

Stručni rad sadrži praktična rešenja ili ukazuje na razvoj struke i širenje znanja u određenoj oblasti na osnovu primene poznatih metoda i naučnih rezultata.

Prispele radove redakcija upućuje recenzentima radi mišljenja o njihovom objavljivanju. Posle prihvatanja radova za štampanje na osnovu mišljenja recenzentata, radovi se lektorišu. Redakcija zadržava pravo na manje korekcije rukopisa, a u spornim slučajevima to čini u sporazumu sa autorom.

Radovi se štampaju latinicom na srpskom jeziku, a pojedini radovi (originalni naučni i pregledni) i na engleskom jeziku. Naslov rada, kratak sadržaj, ključne reči, naslov i tekstualni deo tabela, grafikona, šema, slika i ostalih priloga štampaju se dvojezično (srpski i engleski).

Objavljuju se radovi koji u istom ili sličnom obliku i sadržaju nisu štampani u drugoj periodičnoj publikaciji.

Autor je potpuno odgovoran za sadržaj rada

PRIPREMA RUKOPISA

1. Rad treba da se dostavi na CD-u (otkucan u Word-u, slovima Times New Roman veličine 12) i odštampan u dva primerka na belom papiru formata A-4 sa proredom 1,5 i elektronski.
2. Stranice rada se označavaju brojem u gornjem desnom uglu, a približno mesto i redosled tabela, grafikona, šema i slika se označavaju u tekstu.
3. Ispod naslova rada, otkucati puno ime i prezime svih autora.
4. Naslov rada sa indeksom označava da je rad saopšten na nekom naučnom skupu, čiji se ta-

čan naziv, mesto i datum održavanja navodi u objašnjenju indeksa.

5. U donjem slobodnom prostoru na prvoj stranici rada navodi se za sve autore puno ime i prezime, naziv institucije, adresa kao i e-mail adresa prvog autora.
6. Uz rad se prilaže kratak sadržaj (150-250 reči) sa naznakom ključnih reči (do pet). Kratak sadržaj mora da sadrži cilj, metode, rezultate i zaključke rada. Takođe, prilaže se engleski prevod naslova rada, kratkog sadržaja, ključnih reči, kao i naslova i tekstualnog dela tabela, grafikona, šema i slika.
7. Po obimu rad ne treba da ima više od 20 kucanih stranica, uključujući i priloge.
8. U radu autor treba da se pridržava Međunarodnog sistema jedinica (SI) i Zakona o mernim jedinicama i merilima (Sl. list SFRJ 32/76).
9. Originalni naučni i stručni rad, po pravilu, treba da sadrži: uvod, materijal i metode rada, rezultate, diskusiju i literaturu, a zaključci su obavezni.

U uvodnom delu rada daje se kratak pregled literature koja se odnosi na rad, najkraći pregled ranijih ispitivanja i svrha rada.

Priznate i poznate metode i tehnike rada treba da se označe nazivom ili citatom iz literature, a sopstvene modifikacije treba da se opišu, i da sadrže dovoljno podataka da bi mogle da se ponove.

Rezultati se predstavljaju tabelama, grafikoni-
ma, šemama i slikama, sa komentarom. Naslovi treba da su što kraći i jasni, i da sadrže sva potrebna objašnjenja, tako da mogu da se razumeju i bez čitanja teksta. U tekstu se ne ponavljaju podaci iz tabela, već se ističu najvažnija zapažanja. U diskusiji se interpretiraju dobijeni rezultati sa osvrtom na podatke iz literature, ukoliko postoje. Pri preuzimanju rezultata, tabela, grafikona, šema ili slika iz literature, naročito kod preglednog rada, autor je obavezan da precizno naznači izvornu literaturu.

10. Grafikoni, šeme i drugi crteži se izrađuju kompjuterski. Veličina crteža i oznaka, kao i debljina linija treba da je takva da za štampu mogu da se smanje za 50 % i pri tom budu čitljivi. Slike treba da su jasne, kontrastne.
11. U tekstu, citirana literatura se označava imenom autora i godinom publikacije. Autori su odgovorni za tačnost svih podataka koji se navode u literaturi.
12. Navodi literature sadrže: prezime i inicijal imena jednog ili više autora, godina, naslov rada, naziv časopisa bez skraćenja (može biti skraćen ali samo prema World List of Scientific

Periodicals), broj volumena (broj časopisa ili mesec navode se samo za časopise koji u svakom broju označavanje stranica počinju sa brojem 1) i brojeve stranica na kojim citirani rad počinje i završava. Ukoliko je u pitanju knjiga, potrebno je da se navede autor, naslov, ime izdavača, mesto i godina izdavanja i stranice citiranja.

Primer:

1. Dimić, E., J. Turkulov, Đ. Karlović, V. Puškaš, V. Vukša (1995). Dezo-neutralizacija suncokretovog ulja primenom azota. *Uljarstvo*, 32 (4): 7-12.
2. Tekin, A., M. Cizmeci, H. Karabacak, M. Kayahan (2002). Trans fatty acid and solid fat contents of margarines marketed in Turkey. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 79: 443-445.
3. Bockisch, M. (1993). *Nahrungsfette und-öle*, Verlag Eugen Ulmer, Wien, pp. 155-168.
4. Frankel, E.N. (1985). Autooxidation of oils. In: *Flavor chemistry of fats and oils*, Edited by D.B. Min, and T.H. Smouse. American Oil Chemists Society, Champaign, Illinois, pp. 1-37.
5. Šmit, K., E. Dimić, V. Bogdan, B. Mojsin, V. Kulić (2001). Promene kvaliteta semena i ulja suncokreta tokom prerade s posebnim osvrtom na tokoferole. 42. Savetovanje: Proizvodnja i prerada uljarica, Zbornik radova, Herceg Novi, Crna Gora, pp 81-86.

Radove treba dostaviti na adresu:

Univerzitet u Novom Sadu
Tehnološki fakultet
Prof. dr Etelka Dimić
Za časopis **ULJARSTVO**
21000 NOVI SAD
Bulevar cara Lazara 1
Republika Srbija
E-mail: edimic@uns.ac.rs

UREDNIŠTVO

INSTRUCTIONS FOR EDITING AND PREPARING OF MANUSCRIPTS

GENERAL INFORMATION

The journal "Uljarstvo" (Journal of edible oil industry) publishes original scientific papers, preview articles, review articles, technical papers and other works (book reviews, reports from scientific or other meetings, informations, etc.).

The original scientific paper contains unpublished results of the authors investigations, which must be processed and presented in such a way that experiments can be repeated, and the results verified.

The review article presents a comprehensive review of an area or subject matter, based on published data from literature, which are presented, analyzed and discussed in the paper.

The technical paper contains practical solutions or promotes advancements in the profession and presents knowledge in a certain area on the basis of implementation of known methods and scientific results.

The editors send the received manuscripts (without the names of authors) to reviewers for an opinion on their publication. After the manuscripts are accepted for publication on the ground of the received review, the papers are edited. The editors reserve the right to make minor corrections in the manuscripts and controversial points are resolved in agreement with the author.

Papers are published in the Latin script in Serbian language, and certain papers (original scientific papers, preview articles, and reviews) in English, as well. The title of the paper, summary, key words, headings and text of tables, graphs, diagrams, figures and other supplements are printed both in Serbian and English.

The journal publishes works that have not been published in any other periodic publication in the same or similar form or contents.

Authors are fully responsible for the contents of their papers.

NOTES FOR CONTRIBUTORS

1. Authors should submit manuscripts on CD (in Word, Times New Roman 12) and two hard copies of the typescript printed on white A4 paper, spacing 1,5, left margin at least 3 cm, as well as by e-mail.

2. Pages are numbered in the upper right corner. The approximate position of tables, graphs, diagrams and figures is marked in the text.
3. The name and surname of the author(s) should be printed under the title.
4. The title of the paper is marked with a footnote if the work has been presented at a scientific symposium and the footnote should contain the exact title, date and time when it was held.
5. The full name and surname, title and address of the authors should be at the bottom of the first page.
6. The manuscript should include a summary (150 – 200 words), with key words (up to five). The summary should contain the objective, methods, results and conclusions of the work. The authors should submit English translation of the title of the work, the summary, key words, headings and texts of tables, graphs, diagrams and figures.
7. Manuscripts should not be longer than 20 pages, including all appendices.
8. Authors should adhere to the International Unit System (IS) and the Law on Measurement units and standards (Official Gazette of FRY, No. 32/76).
9. Preview articles, original scientific and technical papers should contain, (as a rule), the following: Introduction, Material and Methods, Results, Discussion and References, with optional Conclusions.

The Introduction gives only a brief survey of literature relevant to the work, the briefest possible survey of previous investigations and the objective of the work.

Official methods and work techniques should be named or indicated as a reference from literature and original modifications should be described and contain sufficient data to enable their repetition.

Results are presented in tables, graphs, diagrams and figures, with comments. The headings should be brief and clear, containing all necessary explanations, so that they can be understood without reference to the text. The text should not contain repetitions of data from the tables, but point out the most important observations. The Discussion interprets the obtained results with a review of data from literature, if any. In quoting results, tables, graphs, diagrams or figures from literature, in particular in review articles, authors must clearly specify the used literature sources.

10. Graphs, diagrams and other drawings should be prepared by computer. The size of the drawings and markings, as well as the thickness of the lines, should be such that they can be reduced by

50% for printing purposes and still be readable. Pictures must be clear, contrast.

11. Literature quoted in the text is marked with authors and years of publication. Authors are responsible for the correctness of all data given in the references.
12. Literature references must contain the following: surname and initials of the name(s) of one or more authors, title of the paper, unabbreviated name of journal (abbreviations possible only according to the World List of Scientific Periodicals), volume number (the number of the journal or the month are given only for journals that begin marking pages of each number with 1) and the page reference numbers of the first and last page quoted in the work; for quotations from books, list the author, title, name of publisher, place and year of publication

Example:

1. Dimić, E., J. Turkulov, Đ. Karlović, V. Puškaš, V. Vukša (1995). Dezo-neutralizacija suncokretovog ulja primenom azota. *Uljarstvo*, 32 (1-4): 7-12.
2. Tekin, A., M. Cizmeci, H. Karabacak, M. Kayahan (2002). *Trans* fatty acid and solid fat contents of margarines marketed in Turkey. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 79: 443-445.
3. Bockisch, M. (1993). *Nahrungsfette und-öle*, Verlag Eugen Ulmer, Wien, pp. 155-168.
4. Frankel, E.N. (1985). Autooxidation of oils. In: *Flavor chemistry of fats and oils*, Edited by D.B. Min, and T.H. Smouse. American Oil Chemists Society, Champaign, Illinois, pp. 1-37.
5. Šmit, K., E. Dimić, V. Bogdan, B. Mojsin, V. Kulić (2001). Promene kvaliteta semena i ulja suncokreta tokom prerade s posebnim osvrtom na tokoferole. 42. Savetovanje: Proizvodnja i prerada uljarica, Zbornik radova, Herceg Novi, Crna Gora, pp. 81-86.

Manuscripts should be sent to the following address:

University of Novi Sad
 Faculty of Technology
 Prof. dr Etelka Dimić
ULJARSTVO – Journal of edible oil industry
 21000 NOVI SAD
 Bulevar cara Lazara 1
 Republic of Serbia
 E-mail: edimic@uns.ac.rs

EDITORIAL BOARD