

UNIVERZITET U BEOGRADU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Miloš P. Purić

MOGUĆNOST ISKORIŠĆENJA SEMENKI
JABUKA KAO NUSPROIZVODA
PREHRAMBENE INDUSTRIJE

doktorska disertacija

Beograd, 2021.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF AGRICULTURE

Miloš P. Purić

POSSIBILITY OF UTILIZING APPLE SEEDS AS
BY-PRODUCT
OF FOOD INDUSTRY

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2021.

Komisija za ocenu i odbranu:

Mentor 1:

Dr Biljana Rabrenović, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

Mentor 2:

Dr Vladislav Rac, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije:

Dr Steva Lević, docent,
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

Dr Marko Malićanin, docent,
Univerzitet u Nišu – Poljoprivredni fakultet u Kruševcu

Dr Mirjana Demin, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

Datum odbrane: _____

Koristim ovu priliku da se najsrdačnije zahvalim svom prvom mentoru, prof. dr. Biljani Rabrenović na neizmernoj i svesrdnoj pomoći, savetima i podršci tokom kompletnih doktorskih studija i u svim fazama izrade ove doktorske disertacije, počev od izbora sirovine za dobijanje ulja, pa do pomoći oko tumačenja rezultata fizičko-hemijskih parametara kvaliteta i nutritivnih karakteristika ispitivanih hladno ceđenih ulja. Naravno, veliko hvala i na razumevanju u najtežim trenucima.

Najsrdačnije se zahvaljujem i svom drugom mentoru, prof. dr. Vladislavu Racu, na svesrdnoj podršci, sugestijama tokom izrade doktorske disertacije i razumevanju u najtežim trenucima. Posebno sam mu zahvalan na pomoći oko osmišljavanja i realizacije metoda za ispitivanje sadržaja polifenola, antioksidativnih i karakteristika koje se odnose na oksidativnu stabilnost hladno ceđenih ulja, kao i na velikoj pomoći u toku postupka inkapsulacije ulja i tumačenju kompletnih rezultata.

Zahvaljujem se prof. dr. Mirjani Demin na velikoj pomoći i podršci u osmišljavanju i realizaciji izrade i kompletne analize obogaćenih hlebova sa dodatkom obezmaščene pogače od isceđenih semenki jabuka.

Zahvaljujem se prof. dr. Stevi Leviću na pomoći i korisnim sugestijama i savetima u vezi sa postupkom inkapsulacije ulja i ispitivanja morfoloških karakteristika dobijenih inkapsulata, kao i na pomoći u tumačenju dobijenih rezultata inkapsulacije.

Zahvaljujem se dr. Latu Pezu sa Instituta za opštu i fizičku hemiju na svesrdnoj pomoći i korisnim sugestijama u toku statističke obrade dobijenih rezultata u disertaciji.

I na kraju beskrajno se zahvaljujem svojoj porodici, supruzi Jasni, majci Dušanki, bratu Ratku, tašti Nadi i tastu Srbi, kao i svim svojim kolegama i prijateljima, koji su mi pružali podršku i podsticaj sve vreme tokom izrade disertacije.

MOGUĆNOST ISKORIŠĆENJA SEMENKI JABUKA KAO NUSPROIZVODA PREHRAMBENE INDUSTRIJE

SAŽETAK

Nakon industrijske prerade jabuka ostaje oko 25 % otpada, jabučnog tropa, koji predstavlja ekološki i ekonomski problem. Ovaj otpad sadrži potencijalno vredne nusproizvode, kao što su semenke jabuka. U disertaciji su ispitane mogućnosti iskorišćenja semenki jabuka sorti Ajdared, Zlatni Delišes i Šumatovka.

Iz semenki su, postupkom hladnog ceđenja, izdvojena ulja. Na osnovu ispitivanja fizičko-hemijskih parametara, sva tri ulja su ispunjavala uslove kvaliteta za ovu kategoriju, prema Pravilniku. Sadržaji nezasićenih masnih kiselina (89,56-90,09 %), tokoferola (23,4-45,1 mg/100g) i polifenola (2,42-3,81 mgGAE/100g), pokazali su da se radi o uljima visoke nutritivne vrednosti. Najbolju oksidativnu stabilnost na DSC testu, imalo je ulje semenki Šumatovke, a najjača antioksidativna aktivnost, ispitana DPPH i ABTS testom, utvrđena je u ulju semenki sorte Zlatni Delišes.

Drugi deo istraživanja je bio posvećen inkapsulaciji ulja, u pogodne nosače, metodama elektrostatičke ekstruzije i sprej-sušenja. Obe metode su pokazale visok stepen efikasnosti (prosečno 92,6 % i 85,7 %, redom), čime je omogućena lakša manipulacija uljem. Rezultati Oven testa su pokazali da inkapsulacija, u određenoj meri, pruža zaštitu uljima od oksidacije.

Zaostala obezmašćena pogača od iscedenih semenki, korišćena je kao delimična zamena (5 % i 20 %) za pšenično brašno, u proizvodnji hleba. Hlebovi obogaćeni pogačom su imali značajno veći sadržaj hranljivih vlakana, proteina, polifenola i bolju svežinu u odnosu na standardni hleb. Delovi pogače su se jasno uočavali na poprečnom preseku obogaćenih hlebova, što je doprinelo njihovom atraktivnom izgledu.

Konstatovano je da ulje, inkapsulati ulja i obezmašćena pogača mogu imati upotrebnu vrednost u praksi, što semenke jabuka u potpunosti čini iskoristljivim.

Ključne reči: ulje semenki jabuke, hladno ceđeno, masne kiseline, tokoferoli, polifenoli, antioksidativna aktivnost, oksidativna stabilnost, inkapsulacija, obezmašćena samlevana pogača, obogaćeni hleb.

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uža naučna oblast: Nauka o preradi ratarskih sirovina

UDK broj: 631.53.01:634.10]:663/664(043.3)

POSSIBILITY OF UTILIZING APPLE SEEDS AS BY-PRODUCT OF FOOD INDUSTRY

ABSTRACT

After the industrial processing of apples, there remains about 25 % of apple pomace, which is an environmental and economic problem. This waste contains potentially valuable by-products, such as apple seeds. In this dissertation, the possibilities of utilization of apple seeds of the varieties Ajdared, Zlatni Delišeš, and Šumatovka were examined.

Oils were extracted from the seeds by cold pressing. Based on their physico-chemical parameters, all three oils met the quality requirements for this category, according to the official regulations. The content of unsaturated fatty acids (89.56-90.09 %), tocopherols (23.4-45.1 mg/100g) and polyphenols (2.42-3.81 mgGAE/100g) showed that these oils had high nutritional value. Šumatovka seeds had the best oxidative stability according to the DSC test, whereas Zlatni Delišeš had the strongest antioxidant activity, tested by the DPPH and ABTS tests.

The encapsulation of oils by electrostatic extrusion and spray-drying methods showed high degree of efficiency (on average 92.6 % and 85.7 %, respectively), which enabled easier oil manipulation. The results of the Owen test showed that encapsulation provided partial protection from oxidation.

Residual defatted apple seed cake was used as a partial substitute (5 % and 20 %) for wheat flour in the production of bread. Breads enriched with different portions of cake had a significantly higher content of dietary fiber, proteins, polyphenols, and better freshness compared to the standard bread. In addition, the enriched breads have an attractive appearance, pleasant tactile sensation during chewing, and smell.

It was concluded that oil, oil encapsulates, and enriched bread can all be used in the manufacture, which makes apple seeds completely usable.

Key words: apple seed oil, cold pressed, fatty acids, tocopherols, polyphenols, antioxidant activity, oxidative stability, encapsulation, defatted ground oil cake, enriched breads.

Scientific field: Technological engineering

Scientific subfield: Science of field crop processing

UDC number: 631.53.01:634.10]:663/664(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Jabuka	3
2.1.1. Klimatski i zemljišni uslovi za gajenje jabuka	3
2.1.2. Proizvodnja jabuke u svetu	3
2.1.3. Proizvodnja jabuke u Srbiji	4
2.1.4. Plod jabuke – morfologija i anatomija	4
2.1.5. Sortiment jabuka	5
2.1.5.1. Ajdared	6
2.1.5.2. Zlatni Delišes	6
2.1.5.3. Šumatovka	7
2.1.6. Zrelost, berba i skladištenje plodova jabuke	8
2.2. Fizičko-hemijski sastav jabučnog tropa	9
2.3. Semenke jabuka	10
2.3.1. Izdvajanje semenki iz jabučnog tropa i priprema za ceđenje ulja	11
2.4. Tehnološki postupak proizvodnje hladno ceđenih biljnih ulja	13
2.4.1. Faktori koji utiču na efikasnost presovanja	13
2.4.2. Presovanje – pužne prese	14
2.4.3. Odvajanje mehaničkih nečistoća – čišćenje ulja	14
2.4.4. Naknadna obrada i pakovanje ulja	15
2.5. Glavni sastojci biljnih ulja	16
2.5.1. Triacilgliceroli	16
2.5.2. Masne kiseline	17
2.5.2.1. Zasićene masne kiseline	18
2.5.2.2. Nezasićene masne kiseline	19
2.6. Minorni sastojci biljnih ulja – neosapunjive materije	20
2.6.1. Fosfolipidi	20
2.6.2. Tokoferoli i tokotrienoli	21
2.6.3. Steroli	23
2.6.4. Pigmenti	24
2.6.5. Fenolne materije	25
2.7. Kvarenje ulja i delovanje prirodnih antioksidanata	26
2.7.1. Mehanizam autooksidacije lipida	27
2.7.2. Mehanizam delovanja prirodnih antioksidanata	28

2.8. Sadržaj i hemijski sastav ulja iz semenki jabuka	29
2.8.1. Sadržaj ulja	29
2.8.2. Sadržaj i sastav triacilglicerola i masnih kiselina	30
2.8.3. Sadržaj i sastav tokoferola	31
2.9. Analitičke tehnike u analizi biljnih ulja	31
2.9.1. Kiselost ulja	32
2.9.2. Identifikacija biljnih ulja	32
2.9.2.1. Određivanje gustine i indeksa refrakcije ulja	32
2.9.2.2. Jodni broj	33
2.9.2.3. Saponifikacioni broj	34
2.9.3. Procena stepena oksidacije i održivosti ulja	35
2.9.3.1. Peroksidni broj	36
2.9.3.2. Anisidinski broj, konjugovani dieni i trieni	37
2.9.3.3. Rancimat test	37
2.9.3.4. Schaal ili Oven test	38
2.9.3.5. Diferencijalno-skenirajuća kalorimetrija (DSC)	38
2.9.4. Gasna hromatografija	39
2.9.5. Tečna hromatografija visokog stepena razdvajanja (HPLC)	41
2.9.6. Antioksidativna aktivnost biljnih ulja	41
2.9.6.1. DPPH test	42
2.9.6.2. ABTS test	42
2.10. Inkapsulacija	43
2.10.1. Definicija inkapsulacije, osnovne karakteristike i primena	43
2.10.2. Materijali za inkapsulaciju	44
2.10.3. Tehnike inkapsulacije	45
2.10.3.1. Elektrostatička ekstruzija	46
2.10.3.2. Sprej sušenje	46
2.11. Iskorišćenje nusproizvoda prehrambene industrije u proizvodnji obogaćenog pšeničnog hleba	47
2.11.1. Značaj dodatka hranljivih vlakana i proteina u pšenični hleb	48
3. CILJ RADA	50
4. MATERIJALI I METODE RADA	51
4.1. Materijali	51
4.2. Izdvajanje ulja iz semenki jabuka	51
4.3. Metode ispitivanja hemijskog sastava semenki jabuka	52

4.3.1. Određivanje sadržaja vlage	52
4.3.2. Određivanje sadržaja sirovih protein	52
4.3.3. Određivanje sadržaja ukupnog pepela	52
4.3.4. Određivanje ukupnog sadržaja ulja	53
4.4. Metode ispitivanja fizičko-hemijskih karakteristika ulja semenki jabuka	53
4.4.1. Određivanje kiselinskog broja i kiselosti ulja	53
4.4.2. Metode za identifikaciju ulja	54
4.4.2.1. Određivanje gustine ulja	54
4.4.2.2. Određivanje indeksa refrakcije	54
4.4.2.3. Određivanje jodnog broja	54
4.4.2.4. Određivanje saponifikacionog broja	55
4.5. Metode određivanja nutritivne vrednosti ulja	55
4.5.1. Određivanje sadržaja i sastava masnih kiselina	55
4.5.2. Određivanje sadržaja izomera tokoferola	56
4.5.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola	56
4.6. Metode određivanja oksidativne stabilnosti i održivosti ulja	57
4.6.1. Određivanje peroksidnog broja	57
4.6.2. Određivanje anisidinskog broja	58
4.6.3. Određivanje sadržaja konjugovanih diena i triena	58
4.6.4. Određivanje održivosti ulja Rancimat testom	59
4.6.5. Određivanje oksidativne stabilnosti ulja DSC testom	59
4.7. Metode određivanja antioksidativne aktivnosti ulja	59
4.7.1. DPPH test	59
4.7.2. ABTS test	60
4.8. Metode inkapsulacije ulja semenki jabuka	60
4.8.1. Inkapsulacija ulja semenki jabuke u kalcijum-alginatni gel (čestice)	60
4.8.2. Inkapsulacija ulja semenki jabuke postupkom sprej sušenja	61
4.8.3. Karakterizacija inkapsulata	62
4.8.3.1. Svetlosna mikroskopija	62
4.8.3.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)	62
4.8.3.3. Određivanje prinosa, sadržaja ulja i efikasnosti inkapsulacije	63
4.8.4. Uticaj inkapsulacije na oksidativne karakteristike ulja	64
4.9. Priprema i ispitivanje kvaliteta hleba obogaćenog obezmašćenom samlevenom pogačom od semenki jabuke	64
4.9.1. Postupak pripreme obogaćenih hlebova	64

4.9.2. Hemijska analiza obogaćenih hlebova	65
4.9.3. Analiza boje obogaćenih hlebova	65
4.9.4. Sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativna aktivnost obogaćenih hlebova	66
4.9.5. Analiza teksture obogaćenih hlebova	66
4.9.6. Senzorna analiza obogaćenih hlebova	66
4.10. Statistička analiza	67
5. REZULTATI I DISKUSIJA	68
5.1. Hemijski sastav ispitivanih semenki jabuka	68
5.2. Fizičko-hemijski parametri identifikacije i kvaliteta ispitivanih ulja	69
5.3. Nutritivna vrednost ispitivanih ulja	70
5.3.1. Sastav i sadržaj masnih kiselina ispitivanih ulja	70
5.3.2. Sastav i sadržaj tokoferola	71
5.3.3. Sadržaj ukupnih polifenola	73
5.4. Antioksidativna aktivnost ispitivanih ulja	74
5.5. Oksidativna stabilnost ispitivanih ulja	75
5.5.1. Sadržaj primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije ulja	75
5.5.2. Rancimat test	76
5.5.3. DSC test	76
5.6. Rezultati inkapsulacije ulja	79
5.6.1. Morfološke karakteristike inkapsulata ulja iz semenki jabuka dobijenih metodom elektrostatičke ekstruzije	81
5.6.2. Morfološke karakteristike inkapsulata ulja iz semenki jabuka dobijenih metodom sprej sušenja	83
5.6.3. Uticaj inkapsulacije na oksidativne karakteristike ulja	85
5.7. Rezultati ispitivanja hlebova obogaćenih pogačom od iscedenih semenki jabuka	86
5.7.1. Analiza hemijskih karakteristika pogače od iscedenih semenki jabuka i obogaćenih hlebova	86
5.7.2. Analiza boje	89
5.7.3. Analiza sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti	91
5.7.4. Analiza teksturnih svojstava	93
5.7.5. Analiza senzornih svojstava	95
6. ZAKLJUČAK	97
7. LITERATURA	100

8. PRILOG. Publikacije proistekle iz disertacije	123
9. BIOGRAFIJA	124
IZJAVE	125

1. UVOD

Jabuka (*Malus domestica* Borkh.) spada u vrstu voća koje se najviše uzgaja na svetu. Proizvodnja jabuke 1961. godine je bila 17 miliona tona, da bi u narednih pet decenija porasla na 76 miliona tona 2011. godine, i konačno, 2017. godine dostigla proizvodnju od 83 miliona tona (FAOSTAT, 2013; Gornas, 2015a; FAOSTAT, 2019). Pripada familiji *Rosaceae*, potfamiliji *Maloideae* koja obuhvata 28 rodova i oko 1100 vrsta. Drvo jabuke se može naći u svim temperaturnim zonama severne hemisfere (Rohrer i sar., 1994; Arain i sar., 2012).

Hemijski sastav ploda jabuke je veoma složen. Suva materija ploda jabuke se kreće u intervalu 15-19 %, pri čemu 9–16 % mase ploda čine šećeri (pretežno, glukoza i fruktoza), 0,2–1,8 % organske kiseline, 0,4 % mineralne materije (najviše ima kalijuma), a prisutne su i druge biološki značajne supstance: vitamin C, karotin, antocijani, taninske materije, aminokiseline i dr (Mratinić, 2016). Oko 70 % jabuka se prodaje kao sveže voće, a 25–30 % se prerađuje u sok, cider, kašu, džem i suvo voće (Fromm i sar., 2013). Osim hranljive vrednosti, plod jabuke poseduje i lekovita svojstva. Konzumiranje jabuka je povezano sa zaštitom organizma od raznih hroničnih bolesti. Sok jabuke sprečava oksidaciju lipoproteina niske gustine (LDL), dok fitohemikalije u kori jabuke imaju potencijalnu antioksidativnu i antiproliferativnu aktivnost koja predstavlja zaštitu ćelija od kancera (Arain i sar., 2012).

Prema podacima koje je objavila Organizacija za hranu i poljoprivredu pri Ujedinjenim nacijama (*Food and Agriculture Organization* - FAO) u svetu se, svake godine, baci oko 1300 milijardi kilograma hrane, što je, približno, jedna trećina od ukupno proizvedene hrane. To predstavlja veliki ekonomski i ekološki problem, zbog velikog udela nusproizvoda koji ostaju nakon prerade sirovina (Salević i sar., 2018). Zbog toga je upravljanje nusproizvodima i smanjenje rastućih troškova proizvodnje najveći izazov za proizvođače hrane. Pravilno korišćenje nusproizvoda omogućava proizvođačima hrane ne samo dobijanje novih, prirodnih, biokomponentata, već i značajnu finansijsku korist (Gornas i sar., 2014a). Posebna pažnja se posvećuje otpadu iz industrijske prerade voća i povrća, a to su komina ili trop i semenke (Yukui i sar., 2009).

Studije su pokazale da semenke biljaka predstavljaju potencijalni izvor ulja za prehrambene, medicinske i industrijske svrhe (Popa i sar., 2010). Ekstrahovano ulje iz semenki biljaka je, uglavnom, sastavljeno od triacilglicerola (95–98 %), dok preostalih 2–5 % predstavlja kompleksnu mešavinu minornih komponentata: liposulibilnih vitamina, pigmenata – karotenoida i hlorofila, fenolnih komponentata, fosfolipida, mono- i diacilglicerola i slobodnih masnih kiselina (Kamal-Eldin, 2006; Aluyor i sar., 2009; Zoue i sar. 2012).

Industrijskom preradom jabuka stvara se ogromna količina nusproizvoda - jabučnog tropa, koji se smatra vrednom biomasom za dobijanje pektina, organskih kiselina, proteina, enzima, prirodnih antioksidanata i jestivih vlakana (Walia i sar., 2014). U nerafinisanom suvom jabučnom tropu, semenke čine oko 2,2–3,3 %, a sadržaj ulja u semenkama dostiže čak 29,4 % (Fromm i sar., 2012b; Gornas i sar., 2014b). Uvođenje novih sirovina za izdvajanje ulja, koja poseduju visoke nutritivne i zdravstvene karakteristike, može se smatrati jednim od najvažnijih izazova kako za nauku, tako i za prehrambenu industriju (Hashemi i sar., 2017).

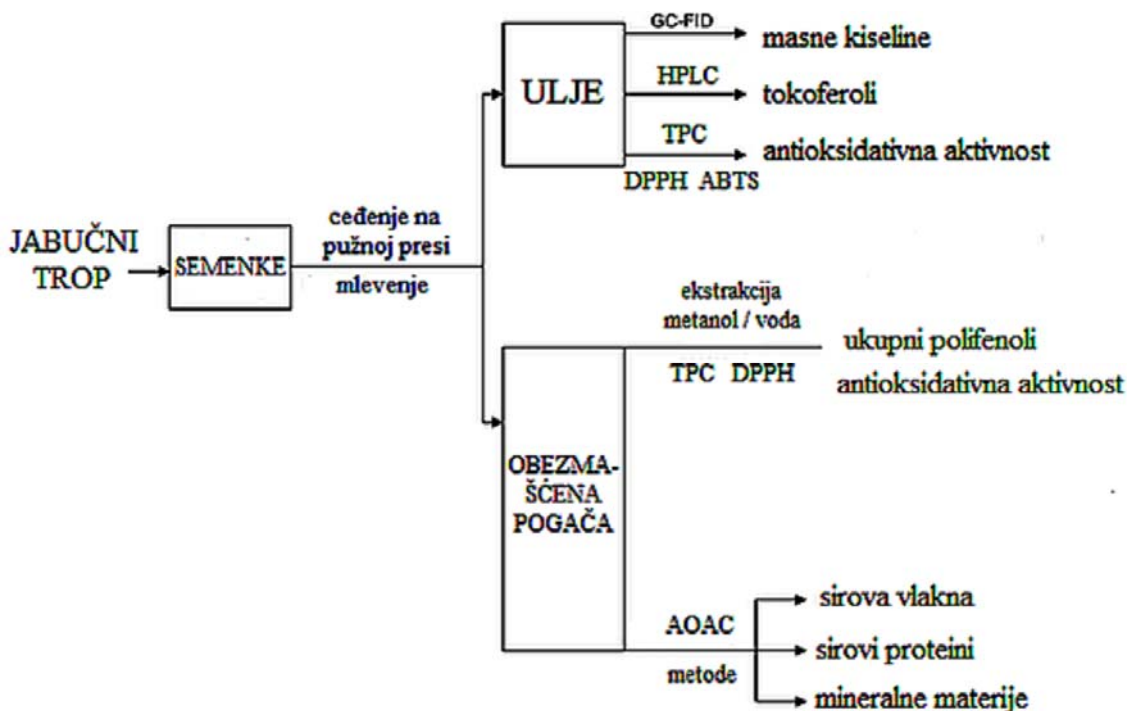
Ulje semenki jabuka ima najviše linolne kiseline, a zatim oleinske, palmitinske i stearinske (Popa i sar., 2010). Masti i ulja su glavni izvor vitamina E (tokoferola) u svakodnevnoj ishrani (Eitenmiller i Lee, 2004). Biološke komponente sa aktivnošću vitamina E su klasifikovane kao najznačajniji prirodni antioksidansi i uglavnom su prisutni u biljkama i njihovim proizvodima. Pretpostavlja se da je glavna funkcija tokoferola zaštita polinezasićenih masnih kiselina od oksidacije (Ratnayake i Daun, 2004; Gornas, 2015a).

Aktivne komponente biljnih ulja, a posebno nezasićene masne kiseline, su osetljive na nepovoljne uslove sredine kao što su povišena temperatura, prisustvo kiseonika, svetlosti itd. Da bi

se ove komponente zaštitile od nepovoljnih faktora, primenjuje se proces inkapsulacije, putem stvaranja zaštitnog omotača tj. nosača. Aktivna komponenta u inkapsulisanom obliku naziva se inkapsulat. Takođe, inkapsulacijom se može postići i kontrolisano otpuštanje aktivnih komponenti tokom konzumiranja i varenja hrane, maskirati neprijatni mirisi i ukusi aktivnih komponenti, ali i olakšati manipulacija (npr. prevođenje tečnih aktivnih komponenti u čvrste oblike). Do danas je razvijen veliki broj tehnika inkapsulacije kojima se mogu dobiti inkapsulati sa velikim rasponom veličina i oblika (Zuidam i Shimoni, 2010).

Posle izdvajanja ulja, od semenki jabuka ostaje obezmašćena pogača, za koju se smatra da sadrži potencijalno iskoristljive hranljive materije, i to, nezanemarljivu količinu proteina, hranljivih vlakana, mineralnih materija i polifenola. U naučnim radovima korišćene su različite biljne sirovine i njihov otpad, kao funkcionalni dodaci u proizvodnji obogaćenog hleba. To su hranljiva vlakna pšenične klice (Ugarčić-Hardi i sar., 2009), ječma (O'Shea i sar., 2017), citrusa (Altunkaya i sar., 2013; Chang i sar., 2015; Yilmaz i Karaman, 2017; Spina i sar., 2019), jabučni trop (Masoodi i Chauhan, 1998), pogača tikve (Kuchtová i sar., 2016), maslinovo ulje (Matsakidou i sar., 2010), koštice kajsije (Dhen i sar., 2018) i dr. Nabrojani dodaci valorizuju korišćene nusproizvode pa se, na taj način, od agroindustrijskog otpada dobija sirovina sa vrednim bioaktivnim komponentama, koje se mogu iskoristiti za proizvodnju prehrambenih proizvoda sa dodatnom vrednošću. Takva sirovina mogla bi da bude i obezmašćena pogača od semenki jabuka, čiji je hemijski sastav istražen u malom broju naučnih radova (Tian i sar., 2010; Madrera i Valles, 2018).

Na slici 1.1 prikazana je šema planiranih analiza u disertaciji, u cilju ispitivanja mogućnosti iskorišćenja semenki jabuka.



Slika 1.1. Šematski prikaz planiranih analiza u disertaciji

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Jabuka

2.1.1. Klimatski i zemljišni uslovi za gajenje jabuka

Kako bi se postigli redovni i visoki prinosi, zemljište na kome se uzgajaju voćke treba da omogući dobar rast vegetativnih (koren, stablo, list) i generativnih organa (cvet, seme i plod). Zbog toga se mora sprovesti detaljna analiza klimatskih i zemljišnih činilaca staništa, na kome je planirano podizanje zasada (Gliha, 1978).

Najbitniji klimatski elementi za uspešno uzgajanje, ne samo jabuka, nego i drugih voćnih vrsta su: svetlost, toplota, voda i vetar. Građa i raspored grana i lišća drveta jabuke je takav da može maksimalno da koristi svetlost, zbog čega se ubraja u fotofilne biljke (voli svetlost). Pojedine vrste jabuka opstaju na temperaturama između +50 i -45°C, ali je za uspešnu proizvodnju optimalan interval temperatura od -25 do +35°C (Mratinić, 2016). Za pravilan razvoj i dobar rod, jabuci je neophodno oko 700 mm vodenog taloga, dok je, u toku vegetacije (period april-septembar), optimalni vodeni talog oko 500 mm (Niketić, 1958). Jabuka se snabdeva vodom putem vodenih padavina i navodnjavanjem. U voćarskoj proizvodnji, generalno, vetar predstavlja nepovoljan klimatski faktor, jer dovodi do isušivanja zemljišta i vazduha, pospešuje eroziju, otkida plodove pre njihove pune zrelosti, onemogućava zaštitno prskanje voća, pomaže širenju štetočina i često lomi grane (Mratinić, 2016).

Intenzivna proizvodnja jabuka ne sme se izlagati riziku. Zato se preduzimaju mere zaštite u jabučnjacima od elementarnih nepogoda, pre svega, od mraza i grada. Zaštita od mraza se postiže zagrevanjem, zamagljivanjem i orošavanjem, jer se mašine, kojima se obavlja navodnjavanje, koriste i za zaštitu od mraza. Zaštita od grada se sprovodi korišćenjem protivgradnih raketa i natkrivanjem stabala plastičnim mrežama (Gliha, 1978).

Fizičke, hemijske i biološke osobina zemljišta su veoma značajni faktori za proizvodnju jabuka. Struktura zemljišta, koja zavisi od odnosa gline i peska, ali i od količine krečnjaka i organskih materija (humusa) u zemljištu, je bitna fizička karakteristika. Za uzgajanje jabuka je najpogodnija mrvičasta struktura zemljišta, koje treba da sadrži dovoljno fosfora, kalijuma, kalcijuma i magnezijuma. Količina humusa u zemljištu je veoma značajna, jer je humus izvor azota. Slabo kisela zemljišta su najpogodnija za uzgajanje jabuka, i to, pH vrednosti 5,0-6,5. Jabuka se najuspešnije uzgaja na černozeru, gajnjači, aluvijalnom i polutresetnom zemljištu (Mratinić, 2016).

2.1.2. Proizvodnja jabuke u svetu

Jabuka se gaji u preko 90 zemalja sveta. Najveći proizvođač jabuke je Kina, sa preko 40 % svetske proizvodnje. Na drugom mestu su SAD sa preko 5 miliona tona godišnje, dok je u Evropi najveći proizvođač Poljska sa preko 4 miliona tona u 2017. godini (Kolanowski i Zakrzewska, 2019; FAOSTAT, 2019).

Poređenjem ukupne proizvodnje jabuka u svetu, sa površinama na kojima se uzgajaju i ostvarenim prinosisima po hektaru, dobija se intenzitet proizvodnje. Prema ovom kriterijumu, sve zemlje u kojima se jabuke uzgajaju su razvrstane u pet kategorija – od zemalja sa vrlo ekstenzivnom proizvodnjom (prosečni prinosi jabuke do 5,5 t/ha), ekstenzivnom (5,5–10,5 t/ha), poluintenzivnom (10,5–25,5 t/ha) i intenzivnom (25,5-40 t/ha), do zemalja sa vrlo intenzivnom proizvodnjom (preko 40 t/ha). Neke zemlje su veliki proizvođači jabuke zahvaljujući površinama na kojima se jabuka uzgaja (Rusija, Ukrajina), dok druge postižu visoke prinose po jedinici površine (SAD, Italija, Francuska), što je težnja svih zemalja proizvođača jabuke (Mratinić, 2016).

2.1.3. Proizvodnja jabuke u Srbiji

Jabuka je najznačajnija vrsta voća, pored šljive, koja se gaji u Srbiji (Ivanović i Jeločnik, 2009; Mratinić, 2016). U period od 2000. do 2009. godine, u Srbiji je proizvedeno prosečno 209.000 tona jabuke, na godišnjem nivou, uz prosečan prinos od oko 6,6 t/ha. Ovaj podatak govori da je proizvodnja jabuke u našoj zemlji ekstenzivnog karaktera. Pored povoljnih klimatskih i zemljišnih uslova, u Srbiji se proizvodi, po stanovniku, samo oko 25 kg jabuka godišnje (Mratinić, 2016). Razlozi za to su brojni: značajan broj jabučnjaka je star i amortizovan, zastarela mehanizacija, nedostatak radne snage, visoka cena ulaganja u proizvodnju, stare (neadekvatne) sorte jabuka, itd. (Ivanović i Jeločnik, 2009).

Iako prinosi jabuke u pojedinim jabučnjacima idu i preko 60 t/ha, 60% površina pod jabukom je smešteno u brdsko-planinskim krajevima, gde se gaje uglavnom stare, autohtone, sorte koje pokazuju velike oscilacije u prinosu, zbog izrazito ekstenzivne proizvodnje (Mratinić, 2016). Uvođenjem novih tehnologija i novih produktivnijih sorti, postižu se viši prinosi i dobijaju kvalitetniji plodovi po jedinici površine. Na taj način se unapređuje ukupna proizvodnja jabuka u Srbiji (Ivanović i Jeločnik, 2009).

2.1.4. Plod jabuke – morfologija i anatomija

Prema Niketić (1958), plodovi jabuke se, prema masi i veličini, dele na:

- vrlo sitne – do 50 g;
- sitne – do 100 g;
- dosta sitne – do 150 g;
- srednje krupne – do 200 g;
- dosta krupne – do 250 g;
- krupne – do 300 g i
- vrlo krupne – preko 300 g.

Prema obliku poprečnog preseka, plodovi jabuke mogu biti kolačasti, kupasti, okruglasti, izduženi i kupasto-izduženi (Niketić, 1958).

Anatomski delovi ploda jabuke su: pokožica, peteljka, meso, semena kućica i čašično udubljenje sa čašicom i čašičnim listićima. Pokožica ili kora je spoljašnji omotač ploda. Boja pokožice je sortna odlika. Razlikuju se osnovna i prelivna boja. Osnovna boja jabuke je zelena ili razne nijanse žute ili zlatne boje, dok prelivne boje idu od bledoružičaste do modrocrvne. Da bi plod dobio boju koja je karakteristična za određenu sortu, mora biti izložen suncu i vazduhu. Plodovi koji su se razvijali u senci, imaju manje prelivnih boja. Peteljka je, takođe, sortna karakteristika i služi za procenu vrednosti sorte. Na osnovu dužine peteljke, ocenjuje se sklonost ploda ka otpadanju. Npr. sorta jonatan ima dugačku peteljku koja štiti plod od otpadanja. Meso ploda jabuke se opisuje prema boji, čvrstini i ukusu. Boja mesa može biti bela, a može imati i različite nijanse od žute do zelene, kao i razne nijanse crvene boje. Meso se, prema čvrstini, opisuje kao: tvrdo, krto, meko, hrskavo, sočno, rastopljeno itd. Ukus mesa može biti: sladak, kiseo, kiselosladak, slatkokiseo, vinast, slatkovinast i trpak (Niketić, 1958). Neke sorte jabuka imaju izraženu aromu (Mratinić, 2016). Semena kućica je sastavljena od pet pregrada (ređe je prisutno tri ili šest) sa rožastim zidovima. Semene pregrade su zatvorene (svaka za sebe) ili otvorene, kada se stapaju u jednu. Čašično udubljenje zajedno sa čašicom predstavlja pupak jabuke, koji može imati različitu dubinu, širinu i oblik. Sama čašica može biti otvorena, zatvorena, poluotvorena i poluzatvorena (Niketić, 1958).

2.1.5. Sortiment jabuka

Tahtađan je, u sistematici biljaka, predstavio jabuku na sledeći način (Mratinić, 2016):

- odeljak: *Magnoliophyta* (skrivenosemenice);
- klasa: *Magnoliatae*;
- red: *Rosales* (ruža);
- familija: *Rosaceae*;
- potfamilija: *Maloideae* (jabučasto voće);
- rod: *Malus* (jabuka).

Pomologija je nauka koja se bavi proučavanjem sorti voća. Prema Niketić (1958), razne sorte jabuka vode poreklo od:

- *Malus silvestris* (šumska jabuka) koja raste u srednjoj i severnoj Evropi do 60° severne geografske širine, od koje su proizvedene mnoge kultivisane sorte jabuka.
- *Malus pumila* (niska, patuljasta jabuka) – neretko se može videti u žbunastom obliku. Poreklom je iz južne Rusije i sa Kavkaza. Prema Mratinić (2016), u okviru ove vrste izdvajaju se četiri varijeteta: *precox*, *paradis*, *niedzwetskiana* i *domestica*.
- *Malus bacata* (sibirska jabuka) – visine do 3 m, a često se može videti i u obliku žbuna. Plodovi su sitni i okrugli. Od nje je proisteklo niz sorti koje pokazuju otpornost prema mrazu. Neke od tih sorti su visoke vrednosti. Stablo i grane se povijaju ka zemlji kako bi ih preko zime pokrio sneg i tako podnose hladnoću i ispod -40°C.
- *Malus prunifolia* - hibrid *M.pumila* i *M.bacata* (šljivolisna ili kineska jabuka) – ima oblik lista sličan listu šljive, pa odatle joj potiče i naziv. Vodi poreklo iz južnog Sibira. Plod je sitan ili malo veći od ploda sibirske jabuke. Pokazuje otpornost na niske temperature i temperaturna kolebanja.
- *Malus dasyphylla* – spontani hibrid *Malus silvestris* i *Malus pumila*. Ima je u Austriji i Bavarskoj (Nemačka).
- *Malus astracanic* - hibrid *M.pumila* i *M.bacata*. Potiče iz jugoistočne Rusije.

Prema vremenu berbe, sve sorte jabuka, koje se uzgajaju kod nas, se dele na letnje, jesenje i zimске:

- letnje sorte sazrevaju u periodu od početka jula do sredine avgusta i beru se oko nedelju dana pre postizanja tehnološke zrelosti;
- berba jesenjih sorti jabuka se obavlja od sredine avgusta do sredine septembra, a potom se uspešno skladište do oktobra ili novembra. Ako se berba obavi kasnije od predviđenog termina, plodovi u skladištu ubrzo počinju da brašnjave;
- berba zimskih sorti se obavlja od sredine septembra do kraja oktobra (Mišić, 2004).

Prema poreklu (ukoliko se poreklo zna), sorte jabuka se dele na (Niketić, 1958; Mratinić, 2016):

- američke: Kloz, Starkova najranija, Vista bela, Đerzimek, Molis Delišeš, Prima, Jonatan, Melrouz, Ajdared, Roze Delišeš, Zlatni delišeš, Jonagold, Starking, Vajnsep, Rombjuti, Njuton žuti, Lepocvetka žuta, Ontario;
- ruske: Astrahan beli, Astrahan crveni, Šarlamovski, Car aleksandar, Antonovka domaća, Borovicki, Papirovska, Titovka, Trebuška;
- engleske: Džems griv, Pizgud, Zlatna parmenka, Koks oranž, Londonski peping, Ripston peping, Blenhajmka, Diskaveri;
- kanadske: Melba, Mekintoš, Mantet, Samered;
- nemačke: Grafenštajnka, Ladsberška reneta, Bobovec, Krivopeteljac, Gloster;
- francuske: Kronselka, Kanatka, Francuska kožara, Šarden;
- holandske: Boskopka, Ananas reneta, Elstar;

- japanske: Akane-primruž, Mucu, Fudži.

Od domaćih sorti jabuka najpoznatije su:

- Čačanska pozna, nastala ukrštanjem Starkinga i Jonatana u Institutu za voćarstvo u Čačku 1973. godine.
- Čadel, nastala ukrštanjem Zlatnog Delišesa i Jonatana u Institutu za voćarstvo u Čačku 1985. godine (Mratinić, 2016).
- Stare domaće (autohtone) sorte. Ove sorte se od davnina vezuju za naše krajeve, ali im je poreklo, uglavnom, nepoznato: Petrovača, Budimka, Kolačarka, Šumatovka, Šarunka, Krstovača, Bojšanka, Tetovka, Đulabija, Bedrika, Avajlija, Šerbetka, Popadija, Batulenska, itd. (Niketić, 1958).

Pored navedenih podela, postoje i neke, manje značajne, podele sorti jabuka: prema vremenu cvetanja, ekonomskoj vrednosti, otpornosti prema hladnoći, raznim štetocinama i vremenskim nepogodama, zahtevima u kreću, vlazi i drugim činiocima u zemljištu (Niketić, 1958).

2.1.5.1. Ajdared

Dobijena je ukrštanjem sorti Jonatan i Vagener. Vodi poreklo iz SAD-a. Proizveo ju je Leif Verner 1935. godine, a uzgaja se od 1942. godine. To je zimsko sorta koja sazreva od druge dekade do kraja septembra (Gliha, 1978). Pogodna je za čuvanje u skladištima u periodu novembar - maj, jer za to vreme ova jabuka postaje sočnija, ukusnija i harmoničnija. Plod dostiže masu i preko 250 g i ima okruglast ili kolačast oblik (slika 2.1). Posедуje glatku, čvrstu i elastičnu pokožicu, bledozelene boje, u osnovi (Mratinić, 2016). Na većem delu pokožice može se primetiti prelivna vinskocrvena boja, a retko se uočavaju kraće, tamnije pruge (Gliha, 1978). Meso ove sorte je bele boje, sočno, čvrste strukture, a na ukusu je kiselkastoslato (Mratinić, 2016). Aroma joj je srednje izražena i neupadljiva. Dobro podnosi transport. Uspešno se čuva, do početka aprila, u hladnjačama na +4°C (u normalnoj atmosferi), dok se u uslovima kontrolisane atmosfere (+3°C, 3 % CO₂, 3 % O₂) može sačuvati do kraja juna. Plodovi dobro zadržavaju kiseline i nisu skloni smežuranju (Gliha, 1978).



Slika 2.1. Plodovi jabuke sorte Ajdared
(<https://agronomija.rs/>)

2.1.5.2. Zlatni delišes

Ova sorta je nastala oko 1890. godine, kao spontani sejanac u vrtu farmera Malinsa u mestu Vinfield (Zapadna Virdžinija, SAD) (Gliha, 1978). Slično Ajdaredu, ovo je, takođe, zimsko sorta koja u našim uslovima sazreva i bere se od druge dekade do kraja septembra (Mratinić, 2016). Zbog blagih kiselina, može se odmah konzumirati. U zavisnosti od toga na koji način se obavlja

skladištenje, uspešno se čuva do kraja juna naredne godine (Gliha, 1978). Plod dostiže masu do 280 g. Boja pokožice je zelenkasto-žućkasta, koja prelazi u zlatnožutu u periodu pune zrelosti (slika 2.2). Pokožica je glatka i suva i na njoj se mogu uočiti lenticele koje ne kvare izgled ploda. Rđasta prevlaka nije tipično svojstvo ove sorte jabuka, mada može biti prisutna manje ili više na pokožici, što predstavlja manu, ne samo zbog narušavanja izgleda ploda, nego i zato što se takvi plodovi kraće vreme mogu sačuvati u skladištima (Mratinić, 2016). Meso je svetložute boje, čvrste strukture, sočno i slatko sa blagokiselkastim ukusom. Aroma je specifična, nenametljiva i prijatna. Ne sadrži mnogo kiselina, što je nedostatak ove sorte, jer bi po kvalitetu ukusa bila odlična (Gliha, 1978).

Plodovi Zlatnog delišesa su osetljivi na pritiske i udarce, pa je to razlog što pokazuju slabe manipulativne i transportne karakteristike. Meso je sklono da brašnjavi, a pokožica je sklona smežuravanju (Mratinić, 2016). S obzirom da epiderma nije pokrivena kontinuiranom kutikulom, plodovi Zlatnog Delišesa podležu transpiraciji, što dovodi do gubitka na težini. Zbog toga je čuvanje ovih plodova u hladnjačama sa normalnom atmosferom moguće u kraćem vremenskom periodu, i to na 0°C i relativnoj vlažnosti vazduha 90 %. U hladnjačama sa kontrolisanom atmosferom se primenjuju sledeći parametri za čuvanje Zlatnog Delišesa: +2°C, 6 % CO₂, 3 % O₂ i relativna vlažnost vazduha 95 % (Gliha, 1978).



Slika 2.2. Plod jabuke sorte Zlatni Delišes
(<https://www.globalinfruit.com/>)

2.1.5.3. Šumatovka

Šumatovka je stara domaća sorta jabuke nepoznatog porekla. Postoji pretpostavka da su je Turci doneli u naše krajeve. Prema istorijskim podacima, 1897. godine je opisano prvo stablo Šumatovke u selu Donji Krupac kod Aleksinca. Ime joj je dao Petar Trivunac, po istorijskom mestu Šumatovac (Niketić, 1958).

Sazreva kasno, krajem oktobra. Uspešno se čuva u skladištima do maja. Stablo Šumatovke je bujno i pokazuje otpornost prema bolestima, mrazu, suši i jakim vetrovima. Rod joj je redovan i obilan. Plod je sitan, mase do 80 g. Oblik ploda je izduženo-loptast (slika 2.3) (Mratinić, 2016). Posедуje tanku, glatku, zlatnožutu pokožicu, prekrivenu rumenilom. Meso Šumatovke je zelenkaste boje, čvrste strukture, sočno i pomalo trpkog ukusa i prijatne arome. Za vreme čuvanja u skladištu postaje mekše, sočnije i aromatičnije. Šumatovka je pogodna je za industrijsku preradu i proizvodnju marmelade i jabukovače. Plod Šumatovke ima dosta semenki (oko 10 komada) (Niketić, 1958).



Slika 2.3. Plodovi jabuke sorte Šumatovka
(<https://agronomija.rs/>)

2.1.6. Zrelost, berba i skladištenje plodova jabuke

Optimalno vreme berbe je važno za dužinu čuvanja i kvalitet plodova, a samim tim, i za ekonomičnost proizvodnje jabuka. Ovo vreme se mora precizno odrediti u svakom jabučnjaku, u zavisnosti od namene i stepena zrelosti plodova. Postoje tri tipa zrelosti jabuka: 1) botanička ili fiziološka zrelost, 2) puna (konzumna) zrelost i 3) tehnološka zrelost. U botaničkoj zrelosti plodovi jabuke su najkрупniji i tada prestaje dotok hranljivih materija u plod. Seme ploda postaje sposobno da proklija. Pre postizanja pune zrelosti jabuka, u plodovima dolazi do složenih biohemijskih procesa. To su prelaz zelene boje pokožice u žutu, obrazuju se antocijanini kod sorti sa prelivnom crvenom bojom pokožice, skrob se razlaže do disaharida i monosaharida, nastupa biološka oksidacija skroba i drugih organskih materija (šećeri, organske kiseline) do CO₂ i vode, protopektin prelazi u pektin i smanjuje se količina vitamina (naročito vitamina C). Sa biohemijskim promenama, u isto vreme se dešavaju i organoleptičke promene plodova. Plodovi postaju mekši i prijatniji na ukusu, pa su upotrebljivi kako za konzumiranje, tako i za sve vidove prerade, osim za dobijanje želiranih proizvoda. Tehnološka zrelost se često poistovećuje sa punom ili konzumnom zrelošću, što nije, u potpunosti, tačno. Tehnološka i konzumna zrelost se poklapaju ukoliko su plodovi namenjeni za preradu i korišćenje u svežem stanju. S druge strane, ukoliko se plodovi posle berbe čuvaju u skladištima, kod letnjih sorti jabuka će se poklopiti tehnološka zrelost sa botaničkom, a kod zimskih sorti tehnološka zrelost će se pojaviti između botaničke i konzumne. Jabuke se ne smeju brati pre botaničke zrelosti, jer bi se pojavile brojne štetne posledice. To su niži prinos, jabuka ne postiže ni karakterističnu veličinu za dotičnu sortu, niti boju, ukus i aromu. Ako se sa berbom zakasni, plodovi će u većoj meri početi da opadaju, pojavljuju se mehanička oštećenja, intenzivna transpiracija i fiziološke bolesti (Mišić, 2004; Mratinić, 2016).

Da bi se svežim plodovima jabuke produžila upotrebna vrednost, moraju se čuvati u pogodnim uslovima. Plodovi jabuke se čuvaju u hladnjačama sa normalnom atmosferom i hladnjačama sa kontrolisanom atmosferom. Mnoge sorte jabuka uspešno se čuvaju u hladnjačama sa normalnom atmosferom, na temperaturi 0–1°C i relativnoj vlažnosti vazduha 85–90 %. Neke sorte jabuka se, u tim uslovima, ne mogu čuvati duži vremenski period bez gubitaka. Kod sorti Koks oranž, Boskopka, Jonatan i Mekintoš dolazi do pojave posmeđivanja mesa, pa je to razlog zbog koga moraju da se skladište na višim temperaturama (3–5°C), što skraćuje vreme njihovog čuvanja. Nije preporučljivo držanje sorti jabuka sa jakom transpiracijom (kao npr. Zlatni Delišeš) u hladnjačama sa normalnom atmosferom, jer se tada plodovi smežuravaju (Gliha, 1978).

Izgradnjom hladnjača sa kontrolisanom atmosferom postignut je značajan napredak u tehnologiji skladištenja (Gliha, 1978). Kontrolisana atmosfera je atmosfera sa tačno utvrđenim, modifikovanim, sadržajem gasova u odnosu na normalnu atmosferu, čime se postiže kontrola nad reakcijama koje se teško mogu kontrolisati na niskim temperaturama. Primenom kontrolisane atmosfere, kao i niske temperature, postiže se usporavanje disanja plodova. Prema tome, za čuvanje plodova, osetljivih na niske temperature, mogu se koristiti skladišta sa kontrolisanom atmosferom (Vereš, 2004). Jako snižen sadržaj kiseonika (1–3 %) i povećan sadržaj CO₂ (3–6 %) u skladištima sa kontrolisanom atmosferom, doprinosi dužem čuvanju jabuka, jer se, čak i uz povišene temperature, smanjuje intenzitet nekih fizioloških bolesti, kao što je posmeđivanje mesa. U ovim uslovima je dozvoljeno povećati i relativnu vlažnost vazduha iznad 90 %, čime se smanjuju gubici usled transpiracije, pa jabuke dugo mogu sačuvati svežinu. Pod ovim uslovima sporije se razgrađuju pektinske materije, ugljeni hidrati i kiseline, čime jabuke mogu dugo da sačuvaju dobar ukus, što je značajno za sorte sa niskim sadržajem kiselina (Gliha, 1978). Na ovaj način sazrevanje je usporeno, ne omekšavaju plodovi, niti se u njima stvara strani miris, ukus i boja. U uslovima kontrolisane atmosfere, usporena je i aktivnost aerobnih mikroorganizama (Vereš, 2004). Prema preporuci ISO organizacije, pravilnim izborom atmosfere i temperature skladištenja, upotrebna vrednost pojedinih sorti jabuka može da se produži na 5-8 meseci (tabela 2.1).

Tabela 2.1. Uslovi čuvanja nekih sorti jabuka u hladnjači sa kontrolisanom atmosferom (Vereš, 2004)

sorta	temperatura (°C)	sastav atmosfere (%)			vreme čuvanja (meseci)
		CO ₂	O ₂	N ₂	
Zlatni Delišes	0	10	11	79	7 – 8
Starking	0	5	3	92	6
Jonatan	3 – 4	6 – 9	12 – 15	79	7
Mekintoš	3,5	5	3	92	6 – 7
Mekintoš	3,5	7	14	79	5 – 6

Jabuka je izuzetno hranljiva jer sadrži ugljene hidrate, proteine i vitamine u uravnoteženom odnosu. Koristi se u pripremi mnogih proizvoda, kao što su sokovi, voćne salate, džemovi, želei, marmelade, pudinzi, nadevi za pite, sosevi itd. Kisele sorte jabuka se koriste za pripremanje cidera - fermentisanog soka jabuke (Arain i sar., 2012).

2.2. Fizičko-hemijski sastav jabučnog tropa

Jabučni trop je zaostali čvrsti ostatak dobijen preradom jabuka i čini 20–35 % njihove početne mase. Sastoji se od mešavine kore, semene lože, čašice, peteljke i pulpe (Shalini i Gupta, 2010; Rabetafika i sar., 2014). U suvom nerafinisanom tropu ima najviše pulpe (mesa) 70–75,7 %, semenke čine 2,2-3,3 %, a peteljke 0,4–0,9 % (Gornas i sar., 2015b).

Velika količina vode i fermentabilnih šećera čine jabučni trop osetljivim na mikrobiološku i enzimsku razgradnju i oksidaciju, pa bi odlaganje ovog otpada u prirodi dovelo do ozbiljnog

zagađenja životne sredine, te je njegovo raspolaganje i korišćenje veoma složeno. Zbog toga je upravljanje agroindustrijskim otpadom jedna je od glavnih preokupacija prehrambene industrije (Bhushan i sar., 2008; Walia i sar., 2014). U postupku prerade jabuka u sok, na godišnjem nivou se dobija čak do 12 miliona tona otpada. To prouzrokuje dodatne troškove obrade otpada za proizvođače hrane. S druge strane, zahvaljujući prisustvu potencijalno vrednih komponenata, ovaj otpad može imati perspektivu (Rabetafika i sar., 2014). Svega 20 % jabučnog tropa se koristi za proizvodnju stočne hrane i za izdvajanje pektina (Walia i sar., 2014), dok preostalih 80 % predstavlja veliki problem u pogledu njegovog daljeg iskorišćenja (Salević i sar., 2018).

Napredak u tehnologiji otvorio je niz mogućnosti za iskorišćenje jabučnog tropa, i to, kao supstrata u enzimski katalizovanoj proizvodnji organskih kiselina (limunska, mlečna), prirodnih antioksidanasa (fenolna jedinjenja), biogoriva, pojačivača ukusa i boje i dr. (Joshi i Devender, 2006; Salević i sar., 2018). Direktnom ekstrakcijom jabučnog tropa dolazi do izdvajanja bioaktivnih molekula poput hranljivih vlakana, polifenola i tanina (Bhushan i sar., 2008; Shalini i Gupta, 2010).

Jabučni trop je odličan izvor hranljivih vlakana, jer se njihov sadržaj kreće i do 95 % suve materije tropa (Figuerola i sar., 2005). Sadrži pretežno nerastvorljiva vlakna (56,5-81,6 %), od kojih ima najviše celuloze (20,2-43,6 %), zatim hemiceluloze (19,9-32,2 %) i lignina (12,2-20,4 %), dok je sadržaj rastvorljivih vlakana 4,1-14,3 %, pri čemu ima najviše pektina (2,9-11,7 %) (Rabetafika i sar., 2014).

Jabučni trop sadrži 3-6 % proteina, što ga čini siromašnim izvorom ovih značajnih hranljivih sastojaka. Asparaginska i glutaminska kiselina su dominantne aminokiseline u svežim jabukama (Downing, 1995). Jabučni trop je bogat izvor mnogih minerala, koji su od značaja za ljudsku ishranu. Kalijum je glavni mineralni sastojak jabuke, a tu su još prisutni natrijum, fosfor, gvožđe, bakar, cink, mangan i dr. 100 g jabučnog tropa sadrži 20 % preporučenog dnevnog unosa kalijuma, 13 % natrijuma i 11 % fosfora, a od mikroelemenata čak 48 % preporučenog dnevnog unosa gvožđa (National Institutes of Health, 2016; Kruczek i sar., 2017). Istraživanja pokazuju da jabučni trop sadrži 0,35 mg askorbinske kiseline (vitamin C) na 100 g sveže mase (Lu i Foo, 2000; Kruczek i sar., 2017).

Jabučni trop sadrži i mnoge fitohemikalije. Hemijske studije rađene na jabuci sorte Zlatni Delišeš pokazuju da njen trop sadrži sledeće polifenole: rutin, katehin, epikatehin, floridzin, floretin, hlorogenska kiselina i kvercetin-glukozid. Ovi polifenoli su jaki antioksidansi koji su u mogućnosti da stvore protivtežu slobodnim radikalima i tako smanje rizik od gojaznosti, dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti i raka. Pored toga, biljni polifenoli se naširoko koriste zbog svojih jakih antivirusnih i antibakterijskih svojstava protiv alimentarnih patogena, i mogu da se primene kao novi konzervansi u prehrambenoj industriji. Stoga postoji veliko interesovanje za fenolna jedinjenja jabučnog tropa zbog njihovih antioksidativnih i antibakterijskih svojstava (Zhang i sar., 2016). Rezultati testova antioksidativne aktivnosti pokazali su da fenolna jedinjenja tropa jabuke imaju 2-3 puta veću sposobnost neutralisanja DPPH radikala, odnosno 10-30 puta veću sposobnost neutralisanja superoksid anjon radikala u poređenju sa vitaminima C i E (Lu i Foo, 2000; Salević i sar., 2018). Različite sorte jabuka mogu imati različit fitohemijski sastav, a sazrevanje i zrelost voća mogu uticati na promene u tom sastavu. Skladištenje ima mali uticaj na fitohemikalije jabuka, ali prerada može u velikoj meri da utiče na količinu ovih jedinjenja u soku, ali ne toliko u tropu, koji je i dalje bogat izvor fitohemikalija korisnih po zdravlje, za razliku od sokova, nektara i drugih pića, koji su često prečišćeni ili razblaženi (Kruczek i sar., 2016; Kruczek i sar., 2017).

2.3. Semenke jabuka

Semenke jabuka su vredan nusproizvod prerade jabuka koji se obično dalje ne koristi. Ovalnog su oblika, sa zašiljenim vrhom na jednom kraju, prečnika oko 5 mm i debljine 1,5 mm, u zavisnosti od stepena zrelosti i sorte (Lu i Foo, 1997). Prinos mase semenki u jabučnom tropu kreće

se 5–7 g po kilogramu svežih jabuka (Fromm i sar., 2012b; Gornas i sar., 2014b). Ako se pretpostavi da je masa semenki jabuka 5 g po kilogramu jabuka, i ako se uzme u obzir da je svetska proizvodnja jabuka u 2017. godini bila 83 miliona tona (FAOSTAT, 2019), to znači da se od te količine jabuka dobija 415 hiljada tona korisnog nusproizvoda. Iako je činjenica da se sve proizvedene jabuke ne prerađuju, količina semenki koja se može sakupiti i koristiti od prerađenih jabuka, tokom godinu dana, je impresivna. Brojne studije pokazuju značaj semenki jabuka sa detaljno istraženim sastavom masnih kiselina i sterola (Gornas i sar., 2014a), tokoferola (Gornas i sar., 2014b; Gornas, 2015a) i fenolnih komponenti (Fromm i sar., 2012a; Fromm i sar., 2013).

Sadržaj ulja u semenkama jabuka, prema podacima iz literature, dosta varira (10,6–29,4%) (Fromm i sar., 2012b; Gornas, 2015a; Hashemi i sar., 2017). Yu i sar. (2007), Tian i sar. (2010) i Madrera i Valles (2018) su utvrdili prisustvo proteina u semenkama jabuka, u količinama 33,8–34,5%, 38,85–49,55% i 35,7–39,3%, redom. Aminokiselinskom analizom semenki jabuka nađena je znatna količina aminokiselina sa sumporom (Yu i sar., 2007). Tian i sar. (2010) i Madrera i Valles (2018) našli su u semenkama jabuka da je sadržaj vlakana (3,92–4,32%) i (18,8–21,1%), a sadržaj mineralnih materija (4,31–5,2%) i (3,5– 3,9%), redom. Semenke jabuka su dobar izvor minerala: fosfora, kalijuma, magnezijuma, kalcijuma i gvožđa u količinama 720, 650, 510, 210 i 110 mg/100 g, redom (Yu i sar., 2007).

Polifenoli niske molekulske mase čine 60–90 % svih polifenola semenki jabuka, i to, fenolne kiseline (protokatehinska, hlorogenska, kumarna, ferula i kafeinska), derivati kvercetina, (+)-katehin, (-)-epikatehin, proantocijanin B2 i floridzin (Lu i Foo, 1998; Fromm i sar., 2012a; Xu i sar., 2016). Floridzin je dominantan polifenol u semenkama jabuka. Čini 75 % svih polifenola (Lu i Foo, 1998), odnosno, 79–92 % monomernih fenola (Fromm i sar., 2012a). Floridzin je derivat šalkona i tipičan je jabučni polifenol, za koga se navodi da poseduje antioksidativnu aktivnost, jer sprečava stvaranje peroksida kod lipida, a pored toga, poznat je i kao antidijabetesni agens (Xu i sar., 2016).

Iako semenke jabuka predstavljaju dobar izvor hranljivih materija, prisustvo cijanogenih glikozida može ograničiti njihovu upotrebu kao hranljivog sastojka. Na osnovu literaturnih podataka, sadržaj amigdalina u 15 sorti jabuka varira između 1 i 4 mg/kg (Bolarinwa i sar., 2014). Ipak, novije studije su pokazale da se može smatrati da je prisustvo amigdalina u semenkama jabuka takvo da ih ne čini opasnim po ljudsko zdravlje (Lyu i sar., 2020).

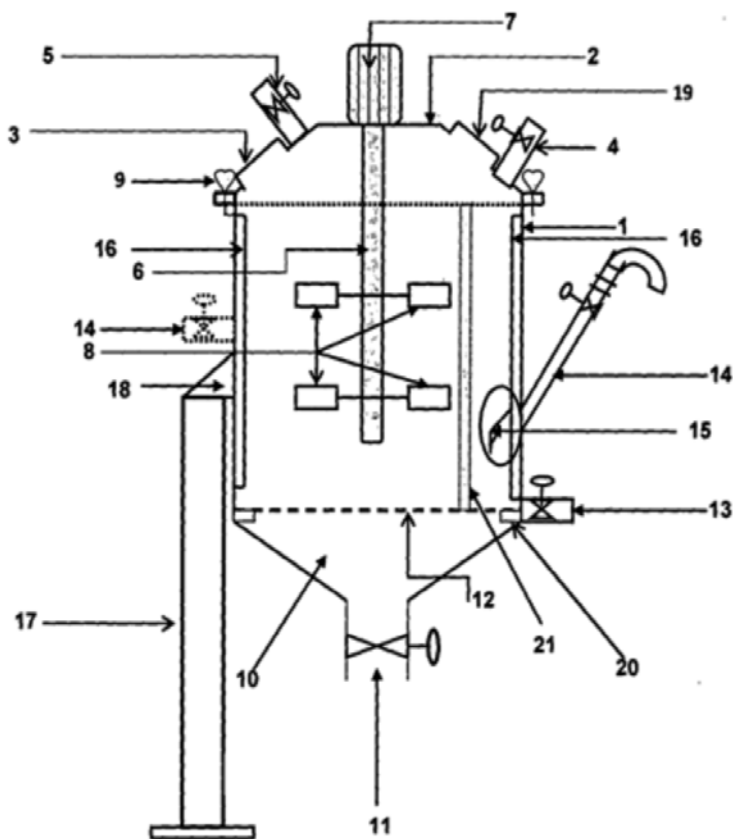
Na osnovu prikazanog hemijskog sastava semenki jabuka, može se zaključiti da su one bogat izvor hranljivih sastojaka, i to, visokokvalitetnog ulja, tokoferola, polifenola, proteina i dijetnih vlakana. Međutim, sadržaj bioaktivnih komponenti značajno varira među sortama jabuka (Fidelis i sar., 2019).

2.3.1. Izdvajanje semenki iz jabučnog tropa i priprema za ceđenje ulja

S obzirom da se u industrijskim uslovima dobija ogromna količina jabučnog tropa, za industrijsku proizvodnju ulja iz semenki jabuke bilo bi neprikladno odvajati semenke ručno ili nekim jednostavnim sitima. Kao jedno od mogućih tehničkih rešenja, u literaturi se navodi primer izdvajanja semenki iz komine grožđa pomoću mašina koje imaju ugrađena vibraciona sita različitih perforacija ili razdvajanju semenki od drugih delova komine različite specifične težine, pri suprotnosmernom strujanju vazduha u odnosu na kretanje komine (Malićanin, 2014). Kao drugo tehničko rešenje za izdvajanje semenki grožđa iz komine mogu poslužiti trijeri (Radovanović, 1986).

Bhushan i sar. (2012) su osmislili uređaj koji radi kako šaržnim, tako i kontinualnim režimom rada. Dizajniran je i kalibrisan da bi se, na ekonomičan način, postiglo čisto, visokoefikasno i brzo odvajanje semenki od jabučnog tropa, čime se izbegava njihovo lomljenje i

usitnjavanje. U posudu (slika 2.4) za odvajanje semenki (1) kroz ulaz (3) ubacuje se komina u količini 10-15 kg (suva masa), koja sadrži semenke, pokožicu/pulpu i peteljke u količinskom odnosu 5–10 %, 87-92 % i 2-3 %, redom. Kroz ulaz (4) ubacuje se voda u odnosu na kominu od 1:2 do 1:30. Ulaz za kominu i vodu, kao i otvor za vazduh (5), nalaze se na gornjem poklopcu (2) posude. Trop i voda se temeljno mešaju kako bi se razbile grudvice tropa, uz pomoć mešalice (6,8) koja postiže broj obrtaja 30-200 o/min., a vreme mešanja je 2-60 minuta. Kada masa dostigne željenu konzistenciju, mešanje se obustavlja, kako bi se seme staložilo u vremenskom periodu 1-30 minuta. Pokožica, pulpa i peteljke, suspendovane u vodi, uklanjaju se kroz vodoravni otvor (13) kada uređaj radi u šaržnom režimu. U kontinualnom režimu rada, voda zajedno sa tropom bez semenki kontinuirano se uklanja iz posude kroz nagnuti ispust (14). Semenke se talože zbog razlike u specifičnoj težini u odnosu na ostatak komine i propuštaju se kroz sito (12) čiji je prečnik otvora dovoljan da omogući da se seme sakupi u komori za odvajanje semena (10). Na kraju postupka, semenke se odvođe kroz ventil za ispuštanje semena (11). Komina bez semenki sa vodom, sakupljena iz otvora (13 i 14), filtrira se poznatim sredstvima za filtriranje, kako bi se odvojili komina bez semenki i iskorišćena voda. Ova voda može se nekoliko puta reciklirati, kako bi se ponovo vratila u proces. Komina bez semenki sadrži pokožicu/pulpu, semenke i peteljke u odnosu 94-98 %, 0,05-3,5 %, i 2-3 %, redom, dok je u komori za sakupljanje semenki masa sastavljena od 81-92 % semenki, 6-15 % tropa i 1-5 % peteljki.



Slika 2.4. Uređaj za odvajanje semenki iz komine voća (Bhushan i sar., 2012)

2.4. Tehnološki postupak proizvodnje hladno ceđenih biljnih ulja

Masti i ulja su najkoncentrovaniji izvor energije koji, pored toga što sadrži vitamine rastvorne u mastima i esencijalne masne kiseline, imaju i druge važne fiziološke funkcije u organizmu. Prema *Codex Alimentarius*-u, količina energije iz masti i ulja u dobro izbalansiranoj ishrani trebala bi da bude 25–30 % (Bialek i sar., 2017). Hladno ceđena ulja su ne samo izvor triacilglicerola i nezasićenih masnih kiselina (95–98 %), nego i brojnih komponenata koje su po svom sadržaju minorne (2–5 %), ali su, sa nutritivnog aspekta, veoma značajne. To su: vitamini rastvorni u mastima, fenolna jedinjenja, tokohromanoli, steroli, skvaleni, pigmenti (hlorofil, karotenoidi itd.), mono- i diacilgliceroli i slobodne masne kiseline (Kamal-Eldin, 2006; Zoue i sar., 2012; Gornas, 2015a).

Hladno ceđenje je najstariji prirodni postupak izdvajanja ulja (Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak, 2012; Mikolajczak, 2018). Prema *Codex Alimentarius*-u, hladno ceđena ulja se dobijaju iz uljanih sirovina mehaničkim postupcima, kao što je presovanje, a korišćenje visokih temperatura je isključeno. Mogući porast temperature tokom procesa hladnog presovanja posledica je trenja između materijala i elemenata prese. Samo u slučaju ulja devičanskog tipa dozvoljeno je podići temperaturu, kako bi se povećala ekstrakcija masne frakcije (Kachel i sar., 2018; Mikolajczak, 2018). Hladnim ceđenjem dobija se ulje visokog kvaliteta, jer niske temperature presovanja sirovine ne uzrokuju kvalitativne promene iscedenog ulja. Glavni i jedini nedostatak ovog postupka je nizak prinos ulja, u poređenju sa postupkom ekstrakcije (Wroniak i sar., 2011; Mikolajczak i sar., 2018). Iz tog razloga se postupak ekstrakcije najčešće primenjuje u industriji za izdvajanje ulja iz sirovina. Takođe se primenjuje i kombinovani postupak, tako što se, najpre, sirovina presuje, a potom se iz presovane sirovine ekstrakcijom izdvaja zaostalo ulje (Kartika i sar., 2010). Međutim, ekstrahovano ulje sadrži mnogo primesa koje se pomoću rastvarača (npr. heksan), izdvajaju zajedno sa masnom frakcijom. Posledično, to vodi prečišćavanju ulja. Dobijeno ulje primenom oba postupka, i presovanjem i ekstrakcijom, se meša i dobija se tzv. sirovo ulje (presovano ulje sa manjim dodatkom, oko 1/3, ekstrahovanog ulja) (Wroniak i sar., 2011; Mikolajczak i sar., 2018).

Na našem tržištu se mogu pronaći hladno ceđena ulja koja vode poreklo od različitih biljnih sirovina. Proizvođači hladno ceđenih ulja imaju cilj da svoj asortiman prilagode proizvodnji ulja sa povoljnijim nutritivnim sastavom (Rabrenović i sar., 2016). Prema zakonskim odredbama, odnosno, Pravilniku o kvalitetu i drugim zahtevima za jestivo biljno ulje (Službeni glasnik SRJ br. 43/2013), razlikuju se sledeće vrste jestivih nerafinisanih biljnih ulja:

- Hladno presovano nerafinisano jestivo biljno ulje proizvodi se bez zagrevanja, presovanjem, uz prethodno čišćenje (odstranjivanje nečistoća), ljuštenjem i usitnjavanjem mehaničkim putem (kod određenih sirovina). Hladno presovano nerafinisano jestivo biljno ulje može se prečišćavati isključivo pranjem vodom, taloženjem, filtracijom i centrifugiranjem.
- Devičansko jestivo biljno ulje se proizvodi presovanjem, uz prethodno čišćenje (odstranjivanje nečistoća), ljuštenjem i usitnjavanjem mehaničkim putem (kod određenih sirovina). Pri izdvajanju ulja dozvoljeno je zagrevanje materijala za presovanje (kondicioniranje). Devičansko jestivo biljno ulje može se prečišćavati isključivo pranjem vodom, taloženjem, filtracijom i centrifugiranjem.

2.4.1. Faktori koji utiču na efikasnost presovanja

Da bi se proizvelo hladno ceđeno ulje odgovarajućeg kvaliteta, mora se uzeti u obzir veliki broj faktora (Dimić, 2005). Prvi i najvažniji faktor, koji utiče na kvalitet hladno ceđenog ulja, odnosi se na karakteristike sirovine, što podrazumeva čistoću semena, da seme nema oštećenja i da je odgovarajućeg stepena zrelosti (Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak, 2012; Kachel i sar., 2018). Faktori bitni za efikasnost ceđenja ulja iz sirovine su: adekvatna priprema sirovine za presovanje,

kapacitet prese i parametri presovanja: visina pritiska i temperature, kao i dužina procesa, sadržaj vlage u sirovini koja se presuje i dr (Dimić, 2005). Svi navedeni parametri treba da obezbede vrhunski nutritivni i hemijski kvalitet, kao i odgovarajuća senzorna svojstva hladno ceđenih ulja (Rabrenović, 2011).

Pošto se materijal za dobijanje hladno ceđenog ulja ne podvrgava hidrotermičkoj obradi, što kod pužnih presa predstavlja problem na samom početku presovanja, glava prese se mora zagrejati pre početka procesa do temperature 80–100°C. To se vrši pomoću grejača, koji se stavlja na glavu prese i povezan je sa automatskim regulatorom temperature (Dimić, 2005).

Veoma značajan parametar procesa presovanja je kontrola sadržaja vlage, od ulaza sirovine do finalnog proizvoda. Sadržaj vlage je važan činilac koji utiče na kapacitet prese, sadržaj ulja koje zaostaje u pogači i, konačno, na kvalitet iscedenog ulja. Svaka vrsta sirovine treba da poseduje optimalni sadržaj vlage za presovanje. U većini presa, na primer, za seme suncokreta to je 8–9% (Dimić, 2005). Veći sadržaj vlage od optimalnog povećava plastičnost materijala, što dovodi do slabijeg sabijanja materijala, a time i do manjeg izdvajanja ulja (Singh i Bargale, 1990). Prema Singh i sar. (2002), što je viši sadržaj vlage u materijalu, to će on lakše da prođe kroz presu, tako da nema dovoljnog jakog trenja između materijala i elemenata prese tokom presovanja (Dimić, 2005).

2.4.2. Presovanje – pužne prese

Presovanje je tehnološki postupak ceđenja ulja mehaničkim putem, na pužnim ili hidrauličnim presama, iz adekvatno pripremljene biljne sirovine (Dimić, 2005). Pužne prese su uglavnom zamenile, ranije više korišćene, hidraulične prese zbog nemogućnosti da se hidraulične prese proizvedu kao kontinualni uređaji (Mikolajczak, 2018). Kontinualne pužne prese se sastoje od: horizontalnog puža, koša prese, uređaja za doziranje materijala, uređaja kojim se reguliše debljina pogače, zupčastog prenosnika i kućišta prese. Puž transportuje materijal kroz koš prese, iz prostora veće u prostor manje zapremine. U isto vreme se povećava radni pritisak duž prese, usled čega dolazi do jačeg sabijanja materijala i ceđenja ulja. Na taj način se nadoknađuje gubitak pritiska u samom materijalu usled ceđenja ulja (Dimić, 2005).

Osim porasta pritiska, trenje u materijalu u presi dovodi i do porasta temperature materijala, koja može dostići 170°C, kada su u pitanju prese velikih kapaciteta (Bockisch, 1998). Prema Panfilis i sar. (1998), temperatura ulja, koje izlazi iz prese, ne bi smela da pređe 50°C. Moderna konstrukcija puža prese doprinela je smanjenju količine energije koja se oslobodi po jedinici sirovine pri presovanju. Na taj način je smanjen porast i postignuta bolja kontrola temperature tokom presovanja (Dimić, 2005).

Kontinualne pužne prese, mogu da služe za pretpresovanje materijala, pri čemu se samo delimično izdvoji ulje iz sirovine, u količini 50-60 %, dok se presama za završno presovanje izdvoji 80–90 % u odnosu na ukupan sadržaj ulja u sirovini (Dimić i Turkulov, 2000; Dimić, 2005).

2.4.3. Odvajanje mehaničkih nečistoća – čišćenje ulja

U sirovom, presovanom, ulju prisutne su, kao primese, mehaničke nečistoće, voda i sluzaste materije. Veći sadržaj mehaničkih nečistoća u ulju posledica je veće istrošenosti sita prese, kao i većeg pritiska u presi (Dimić, 2005).

Prema Pravilniku o kvalitetu i drugim zahtevima za jestivo biljno ulje (Službeni glasnik RS br. 43/2013) sadržaj vode i isparljivih materija u jestivim nerafinisanim biljnim uljima je dozvoljen najviše do 0,2%. Sadržaj vode u sirovom ulju zavisi od sadržaja vlage u sirovini. Ukoliko je sirovina adekvatno pripremljena za presovanje, sadržaj vode u iscedenom ulju biće nizak. Što je

sadržaj vlage u semenu viši, mehaničke nečistoće će se teže odvojiti od ulja (Rac, 1964; Dimić, 2005).

Presovanjem vlažnog, nedovoljno zrelog ili pokvarenog semena, u sirovom ulju biće više i sluzastih materija, kao što su koloidno rastvoreni proteini, fosfolipidi, lipoproteini itd. (Rac, 1964; Dimić, 2005).

Prihvatljiv metod čišćenja biljnih ulja, dobijenih postupkom hladnog presovanja, podrazumeva pranje ulja vodom, taloženje, filtriranje i centrifugiranje (Mikolajczak, 2018).

Taloženjem se nečistoće veće specifične težine od ulja izdvajaju dejstvom sile gravitacije. Proces taloženja je spor i traje od nekoliko dana do nekoliko nedelja, jer je razlika gustina čestica koje se talože i ulja mala, a viskozitet ulja veliki.

Odvajanje mehaničkih nečistoća filtracijom sprovodi se propuštanjem sirovog presovanog ulja kroz filtracione tkanine na kojima se zadržavaju mehaničke nečistoće. Kao aparati za filtriranje koriste se vibraciona sita, filter prese, centrifugalni separatori i dr. Centrifugalni separatori koriste dejstvo centrifugalne sile čime se na najbrži i najefikasniji način odvaja talog iz sirovog ulja. Savremeni centrifugalni separatori poseduju velike radne kapacitete, pa stoga nisu prikladni za manje proizvođačke pogone (Dimić, 2005).

2.4.4. Naknadna obrada i pakovanje ulja

Naknadna obrada sirovog presovanog ulja podrazumeva samo pranje ulja vodom. Postupak pranja ulja se obavlja dodavanjem vode, pri čemu koloidno rastvorene primese (sluzaste materije, fosfolipidi) upijaju vodu i nabubre, pa se potom odvajaju od ulja na osnovu razlike u gustini. Ulje se, najpre, zagreje u duplikatoru do 50°C, nakon čega mu se dodaje 0,5–3 % vode jednake temperature. Smeša ulja i vode ostavi se 1 sat, nakon čega se vodeno-sluzasta faza odvaja od ulja (Dimić, 2005).

Jestivo biljno ulje je veoma osetljivo, kada je u pitanju njegova održivost. Kvalitet ulja se menja tokom čuvanja pod uticajem temperature, svetlosti, kiseonika i drugih faktora. Zbog toga je veoma značajan izbor ambalažnog materijala, odnosno ambalaže, koja mora zaštititi upakovano ulje do trenutka korišćenja (Curaković i sar., 1996).

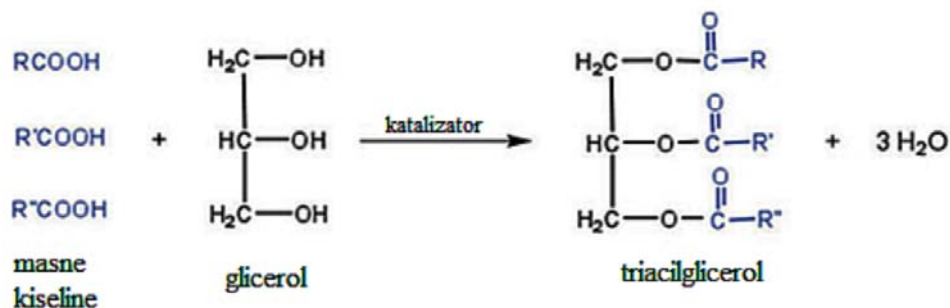
Ambalažni oblici materijali koji se koriste za pakovanje jestivih biljnih ulja su staklene boce, boce od polimernih materijala (najčešće od polietilena) i tetra brik (Dimić, 2005). Staklo, ima mnoge pozitivne karakteristike kao materijal za izradu ambalaže, što je od posebnog značaja za pakovanje hrane: hemijska inertnost, providnost, nepropustljivost za vodu i gasove i selektivno propuštanje svetlosti. Zbog toga se sve češće preporučuju i primenjuju staklene boce za pakovanje prehrambenih proizvoda visoke nutritivne vrednosti, poput hladno ceđenih biljnih ulja, zatim proizvoda koji su namenjeni određenim kategorijama potrošača, kao i zbog sve strožijih kriterijuma očuvanja životne sredine (Lazić i sar., 2003).

2.5. Glavni sastojci biljnih ulja

2.5.1. Triacilgliceroli

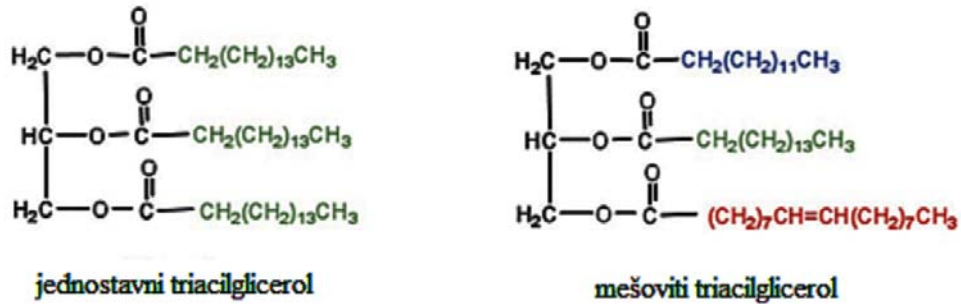
Triacilgliceroli nastaju esterifikacijom trohidroksilnog alkohola glicerola sa tri molekula monokarboksilnih masnih kiselina (slika 2.5). U sastav triacilglicerola ulaze masne kiseline sa 4-26 ugljenikovih atoma, i to samo masne kiseline sa parnim brojem C atoma, najčešće sa 16-18. Kao trovalentni alkohol, glicerol može da gradi monoacilglicerole, diacilglicerole i triacilglicerole, u zavisnosti da li je vezana jedna, dve ili tri masne kiseline za njegov molekul (Jašić i Begić, 2008). Mono- i diacilgliceroli se, takođe, mogu naći u tkivima ljudskog organizma i imaju poseban značaj za sintezu i hidrolizu triacilglicerola (Botham i Mayes, 2009).

Biljna ulja, kao mešavina različitih triacilglicerola, sadrže jednostavne triacilglicerole, kod kojih sva tri ugljovodonična lanca (R, R', R'') unutar molekula potiču od istih masnih kiselina, i mešovite triacilglicerole sastavljene od različitih molekula masnih kiselina (slika 2.6) (Hoffman, 1989; Gunstone, 2004; Malićanin, 2014). Lanci masnih kiselina u molekulu triacilglicerola se označavaju na dva načina. Prvi način označavanja se zasniva na korišćenju grčkih slova α (alfa) i β (beta). Lanci masnih kiselina vezani za spoljne C atome molekula glicerola označeni sa α . Lanac masne kiseline koji je povezan sa unutrašnjim C atomom molekula glicerola označen je sa β . Drugi način označavanja, poznat kao stereospecifično obeležavanje, zasnovan je na numerisanoj identifikaciji (sn), po čemu se svaki lanac masne kiseline u molekulu triacilglicerola označava kao sn1', sn2' ili sn3', što zavisi od položaja ugljenikovog atoma u molekulu glicerola za koji je vezan određeni molekul masne kiseline. Gornji ugljenikov atom se označava sa C₁, srednji C₂ i donji C₃ (O'Keefe, 2002; Malićanin, 2014).



Slika 2.5. Struktura triacilglicerola, gde R, R' i R'' predstavljaju moguće različite lance ugljovodonika

Fizičke osobine triacilglicerola zavise od stepena zasićenosti i dužine lanaca masnih kiselina. Ako su samo zasićene masne kiseline dugog lanca prisutne u molekulu triacilglicerola, onda se on nalazi u čvrstom agregatnom stanju. S druge strane, triacilgliceroli koji su tečnog agregatnog stanja sadrže nezasićene masne kiseline ili zasićene masne kiseline kratkog lanca (Hoffman, 1989; Gunstone, 2004; Malićanin, 2014).



Slika 2.6. Primer jednostavnog i mešovitog triacilglicerola

Zahvaljujući triacilglicerolima, u organizmu se stvaraju energetske zalihe iz kojih se oslobađaju masne kiseline, koje svojom oksidacijom daju energiju koja je potrebna za normalno funkcionisanje svih ćelija i celokupnog organizma (Lepšanović i Lepšanović, 2000; Dimić, 2005).

2.5.2. Masne kiseline

U prirodnim mastima i uljima, molekuli masnih kiselina su esterifikovani glicerolom. Ako su neesterifikovane, odnosno nisu vezane za glicerol, označavaju se kao slobodne masne kiseline. Osnovna struktura masne kiseline je lanac ugljenikovih atoma u kojoj je karboksilna grupa (-COOH) na jednoj strani, i metil grupa (-CH₃) na drugoj strani molekula. Podela masnih kiselina se može izvršiti prema nekoliko kriterijuma (Dimić, 2005):

- a) broju ugljenikovih atoma u molekulu:
 - masne kiseline kratkog lanca (do 8 ugljenikovih atoma);
 - masne kiseline srednjeg lanca (od 8 do 12 ugljenikovih atoma);
 - masne kiseline dugačkog lanca (više od 12 ugljenikovih atoma).
- b) da li u lancu masnih kiselina prisutne ili nisu C=C veze:
 - zasićene masne kiseline – bez C=C veza;
 - nezasićene masne kiseline (mononezasićene – jedna C=C veza i polinezasićene od dve do šest C=C veza).
- c) prema geometrijskoj izomerizaciji (slika 2.7):
 - *cis* oblik (ostaci masnih kiselina se nalaze sa iste strane C=C veze);
 - *trans* oblik (ostaci masnih kiselina se nalaze sa različitih strana C=C veze).



Slika 2.7. Cis i trans konfiguracija masnih kiselina i njihovi segmenti (<https://www.tehnologijahrane.com/>)

Masne kiseline se obeležavaju skraćenim izrazom, koji sadrži oznaku C i dve cifre. Prva predstavlja broj atoma ugljenika, a druga koliko masna kiselina ima nezasićenih dvostrukih veza. Na primer: C_{16:0} – palmitinska kiselina koja ima 16 ugljenikovih atoma i nijednu dvostuku vezu; C_{18:1} –oleinska kiselina koja ima 18 ugljenikovih atoma i jednu nezasićenu dvostruku vezu (Dimić, 2005).

Masnokiselinski sastav određuje fizičke karakteristike, stabilnost i hranljivu vrednost ulja (Elfalleh i sar., 2011; Zoue i sar., 2012). Hranljiva vrednost ulja je povezana sa sadržajem esencijalnih masnih kiselina, a to su polinezasićene masne kiseline. Neophodne su u ljudskoj ishrani, jer ih organizam ne može fiziološki sintetisati, pa se odgovarajućom ishranom moraju pokriti potrebe organizma (Naudet i sar., 1992; Zoue i sar., 2012). I zasićene i nezasićene masne kiseline su veoma važne komponente bioloških membrana, u kojima se njihov uticaj bazira na ravnoteži dvostrukih slojeva hidrofilno-hidrofobno. Zasićeni acilni lanci obezbeđuju čvrstinu, a nezasićeni acilni lanci tečni karakter biološkim membranama (Dwiecki i sar., 2007; Gornas i sar., 2014a).

2.5.2.1. Zasićene masne kiseline

Zasićene masne kiseline potiču kako iz animalnih masti, tako i iz biljnih ulja. Najbogatiji izvori zasićenih masnih kiselina su masnoća iz maslaca i mesa, a takođe i tropska biljna ulja: palmino, kokosovo i ulje iz koštica palme. To su organske kiseline ravnog lanca sa parnim brojem ugljenikovih atoma. Opšta formula zasićenih masnih kiselina je CH₃-(CH₂)_n-COOH. Sve zasićene masne kiseline sa 8 do 16 ugljenikovih atoma povećavaju koncentraciju LDL holesterola u serumu, kada se unose u organizam putem hrane. Miristinska kiselina (C_{14:0}) znatno više utiče na povećanje koncentracije LDL holesterola u serumu, u odnosu na palmitinsku masnu kiselinu (C_{16:0}), koja je dominantna zasićena masna kiselina koja se unosi hranom. Ostale niže zasićene masne kiseline – kaprilna (C_{8:0}), kaprinska (C_{10:0}) i laurinska (C_{12:0}), pokazuju nešto slabiji efekat na povećanje LDL holesterola. Jedina zasićena masna kiselina koja ne podiže koncentraciju LDL holesterola u serumu je stearinska kiselina (C_{18:0}). Glavni izvori ove kiseline su goveđi loj i kakao maslac (Grundy, 2003).

Tabela 2.2. Najvažnije zasićene masne kiseline

Naziv masne kiseline	Formula
buterna	CH ₃ -(CH ₂) ₂ -COOH
kapronska	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -COOH
kaprilna	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -COOH
kaprinska	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -COOH
laurinska	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -COOH
miristinska	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -COOH
palmitinska	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH
stearinska	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH
arahinska	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -COOH
behenska	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -COOH

Odnos ω -6/ ω -3 utiče na kardiovaskularno zdravlje (Wijendran i Hayes, 2004). PUFA su bitne za visoko nadražajne membrane, kao što su moždana i nervna tkiva zbog njihove uloge u membranskoj tečnosti. Nedostatak ω -6 masnih kiselina uzrokuje zaostalost u rastu dece, kožne lezije, suvi ljušpasti dermatitis i reproduktivna oboljenja (Anhwange i sar., 2010). Kognitivni razvoj i oštrina vida mogu biti smanjeni kod dece zbog neadekvatnog unosa ω -3 kiselina (Nagakura i sar., 2000).

Najvažniji predstavnici EFA su. Iz tog razloga, novi izvori ω -3 masnih kiselina, kao što su ulja iz semenki voća, povrća i sl., su neophodni osobama koje ne konzumiraju odgovarajuće količine ribe i proizvoda na bazi ribe, bogatih ω -3 masnim kiselinama (Kiran i Prajapati, 2017).

S druge strane, masti i ulja sa visokim sadržajem nestabilnih sastojaka hrane, kao što su PUFA, podležu hemijskim promenama tokom skladištenja, kao i procesu oksidacije tokom termičkog tretmana. Tokom ovih procesa količina PUFA se smanjuje, a u isto vreme raste broj toksičnih i jedinjenja lošeg ukusa. To vodi pogoršanju, kako nutritivne vrednosti, tako i senzornih karakteristika ulja i prehrambenih proizvoda koji ih sadrže (Bialek i sar., 2017).

Tabela 2.3. Najrasprostranjenije nezasićene masne kiseline
(<https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/masne-kiseline>)

Masna kiselina i obeležavanje	Formula
palmitoleinska C _{16:1}	CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
oleinska C _{18:1}	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
linolna (LA) C _{18:2} ω -6	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
α -linoleinska (ALA) C _{18:3} ω -3	CH ₃ -CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₄ -COOH
γ -linoleinska (GLA) C _{18:3} ω -6	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -(CH=CH-CH ₂) ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₄ -COOH
11-eikosenska C _{20:1}	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₉ -COOH
arahidonska C _{20:4} ω -6	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -(CH=CH-CH ₂) ₄ -(CH ₂) ₂ -COOH
eikosapentaenska (EPA) C _{20:5} ω -3	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₅ -CH ₂ -CH ₂ -COOH
eruka C _{22:1}	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₁₁ -COOH
dokosaheksaenska (DHA) C _{22:6} ω -3	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₆ -CH ₂ -COOH

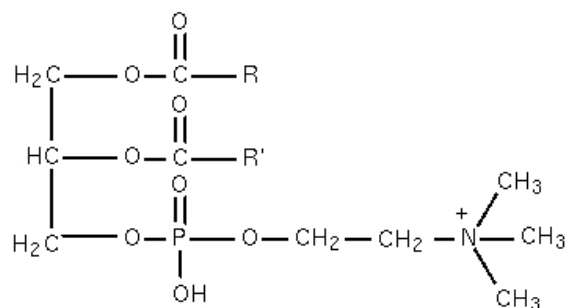
2.6. Minorni sastojci biljnih ulja – neosapunjive materije

2.6.1. Fosfolipidi

U osnovi fosfolipida se nalazi fosfatidna kiselina, koja se sastoji od glicerola za koga su vezani molekuli masnih kiselina u položaju sn¹ i sn², dok je u položaju sn³ glicerol esterifikovan molekulom fosforne kiseline, za koju je estarskim vezama vezana neka amino ili druga grupa (slika 2.9). Prilikom presovanja ili ekstrakcije semena dolazi do prelaska fosfolipida u ulje. Količina fosfolipida u sirovom ulju zavisi od sadržaja fosfolipida, stepen zrelosti i uslovi skladištenja semena, kao i od postupka izdvajanja ulja (Dimić, 2005).

Fosfolipidi spadaju u površinski aktivne supstance, pošto sadrže lipofilni i hidrofilni deo. U organizmu imaju niz značajnih funkcija, od kojih se posebno ističe transfer masnih kiselina i

proteina u plazmi (Matijašević i Turkulov, 1980; Lepšanović i Lepšanović, 2000). Fosfolipidi su značajne neosapunjive materije sirovih nerafinisanih ulja, jer se mogu naći samo u nerafinisanim jestivim uljima. Kod rafiniranih jestivih ulja gotovo i da ih nema, jer se u celosti uklanjaju u fazi predefinicije, odnosno, degumiranjem (Turkulov, 1988; Dimić, 2005).



Slika 2.9. Strukturna formula lecitina
[\(https://www.tehnologijahrane.com/\)](https://www.tehnologijahrane.com/)

Tabela 2.4. Sadržaj fosfolipida u semenu i sirovom ulju nekih uljarica (Pardun, 1989)

Vrsta uljarica	sadržaj fosfolipida (%)	
	seme	ulje
suncokret	0,5	0,5 – 1,0
soja	1,5	1,8 – 3,2
repica	1,5	0,2 – 0,5
kukuruzne klice	-	1,0 – 2,0
pamuk	-	1,3 – 2,7
kikiriki	0,5	0,3 – 0,4
lan	0,75	oko 1,8

2.6.2. Tokoferoli i tokotrienoli

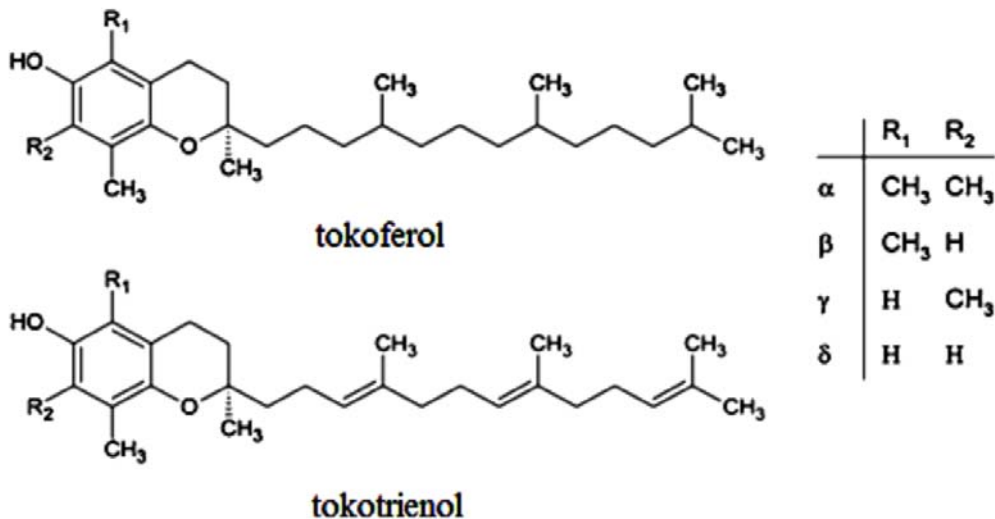
Masti i ulja su glavni izvor tokoferola (vitamin E) u dnevnoj ishrani, koji je uglavnom zastupljen u biljnim uljima, a manje u animalnim mastima (Eitenmiller i Lee, 2004; Dimić, 2005). Biološke komponente sa aktivnošću vitamina E su klasifikovane kao najznačajniji prirodni antioksidansi. Smatra se da je njihova osnovna funkcija u biljnim uljima zaštita polinezasićenih masnih kiselina od oksidacije (Ratnayake i Daun, 2004).

Stepen zasićenosti bočnog lanca predstavlja osnovnu strukturnu razliku između tokoferola i tokotrienola. Naime, kod tokoferola prisutni poliizoprenski lanac sa 16 ugljenikovih atoma je u potpunosti zasićen, za razliku od tokotrienola gde se u poliizoprenskom lancu nalaze tri nezasićene dvostruke veze (slika 2.10). Postoje četiri izomerna oblika tokoferola i tokotrienola, koji se označavaju α -(5,7,8-trimetil), β -(5,8-dimetil), γ -(7,8-dimetil) i δ -(8-monometil) i razlikuju se po broju i položaju metil grupa u svom sastavu (Dimić, 2005). Ovoj grupi jedinjenja pripada i plastohromanol-8. Njegova struktura je slična onoj kod γ -tokoferola, ali je osnovna molekularna struktura hromanol-6 prsten u kome se metil grupe nalaze na pozicijama 2, 7 i 8. Plastohromanol-8

je u literaturi opisan kao efikasnije sredstvo protiv oksidativnog kvarenja ulja, nego α -tokoferol (Papadopoulos, 1993), dok su tokotrienoli manje korisni u inhibiciji autooksidacije od tokoferola (Elmadfa i Wagner, 1997; Matthaus i Ozcan, 2015).

Tokoferoli i tokotrienoli pokazuju biološku aktivnost i antioksidativne karakteristike. α -tokoferol pokazuje najjaču biološku aktivnost, odnosno, najjače vitaminsko dejstvo. Zbog toga nosi naziv vitamin E (Dimić, 2005), a biološka aktivnost pojedinih izomera se najčešće izražava u α -tokoferol ekvivalentima. Međusobni odnos vitaminskog dejstva četiri izomera tokoferola je $\alpha : \beta : \gamma : \delta = 1 : 0,5 : 0,1 : 0,03$ (Gunstone, 2005; Shahidi i Zhong, 2005). Intenziteti antioksidativnog i biološkog efekta tokoferola međusobno su suprotni, što znači da δ - i γ -tokoferol pokazuju najjaču antioksidativnu aktivnost (Pecurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Malićanin, 2014). δ -tokoferol pokazuje prooksidativna svojstva samo u vrlo visokim koncentracijama. To je razlog čestog korišćenja δ -tokoferola u prehrambenim proizvodima (Leclercq i sar., 2007; Gromadzka i Wardencki, 2011).

Svakom biljnom ulju se može proceniti biološka vrednost na osnovu sadržaja pojedinih tokoferola. γ -tokoferol je najrasprostranjeniji izomer u kukuruznom ulju i sojinom ulju (79 i 63 %, redom, od ukupne količine tokoferola). α -tokoferol čini oko 96% ukupnih tokoferola suncokretovog ulja. δ -tokoferol je karakterističan za sojino ulje, dok se β -tokoferol retko može naći u jestivim biljnim uljima (Kamal-Eldin i Appelqvist, 1996; Dimić, 2005). U biljnim uljima, tokoferoli i tokotrienoli su prisutni u količini 200-1200 mg/kg, što zavisi od primenjenog postupka proizvodnje. Postupkom rafinacije ulja dolazi do određenog gubitka tokoferola. Takođe, sadržaj tokoferola u uljima će biti manji ako je viši stepen oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000). Kao prirodni antioksidansi, tokoferoli i tokotrienoli usporavaju proces oksidacije u uljima i mastima, a u organizmu sprečavaju štetno delovanje slobodnih radikala (Toppel, 1997; Frankel, 1999).



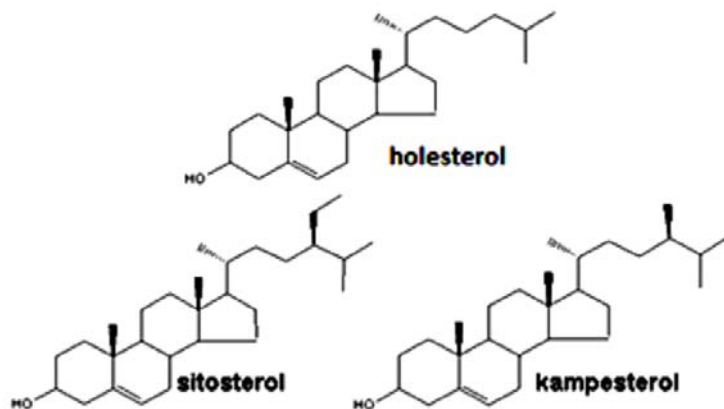
Slika 2.10. Strukturne formule tokoferola i tokotrienola (<https://www.sciencedirect.com/>)

Tabela 2.5. Sadržaj ukupnih tokoferola i tokotrienola pojedinih jestivih biljnih ulja (Pravilnik, 2013)

Vrsta ulja	Sadržaj, mg/kg	Vrsta ulja	Sadržaj, mg/kg
suncokretovo	447 - 1514	susamovo	331 - 1003
sojino	601 - 3363	ulje semena tikve	750 - 860
repičino	438 - 2680	palmino ulje	150 - 1500
ulje kukuruznih klica	331 - 3716	ulje palminih koštica	0 - 257
maslinovo	150 - 200	kokosovo ulje	0 - 44

2.6.3. Steroli

Steroli predstavljaju visokomolekularne ciklične alkohole, koji se sastoje iz četiri kondenzovana prstena i 17 ugljenikovih atoma u svom molekulu. Svaki molekul sterola na 3. ugljenikovom atomu ima vezanu –OH grupu, dok je na 17. ugljenikovom atomu, za molekul sterola vezan alifatski lanac sa 8 do 10 ugljenikovih atoma (slika 2.11). Prema poreklu, steroli se dele na fitosterole koji se nalaze u biljnim uljima i zoosterole koji se nalaze u animalnim mastima. Najzastupljeniji fitosteroli u biljnim uljima su kampasterol, stigmasterol i sitosterol, u količini 0,03–1%. Glavni predstavnik zoosterola je holesterol (Dimić, 2005). Na osnovu sadržaja pojedinih sterola, koji su karakteristični za određeno ulje ili mast, može se izvršiti njihova identifikacija (Matijašević i Turkulov, 1980).



Slika 2.11. Strukturne formule najrasprostranjenijih sterola (<http://www.inpharma.hr>)

Holesterol je bitan faktor metabolizma, jer se smatra uzročnikom oboljenja krvnih sudova. Dve trećine holesterola se proizvodi u organizmu (800 – 900 mg/dan kod odraslih osoba), a samo jedna trećina se unosi hranom (150 – 300 mg/dan). Holesterol je neophodan organizmu, za normalan rad svih ćelija. Kada je u krvi prisutan u znatno većim koncentracijama od normalnih, tek tada dolazi do ispoljavanja njegovih štetnih efekata (Matijašević i Turkulov, 1980; Lepšanović i Lepšanović, 1995; Dimić, 2005).

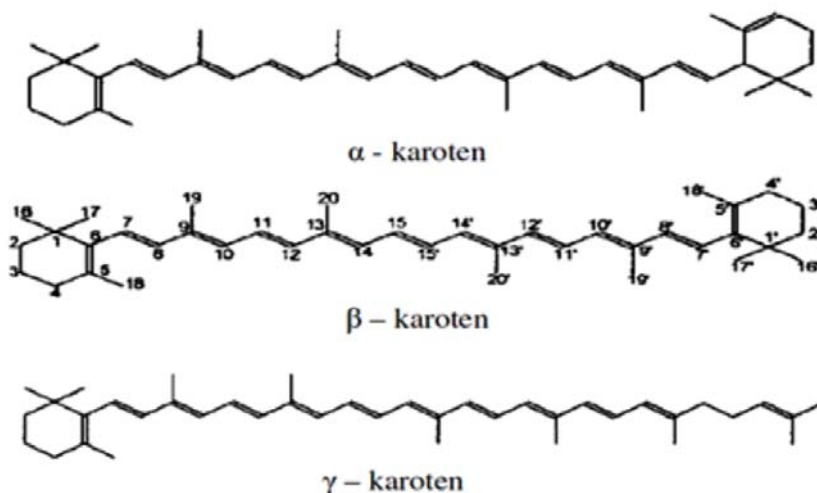
Opsežne studije su pokazale da fitosteroli smanjuju nivo ukupnog i LDL holesterola u ljudskom organizmu (Normen i sar., 2004). Fitosteroli, najverovatnije, sprečavaju apsorpciju holesterola. Oni vezuju žučne kiseline i smanjuju rizik od formiranja visokog nivoa ukupnog holesterola u krvi, a nemaju uticaj na nivo HDL holesterola. Još jedan pozitivan efekat fitosterola je u inhibiciji razvoja raka debelog creva. U ljudskim i životinjskim organizmima, fitosteroli ispoljavaju i antioksidativno dejstvo (Heinemann i sar., 1993; Pieszka i sar., 2014).

2.6.4. Pigmenti

Pigmenti su supstance koje daju boju uljima. U biljnim uljima su prisutni karotenoidi, hlorofil i gosipol (pigment prisutan u žuto-ćilibarnom pamukovom ulju) (Dimić, 2005). Pigmenti imaju značajnu ulogu u oksidativnoj stabilnosti jestivih biljnih ulja, zbog svoje antioksidativne aktivnosti. Karotenoidi usporavaju autooksidaciju i povećavaju stabilnost biljnih ulja, a slično je i ponašanje hlorofila koji istu ulogu ispoljavaju u odsustvu svetlosti (Criado i sar., 2008; Hashemi i sar., 2017).

Žuto-crvena boja karotenoida, karakteristična za mnoga biljna ulja, potiče od velikog broja konjugovanih dvostrukih veza u strukturi njihovih molekula. α - i β -karoten su posebno važni zbog provitaminskog dejstva. Pored ova dva, od značaja je još i γ -karoten (slika 2.12). Bojeni spektar karotenoida pokazuje apsorpciju u intervalu talasnih dužina 400–510 nm, sa maksimumom apsorpcije na 455 nm, pa se stoga mogu kvantitativno odrediti spektrofotometrijskom metodom. Očitana vrednost apsorancije na spektrofotometru, proporcionalna je intenzitetu žuto-crvene boje ulja (Matijašević i Turkulov, 1980; Dimić, 2005). Usled oksidacionih procesa, dolazi do razaranja njihove strukture i ulje gubi karakterističnu boju (Dimić, 2005).

U literaturi je prikazan zdravstveni aspekt delovanja β -karotena. To se odnosi na njegova antioksidativna i provitaminska svojstva, mogućnost smanjenja rizika od određenih vrsta kancera, kao i na efektivno delovanje u prevenciji koronarno-srčanih oboljenja i degeneracije ćelija (Kohlmeier i Hastings, 1995; Van Poppel i Goldbohm, 1995; Da Silva i Jorge, 2017).



Slika 2.12. Strukturne formule karotenoida (Bockisch, 1998)

2.6.5. Fenolne materije

Fenolne materije su od velikog značaja sa više tačaka gledišta: kao antioksidansi, bojene materije, oksidacioni supstrati, konstituenti proteina, izazivači astrigencije, gorčine, reakcija tamnjenja (Singleton i sar., 1999). To su sekundarni metaboliti biljaka u kojima imaju više funkcija. Količina polifenola u biljkama varira u zavisnosti od vrste, stepena izloženosti suncu, uslova gajenja, stepena zrelosti, uslova skladištenja itd., zbog čega su prisutni sa različitim brojem benzolovih prstenova i hidrosilnih grupa u strukturi (Lizcano i sar., 2019). Na primer, fenolne kiseline pripadaju jednostavnim polifenolima, po svojoj strukturi, a tanini pripadaju složenim, odnosno, polikondenzovanim polifenolima (Berend i Grabarić, 2008; Bjelica, 2019).

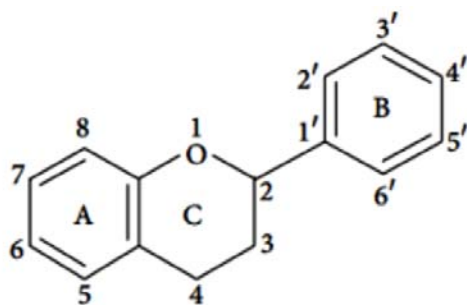
Polifenoli su u prirodi vezani za molekule mono- ili polisaharida, a mogu se pronaći i kao funkcionalni derivati estara (Harborne i sar., 1999; Rabrenović, 2011). Prema strukturi, polifenoli su podeljeni u 12 grupa (tabela 2.6).

Tabela 2.6. Podela fenolnih jedinjenja po Harborne-u i sar. (1999)

grupa fenolnih jedinjenja	struktura
prosti fenoli, benzohinoni	C_6
hidroksibenzojeve kiseline	C_6-C_1
acetofenoni, fenilacetatne kiseline	C_6-C_2
hidroksicimetne kiseline	C_6-C_3
naptohinoni	C_6-C_4
ksantoni	$C_6-C_1-C_6$
antrahinoni	$C_6-C_2-C_6$
flavonoidi, izoflavonoidi	$C_6-C_3-C_6$
lignani, neolignani	$(C_6-C_3)_2$
biflavonoidi	$(C_6-C_3-C_6)_2$
lignini	$(C_6-C_3)_n$
kondenzovani tanini	$(C_6-C_3-C_6)_n$

Fenolna jedinjenja u prirodi se mogu podeliti u dve osnovne grupe: flavonoidi i neflavonoidi.

Flavonoidi su najzastupljenije fenolne materije u biljnom svetu. Ova jedinjenja, niske molekulske mase, sastvaljena su od 15 ugljenikovih atoma složenih u konfiguraciju $C_6-C_3-C_6$, koja sadrži dva aromatična prstena A i B povezana trikarbonskim mostom, u obliku heterocikličnog prstena C (slika 2.13) (Harborne i sar., 1999; Rabrenovic, 2011). Najznačajnije grupe flavonoida su: flavonoli (kvercetin je najčešće prisutan u hrani), flavan-3-oli, flavanoli (katehin, epikatehin i njegovi polimeri i estri), antocijani i tanini (Shi i sar., 2003; Malićanin, 2014).



Slika 2.13. Strukturna formula flavonoida
http://genomics.unl.edu/RBC_EDU/fla.html

U neflavonoide spadaju:

- fenolne kiseline, i to, derivati hidroksicimne kiseline (kumarna, kafa, ferula, hlorogenska i nehlorogenska) i derivati hidroksibenzojeve kiseline (p-hidroksibenzoeva, protokatehinska, vanilinska, galna, siringinska, salicilna i genticinska);
- derivati tirozina (tirozol i hidroksitirozol) i
- stilbeni (resveratrol) (Shi i sar., 2003; Malićanin, 2014).

Glavna fenolna jedinjenja koje se nalaze u ulju semenki voća su p-kumarna kiselina, salicilna kiselina i kvercetin (Da Silva i Jorge, 2017). Prisustvo ovih supstanci utiče na ukus i aromu ulja, ali takođe i na oksidativnu stabilnost, jer suzbijaju dejstvo slobodnih radikala i aktivnost helatirajućih metala (Gromadzka i Wardencki, 2011). Zadovoljavajući postupak za ekstrakciju svih ili samo određenih klasa fenola nije još uvek razvijen. Na kvantifikaciju ovih supstanci utiče priroda jedinjenja, primenjena metoda ekstrakcije i prisustvo ometajućih elemenata, poput voskova, terpena i hlorofila. Rastvorljivost fenolnih materija se menja na osnovu polariteta upotrebljenog rastvarača, stepena polimerizacije fenola i njihove interakcije sa drugim komponentama uzorka (Da Silva i Jorge, 2017).

2.7. Kvarenje ulja i delovanje prirodnih antioksidanata

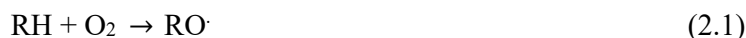
Pod uticajem različitih faktora spoljne sredine (vlaga, svetlost, povišena temperatura, kiseonik) biljna ulja podležu hemijskim reakcijama, enzimskim i mikrobiološkim procesima, usled čega dolazi do njihovog kvarenja. Obim i vrsta kvarenja zavisi od uslova pod kojima se ulja čuvaju, a takođe, i od vrste i kvaliteta ulja. Proizvodi kvarenja ulja su isparljiva karbonilna jedinjenja i nižemolekulske masne kiseline koji kvare miris i ukus ulja, dok slobodni radikali, polimeri i peroksidi mogu biti opasni po zdravlje (Matijašević i Turkulov, 1980).

Dva najčešća oblika kvarenja ulja su hidrolitičko razlaganje i oksidativno kvarenje. Hidrolitičko razlaganje triacilglicerola je reakcija koja se odvija u prisustvu vode i lipolitičkih enzima kao katalizatora, usled čega se iz molekula triacilglicerola oslobađaju slobodne masne kiseline i drugi produkti hidrolitičke razgradnje glicerol, mono- i diacilgliceroli. Posledica procesa je povećanje kiselosti ulja. Hidrolitičko razlaganje se češće pojavljuje u sirovini, pa se posebna pažnja posvećuje uslovima pod kojim se čuvaju semenke do momenta presovanja. Faktori koji ubrzavaju ovaj proces su visok sadržaj vlage i visoke temperature (55–80°C). Oksidacija je jedno od najčešćih i najpoznatijih vidova kvarenja. Obično kada se govori o kvarenju ulja, misli se na oksidativno kvarenje, užeglost ili autooksidaciju (Dimić, 2005).

2.7.1. Mehanizam autooksidacije ulja

Autooksidacija ulja je slobodno-radikalska lančana reakcija koja dovodi do pojave nepoželjnog mirisa i ukusa, gubitka nutrijenata i nastanka toksičnih materija (Adhvaryu i sar., 2000; Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013). Shodno tome, rok trajanja i krajnja upotreba bilo kog ulja, zavise od njegove otpornosti na oksidaciju, odnosno, oksidativne stabilnosti (Martínez-Monteagudo i sar., 2012). Uslovi od kojih zavisi brzina oksidativnog procesa su hemijski sastav ulja, uslovi čuvanja i prisustvo određenih sastojaka ulja koji ubrzavaju ili usporavaju proces autooksidacije (Dimić, 2005).

U fazi inicijacije procesa, dolazi do stvaranja slobodnih radikala reakcijom termolize koja je zasnovana na raskidanju kovalentnih veza u strukturi triacilglicerola usled povišene temperature, u prisustva enzima, svetlosti, jona metala (Ca^{2+} i Fe^{3+}) i reaktivnih vrsta kiseonika. Komponente koje se razgrađuju na relativno niskoj temperaturi ($<100^\circ\text{C}$) su bitni pokretači slobodno-radikalske lančane reakcije. Nezasićene masne kiseline se razgrađuju na nižim temperaturama, u poređenju sa zasićenim masnim kiselinama. Razgradni produkti nezasićenih masnih kiselina su hidroksil-radikal ($\text{HO}\cdot$), alkoksi-radikal ($\text{RO}\cdot$) i hidroperoksil-radikal ($\text{HOO}\cdot$), među kojima je hidroksil-radikal najodgovorniji za inicijaciju autooksidacije ulja, zbog njegove jake tendencije za prihvatanje elektrona. Ovi radikali vezuju atom vodonika iz strukture masnih kiselina i na taj način nastaju slobodni radikali masnih kiselina ($\text{R}\cdot$) (Choe i Min, 2006; Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013). Faza inicijacije se može prikazati reakcijama:

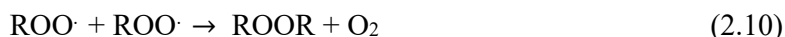


Faza propagacije počinje kada slobodni radikali masnih kiselina reaguju sa kiseonikom. Reakcija kiseonika sa slobodnim radikalom vodi stvaranju peroksidnog radikala ($\text{ROO}\cdot$). Peroksidni radikal izaziva odvajanje atoma vodonika iz susednog molekula masne kiseline, čime se dobija slobodni atom vodonika koji reaguje sa radikalom peroksida i stvara hidroperoksid masne kiseline ($\text{ROOH}\cdot$). U isto vreme, dolazi do razlaganja hidroperoksida i nastanka novih radikala peroksida i slobodnih radikala masnih kiselina. U toku propagacije odvijaju se i sekundarne slobodno-radikalske reakcije koje vode formiranju aldehida, ketona, niskomolekularnih masnih kiselina, nižih alkohola, i drugih sekundarnih produkata oksidacije koji se negativno odražavaju na senzorne i nutritivne karakteristike ulja (Rabrenović, 2011). Faza propagacije se može prikazati reakcijama (Chan, 1987; Fenema i sar., 2007):



U fazi terminacije, dva radikala se povezuju u stabilan oblik. U uslovima viška kiseonika, radikali peroksida će se povezivati međusobno, stvarajući krajnji stabilan proizvod (ROOR). Ovo je rezultat dodavanja kiseonika slobodnom radikalom i oslobađanja kiseonika iz radikala peroksida, kao glavnog radikala u reakciji. U uslovima niskog nivoa kiseonika, dolazi do spajanja slobodnih radikala i stvaranja dimera masnih kiselina (RR), čime se završava lančana reakcija stvaranja radikala i hidroperoksida. Faza terminacije se može prikazati sledećim reakcijama (Chan, 1987; Fenema i sar., 2007):





2.7.2. Mehanizam delovanja prirodnih antioksidanata

Antioksidanti su organska jedinjenja koja nisu direktno uključena u rast i razvoj, ali igraju i važnu ulogu u odbrambenom sistemu biljaka, pa spadaju u sekundarne metabolite. Oni vrše dejonizaciju ili prevenciju stvaranja reaktivnih grupa kiseonika (*reactive oxygen species* - ROS), kao što su superoksid radikal anjon (O_2^-), hidroksil radikal ($\text{HO}\cdot$) i vodonik-peroksid (H_2O_2). ROS predstavljaju razne forme aktiviranog kiseonika, koje uzrokuju oksidativna oštećenja makromolekula, poput DNK, proteina, lipida i malih ćelijskih molekula. Ovi slobodni radikali uključeni su, pored starenja, u patologiji mnogih bolesti kao što su rak, ateroskleroza, dijabetes i neurodegenerativni poremećaji (Akar i sar., 2017).

Prirodni antioksidanti predstavljaju zaštitni mehanizam protiv oštećenja ćelijskih organela izazvanih dejstvom slobodnih radikala. Oni inhibiraju ili odlažu oksidaciju drugih molekula sprečavanjem pokretanja i širenja lančane reakcije oksidacije, dejonizuju slobodne radikale, helatiraju slobodne katalitičke metale i deluju kao donori elektrona (Padmanabhan i Jangle, 2012; Nandhakumar i Indumathi, 2013). Stoga je važno poznavati sadržaj antioksidanata i njihovu efikasnost u hrani, radi očuvanja i zaštite hrane od oksidativnog kvarenja, kako bi se izbegle štetne promene i gubitak njene komercijalne i nutritivne vrednosti (Halliwell, 1997; Kedare i Singh, 2011). Za razliku od prirodnih, u literaturi je dokazano da, sintetički antioksidanti poseduju toksično i/ili mutageno dejstvo. To je podstaklo promociju istraživanja karakteristika prirodno prisutnih antioksidanata u hrani (Nandhakumar i Indumathi, 2013).

Biljke sadrže razne vrste jedinjenja sa antioksidativnim svojstvima, kao što su vitamini (A, C i E), karotenoidi, koenzim-K, likopeni i fenoli (fenolne kiseline, flavonoidi, flavonoli, antocijanini, tanini i lignin) (Akar i sar., 2017).

Antioksidativno delovanje tokoferola (TOH) zasnovano je na otpuštanju atoma vodonika koji se vezuje za radikal peroksida $\text{ROO}\cdot$ nezasićene masne kiseline, pri čemu nastaju hidroperoksid ROOH i tokoferil radikal $\text{TO}\cdot$:



Tokoferil radikal nema takvu sposobnost da razvija lančane reakcije oksidacije, kao što je to slučaj sa radikalima peroksida, već stupa u reakciju sa radikalima peroksida ili drugim tokoferil radikalima, gradeći na taj način stabilnije proizvode (Rabrenović, 2011).

Tokoferoli, kao antioksidanti, vrše stabilizaciju nastalih radikala u organizmu i time sprečavaju oštećenje lipida u ćelijskim membranama. Takođe, deluju preventivno protiv kancerogenih i kardiovaskularnih oboljenja i usporavaju starenje (Wang i Quinn, 1999; Rabrenović, 2011).

Fenolna jedinjenja, slično tokoferolima, prekidanju lančane reakcije stvaranja peroksidnih radikala u organizmu, i prevode ih u stabilnija jedinjenja (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Rabrenović, 2011). Fenolne kiseline pokazuju antioksidativnu aktivnost u zavisnosti od broja i položaja $-\text{OH}$ grupa prema funkcionalnoj karboksilnoj grupi ($-\text{COOH}$) (Rice-Evans i sar., 1996; Robards i sar., 1999). Galna kiselina, koja poseduje tri $-\text{OH}$ grupe, ima snažna antioksidativna svojstva (Marinova i sar., 1999), kao i hidroksibenzoeva kiselina sa $-\text{OH}$ grupom u meta-položaju prema karboksilnoj grupi, dok isti molekul sa $-\text{OH}$ grupom u para ili orto položaju prema $-\text{COOH}$ grupi, ne pokazuje antioksidativne karakteristike (Rice-Evans i sar., 1996). Hidroksicimetna kiselina poseduje bolja antioksidativna svojstva od hidroksibenzoeve kiseline, što se objašnjava prisustvom $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ grupe. Ova kiselina je bolji donor vodonikovog jona, čime se postiže bolja stabilizacija slobodnih radikala (Andreasen i sar., 2001).

Flavonoidi pokazuju složeniju zavisnost strukturne formule i antioksidativne aktivnosti, u odnosu na fenolne kiseline. U literaturi je to objašnjeno kompleksnošću strukture flavonoida, a pre svega, prisustvom određenih supstituenata u prstenu B i C, koji određuju njihovu antioksidativnu aktivnost, i to:

- orto-dihidroksilne strukture B prstena (katehol grupa) (Pietta, 2000);
- hidroksilne grupe u položajima 3', 4' i 5' u prstenu B (pirogalol grupa) (van Acker i sar., 1996);
- dvostruke veze između ugljenikovih atoma u položajima 2 i 3, konjugovane sa 4-okso grupom u prstenu C (Pietta, 2000);
- dvostruke veze između ugljenikovih atoma u položajima 2 i 3, kombinovane sa 3 hidroksilne grupe u prstenu C (karakteristična za kemferol) (van Acker i sar., 1996);
- supstitucije hidroksilnih grupa metoksilnim grupama u prstenu B, usled čega dolazi do promene redukcionog potencijala koji utiče na kapacitet flavonoida za hvatanje slobodnih radikala (Pietta, 2000; Seeram i Nair, 2002).

U literaturi se mogu naći dokazi o antioksidativnim, ali i prooksidativnim karakteristikama β -karotena. Prema Viljanen i sar. (2002) u fotooksidacionim procesima, karotenoidi ispoljavaju antioksidativnu aktivnost. β -karoten u suncokretovom ulju povećava oksidativnu stabilnost ulja na sobnoj temperaturi i u prisustvu svetlosti, zbog sinergističkog dejstva sa tokoferolima. Koje će delovanje β -karotena doći do izražaja u biljnim uljima, zavisi i od njegove koncentracije. Pri visokim koncentracijama, β -karoten pokazuje čak i prooksidativnu aktivnost u uljima (Dimić, 2005). Međutim, prema Yanishleva i sar. (2001), β -karoten ne pokazuje zaštitno dejstvo od oksidacije u uljima koja nemaju druge antioksidanse. Štaviše, β -karoten deluje prooksidativno u uslovima sobne temperature i visoke koncentracije kiseonika, posebno u mraku (Dimić, 2005).

2.8. Sadržaj i hemijski sastav ulja iz semenki jabuka

2.8.1. Sadržaj ulja

Sadržaj ulja u semenkama jabuka varira u širokom rasponu od 10,6 do 29,1 g/100 g računato na suhu materiju semenki. Pored ove dve ekstremne vrednosti, u tabeli 2.7 je prikazan sadržaj ulja u semenkama različitih sorti jabuka, saopšten u literaturi.

Tabela 2.7. Sadržaj ulja u semenkama jabuka

Naučni radovi	Sadržaj ulja (g /100 g s.m. semenki jabuke)
Arain i sar., 2012	26,8 – 28,9
Bada i sar., 2014	16,87 – 22,73
Gornas i sar., 2014a	12,06 – 27,49
Hashemi i sar., 2017	10,6
Madrera i Valles, 2018	16,2 – 21,1
Matthaus i Ozcan, 2015	21,9 – 25,6
Pieszka i sar., 2014	20,22
Tian i sar., 2010	20,69 – 24,32
Walia i sar., 2014	22,33
Yukui i sar., 2009	29,1

2.8.2. Sadržaj i sastav triacilglicerola i masnih kiselina

U kompoziciji triacilglicerola ulja semenki jabuka dominiraju palmitodilinolein (LLP) 39,32 – 41,17%, zatim trilinolein (LLL) 17,8 – 27,12 %, linoleostearin (SOL) 16,85 – 24,71%, oleodilinolein (LLO) 4,49 – 7,9%, lineodiolein (OOL) 5,6 – 7,29%, a najmanje su prisutni triolein (OOO) 1,44– 3,96%, palmitodiolein (OOP) 0,51–1,76 % i oleodipalmitin (PPO) 0,17 – 0,31% (Bada i sar., 2014).

Prema sadržaju pojedinih triacilglicerola i prikazanom masnokiselinskom sastavu u tabeli 2.8, može se zaključiti da ulje iz semenki jabuka spada u grupu ulja sa visokim procentom nezasićenih masnih kiselina (85–90%) i niskim sadržajem zasićenih masnih kiselina (10–15%) što je važan pokazatelj kvaliteta biljnih ulja.

Na osnovu tabele 2.8, dominantna masna kiselina u ulju semenki jabuka je linolna 40,5-67,94 g/100 g ulja, zatim sledi oleinska 20,68–46,5 g/100 g ulja. Veoma retko u ulju iz semenki jabuka dominira oleinska kiselina, kao što navode Walia i sar. (2014), koji su odredili sadržaj oleinske (46,5 %), dok je sadržaj linolne masne kiseline (43,81 %). Polinezasićena, ω-3 masna kiselina, linolenska, je prisutna u količini 0,19–1,4/100 g ulja, a mononezasićena gadoleinska (11-eikosenska – C_{20:1}) 0,3–1,3 g/100 g ulja. Kako navode Yu i sar. (2007) visok procenat nezasićenih masnih kiselina čini ulje semenki jabuka nutritivno povoljnim, zbog snižavanja sadržaja lipoproteina niske gustine (LDL holesterol) i sprečavanja rizika od nastanka kardiovaskularnih oboljenja. Od zasićenih masnih kiselina, dominantna je palmitinska sa sadržajem 5,6–9,18 g/100 g ulja.

Tabela 2.8. Masnokiselinski sastav (g/100g ulja) ulja semenki jabuke prema podacima u literaturi

Masna kiselina	Gornas i sar., 2014a	Madrera i Valles, 2018	Arain i sar., 2012	Matthaus i Ozcan, 2015	Yuku i sar., 2009	Tian i sar., 2010	Bada i sar., 2014
C _{12:0}	0,01 – 0,03	-	-	-	-	-	-
C _{14:0}	0,02 – 0,05	-	-	-	-	-	-
C _{16:0}	5,78 – 8,33	7,1 – 7,6	6,1 – 7,4	6,3-7,0	5,61	6,51 – 6,60	8,07 – 9,18
C _{16:1}	0,06 – 0,18	0,05 – 0,07	0,1 – 0,2	0,2	0,06	0,05	0,07 – 0,12
C _{17:0}	0,05 – 0,08	-	0,0 – 0,1	-	-	-	-
C _{17:1}	0,03 – 0,05	-	-	-	-	-	-
C _{18:0}	1,26 – 1,75	1,7 – 2,2	2,0 – 3,1	1,9-2,1	1,47	1,75 – 1,96	1,75 – 2,30
C _{18:1}	20,68 – 29,00	32,2 – 34,2	38,7 – 45,5	35,7-40,4	26,47	37,49 – 38,55	27,02-36,57
C _{18:2}	59,37 – 67,94	53,7 – 57,0	40,5 – 49,6	48,1-51,7	43,03	50,7 – 51,4	50,34-60,78
C _{18:3 ω-3}	0,4 – 1,35	1,0 – 1,4	0,3 – 0,4	0,3 – 0,6	0,6	0,19 – 0,30	0,25 – 0,40
C _{20:0}	0,79 – 1,27	0,2 – 0,3	0,9 – 2,0	-	1,311	1,49 – 1,54	1,14 – 1,53
C _{20:1}	0,33 – 0,55	0,3 – 0,4	0,6 – 1,0	1,1 – 1,3	0,391	0,51 – 0,56	0,36 – 0,51
C _{22:0}	0,06 – 0,27	0,2	0,4 – 0,7	-	0,27	0,40	0,17 – 0,28
C _{22:1}	0,01 – 0,10	-	-	-	-	-	-

2.8.3. Sadržaj i sastav tokoferola

U većini biljnih ulja, dominantni izomeri tokoferola su γ - i α -tokoferol, dok su β - i δ -tokoferoli prisutni u manjim količinama (Gornas i sar., 2014c; Gornas, 2015a). α -tokoferol je najaktivniji homolog u ljudskom organizmu. Nizak nivo vitamina E povezuje se sa aterosklerozom i ostalim degenerativnim bolestima (Da Silva i Jorge, 2017).

Sadržaj pojedinih izomera tokoferola u uljima iz semenki jabuka, prikazan u tabeli 2.9, je dosta varijabilan. Prema nekim autorima dominantan je α -tokoferol (Gornas, 2015a; Matthaues i Ozcan, 2015; Da Silva i Jorge, 2017), dok je prema drugima dominantan β -tokoferol (Pieszka i sar., 2014; Bada i sar., 2014; Madrera i Valles, 2018).

Tabela 2.9. Sadržaj pojedinih tokoferola i tokotrienola u ulju semenki jabuke (mg/100g ulja) prema podacima u literaturi

Tokoferoli i tokotrienoli	Gornas, 2015a	Madrera i Valles, 2018	Pieszka i sar., 2014	Matthaues i Ozcan, 2015	Da Silva i Jorge, 2017	Bada i sar., 2014
α -tokoferol	51,4 – 114,55	39,31 – 49,17	41,75	51,4 - 60,5	26,107	5,24 - 8,48
β -tokoferol	27,92 – 124,28	70,14 – 90,29	62,77	28,3 - 34,3	-	7,92 - 12,53
γ -tokoferol	16,71 – 78,69	1,98 – 3,33	13,60	0,0 – 6,8	20,51	0,028 - 0,433
δ -tokoferol	0,67 – 79,03	0,8 – 4,47	21,28	0,0 – 3,5	6,837	0,10 - 7,55
ukupni tokoferoli	130,55 – 379,08	112,7 – 145,4	143,66	87,5 - 95,1	53,454	13.74 - 18,38

2.9. Analitičke tehnike u analizi biljnih ulja

Kako bi se definisao kvalitet biljnih ulja, neophodno je odrediti parametre kvaliteta korišćenjem analitičkih tehnika i metoda:

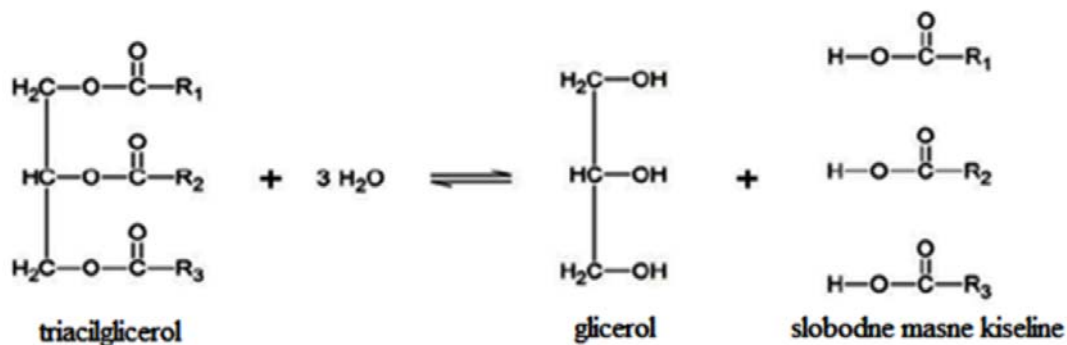
- kiselost ulja tj. sadržaj slobodnih masnih kiselina (SMK) (Dimić i Turkulov, 2000);
- metode identifikacije biljnih ulja: indeks refrakcije, relativna gustina, tačka topljenja, jodni broj, saponifikacioni broj i dr. (Dimić i Turkulov, 2000);
- metode procene stepena oksidacije ulja: peroksidni broj (Pbr), test tiobarbiturne kiseline, karbonilni broj, anisidinski broj (Abr), Kreis test, oksidaciona vrednost (OV) ili Totox vrednost itd. (Dimić i Turkulov, 2000);
- metode određivanja održivosti ulja: Schaal ili Oven test, Rancimat test, AOM ili Swift test (Dimić i Turkulov, 2000);
- metode određivanja antioksidativnog kapaciteta ulja: DPPH test (Brand-Williams i sar., 1995), ABTS test i FRAP test (Marfil i sar., 2011).

Za određivanje kvantitativnih i kvalitativnih svojstava biljnih ulja, sve češće se primenjuju hromatografske, spektroskopske i druge instrumentalne tehnike:

- gasna hromatografija (GC) i gasna hromatografija/masena spektroskopija (GC/MS); Ove tehnike služe za kvantitativno i kvalitativno određivanje sastava masnih kiselina, sadržaja tokoferola, sastava i sadržaja sterola (Gunstone, 2004; Malićanin, 2014);
- tečna hromatografija visokog stepena razdvajanja (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) se koristi za određivanje sadržaja i sastava tokoferola i polifenola (Gunstone, 2004; Malićanin, 2014);
- infra-crvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (*Fourier Transformation Infrared Spectroscopy* - FTIR) se primenjuje za određivanje odnosa prisutnih *cis/trans* masnih kiselina, jednog broja, saponifikacionog broja, sadržaja slobodnih masnih kiselina, peroksidnog i anisidinskog broja (Gunstone, 2004; Malićanin, 2014);
- ultraljubičasta spektroskopija (*Ultraviolet Spectroscopy* - UV) se koristi za identifikaciju masnih kiselina sa konjugovanim dvostrukim vezama i procenu stepena oksidacije (Gunstone, 2004; Malićanin, 2014);
- fluorescentna spektroskopija se koristi za određivanje prisustva karbonilnih jedinjenja (malonaldehid) i ketona (Dimić i Turkulov, 2000);
- diferencijalno skenirajuća kalorimetrija (*Differential Scanning Calorimetry* - DSC) se koristi za određivanje oksidativne stabilnosti ulja (Malićanin, 2014).

2.9.1. Kiselost ulja

Slobodne masne kiseline (SMK) u uljima su rezultat hidrolitičke razgradnje triacilglicerola (slika 2.14):



Slika 2.14. Reakcija hidrolize triacilglicerola

Kiselost ulja je posledica nastalih slobodnih masnih kiselina. Za sve kategorije biljnih ulja, sirova, rafinisana, hladno presovana, kiselost je jedan od osnovnih parametara kvaliteta. Najčešće se izražava kao sadržaj slobodnih masnih kiselina, mada se, posebno u zakonskim propisima, sve više koristi kiselinski broj (Karlović i Andrić, 1996; Dimić i Turkulov, 2000).

2.9.2. Identifikacija biljnih ulja

2.9.2.1. Određivanje gustine i indeksa refrakcije ulja

Indeks refrakcije se definiše kao odnos brzine svetlosti u vakuumu prema brzini svetlosti iste talasne dužine u ispitivanoj supstanci. Umesto u vakuumu, u praksi se koristi brzina svetlosti u vazduhu. Indeks refrakcije je karakteristična veličina i prikazuje se u određenim rasponima za svaku

vrstu ulja (tabela 2.10). Zavisi od stepena nezasićenosti i odnosa sadržaja *cis* i *trans* masnih kiselina ulja, kao i od toga u kojoj meri je ulje oksidovano. Određivanje indeksa refrakcije se sprovodi pri strogo kontrolisanim temperaturnim uslovima, i to, na 20°C za tečna ulja i masti, na 40–60°C za čvrste masti, i na 80°C za potpuno hidrogenizovane masti i voskove. Pomoću indeksa refrakcije može se pratiti smanjivanje broja nezasićenih veza, odnosno jednog broja, i pojava *cis/trans* izomerizacije masnih kiselina do kojih dolazi u postupku hidrogenacije biljnih ulja. U isto vreme, povećava se tačka topljenja i smanjuje indeks refrakcije hidrogenovanog ulja (Matijašević i Turkulov, 1980; Hamilton i Rossel, 1986; Dimić i Turkulov, 2000).

Poznato je da, što su gustina i indeks refrakcije ulja viši, to su stepen nezasićenosti i dužina lanaca masnih kiselina tog ulja veći (Walia i sar., 2014).

U tabeli 2.10 date su vrednosti indeksa refrakcije za pojedine vrste ulja, koja su najviše zastupljena na tržištu.

Tabela 2.10. Indeks refrakcije pojedinih jestivih biljnih ulja na 40°C
(Pravilnik, 2013)

Vrsta ulja	Indeks refrakcije n_D^{40}	Vrsta ulja	Indeks refrakcije n_D^{40}
suncokretovo	1,461 – 1,468	sezamovo	1,465 – 1,469
sojino	1,466 – 1,470	ulje semena tikve	1,474 – 1,475
repičino	1,465 – 1,467	palmino ulje	1,454 – 1,456 (na 50°C)
ulje kukuruznih klica	1,465 – 1,468	ulje palminih koštica	1,448 – 1,452
maslinovo	1,460 – 1,463	kokosovo ulje	1,448 – 1,450

2.9.2.2. Jodni broj

Jodni broj govori o stepenu nezasićenost ulja i masti, odnosno, u kojoj su meri prisutne nezasićene C=C veze masnih kiselina u molekulu triacilglicerola (Dimić i Turkulov, 2000).

Sušтина određivanja jodnog broja je u hemijskoj reakciji adicije halogenih elemenata na nezasićene veze u molekulu masnih kiselina, što se može prikazati na primeru adicije joda na dvostruku vezu u molekulu mononezasićene oleinske kiseline:

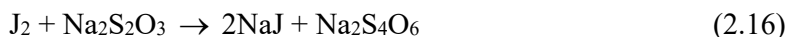
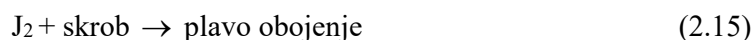
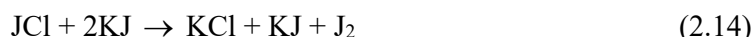


Halogeni elementi se ne adiraju istom brzinom na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina. Naime, od hlora ka jodu opada brzina adicije. Slobodni jod se sporo adira na dvostruke veze, za razliku od halogenida joda. Zbog toga se halogenidi joda koriste u praksi za određivanje jodnog broja (Dimić i Turkulov, 2000).

Najpoznatije metode za određivanje jodnog broja su metoda po Wijsu i metoda po Hanušu. Razlika ove dve metode je u tome što se kod metode po Wijsu, kao reagens, upotrebljava rastvor jodmonohlorida, uz smešu cikloheksana i glacijalne sirćetne kiseline koja služi kao rastvarač, a kod metode po Hanušu se koristi reagens jodmonobromid, uz hloroform kao rastvarač. (Dimić i Turkulov, 2000).

Nakon adicije, slobodni hlor i brom pokazuju sklonost ka neželjenoj reakciji supstitucije. U cilju sprečavanja supstitucije, jodmonohlorid (JCl) se rastvara u alkoholu ili glacijalnoj sirćetnoj kiselini, a jodmonobromid (JBr) u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (Malićanin, 2014).

Tok reakcija pri određivanju jednog broja metodom po Wijsu je sledeći (Dimić i Turkulov, 2000):



U tabeli 2.11 date su vrednosti jednih brojeva za jestiva biljna ulja, prema metodi po Wijsu.

Tabela 2.11. Vrednosti jednog broja za pojedina jestiva biljna ulja
(Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za jestivo biljno ulje, Sl. glasnik RS br. 43/2013)

vrsta ulja	jodni broj po Wijsu g /100 g	vrsta ulja	jodni broj po Wijsu g /100 g
suncokretovo	118 – 141	susamovo	104 – 141
sojino	124 – 139	palmino	50 – 55
repičino	110 – 126	ulje koštica palme	14,1 – 21,0
ulje kukuruznih klica	107 – 135	kokosovo	6,3 – 10,6

2.9.2.3. Saponifikacioni broj

Saponifikacioni broj (Sbr) zavisi od dužine lanaca masnih kiselina u molekulu triacilglicerola. Visok saponifikacioni broj imaju ulja sa niskomolekulskim masnim kiselinama u svom sastavu, dok je kod ulja sa masnim kiselinama dugačkog lanca, saponifikacioni broj niži (Rac, 1964; Dimić i Turkulov, 2000). Vrednost saponifikacionog broja govori o srednjoj molekulskoj masi triacilglicerola u uzorku, koja podeljena sa tri, daje približnu srednju molekulsku masu prisutnih masnih kiselina u ulju. Srednja molekulska masa predstavlja zbir frakcionih masa svih masnih kiselina u uzorku, pri čemu se frakciona molekulska masa pojedinačne masne kiseline dobija množenjem molekulske mase određene masne kiseline i njenog udela u uzorku (O'Keefe i Pike, 2010).

Princip određivanja saponifikacionog broja se zasniva na reakciji masnih kiselina, kao slabih organskih kiselina, sa bazom, pri čemu se nagrađuju soli, odnosno, sapuni. Kao primer, može se navesti hemijska reakcija stearinske kiseline i natrijum-hidroksida (Dimić i Turkulov, 2000):

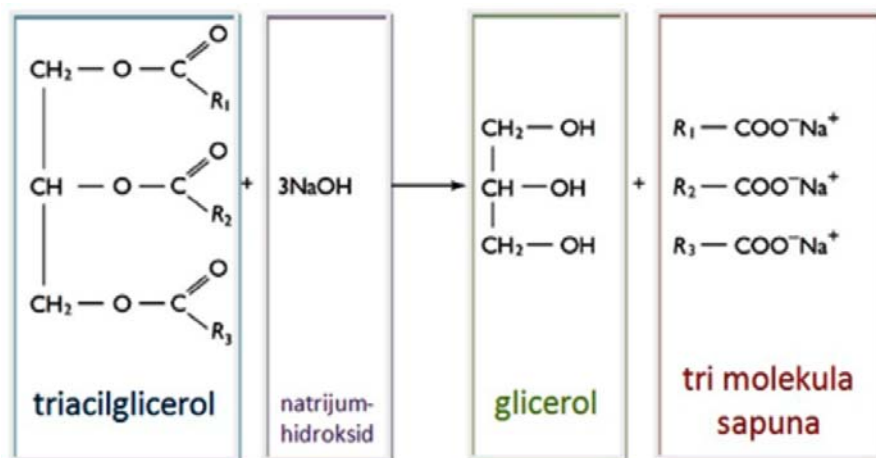


Saponifikacioni broj, kao pokazatelj autentičnosti ulja (Dimić i Turkulov, 2000) kreće se u određenim granicama, kao što je prikazano u tabeli 2.12.

Tabela 2.12. Vrednosti saponifikacionog broja za pojedina jestiva biljna ulja
(Pravilnik, 2013)

vrsta ulja	Saponifikacioni broj mg KOH/g	vrsta ulja	Saponifikacioni broj mg KOH/g
suncokretovo	188 – 194	susamovo	187 – 195
sojino	189 – 195	ulje semena tikve	187 – 197
repičino	182 – 193	palmino	190 – 209
ulje kukuruznih klica	187 – 195	ulje koštica palme	230 – 254
maslinovo	185 – 198	kokosovo	248 – 265

Kada se reakcija saponifikacije odvija na estarski vezanim masnim kiselinama, najpre dolazi do hidrolitičke razgradnje estarske veze od strane baze koja, potom, reaguje sa oslobođenim masnim kiselinama gradeći sapune (slika 2.15). U početku, reakcija je spora jer se kiseline i baza ne mešaju, pa se između njih ostvaruje slab kontakt. Do ubrzanja reakcije dolazi sa prvim količinama nastalog sapuna koji, kao površinski aktivna materija, ubrzava stvaranje emulzije (Dimić i Turkulov, 2000).



Slika 2.15. Reakcija saponifikacije triacilglicerola

2.9.3. Procena stepena oksidacije i održivosti ulja

Za procenu stepena oksidacije, odnosno, užglosti masti i ulja, koristi se veliki broj metoda. Međutim, nijedna od tih metoda ne daje podatke o ukupnoj oksidaciji uzorka. Zbog toga se mora primeniti više metoda (tabela 2.13), kako bi se dobila informacija o sadržaju primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije, nakon čega bi se mogao proceniti stepen nastalih oksidativnih promena ulja (Dimić i Turkulov, 2000).

Tabela 2.13. Analitičke metode za procenu stepena oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000)

Analitička metoda	Parametar koji se ispituje
Peroksidni broj (Pbr)	Peroksidi
Test tiobarbiturne kiseline (TBK test)	Malonaldehid
Karbonilni broj	Jedinjenja koja sadrže karbonilnu grupu
Anisidinski broj (Abr)	Neisparljiva karbonilna jedinjenja
Kreis test	Epoksaldehidi i acetali
Oksidaciona vrednost (OV) ili Totox vrednost	Ukupan sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije $OV = 2Pbr + Abr$

Održivost ili stabilnost ulja može se kvantitativno definisati i kao vremenski period u toku koga se ulje može sačuvati od oksidacije. Primena metoda održivosti ulja se zasniva na ubrzanoj oksidaciji uzorka pod uticajem katalizatora, a najčešće se u praksi primenjuje toplota. Održivost ulja se meri u satima ili danima koji su potrebni da bi ispitani uzorak ulja, na odabranoj temperaturi, dostigao određenu vrednost peroksidnog broja ili da se pojavi užegao ukus i miris. U tabeli 2.14 navedene su metode koje se primenjuju za procenu održivosti ulja (Dimić i Turkulov, 2000).

Tabela 2.14. Analitičke metode za procenu održivosti ulja (Dimić i Turkulov, 2000)

Analitička metoda	Parametar koji se ispituje
Schall ili Oven test (test održivosti u sušnici na temperaturi 60 – 63°C)	Peroksidi, promene senzornih svojstava ulja (miris, ukus)
AOM (<i>Active Oxygen Method</i>) test ili Swift test	Peroksidi
Rancimat test	Nižemolekulske masne kiseline, provodljivost
Metoda apsorpcije kiseonika	Apsorbovani kiseonik
Test na bazi fluorescentnog svetla	Promene senzornih svojstava ulja (miris, ukus), peroksidi

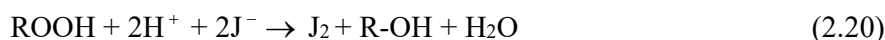
Pored navedenih metoda, treba istaći i DSC test, kao efikasnu metodu za ispitivanje otpornosti ulja na oksidaciju (Malićanin, 2014).

2.9.3.1. Peroksidni broj

Pojava užeglosti jedan je od najčešćih oblika kvarenja ulja, a reakcija oksidacije je najčešći uzrok pojave užeglosti. U procesu oksidacije ulja, kao primarni proizvodi, nastaju hidroperoksidi i peroksidi čije se prisustvo određuje peroksidnim brojem (Pbr). Pored određivanja prisustva i količine primarnih proizvoda oksidacije, peroksidni broj služi i za određivanje efikasnosti antioksidativne zaštite ulja, a takođe i za procenu održivosti ulja primenom ubrzanih testova (Dimić i Turkulov, 2000).

Određivanje peroksidnog broja je zasnovano na reakciji primarnih proizvoda oksidacije ulja sa jodovodoničnom kiselinom, usled čega dolazi do oslobađanja elementarnog joda. Količina

oslobođenog joda je proporcionalna količini prisutnih proizvoda primarne oksidacije ulja. Tok reakcija pri određivanju peroksidnog broja izgleda ovako (Dimić i Turkulov, 2000):



gde je: ROOH – hidroperoksid i ROH – alkohol.

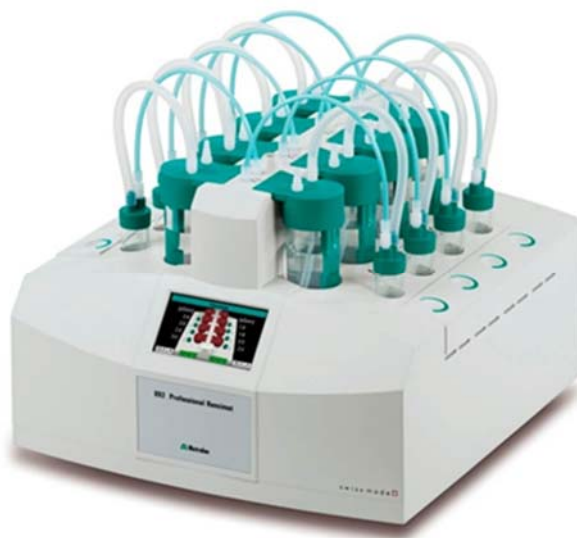
2.9.3.2. Anisidinski broj, konjugovani dieni i trieni

Neisparljiva karbonilna jedinjenja nastaju razlaganjem nestabilnih hidroperoksida, posebno na višim temperaturama. Ona predstavljaju sekundarne proizvode oksidacije koji negativno utiču ne samo na ukus i miris, nego i na stabilnost ulja. Sadržaj neisparljivih karbonilnih jedinjenja u ulju određuje se anisidinskim brojem (Abr).

Konjugovani dieni, nastali razgradnjom hidroperoksida linolne kiseline, pokazuju apsorpcioni maksimum na 232 nm. Konjugovani trieni pokazuju apsorpcioni maksimum na talasnoj dužini 270 nm. Sveža, kvalitetna ulja, u kojima nisu nastupile oksidativne promene, ne pokazuju apsorpcione maksimume na pomenutim talasnim dužinama. U uljima u kojima je, pak, došlo do oksidativne užglosti, vrednosti apsorpcije su visoke, posebno na 270 nm (Dimić i Turkulov, 2000).

2.9.3.3. Rancimat test

Rancimat test je analitička metoda čiji je osnovni princip zasnovan na određivanju indukcionog perioda pri ubrzanom kvarenju ulja, usled delovanja povišenih temperatura i prodivavanja vazduha kroz uzorak.



Slika 2.16. Rancimat Aparat 892 Professional za određivanje održivosti ulja (<https://www.metrohm.com/en-us/products-overview/stability-measurement/rancimat/>)

Indukcioni period ukazuje na otpornost ulja prema oksidaciji. Što je indukcioni period duži, to znači da ulje ima bolju održivost. Na kraju ovog perioda, u ulju su prisutne veće količine isparljivih kiselina, pre svih, mravlje, a mogu se naći i sirćetna, propionska, buterna i kapronska kiselina, kao i druga niskomolekulska isparljiva jedinjenja. Nastala jedinjenja se iz reakcione posude prebacuju u destilovanu vodu i konduktometrijski se meri povećanje provodljivosti destilovane vode, u funkciji vremena, na osnovu količine isparljivih niskomolekularnih jedinjenja u ulju. Na ovaj način se indirektno može pratiti tok oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000). Za ovu namenu, firma *Methrom* je izradila automatski aparat za određivanje održivosti ulja pod imenom Rancimat (slika 2.16). Ovaj aparat ima mogućnost za određivanje indukcionog perioda pri temperaturama 100-140°C, a savremenije izvedbe ovog aparata imaju mogućnost rada pri znatnom širem opsegu temperatura, čak i do 200°C (Karlović i sar., 1988; Dimić i Turkulov, 2000).

2.9.3.4. Schaal ili Oven test

Schaal ili Oven test spada u najstarije i najjednostavnije metode koje služe za ispitivanje održivosti ulja. Princip metode je zasnovan na praćenju porasta peroksidnog broja ulja pri držanju uzoraka na 63±2°C u sušnici. Rezultat testa se može prikazati na više načina, i to, kao vreme u danima za koje peroksidni broj ulja dostigne određenu vrednost ili, u slučaju da se vrši uporedna analiza održivosti više uzoraka ulja, kao vrednost peroksidnog broja nakon četiri dana držanja uzoraka pod uslovima testa. Ukoliko se Oven testom prate promene senzornih karakteristika uzoraka, onda je rezultat testa vreme u danima koje je potrebno da se konstatuje pojava užeglosti ulja senzornom analizom. Rezultati određivanja održivosti ulja, pod uslovima ovog testa, daju najpribližniju procenu održivosti ulja. Jedan dan tretiranja ulja, pod uslovima Oven testa, ekvivalentan je sa 6–12 dana držanja istog ulja na sobnoj temperaturi (20°C) (Dimić i Turkulov, 2000).

2.9.3.5. Diferencijalno-skenirajuća kalorimetrija (DSC)

Diferencijalno skenirajuća kalorimetrija je jedna od termoanalitičkih tehnika kojom se određuje fluks toplote koja je apsorbirana ili otpuštena tokom fizičkih ili hemijskih promena, pri programiranom grejanju ili hlađenju uzorka u kontrolisanoj atmosferi. Atmosfera može biti inertna (npr. helijum ili azot) ili reaktivna (npr. kiseonik ili vazduh). Najčešće, temperaturni program za DSC analizu je podešen tako da se temperatura uzorka povećava linearno u funkciji vremena (Kodre i sar., 2014). To se može prikazati sledećom relacijom:

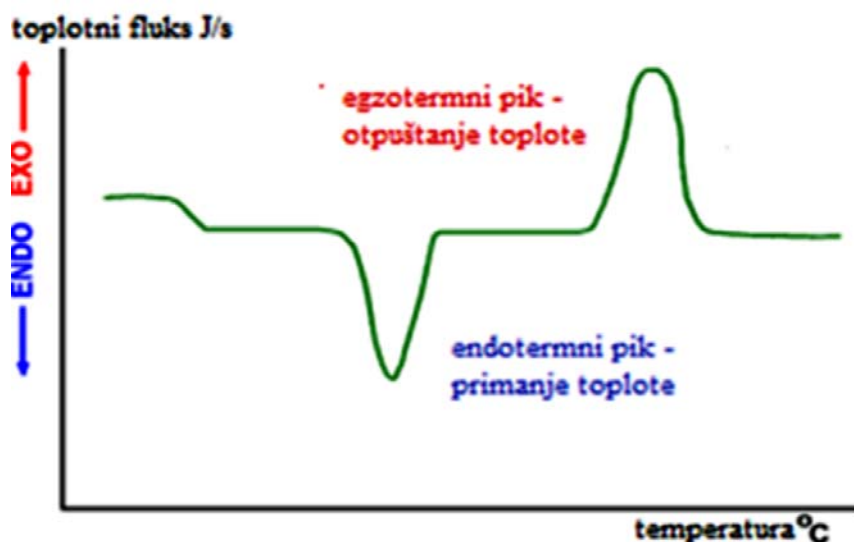
$$\frac{dT}{dt} = \beta \quad (2.22)$$

gde je β brzina zagrevanja i izražava se u K/min ili K/s (Malićanin, 2014).

Rezultat DSC eksperimenta je kriva fluksa toplote u funkciji temperature (Giri i Pal, 2014). Ova kriva (slika 2.17) se može koristiti za izračunavanje entalpije procesa srazmerne površini pika ispod DSC krive:

$$\Delta H = K \cdot \frac{S_0}{m} \quad (2.23)$$

gde je ΔH – entalpija procesa; K - kalorimetrijska konstanta; S_0 – površina ispod pika (maksimuma), m – masa uzorka (Malićanin, 2014).



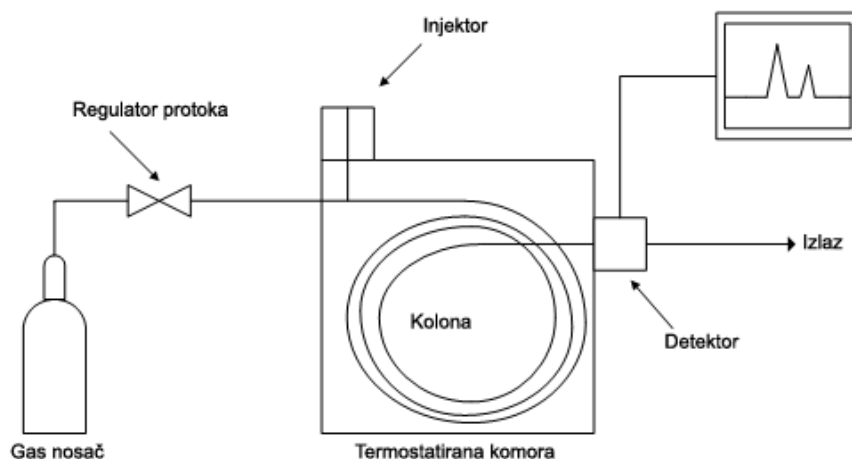
Slika 2.17. Tipičan izgled DSC krive

DSC je najčešće korišćeni metod termičke analize, prvenstveno zbog svoje brzine, jednostavnosti i dostupnosti. Dovoljno je samo nekoliko miligrama materijala da se pokrene analiza (Kodre i sar., 2014). DSC se može upotrebiti za merenje brojnih karakterističnih svojstava, poput temperature kristalizacije čvrstih materija, termalne ili termoksidativne dekompozicije uzoraka, a koristi se i u farmaceutskoj i industiji polimernih materijala i sl. (Giri i Pal, 2014).

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija primenjuje se i za karakterizaciju ulja i masti. Oksidativna stabilnost ulja može se kvantifikovati pomoću DSC na dva načina, izotermalno i neizotermalno. U izotermalnoj metodi uzorak ulja (1-10 mg) izlaže se atmosferi kiseonika ili vazduha na povišenoj temperaturi. Oksidacija ulja detektuje se kao egzotermni pik na termogramu, a rezultat je indukcionni period od trenutka uključivanja kiseonika, do pojave pika oksidacije (Velasco i sar., 2004). Neizotermalna metoda izvodi se pri linearnom povećavanju temperature zadatom brzinom i određuje se temperatura na kojoj počinje oksidacija (Tan i Che Man, 2002).

2.9.4. Gasna hromatografija

Gasna hromatografija (*Gas Chromatography* - GC) je analitička separaciona metoda kojom se razdvajaju i kvantitativno analiziraju smeše hemijskih jedinjenja. Razdvajanje jedinjenja iz ispitivane smeše se vrši između gasovite mobilne faze i stacionarne faze koja može biti čvrsta ili tečna. U zavisnosti od agregatnog stanja stacionarne faze, razlikuju se gas-tečno hromatografija (*Gas Liquid Chromatography* - GLC) gde se komponente razdvajaju prema njihovoj rastvorljivosti u stacionarnoj tečnoj fazi i gas-čvrsto hromatografija (*Gas Solid Chromatography* - GSC) gde se jedinjenja iz smeše razdvajaju selektivnom adsorpcijom na čvrstoj stacionarnoj fazi (Milosavljevic, 2004; Malićanin, 2014). Osnovni princip gasne hromatografije je da što je veći afinitet jedinjenja za stacionarnu fazu, to će se jedinjenje duže zadržati, pre nego što se eluiru i detektuje. Hromatografska kolona je mesto na kome se vrši razdvajanje komponenata iz uzorka. Gasni hromatograf se sastoji još od izvora i kontrole protoka gasa nosača kroz kolonu, uređaja za unošenje uzorka i uređaja za detekciju komponenti dok se eluiraju sa kraja kolone (slika 2.18) (Fowlis, 1995; Al-Bukhaiti i sar., 2017).



Slika 2.18. Šema gasnog hromatografa
(<https://sr.wikipedia.org/>)

Uzorak koji može biti čisto jedinjenje ili smeša različitih jedinjenja, se pomoću injektorskog šprica ubrizgava u zagrejani injektor – isparivač. U injektoru se nalazi stakleni (kvarcni) dodatak za ispravljanje, gde uzorak, istog trenutka kad dospe, isparava i zahvaćen nosećim gasom (azot, helijum ili vodonik) ulazi u gasno-hromatografsku kolonu, gde dolazi u dodir sa stacionarnom fazom, u kojoj na osnovu afiniteta komponenata uzorka prema stacionarnoj fazi, dolazi do njihovog razdvajanja (Antonović, 2010).

Gasno-hromatografska kolona se nalazi u komori u kojoj se pomoću regulatora temperature omogućava linearna promena temperature kolone željenom brzinom u izabranom opsegu, a najčešće je to $2 - 10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Kolone mogu biti pakovane i kapilarne. Pakovane kolone se izrađuju od čelika ili stakla, dužine $0,5 - 5$ m (uglavnom $2 - 3$ m) i spoljašnjeg prečnika $1,6 - 12,7$ mm. Pune se inertnim poroznim nosačem na koji je vezana stacionarna faza. Kapilarne kolone su šuplje cevi od silikatnog stakla dužine između 5 i 100 m, sastavljene od fleksibilnih tankih zidova (debljine $25\ \mu\text{m}$). Spoljašnji zidovi su obloženi termostabilnim poliamidom u cilju povećana čvrstoće i smanjenja lomljivosti. Unutrašnji prečnici kapilarnih kolona idu od $0,1$ mm (mikrokapilare), preko $0,2 - 0,32$ mm (normalne kapilare), do $0,53$ mm (makrokapilare). Najčešće korišćene kapilarne kolone su one sa unutrašnjim prečnikom $0,25$ ili $0,32$ mm (Qian i sar., 2010).

Tehnika eluiranja, zasnovana na stalnom protoku mobilne faze kroz gasno-hromatografski sistem, se primenjuje u većini slučajeva u GC analizi. Mobilna faza zajedno sa parama izdvojenih jedinjenja se eluiraju iz kolone i dolaze do detektora (Milosavljević, 2004; Malićanin, 2014).

U GC analizi, primenjuju se, mahom, dve vrste detektora. Prvi je termoprovodljivi detektor – (*Thermal Conductivity Detector* - TCD) u kome je detekcija zasnovana na promeni toplotne provodljivosti gasne smeše. Drugi je plameno-jonizacioni detektor (*Flame Ionisation Detector* – FID) kod koga se princip rada zasniva na spaljivanju eluirani para, čime se izaziva njihova jonizacija, i merenju struje koja potiče od dobijenih jona. FID reaguje na organske sastojke na osnovu njihove mase, a ne daje odgovor na sadržaj H_2O , NO_2 , CO_2 , H_2S , i ograničen odgovor na mnoga druga jedinjenja. Odgovor je najbolji kod jedinjenja koja sadrže C-C ili C-H veze (Qian i sar., 2010).

Signali, izraženi u mV koje šalje detektor, pojačavaju se i beleže na pisaču u funkciji vremena, čime se dobija kriva koja se zove gasni hromatogram. Svaki pik ili maksimum u gasnom hromatogramu pripada jednom hemijskom jedinjenju, pod uslovom da je postignuto dobro razdvajanje na hromatografskoj koloni. Osnovne karakteristike svakog maksimuma su vreme zadržavanja (retenciono vreme), koje predstavlja period od ubrizgavanja smeše do pojave maksimuma na hromatogramu, i površina pika. GC analiza traje obično $20-100$ minuta. S druge

strane, analiza dobijenih podataka sa gasnog hromatograma može potrajati između 1-20h (pa čak i duže) (Hites, 1997; Malićanin, 2014).

2.9.5. Tečna hromatografija visokog stepena razdvajanja (HPLC)

Tečna hromatografija visokog stepena razdvajanja (HPLC) je napredni oblik tečne hromatografije koji se koristi za odvajanje i analizu složenih smeša molekula koji se sreću u hemijskim i biološkim sistemima. Specifičnost HPLC metode je odlična, a istovremeno se može postići i dovoljna preciznost (Yaneva i Georgieva, 2018). HPLC sistem se sastoji iz kolone u kojoj se nalazi materijal za pakovanje (stacionarna faza), pumpe koja pokreće mobilnu fazu kroz kolonu i detektora koji pokazuje retenciono vreme molekula, koje varira u zavisnosti od interakcija između stacionarne faze, molekula koji se analiziraju i sastava mobilne faze (Malviya i sar., 2010).

Mobilna faza se ubacuje, pomoću pumpe, u hromatografski sistem, uz protok 0,4-1 ml/min (Reuhs i Rounds, 2010). U isto vreme se u hromatografsku kolonu ubrizgava i odgovarajuća količina uzorka za ispitivanje. Tokom proticanja kroz hromatografsku kolonu odigravaju se fizičke ili hemijske interakcije komponenti uzorka sa stacionarnom fazom. U zavisnosti od toga kakav afinitet pokazuju prema stacionarnoj i mobilnoj fazi, komponente uzorka u koloni će se zadržati kraće ili duže vreme, što je osnova za njihovo razdvajanje. Osim što služi za unošenje mobilne faze u kolonu, pumpa eluira razdvojene supstance iz kolone. Eluiranje može biti gradijentno ili izokratsko. Kod izokratskog eluiranja, sastav mobilne faze je nepromenljiv, pa se ovaj sistem koristi za razdvajanje jednostavnijih smeša. Kod gradijentnog eluiranja, sastav mobilne faze se kontrolisano menja sa vremenom zbog toga što komponente iz uzorka, usled različitih afiniteta prema stacionarnoj fazi, nije moguće odjednom isprati sa kolone, pa se zato ovaj sistem koristi za ispitivanje složenijih smeša (Rounds i Gregory, 1998).

Pomoću injektora se ubacuje uzorak za ispitivanje u struju mobilne faze. Praktično svi HPLC sistemi koriste ventilne injektore sa petljom koji odvajaju uvođenje uzorka od mobilne faze visokog pritiska (Reuhs i Rounds, 2010). Zapremina petlje injektora je 10, 20 i 25 μL , a u izvesnim slučajevima koriste se petlje od 50 ili 100 μL , što zavisi od vrste analize (Rounds i Gregory, 1998). Kolona je glavna komponenta hromatografskog sistema. Može biti izrađena od stakla, nerđajućeg čelika, titanijuma ili PEEK (polietar-etar-keton) polimera. Osnovna razlika u odnosu na GC kolone, je da su HPLC kolone znatno kraće. Dužina im je svega 20 - 30 cm, unutrašnji prečnik 4,5 - 10 mm, a prečnici čestica stacionarne faze 3,5 - 10 μm . Stacionarna faza je silikagel sa mikroporoznim česticama. U HPLC sistemima se koriste analitičke, preparativne, kapilarne i nano kolone (Deak, 2008). Pretkolona ili pomoćna kolona prethodi glavnoj koloni i često se naziva zaštitna kolona (Reuhs i Rounds, 2010). Svrha pretkolone je da očisti uzorak od adsorbovanih nečistoća, i time spreči začepljenje kolone. Pretkolone obično imaju dužinu do 5 cm (Rounds i Gregory, 1998).

Detektor otkriva i meri količinu svake pojedinačno eluirane supstance sa hromatografske kolone. Pomoću detektora se masa ili koncentracija eluirane supstance prevodi u električni signal, koji se pojačava, moduliše i meri. Najčešću primenu imaju UV-Vis detektori, koji apsorbuju zračenje iz ultraljubičastog i vidljivog dela elektromagnetnog spektra. Računar prima signale koje odašilje detektor. U računaru se obrađuju dospeli signali, u cilju utvrđivanja vremena izlaska pikova (maksimuma) i merenja njihove površine (integracija). Pri tome se računa udeo svake eluirane komponente na osnovu funkcije zavisnosti površine od količine (Deak, 2008).

2.9.6. Antioksidativna aktivnost biljnih ulja

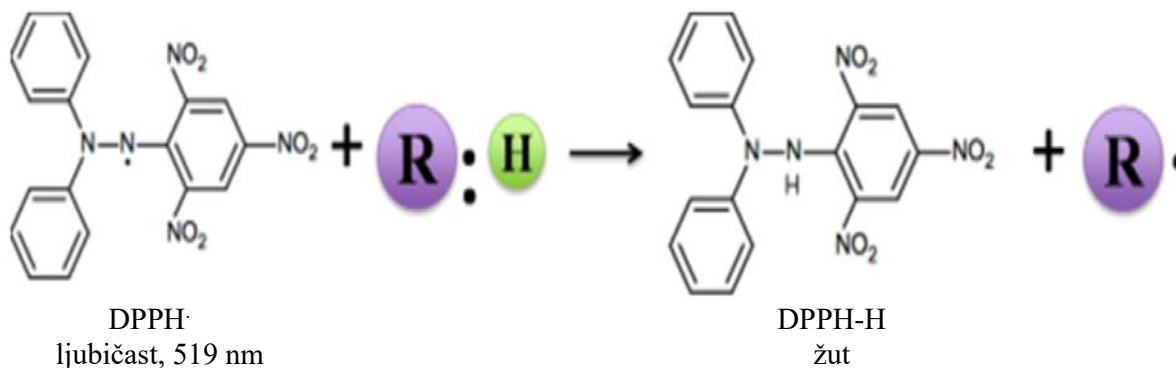
Antioksidativna aktivnost prirodnih i sintetičkih jedinjenja i ekstrakata iz raznih prirodnih izvora određuje se korišćenjem različitih antioksidativnih metoda. Antioksidativni testovi mogu se klasifikovati na osnovu vrste merenih antioksidanata (lipofilni ili hidrofilni, enzimski ili

neenzimski), karaktera rastvarača (vodeni ili organski), vrste reagensa (radikalni ili neradikalni), i mehanizma reakcije kao što su transfer atoma vodonika (*Hydrogen Atom Transfer* - HAT), transfer elektrona (*Electron Transfer* - ET) i dr. Najčešće primenjivani antioksidativni testovi su 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina (ABTS), CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*), kapacitet apsorpcije radikala kiseonika (*Oxygen Radical Absorbance Capacity* - ORAC) i potencijal ukupne radikalne apsorpcije (*Total Radical-trapping Antioxidant Parameter* - TRAP) (Akar i sar., 2017).

2.9.6.1. DPPH test

DPPH test je jedna od najpopularnijih i najčešće upotrebljivanih metoda među antioksidativnim testovima. Jednostavna je, efikasna, relativno jeftina i brza. Pa ipak, kao i većina antioksidativnih testova, zahteva UV-Vis spektrofotometar (Akar i sar., 2017). Metoda je bazirana na reakciji DPPH radikala i molekula antioksidanata iz uzorka, koji se, najčešće, rastvaraju u metanolu (Gornas, 2015a). Pored metanola, kao rastvarači koriste se i etil-acetat (Rossi i sar., 2007), 2-propanol (Gornas, 2015a) i toluen (Walia i sar., 2014). Antioksidativni aktivitet ulja određuje se korišćenjem stabilnog organskog slobodnog 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikala (Tian i sar., 2010; Walia i sar., 2014; Gornas, 2015a; Hashemi i sar., 2017; Madrera i Valles, 2018).

DPPH radikal pokazuje jaku apsorpciju na 519 nm, koja se gubi posle reakcije sa antioksidantom (slika 2.19) (Liang i Kitts, 2014). Rezultujuća reakcija je stehiometrijska i koristi se za kvantifikaciju antioksidativne aktivnosti (Blois, 1958; Kedare i Singh, 2011).



Slika 2.19. Reakcija DPPH i antioksidanta
(<https://www.researchgate.net/>)

2.9.6.2. ABTS test

ABTS test koristi slobodni radikal, mono-katjon 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina (ABTS⁺), koji se stvara kada se ABTS supstrat oksiduje kalijum-persulfatom. ABTS⁺ ima plavo-zelenu boju sa maksimumom apsorpcionog spektra na 734 nm u vodi. On je dekolorisan kada se redukuje u prisustvu test uzorka. Dekoloracija je kvantitativni pokazatelj sposobnosti uklanjanja radikala, koji se izražava ili kao procenat inhibicije ili u odnosu na aktivnost trolksa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametihroman-2-karboksilna kiselina), analoga vitamina E, kada je testiran pod istim uslovima. Rezultat se izražava kao trolks ekvivalent antioksidativnog kapaciteta (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* – TEAC) vrednost (Liang i Kitts, 2014).

Rezultati ABTS testa trebalo bi da budu uporedivi sa rezultatima DPPH testa, i mogu se posmatrati i kao potvrda rezultata dobijenih DPPH testom, iako su apsolutne vrednosti ABTS testa, uglavnom, veće (Gil i sar., 2000; Liang i Kitts, 2014). Oba radikala pokazuju istu stehiometriju sa hidrosolubilnim troloksom – jedan mol troloksa “hvata” dva mola ABTS⁺ radikala (Antonio, 1998) ili dva mola DPPH radikala (Leong i Shui, 2002; Liang i Kitts, 2014).

2.10. Inkapsulacija

2.10.1. Definicija inkapsulacije, osnovne karakteristike i primena

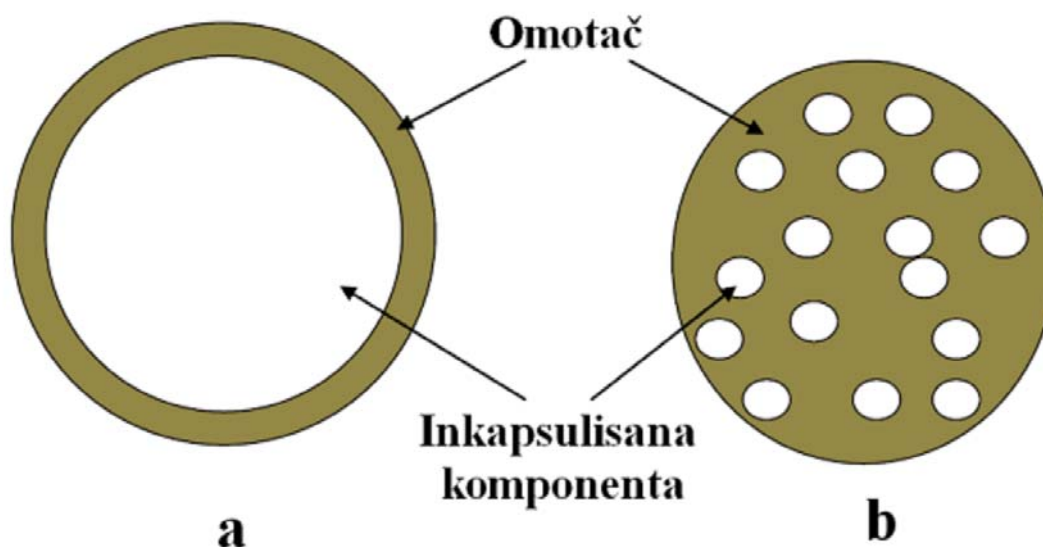
Nusproizvodi prerade voća su pogodna sirovina za dobijanje novih visokovrednih proizvoda pošto sadrže mnoga bioaktivna jedinjenja (Salević i sar., 2018). Međutim, ova jedinjenja, usled delovanja spoljašnjih faktora, poput visokih temperatura, kiseonika, svetlosti, ali i pH vrednosti i enzima u gastrointestinalnom traktu, podložna su promenama. Prema tome, zadatak proizvođača hrane je da očuvaju bioaktivne supstance do momenta konzumiranja uz pomoć pogodnog zaštitnog mehanizma, koji će u organizmu omogućiti njihovo kontrolisano otpuštanje. Jedna od mogućnosti koja zadovoljava navedene zahteve je primena postupka inkapsulacije (Nedović i sar., 2011; Dorđević i sar., 2015; Salević i sar., 2018).

Inkapsulacija je postupak zadržavanja aktivnih komponenti u unutrašnjosti određenog nosača primenom tehnika inkapsulacije. Aktivna supstanca, na ovaj način, postaje obavijena slojem (ili slojevima) nosača, čime se dobijaju čestice čiji je prečnik od nekoliko nanometara do nekoliko milimetara, koje se zovu inkapsulati (Thies, 2005; Augustin i Hemar, 2009; Zuidam i Shimoni, 2010; Lević, 2014). U literaturi se, za inkapsulisanu supstancu, koriste termini kao što su jezgro, punjenje i unutrašnja faza, a supstanca kojom se vrši inkapsulisanje tj. zaštita, naziva se premaz, membrana, materijal nosača, zidni materijal, zaštitni omotač, spoljna faza ili matrica (Zuidam i Shimoni, 2010). Zaštitni omotač, kao fizička barijera između aktivne komponente i spoljašnje sredine, otpušta aktivne komponente pod kontrolisanim uslovima (Gouin, 2004; Zuidam i Shimoni, 2010; Fiore i sar. 2012; Lević, 2014).

Razlikuju se dva glavna tipa inkapsulata: tip rezervoara (a) i tip matrice (b) (slika 2.20). Tip rezervoara ima omotač oko aktivne komponente. Ovaj tip inkapsulata je poznat i kao jezgro, singl-jezgro, jedno-jezgrasti tip ili tip jezgro-omotač. Pod dejstvom pritiska na inkapsulat rezervoar tipa, dolazi do pucanja omotača i oslobađanja njegovog sadržaja. Inkapsulat tipa matrice je poli-jezgrasti ili multi-jezgrasti tip. Aktivna komponenta je mnogo više dispergovana u materijalu nosača, u obliku relativno malih kapljica ili je homogenije raspoređena po inkapsulatu. Aktivne komponente u inkapsulatu tipa matrice su prisutne i na površini (osim ako inkapsulati imaju dodatni omotač), za razliku od onih u tipu rezervoara. Radi pojednostavljenja, inkapsulati se prikazuju u sferičnom obliku, ali isto tako mogu biti i cilindrični, ovalni ili nepravilnog oblika (Zuidam i Shimoni, 2010).

Prema Thies (2005), inkapsulisane čestice se na osnovu veličine mogu podeliti na:

- mikrogranule ili makrokapsule (veće od 1000 µm);
- mikrokapsule (između 1-1000 µm);
- nanočestice (ispod 1 µm) (Lević, 2014).



Slika 2.20. Osnovni tipovi aktivnih čestica dobijenih inkapsulacijom.
 a) „rezervoar“ tip čestice; b) „matriks“ tip čestice (Zuidam i Shimoni, 2010)

Prednosti primene inkapsulacije su mnogobrojne:

- aktivne komponente se stabilizuju i njihova funkcionalnost se može očuvati od prerade sirovina, preko skladištenja gotovog proizvoda, do momenta konzumiranja;
- smanjuje se mogućnost razgradnje aktivne komponente pod dejstvom nepovoljnih spoljašnjih faktora ili reakcijom sa sastojcima proizvoda;
- aktivna komponenta se otpušta kontrolisano, pravovremeno i na željenom mestu;
- olakšana je manipulacija aktivnom komponentom;
- potrošači bolje prihvataju proizvod zbog povoljnijih kako vizuelnih, tako i teksturnih efekata;
- neprijatni mirisi i ukusi se maskiraju, odnosno, eventualna neželjena senzorna svojstva aktivne komponente su prikrivena (Lević, 2014; Salević i sar., 2018).

Inkapsulacija, zbog svih navedenih prednosti, ima sve značajniju primenu u prehrambenoj industriji (Salević i sar., 2018). Visoka cena inkapsulacionih tehnologija, složenost procesa proizvodnje, kao i mogućnost stvaranja nepoželjnih senzornih promena i oštećenja prehrambenih proizvoda, su ograničavajući faktori primene inkapsulacije (Zuidam i Shimoni, 2010; Lević, 2014).

U prehrambenoj industriji najčešće se obavlja inkapsulacija prirodnih aromatičnih komponenti proizvoda, ćelija kvasca u proizvodnji piva i bioetanola, i probiotskih ćelija kako bi se stabilizovao i očuvao visok nivo njihove aktivnosti (Manojlović i sar., 2010; Lević, 2014).

2.10.2. Materijali za inkapsulaciju

Koji će materijal biti korišćen kao nosač, zavisi od prirode aktivne komponente, ali i od proizvoda ili procesa gde će inkapsulirani proizvod naći svoju primenu. Prema tome, tek nakon detaljno sprovedenih analiza i istraživanja, donosi se odluka oko izbora materijala za inkapsulaciju (Lević, 2014). Materijali za inkapsulaciju moraju posedovati GRAS status (eng. *Generally Recognized As Safe*), tj. moraju se nalaziti na listi aditiva koji su dozvoljeni za primenu u proizvodnji hrane. Takođe, moraju biti biorazgradivi i sposobni da očuvaju aktivnu komponentu unutar strukture matriksa tokom proizvodnog procesa i kasnije, tokom skladištenja gotovog proizvoda (Salević i sar., 2018). Od materijala za inkapsulaciju se zahteva da je kompatibilan sa

aktivnim sastojkom koji treba da zaštiti, da dobro formira filmove i da kontrolisano izbacuje gasove i vodenu paru. Moguće je primeniti, u isto vreme, dva ili više materijala za inkapsulaciju, koji imaju različite funkcionalne karakteristike. Jedan materijal pokazuje, na primer, dobra mehanička svojstva, a drugi je zaštitna barijera za kiseonik, čime se postižu željeni rezultati inkapsulacije kombinacijom različitih materijala (Wandrey i sar., 2010; Zuidam i Shimoni, 2010; Lević, 2014). Prilikom izbora materijala nosača moraju se uzeti u obzir sledeći parametri: fizičke i hemijske karakteristike materijala i aktivne komponente, primenjena tehnika inkapsulacije, način na koji se vrši otpuštanje aktivne komponente u proizvodu, koju funkcionalnu karakteristiku poseduje inkapsulat u proizvodu, stabilnost i cena materijala (Nedović i sar., 2011; Nedović i sar., 2013; Salević i sar., 2018).

Ugljeni hidrati su najčešće korišćeni materijali nosača. Njihova pogodnost ogleda se u tome što su dosta zastupljeni u prirodi. Najviše se koriste mono- i disaharidi, poput glukoze, fruktoze, laktoze i saharoze (Lević, 2014), kao i polisaharidi poput skroba i njegovih derivata (maltodekstrini, ciklodekstrini), celuloze i njenih derivata (etil-celuloza), ekstrudata i ekstrakata (arapska guma, pektini), karagenana, alginata i dr (Salević i sar., 2018).

Od proteinskih materijala za inkapsulaciju najveću primenu imaju gluten, proteinski izolati iz graška i soje, kazein, proteini surutke i želatin (Wandrey i sar., 2010).

Lipidi, zbog izraženih hidrofobnih svojstava, su posebno značajni kao materijali u procesima inkapsulacije. U procesima inkapsulacije se najčešće koriste: masti i ulja, kao i njihovi derivati (masne kiseline, gliceridi), voskovi (karnauba i pčelinji vosak) i fosfolipidi (Wandrey i sar., 2010).

Pored prirodnih, u procesima inkapsulacije se mogu koristiti i sintetički materijali. Od njih se posebno ističe polivinil piroolidon (PVP), po mogućnosti dobrog formiranja filmova i po svojim termičkim karakteristikama (Wandrey i sar., 2010). Od sintetičkih polimera se još koristi i polivinilalkohol (PVA). Na primer, kombinacija PVA sa alginatom daje čestice željenih karakteristika, koje su pogodne za procese fermentacije (Bezbradica i sar., 2004).

2.10.3. Tehnike inkapsulacije

Kada je u pitanju izbor tehnike inkapsulacije, treba uzeti u obzir sledeće kriterijume (Desai i Jin Park, 2005; Zuidam i Shimoni, 2010):

- cilj inkapsulacije;
- fizička, hemijska i biološka svojstva aktivne komponente;
- fizička i hemijska svojstva nosača;
- vrsta proizvoda u koji se dodaje inkapsulat;
- uslovi skladištenja inkapsulata i proizvoda obogaćenih inkapsulatima;
- mehanizam otpuštanja aktivne komponente;
- zakonski propisi;
- ekonomičnost i dr.

Prema Thies (2005), procesi inkapsulacije se mogu podeliti na procese tipa A (hemijski procesi) i na procese tipa B (mehanički procesi).

Procesi tipa A se baziraju na stvaranju zaštitnog sloja omotača oko aktivne komponente u tečnoj fazi, pri čemu je jako važno da se dobije stabilna emulzija ili disperzija. To su kompleksna koacervacija, polimerizacija na površini kontakta tečno-tečno i tečno-čvrsto, *in situ* polimerizacija, formiranje čestica otparavanjem rastvarača i ekstruzija sa potopljenom diznom.

Procesi tipa B su mehanički procesi dispergovanja pripremljenog rastvora za inkapsulaciju, nakon čega se vrši geliranje dobijenih čestica. Ovi procesi obuhvataju: sprej sušenje, inkapsulaciju u fluidizovanom sloju, centrifugalnu ekstruziju, ekstruziju pomoću rortirajućeg diska,

polimerizaciju na granici tečno-gas ili čvrsto-gas i ekstruziju pod pritiskom (Thies, 2005; Lević, 2014).

2.10.3.1. Elektrostatička ekstruzija

Ekstruzione tehnike inkapsulacije se dosta koriste za dobijanje polimernih sfernih čestica (Nedović, 1999; Lević, 2014). Metodom ekstruzije se dobijaju čestice inkapsulata tako što tečnost, sa dispegovanom aktivnom komponentom, prolazi kroz kapilaru na čijem se vrhu formiraju kapi. Kapi dalje formiraju čestice postupkom geliranja koji, pak, zavisi od odabranog materijala nosača. Kontrola veličine čestica kod ekstruzije se može vršiti različitim tehnikama. Međutim, ako se želi dobijanje čestica malih dimenzija, uz minimalan gubitak materijala, onda se elektrostatička ekstruzija nameće kao jedna od najboljih ekstruzionih inkapsulacionih tehnika (Zuidam i Shimoni, 2010; Lević, 2014).

Elektrostatička ekstruzija se zasniva na uticaju elektrostatičkog polja, koje dovodi do stvaranja sitnih kapi (mogu biti i ispod 50 μm), od tečnosti koja sadrži aktivnu komponentu (Đorđević i sar., 2015; Salević i sar., 2018). Elektrostatičko polje deluje na tok tečnosti, tako što se na vrhu kapilare formira kap koja dobija prvo konusni oblik, a zatim oblik "vlakna", i kada sila elektrostatičkog polja nadjača površinski napon tečnosti, kap se odvaja i, usled dejstva sile gravitacije, pada u rastvor za geliranje. Osnovna prednost primene elektrostatičke ekstruzije, u odnosu na ostale ekstruzione tehnike, je jednostavna kontrola veličine i prečnika čestica (Nedović i sar., 2001; Manojlović, 2008; Kostić i sar., 2012; Lević, 2014).

Na veličinu čestica inkapsulata, veliki uticaj ima viskozitet rastvora polimera, što dolazi do izražaja prilikom ekstruzije natrijum-alginata i dobijanja kalcijum-alginatnih čestica. Ako bi koncentracija alginata bila mala (ispod 2 %), onda bi se pri odgovarajućim protocima tečnosti dobile ujednačene sferne čestice sa prečnicima manjim od 100 μm . Sa povećanjem koncentracije alginata u tečnosti, raste i njen viskozitet, proces ekstruzije je otežan, a dobijene čestice su izdužene, odnosno, nepravilnog oblika (Nedović i sar., 2006).

U osnovi, elektrostatičko polje ima uticaj, prvenstveno, na veličinu tj. prečnik formiranih kapi na vrhu kapilare, a time i na veličinu dobijenih čestica inkapsulata (Lević, 2014).

Elektrostatička ekstruzija široko se primenjuje u različitim oblastima biotehnologije: biologiji, farmaciji, fermentacionim tehnologijama i inkapsulaciji aroma, ekstrakata bilja, itd. (Kostić i sar., 2012). Izuzetno je pogodna metoda za inkapsulaciju ćelija i enzima, uz primenu odgovarajućih nosača. Elektrostatičkom ekstruzijom je moguće dobiti kalcijum-alginatne inkapsulate, koji pružaju optimalne uslove za rast ćelija kvasca (Nedović i sar., 2001; Lević, 2014).

Alginat je posebno pogodan kao nosač u procesu elektrostatičke ekstruzije (najčešće se koristi natrijum alginat), dok se kao rastvor za geliranje obično koristi 0,05-1,5M rastvor CaCl_2 . Na ovaj način se dobijaju sferne čestice kalcijum alginata sa inkapsulisanom aktivnom komponentom (Nedović, 1999; Manojlović, 2008; Zuidam i Shimoni, 2010; Lević, 2014).

2.10.3.2. Sprej sušenje

Sprej sušenje je među najčešće primenjivanim i najstarijim tehnikama inkapsulacije. Ovom tehnikom je aktivna komponenta inkapsulirana u suve i stabilne prahove (Desai i Jin Park, 2005; Fang i Bhandari, 2010; Nedović i sar., 2013; Salević i sar., 2018). Sprej sušenje se obavlja raspršivanjem emulzije ili disperzije aktivne komponente i nosača u komori pod uticajem zagrejanog vazduha, pri čemu rastvarač brzo isparava, a formiraju se čestice koje se odvajaju na nižoj izlaznoj temperaturi vazduha (Augustin i Hemar, 2009; Salević i sar., 2018). Za pripremu

rastvora nosača, kao rastvarač se koristi voda ili organski rastvarači – etanol ili aceton (Lević, 2014).

Raspršivanje smeše aktivne komponente i nosača u čestice vrši se specijalnom diznom pod pritiskom vazduha ili rotirajućim atomizerom. Veličina dobijenih čestica zavisi od mnogo faktora: površinskog napona i viskoziteta rastvora koji se suši, protoka i pritiska vazduha u dizni, vremena sušenja i zadržavanja čestica u sušnici, itd. Pri dužem zadržavanju u uređaju, dobijaju se čestice većih dimenzija. Veličina dobijenih čestica inkapsulata široko varira, od 10 do 400 μm (Zuidam i Shimoni, 2010; Lević, 2014).

Posebnu opasnost u procesu sprej sušenja predstavlja pregrevanje materijala, pa se mora kontrolisati temperatura ulaznog i izlaznog vazduha. Temperatura ulaznog vazduha se kreće od 150 do 220°C, dok se temperatura izlaznog vazduha kreće u intervalu 50-80°C (Zuidam i Shimoni, 2010).

Zbog primene visokih temperatura, od materijala nosača koji se koriste u sprej sušenju zahteva se dobra termootpornost i rastvorljivost u vodi, kao i ekonomičnost. U tom pogledu, izdvajaju se: gumiarabika, proteini soje, proteini mleka, maltodekstrini, želatin, itd. U novije vreme, u cilju kontrolisanog otpuštanja aktivnih materija iz nosača, proizvode se teže rastvorljivi inkapsulati u vodi (Gharsallaoui i sar. 2007; Zuidam i Shimoni, 2010; Lević, 2014).

2.11. Iskorišćenje nusproizvoda prehrambene industrije u proizvodnji obogaćenog pšeničnog hleba

U tradicionalnom procesu proizvodnje hleba mešaju se brašno od žita, voda, so i kvasac, čime se dobija testo koje se podvrgava fermentaciji i pečenju (Sivam i sar., 2010; Baiano i sar., 2015). U proizvodnji hleba primenjuju se brojne kombinacije i odnosi brašna i ostalih sastojaka, prema različitim tradicionalnim receptima i metodama pripreme. Oko 20 % unetih kalorija, na dnevnom nivou, potiče od konzumiranja pšeničnog hleba (Brenchley i sar., 2012). Dobar je izvor makronutrijenata (ugljeni hidrati, proteini, masti), i mikronutrijenata (minerali, vitamini) koji su važni za ljudsko zdravlje, što hleb čini neophodnim u ishrani (Potter i Hotchkiss, 2006; Oluwajoba i sar., 2012).

Hleb od rafinisanog belog brašna omiljeniji je potrošačima u odnosu na hleb od celog zrna. Razlog tome može se pripisati prisustvu mekinja u brašnu dobijenom od celog zrna pšenice, koje čine tako proizveden hleb manje privlačnim zbog njegovih teksturnih svojstava. S druge strane, hleb od celog zrna se preporučuje u ishrani zbog svoje veće hranljivosti (Sullivan i sar., 2011; Sayed-Ahmad i sar., 2018), odnosno, sadržaja antioksidanata i vitamina koji potiču iz mekinja i aleuronskog sloja (Dewettick i sar., 2008; Dziki i sar., 2014; Plazzotta i sar., 2018).

Velika učestalost bolesti savremene civilizacije, kao što su koronarna bolest srca, gojaznost i dijabetes, podigla je javnu svest o potrebi za konzumiranjem specijalnih, zdravijih vrsta hleba (Wahyono i sar., 2018). S obzirom da je pšenični hleb glavna namirnica većine ljudi u svetu, može se iskoristiti za dodavanje hranljivih vlakana, prebiotika, polinezasićenih masnih kiselina i fenolnih materija. Cilj obogaćivanja pšeničnog brašna je povećanje kako njegove hranljive vrednosti, tako i senzornih karakteristika proizvedenog hleba ili drugih pekarskih proizvoda (Youseff i sar., 2014; Sayed-Ahmad i sar., 2018). Jednostavan način za obogaćivanje hleba i drugih proizvoda na bazi testa, sastoji se u korišćenju vodenih ekstrakata antioksidanata kao zamene za vodu. Bucić-Kojić i sar. (2011) i Radojković i sar. (2012) su opisivali brojne vodene ekstrakte biljaka koji bi se mogli iskoristiti u prehrambenoj industriji (Baiano i sar., 2015).

Prehrambena industrija svake godine stvara velike količine otpada od nusproizvoda njene prerade (Dhillon i sar., 2013). Nusproizvodi prerade povrća i voća su jeftin i bogat izvor hranljivih vlakana (O'Shea i sar., 2012) i fenolnih materija (Balasundram i sar., 2006), i, u značajnim

količinama, bioaktivnih komponenti koje mogu biti iskorišćene kao antimikrobni agens, ali i zamena za veštačke konzervanse (Martin i sar., 2012).

S obzirom na svoj fizičko-hemijski sastav, jabučni trop je veoma pogodan za obogaćivanje hlebnog testa. Najveći deo (95 %) jabučnog tropa čine hranljiva vlakna - pektin, celuloza, hemiceluloza, lignin i biljne gume i fenolne komponente - dihidrošalkoni, flavonoli, flavanoli i fenolne kiseline (Rana et al., 2015). Dodatkom jabučnog tropa u brašno za pripremu hleba, menja se njegova zapremina i mekoća. Hleb obogaćen jabučnim tropom je tamnosmeđe boje, u poređenju sa kontrolnim uzorkom pripremljenim bez dodatka jabučnog tropa (Gupta, 2006), a prisustvo jabučnih vlakana povećava kapacitet apsorpcije vode u namirnicama (Sudha i sar., 2007).

Kohajdova i sar. (2014) su dodavali jabučni trop u prahu u količinama (5 %, 10 % i 15 % w/w) u pšenično testo, što je rezultovalo u povećanom zadržavanju vode, dužem vremenu razvoja i stabilnosti testa. Rezultati su pokazali da veće količine dodatog tropa u prahu (10 % i 15 % w/w) značajno smanjuju zapreminu i svežinu, odnosno, ukupnu prihvatljivost hleba, što je u skladu i sa rezultatima do kojih su došli Mashoodi i Chauhan (1998) sa dodatkom do 11 % jabučnog tropa u testo za hleb. Pekarski proizvodi sa dodatkom do 5 % jabučnog tropa nisu pokazivali značajne razlike u odnosu na kontrolne uzorke (Mashoodi i Chauhan, 1998; Kohajdova i sar., 2014). Senzorne karakteristike testa za kolače kojima je dodavano 5 %, 10 % i 15 % (w/w) jabučnog tropa, nisu zahtevale dodavanje pojačivača ukusa, jer su kolači imali prijatan voćni ukus (Sudha i sar., 2007).

Na osnovu malog broja radova, koji govore o hemijskoj analizi obezmašćenih semenki jabuka dobijenih nakon ekstrakcije ulja iz njih, Tian i sar. (2010) i Madrera i Valles (2018) su utvrdili prisustvo proteina (38,85 – 49,55 %) i (35,7 – 39,3%), vlakana (3,92 – 4,32 %) i (18,8 – 21,1%) i mineralnih materija (4,31 – 5,2%) i (3,5 – 3,9%), redom. U obezmašćenim semenkama jabuka nađene su i značajne količine polifenola, čak do 99,8 mg/g obezmašćenih semenki jabuka, od čega je najviše prisutan floridzin, čak do 92 % prisutnih monomernih fenola (Fromm i sar., 2012a). To navodi da su obezmašćene semenke jabuke veoma hranljiv dodatak pšeničnom hlebu.

2.11.1. Značaj dodatka hranljivih vlakana i proteina u pšenični hleb

Prehrambeni proizvodi na bazi žita svakodnevno se konzumiraju i pružaju pogodan medijum za unos hranljivih vlakana (Kohajdova i sar., 2014). Hranljiva vlakna su jestivi delovi biljaka koji su otporni na varenje i apsorpciju u ljudskom tankom crevu, a potpuno ili delimično fermentišu u debelom crevu (Gerloth i Ranhotra, 2001). Hranljiva vlakna mogu biti klasifikovana na različite načine, prema strukturi i rastvorljivosti. Prema strukturi, hranljiva vlakna se dele na linearne i nelinearne molekule, a prema rastvorljivosti na rastvorljiva i nerastvorljiva vlakna (Nair i sar., 2010). Nerastvorljiva vlakna obuhvataju: lignin, celulozu i hemicelulozu, a rastvorljiva: pektin, β -glukan, galaktomanan-gume i veliki niz nesvarljivih oligosaharida, uključujući inulin (Kruczek i sar., 2017).

Poslednjih godina hranljiva vlakna dobijaju sve veću pažnju istraživača i prehrambene industrije zbog korisnih efekata po zdravlje. Naime, nerastvorljiva vlakna ubrzavaju prolazak hrane kroz creva, poboljšavaju laksaciju i sprečavaju pojavu zatvora, dok rastvorljiva vlakna snižavaju nivo ukupnog holesterola, LDL holesterola, glukoze i insulina u krvi nakon obroka (Brennan i Cleary 2007; Lunn i Buttriss 2007; Sivam i sar., 2010; Foschia i sar., 2013). Hranljiva vlakna smanjuju rizik od nastanka srčanih oboljenja i pojavu izvesnih tipova kancera (Buttriss i Stokes, 2008; Rana i sar., 2015). Velika pažnja se posvećuje hranljivim vlaknima u borbi protiv gojaznosti, jednog od glavnih problema 21. veka. Prema Hitonovoj teoriji, postoje najmanje tri mehanizma pomoću kojih dijetna vlakna deluju protiv gojaznosti:

- prvi pretpostavlja da vlakna istiskuju raspoložive kalorije iz hrane;

- drugi je zasnovan na uverenju da vlakna uzrokuju povećanje sitosti;
- treći mehanizam utvrđuje da vlakna smanjuju efikasnost apsorpcije tankog creva (Kasprzak i sar., 2018).

Pored zdravstvenih koristi, hranljiva vlakna su značajna i zbog svojih funkcionalnih karakteristika u prehrambenim proizvodima u kojima su dodata: povećavaju sposobnost zadržavanja vode i ulja, formiranja gela, poboljšavaju oksidativnu stabilnost, stabilnost emulzija, teksturu i senzorne karakteristike (Gerloth i Ranotra, 2001; Kunzek i sar., 2002; Dikeman i Fahey, 2006; Collar i sar., 2009; Elleuch i sar., 2011; Dhingra i sar., 2012; Younas i sar., 2015). Pored toga, mogu povećati stabilnost hrane tokom proizvodnje i skladištenja (Lebesi i Tzia, 2011).

Dodatkom nusproizvoda prehrambene industrije, kao nosilaca hranljivih vlakana, dolazi do modifikacije fizičko-hemijskih karakteristika kako testa, tako i hleba. Prehrambena vlakna imaju izražene efekte na svojstva testa, omogućavajući mu veću apsorpciju vode i žilavost, i manju rastegljivost u poređenju sa kontrolnim uzorcima dobijenim bez dodavanja vlakana. Što se tiče uticaja na svojstva hleba, vlakna produžavaju rok trajanja, što su potvrdile studije o teksturi. Senzornim ispitivanjima je otkriveno da se prehrambena vlakna, osim onih iz kafe i kakaoa, mogu dodavati belom brašnu u količini do 2 %, a da ne dođe do pogoršanja ukusa hleba. Dodatak od 5 % vlakana može iziskivati dodavanje nekih aditiva, u cilju korekcije reoloških karakteristika testa (Gomez i sar., 2003). Hranljiva vlakna, inkorporirana u pšenično brašno, reaguju direktno sa glutenom i utiču na formiranje gluten-skrob mreže. Višak nerastvorljivih vlakana imao je negativan uticaj na formiranje glutenske mreže i smanjivao je kvalitet hleba zbog efekta razblaživanja glutena ili interakcije gluten-vlakna (Masoodi i Chauhan 1998; Wang i sar., 2003; Kaack i sar. 2006; Chang i sar., 2015).

Zbog svega navedenog, proizvođači hrane odgovoraju na zahteve potrošača njihovim potrebama za hranom sa većim sadržajem vlakana, razvojem proizvoda u kojima se koriste sirovine bogate vlaknima, kao što su cela zrna žita, voće i povrće (Nelson, 2001). Preporuka za unos vlakana je, pre svega, povezana sa uzrastom, polom i energetske potrebama. Za muškarce sa potrebnim dnevnim unosom energije od 2600 kcal i za žene od 2000 kcal, preporučuje se konzumiranje 36 g/dan, odnosno, 28 g/dan vlakana, redom (Anderson i sar. 2009).

Pšenica (*Triticum aestivum*) je glavno žito od koga se proizvodi hleb, zbog toga što pšenično brašno poseduje željene karakteristike pečenja koje potiču od sadržaja glutena u pšenici (Dewettnick i sar., 2008). Brašna bogata proteinima, dobijena iz različitih biljnih izvora, uspešno se koriste u proizvodnji hleba, kako bi se dobili visokoproteinski hlebovi, sa poboljšanim aminokiselinskim odnosom. Konzumiranjem ovih proizvoda, povećava se dnevni unos proteina. Neke studije izvedene su u cilju obogaćivanja hleba različitim biljnim sirovinama bogatim proteinima ili njihovim brašnima, kao što su leblebije (Mohammed i sar., 2012), kesten (Dall'Asta i sar., 2013), pirinač i soja (Tharise i sar., 2014), čia (Coelho i Salas-Mellado, 2015), koštice kajsija (Dhen i sar., 2018). Pogodnom eksploatacijom prirodnih sirovina, bogatih proteinima, postiže se ekonomičan postupak obogaćivanja hleba (Ohimain, 2014; Dhen i sar., 2018).

3. CILJ RADA

Iz godine u godinu, sa povećanjem količine proizvedenih jabuka, raste i količina agroindustrijskog otpada koji se dobija od njihove prerade u raznovrsne proizvode. Navedeni otpad je klasifikovan kao čvrst otpad i može predstavljati potencijalno veliki problem zbog mogućnosti negativnog uticaja na životnu sredinu, a tu su i dodatni troškovi fabrika za preradu voća koji se odnose na odlaganje tog otpada. S druge strane, zahvaljujući svojoj biološkoj vrednosti, otpad od prerade jabuka, a pre svega semenke, predstavlja vrednu sirovinu sa dosta hranljivih materija (ulje, sirova vlakna, polifenoli, proteini), što nudi mogućnosti za njeno dalje iskorišćenje.

Podaci iz literature o mogućnostima iskorišćenja semenki jabuke su malobrojni. S obzirom da kod nas, još uvek, nije razrađen postupak za izdvajanje ulja iz semenki jabuke, niti je izvršena njegova fizičko-hemijska karakterizacija, jedan od osnovnih ciljeva doktorata biće određivanje svih relevantnih fizičko-hemijskih karakteristika hladno ceđenog ulja dobijenog iz semenki tri sorte jabuka, što će obuhvatiti određivanje sadržaja slobodnih masnih kiselina, identifikaciju ulja (indeks refrakcije, jodni, saponifikacioni broj), određivanje nutritivne vrednosti (sadržaj i sastav masnih kiselina, izomera tokoferola i ukupnih polifenola), ispitivanje antioksidativne aktivnosti (DPPH i ABTS), stabilnosti i održivosti ulja (peroksidni, anisidinski broj, sadržaj konjugovanih diena i triena, Rancimat test i oksidativna stabilnost na osnovu DSC testa).

U doktoratu biće istražene i mogućnosti inkapsulacije ulja u odgovarajuće nosače. Cilj je da se dobiju suvi inkapsulati koji omogućavaju lakšu manipulaciju uljem tokom njegovog daljeg korišćenja, ali i pružaju izvestan stepen zaštite od nepovoljnih uslova spoljašnje sredine, kao što su povišena temperatura i kiseonik. Za inkapsulaciju su korišćene sledeće tehnike: inkapsulacija ulja u gelu na bazi kalcijum-alginata tj. u čestice kalcijum-alginata i metoda sprej sušenja.

Treći pravac istraživanja biće usmeren ka iskorišćenju pogače koja ostaje nakon ceđenja semenki. Cilj je da se utvrdi uticaj dodatka različitih udela mlevene obezmašćene pogače semenki jabuka, kao delimične zamene za pšenično brašno, na boju, nutritivna, antioksidativna, teksturna i senzorna svojstva hleba. Hlebovi obogaćeni obezmašćenom pogačom će biti upoređeni sa kontrolnim uzorkom, koji je bez dodatka obezmašćene pogače.

Krajnji ishod koji se očekuje od ovog istraživanja je, da se pokaže da ulje semenki jabuke, inkapsulati ulja i obezmašćena pogača od iscedenih semenki mogu imati svoju upotrebnu vrednost, čime semenska jabuka postiže maksimalnu iskorišćenost.

4. MATERIJALI I METODE RADA

4.1. Materijali

Kao polazna sirovina za istraživanje, korišćene su semenke tri sorte jabuka: Ajdared, Zlatni Delišeš i Šumatovka. Jabuke su proizvedene na individualnom poljoprivrednom gazdinstvu (selo Šuljkovac, Jagodina), od kojih je poslednja stara autohtona srpska sorta. Semenke su vađene ručno iz celih plodova.

Pre ceđenja ulja, semenke su osušene u konvektivnoj sušnici (DHG-9140A, EU instruments, Španija), 5h na temperaturi $55\pm 1^{\circ}\text{C}$, kao što je opisano kod autora (Gornas i sar., 2014a; Gornas i sar., 2014b; Gornas, 2015a), kako bi se pripremile za postupak ceđenja. Osušene semenke su čuvane u zatvorenim plastičnim kesama, na tamnom mestu, pri temperaturi od $+4^{\circ}\text{C}$ do momenta ceđenja ulja.

4.2. Izdvajanje ulja iz semenki jabuka

Za izdvajanje ulja iz semenki jabuka korišćen je postupak hladnog ceđenja, koji podrazumeva da se prethodno pripremljene, osušene semenke, podvrgavaju mehaničkom dejstvu kontinualne pužne prese, koja primenom pritiska cedi ulje. U ovom radu je korišćena pužna presa kapaciteta 2 kg/h, snage 650W (OP650W, Gorenje, Slovenija) (slika 4.1). Dobijeno hladno ceđeno ulje je posle 24h dekantovano, kako bi se odvojilo od taloga. Do momenta analize je čuvano u tamnim staklenim bočicama, u atmosferi azota, na temperaturi $+4^{\circ}\text{C}$.



Slika 4.1. Aparat za dobijanje hladno ceđenog ulja
(<https://static.2014.gorenje.cc/>)

4.3. Metode ispitivanja hemijskog sastava semenki jabuka

4.3.1. Određivanje sadržaja vlage

Sadržaj vlage je određivan gravimetrijskom metodom (SRPS EN ISO 665:2020). Odgovarajuća masa uzorka podvrgavana je sušenju do konstantne mase u sušnici na temperaturi od 105°C. Sadržaj vlage (V) je izražen u masenim procentima i određen pomoću formule:

$$V = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad (4.1)$$

gde je:

m_0 – masa prazne posude (g);

m_1 – masa posude sa uzorkom pre sušenja (g);

m_2 – masa posude sa osušenim uzorkom (g).

4.3.2. Određivanje sadržaja sirovih proteina

Za određivanje sadržaja sirovih proteina primenjavana je standardna metoda po Kjeldalu (SRPS ISO 1871:2013) kojom se određuje sadržaj azota u ispitivanom uzorku. Metoda po Kjeldalu zasnovana je na zagrevanju ispitivanog uzorka zajedno sa koncentrovanom sumpornom kiselinom, pri čemu dolazi do razlaganja organske materije uzorka do ugljene kiseline. Kao katalizator reakcije korišćen je bakar(II)-sulfat. U ovoj reakciji dolazi do oslobađanja azota koji sa sumpornom kiselinom gradi amonijum-sulfat. Tako pripremljenom uzorku dodata je baza NaOH u višku, pri čemu se iz amonijum-sulfata oslobodio amonijak, koji je podvrgnut destilaciji, pa se dobijeni destilat titrisao rastvorom sumporne kiseline. Na osnovu utroška rastvora sumporne kiseline za titraciju slepe probe i analiziranog uzorka, izračunat je sadržaj azota. Dobijena vrednost pomnožena je korekcionim faktorom 6,25 i tako dobijen sadržaj sirovih proteina u uzorku.

$$N (\%) = \frac{(V_0 - V_1) \cdot T \cdot 1,4}{m} \quad (4.2)$$

gde je:

N – sadržaj azota u masenim procentima (%);

V_0 – zapremina (ml) sumporne kiseline utrošena za slepu probu;

V_1 – zapremina (ml) sumporne kiseline utrošena za uzorak;

T – molaritet sumporne kiseline (mol/l) korišćene za titraciju;

m – masa uzorka (g).

4.3.3. Određivanje sadržaja ukupnog pepela

Sadržaj ukupnog pepela je određen korišćenjem standardne metode (SRPS ISO 749:2014). Prema ovoj metodi, odmereno je 5-10 g uzorka u prethodno izarenu, ohlađenu i izmerenu teglicu. Uzorak sa teglicom se sušio u sušnici pri temperaturi od 105°C, sve dok sva količina vode nije isparila. Potom je uzorak spaljivan na malom plamenu do prestanka razvijanja gustih crnih para. Posle toga je teglica stavljena u peć za žarenje, gde temperatura ne sme da pređe 525°C. Uzorak se žario do pojave sivobelog pepela, a vreme žarenja je bilo 6-8 h. Teglica sa izarenim uzorkom se hladila u eksikatoru i izmerena joj je masa. Sadržaj pepela u uzorku je izračunat pomoću formule:

$$\% \text{ pepela} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad (4.3)$$

gde je:

m_0 – masa prazne teglice (g);

m_1 – masa teglice sa uzorkom pre žarenja (g);

m_2 - masa teglice sa izarenim uzorkom (g).

4.3.4. Određivanje ukupnog sadržaja ulja

Za određivanje ukupnog sadržaja ulja korišćena je referentna metoda ekstrakcije po Soxhlet-u (SRPS EN ISO 659:2011). Od pripremljenog uzorka semenki odmeravano je 10 g sa tačnošću od 0,001 g u celuloznu hilznu, na čije je dno stavljana vata i uzorak je odozgo pokrivan vatom. Hilzna sa uzorkom je prebačena u čašu od 100 ml i sušena 1 h na 105°C. U isto vreme, čist i suv balon, koji odgovara aparaturi po Soxhlet-u, sušen je 1 h na 105°C, ohlađen u eksikatoru 45 minuta i izmeren sa tačnošću od 0,001 g.

Pre sklapanja aparature po Soxhlet-u, u ekstraktor je stavljena hilzna sa uzorkom, a čaša, u kojoj je stajao uzorak, je isprana petroletrom koji se sipa preko uzorka u ekstraktor. Petroletar je dolivan u ekstraktor sve dok, preko cevi, cela količina iz ekstraktora nije presifonirala u balon.

Ekstrakcija je trajala 5–6 h, dok petroletar nije prešao 6 – 10 puta iz ekstraktora u balon. Posle završene ekstrakcije, višak petroletra iz balona uklonjen destilacijom na vakuum uparivaču. Balon je sušen u sušnici na 105°C do konstantne mase. Sadržaj ulja iz uzorka je izračunat pomoću formule:

$$\% \text{ ulja} = \frac{\text{masa ulja u balonu posle sušenja}}{\text{masa uzorka}} \cdot 100 \quad (4.4)$$

4.4. Metode ispitivanja fizičko-hemijskih karakteristika ulja semenki jabuka

4.4.1. Određivanje kiselinskog broja i kiselosti ulja

Za određivanje kiselinskog broja i kiselosti ulja, odnosno, sadržaja slobodnih masnih kiselina, korišćena je standardna metoda (SRPS EN ISO 660:2015). Masa uzorka ulja za ispitivanje je rastvorena u prethodno neutralisanoj smeši dietiletar – etanol (1:1), jer dietiletar reaguje kiselo, pa bi se moglo dogoditi da deo baze bude utrošen na neutralizaciju kiselina iz dietiletra. Rastvor je titrisan 0,1 mol/l rastvorom kalijum hidroksida, uz nekoliko kapi indikatora fenolftaleina. Kraj titracije označen je pojavom bledoružičaste boje fenolftaleina u neutralnoj sredini. Utrošak kalijum hidroksida (KOH) proporcionalan je sadržaju slobodnih masnih kiselina (SMK) prisutnih u uzorku ulja.

Kiselost ulja, se može izraziti kao:

- Kiselinski broj (Kbr) – označava mg KOH potrebnih za neutralizaciju SMK u 1g ulja;
- Kiselinski stepen – broj ml rastvora NaOH koncentracije 1 mol/l potrebnih za neutralizaciju SMK u 100 g ulja;
- Sadržaj SMK predstavlja maseni procenat slobodnih masnih kiselina u ulju, računat za “karakterističnu” masnu kiselinu za datu vrstu ulja. Ako je rezultat prikazan jednostavno kao kiselost, onda je ona izražena kao oleinska kiselina.

Kiselinski broj se izračunava po formuli:

$$\text{kiselinski broj (mg KOH/g)} = \frac{56,1 \cdot V \cdot c}{m} \quad (4.5)$$

gde je:

V – zapremina (ml) utrošenog standardnog rastvora KOH;
c - tačna koncentracija (mol/l) upotrebljenog standardnog rastvora KOH;
m – masa uzorka ulja uzeta za ispitivanje (u gramima).

4.4.2. Metode za identifikaciju ulja

4.4.2.1. Određivanje gustine ulja

Gustina ulja je određena standardnom metodom SRPS ISO (6883:2003) korišćenjem piknometra. Najpre je izmerena masa praznog, opranog i osušenog piknometra, zajedno sa zatvaračem na analitičkoj vagi. Potom je piknometar izbaždaren, tako što je napunjen destilovanom vodom i izmerena je njegova masa zajedno sa destilovanom vodom. Na kraju je piknometar bio napunjen uzorkom ispitivanog ulja i potom je izmerena masa ulja sa piknometrom.

Gustina uzorka ulja se određuje pomoću formule:

$$\rho = \rho_0 \times \frac{m_{\text{uzorka+piknometra}} - m_{\text{praznog piknometra}}}{m_{\text{destilovane vode+piknometra}} - m_{\text{praznog piknometra}}} \quad (4.6)$$

gde je:

ρ_0 - zapreminska masa vode na odgovarajućoj temperaturi.

4.4.2.2. Određivanje indeksa refrakcije

Za određivanje indeksa refrakcije ulja upotrebljen je refraktometar po Abbe-u. Označava se sa n_D^t , gde je t temperatura u °C, a D talasna dužina upadne svetlosti (standardna metoda SRPS EN ISO 6320:2017).

Indeks refrakcije zavisi od talasne dužine upadne svetlosti i temperature. Ako drugačije nije utvrđeno, koristi se monohromatska svetlost talasne dužine natrijumove D-linije 589,6 nm. Kao referentna temperatura za biljna ulja uzima se 20°C. Tačnost merenja Abbe-ovog refraktometra je $\pm 0,0001$, i to, za indeks refrakcije ulja u opsegu $n_D = 1,300 - 1,700$.

4.4.2.3. Određivanje jodnog broja

Za određivanje jodnog broja, korišćena je standardna metoda po Wijisu (SRPS EN ISO 3961:2019). Najpre je rastvorena odgovarajuća masa uzorka ulja u smeši cikloheksana i glacijalne sirćetne kiseline i dodat je Wijsov reagens (rastvor JCl u sirćetnoj kiselini, koji mora biti u višku). Smeša je ostavljena izvesno vreme kako bi se izvršila adicija JCl na dvostruke veze masnih kiselina. Potom je dodat rastvor KJ, usled čega se izdvojio elementarni jod iz viška JCl. Oslobođeni jod je titrisan rastvorom 0,1 mol/l natrijum-tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), uz nekoliko kapi skroba kao indikatora, koji sa jodom nagrađuje plavu boju. Rastvor je oprezno titrisan do nestanka plave boje usled nastalog natrijum-tetrionata ($\text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6$). Istovremeno je, i na isti način, urađena slepa proba (bez uzorka). Pomoću slepe probe je utvrđena tačna količina JCl koja je bila na raspolaganju za adiciju. Kada je od količine JCl iz slepe probe oduzeta količina JCl koja je ostala u višku, dobijena je količina JCl koja je utrošena za adiciju, što pokazuje jodni broj uzorka.

Izračunavanje jodnog broja:

$$\text{Jodni broj (g/100g uzorka)} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 12,69 \cdot c}{m} \quad (4.7)$$

gde je:

V_0 – utrošak 0,1 mol/l rastvora $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml), za slepu probu;

V_1 – utrošak 0,1 mol/l rastvora $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml), za glavnu probu;

c - tačna koncentracija (mol/l) upotrebljenog standardnog rastvora natrijum-tiosulfata;

m – masa uzorka ulja uzeta za ispitivanje.

4.4.2.4. Određivanje saponifikacionog broja

Za određivanje saponifikacionog broja korišćena je standardna metoda (SRPS EN ISO 3657:2014). 2 g uzorka ulja je rastvoreno u 25 ml etanolnog rastvora KOH. Smeša je stavljena na kuvanje, najmanje 60 minuta uz povremeno mešanje, u erlenmajer koji je spojen sa povratnim hladnjakom i stavljen na vodeno kupatilo. Po završetku reakcije, višak KOH, koji nije utrošen za saponifikaciju, određen je titracijom 0,5 mol/l rastvorom HCl u prisustvu indikatora fenolftaleina, do nestanka boje. U isto vreme je rađena slepa proba.

Izračunavanje saponifikacionog broja zasnovano je na razlici utrošenih mililitara 0,5 mol/l HCl za titraciju slepe i glavne probe, koja pokazuje koliko je rastvora KOH utrošeno za saponifikaciju ulja:

$$\text{Saponifikacioni broj (mg KOH/g)} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 56,1 \cdot c}{m} \quad (4.8)$$

gde je:

V_0 – utrošak 0,5 mol/l rastvora HCl u mililitrima, za slepu probu;

V_1 - utrošak 0,5 mol/l rastvora HCl u mililitrima, za glavnu probu;

c - tačna koncentracija (mol/l) upotrebljenog standardnog rastvora kalijum-hidroksida;

m – masa uzorka ulja za ispitivanje.

4.5. Metode određivanja nutritivne vrednosti ulja

4.5.1. Određivanje sadržaja i sastava masnih kiselina

Priprema metilestara masnih kiselina izvršena je prema standardnoj metodi (SRPS EN ISO 12966-2:2017). Metodom gasne hromatografije, prema standardu (SRPS EN ISO 12966-1:2015), na gasnom hromatografu (Agilent Technologies 6890, SAD) sa split-splitless injektorom, plameno-jonizacionim detektorom (FID) i kapilarnom kolonom Supelco SP-2560 (100 m dužina x 0,25 mm unutrašnji prečnik x 0,20 μm debljina filma, Supelco, Bellefonte, USA), izvršeno je razdvajanje metilestara i njihova detekcija. Kao mobilna faza korišćen je helijum protoka 5 ml/min. Temperature injektora i detektora bile su 250 °C i 260 °C, redom. Injektovana zapremina je bila 1 μl , a odnos raspodele injektora je podešen na 20:1. Temperatura kolone je programirana sa početnih 50 °C (održavana 5 minuta) do 240 °C (održavana 20 minuta), uz linearnu promenu temperature 4 °C/min. Hromatografski pikovi u uzorku su identifikovani poređenjem relativnih retencionih vremena metilestara masnih kiselina iz uzoraka sa standardnom mešavinom metilestara Supelco 37 Component (Supelco, Bellefonte, SAD).

Sadržaj masnih kiselina je računat u mg/g lipida i izražen, u relativnoj količini, kao maseni procenat od ukupnih masnih kiselina.

4.5.2. Određivanja sadržaja izomera tokoferola

Najčešće korišćena analitička tehnika za određivanje tokoferola i tokotrienola je HPLC hromatografija (Bada i sar., 2014; Pieszka i sar., 2014; Matthaus i Ozcan, 2015; Gornas, 2015a; Da Silva i Jorge, 2017). Zbog bolje ponovljivosti, reproduktivnosti, brzine i ekoloških razloga, HPLC sa reverznom fazom (*Reverse Phase – High Performance Liquid Chromatography* RP-HPLC) (Chena i sar., 2011; Gornas, 2015a) je češće korišćena od HPLC sa normalnom fazom (*Normal Phase – High Performance Liquid Chromatography* NP-HPLC) (Pieszka et al., 2014), ali je pokazala nedostatak, jer ne može da razdvoji β - i γ - izomere (Gornas, 2015a), pa je zato sadržaj β - i γ - izomera, u ovom istraživanju, prikazan kao ukupan $\beta + \gamma$.

U ovom istraživanju, sadržaj i sastav izomera tokoferola je određen na način koji je opisan u radovima (Rabrenovic, 2011; Bjelica, 2019). Za analizu je odmeravano 0,5 ml uzorka ulja koji je rastvaran u 20 ml 96 % etanola, 0,12 ml pirogalola i 3 ml vodenog rastvora kalijum hidroksida (8,9 mol/l), uz zagrevanje 30 minuta na 60 °C, sa reflusom i mešanjem, kako bi se izvršila saponifikacija. Nakon završetka reakcije, rastvor je ohlađen i prenet u normalni sud od 50 ml, uz dopunu do crte 96 % etanolom. Alikvot od 5 ml je odmeravan u epruvetu sa šlifovanim zapašaćem, uz dodatak jednakih zapremina dejonizovane vode i heksana, a zatim je 3 minuta mešan u vorteksu. Potom je uzeto 4 ml rastvora koji je, zatim, osušen u struji inertnog gasa azota, čime je dobijena uparena masa koja je rastvorena dodatkom 4 ml metanola. Nakon filtriranja kroz membranski špic-filter (Cronus Syringe Filter Nylon 25 mm, 0,45 μ m, Cronus, Velika Britanija), 10 μ l ovog rastvora je injektovano u HPLC sistem, sledećih karakteristika:

- HPLC uređaj: Waters M600E, USA;
- eluiranje: izokratsko;
- mobilna faza: 95 % CH₃OH, brzina protoka 1,0 ml/min;
- injektor: Rheodyne 7125;
- kolona: reverzno-fazna Nucleosil 50-5 C18.

Spektrofotometrijska detekcija je urađena na fluorescentnom detektoru RF/535 (Shimadzu, Japan) na talasnim dužinama 295 nm za ekscitaciju i 330 nm za emisiju. Na isti način su pripremani radni rastvori standardnih supstanci tokoferola proizvođača Sigma Co (Supelco, SAD). Sadržaj tokoferola je određen metodom standardne krive, nakon što je izvršena njena validacija (serija standardnih rastvora od 0,01 do 0,5 mg/ml). Vreme hromatografske analize bilo je 15 minuta.

4.5.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola

Za određivanje sadržaja ukupnih polifenola najpre je izvršena njihova ekstrakcija iz ispitivanih ulja. Polarni ekstrakti iz ulja semenki jabuka su dobijeni na osnovu postupaka opisanih u literaturi (Parry i sar., 2005; Marfil i sar., 2011; Šarolić i sar., 2014), uz modifikacije. Po 2 g ulja, od svakog uzorka, dodato je u 8 ml rastvora metanol/voda (80/20, v/v) i 4 ml heksana. Izvršeno je snažno mešanje rastvorenih uzoraka ulja u vorteksu (EV-100, Tehnica, Železniki) 10 minuta. Potom su uzorci stavljeni na centrifugiranje (10 min na 8000 o/min., Boeco U-320, Nemačka), kako bi se razdvojili polarni i nepolarni deo rastvora. Postupak je ponovljen još dva puta, pri čemu je u nepolarnu frakciju dodavano po 8 ml rastvora metanol/voda (80/20 v/v). Na ovaj način su, za svaki uzorak ulja, dobijene tri polarne frakcije koje su združene, profiltrirane kroz kvantitativni filter papir i uparavane u staklenim balonima pod vakuumom na 50 °C u vakuum uparivaču (Laborota 4000 efficient, Heidolph) do suvog ostatka. Upareni ekstrakti su rastvoreni u 4,5 ml rastvora metanol/voda (80/20, v/v), a potom razdeljeni u ependorf test tube i čuvani u zamrzivaču na -20 °C, do momenta upotrebe. Dobijeni polarni ekstrakti su korišćeni i za ispitivanje antioksidativne aktivnosti uzoraka ulja.

Sadržaj ukupnih polifenola je određen, kvantitativno, spektrofotometrijskom metodom po Folin-Ciocalteu, kao što je opisano u literaturi (Singleton i sar., 1999; Parry i sar., 2005; Bail i sar., 2008). Procedura, u ovom istraživanju, je blago modifikovana, kako bi se dobile odgovarajuće apsorbancije. 0,2 ml prethodnog pripremljenog polarnog ekstrakta od svakog uzorka ulja (ili standardnog rastvora) je rastvoreno u 1,4 ml vode i dodato je 0,1 ml rastvora Folin-Ciocalteu reagensa (Sigma Aldrich, Nemačka). Posle 5 minuta je dodato 0,3 ml 10 % (w/v) Na₂CO₃. Pripremljeni rastvori su držani u mraku 30 minuta, posle čega su merene apsorbancije na 765 nm na uređaju Shimadzu UV 1650 PC. Rezultujuće plavo obojenje proporcionalno je ukupnoj količini polifenola prisutnih u ispitivanim uzorcima. Galna kiselina je korišćena kao standard za dobijanje kalibracione prave. Rezultati su izraženi kao miligram ekvivalenti galne kiseline na 100 g ulja (mg/100 g). Merenja su vršena u triplikatu.

4.6. Metode određivanja oksidativne stabilnosti i održivosti ulja

4.6.1. Određivanje peroksidnog broja

Po definiciji, peroksidni broj predstavlja količinu aktivnog kiseonika u uljima ili mastima, koja je proporcionalna količini oslobođenog joda iz KJ, pri propisanim uslovima izvođenja metode, a izražava se u mmol/kg ulja ili masti. Za izražavanje peroksidnog broja koriste se i druge jedinice, pri čemu se rezultat množi konverzionim faktorom u odnosu na jedinicu miliekvivalent po kilogramu (meq/kg) (tabela 4.1), jer se ova jedinica najčešće sreće u literaturi (Dimić i Turkulov, 2000).

Tabela 4.1. Konverzioni faktor za izražavanje peroksidnog broja

jedinica za izražavanje peroksidnog broja	Konverzioni faktor
miliekvivalent/kg	1
milimol/kg	0,5
mikrogram/kg	8

Za određivanje peroksidnog broja korišćena je standardna metoda jodometrijske titracije (SRPS EN ISO 3960:2017). Uzorak ulja rastvoren je u 50 ml sveže pripremljene smeše glacijalne sirćetne kiseline i hloroforma u odnosu 3:2, a zatim je dodato 0,5 ml zasićenog rastvora kalijum jodida. Sadržaj je mešan na magnetnoj mešalici 1 minut, potom mu je dodato 30 ml vode, uz energično mešanje, i 10 kapi rastvora skroba koji, sa oslobođenim jodom daje plavu boju rastvoru. Količina slobodnog joda je određena titracijom 0,01 mol/l Na₂S₂O₃ do nestanka poslednje nijanse plave boje, uz snažno mešanje pri kraju titracije, kako bi se i poslednji tragovi joda oslobodili iz hloroforma. Istovremeno je rađena i slepa proba, pri čemu potrošnja 0,01 mol/l Na₂S₂O₃ nije veća od 0,1 ml.

$$\text{Peroksidni broj (mmol/kg)} = \frac{(V_1 - V_0) \cdot c \cdot 500}{m} \quad (4.9)$$

gde je:

V₁ – utrošak 0,01 mol/l rastvora Na₂S₂O₃ (ml), za glavnu probu;

V₀ – utrošak 0,01 mol/l rastvora Na₂S₂O₃ (ml), za slepu probu;

c - tačna koncentracija (mol/l) upotrebljenog standardnog rastvora natrijum-tiosulfata;

m – masa uzorka ulja uzeta za ispitivanje.

4.6.2. Određivanje anisidinskog broja

Postupak određivanja anisidinskog broja je zasnovan na standardnoj metodi (SRPS EN ISO 6885:2017). Određivanje anisidinskog broja se bazira na reakciji p-anisidina sa višim nezasićenim aldehidima, pri čemu nastaju Šifove (*Schiff*) baze koje apsorbuju u ultraljubičastoj oblasti, na talasnoj dužini 330-350 nm. To znači da se količina prisutnih karbonilnih jedinjenja u ulju meri kao apsorbancija rastvora ulja nakon reakcije sa p-anisidinom na talasnoj dužini od 350 nm. Vrednost ove apsorbancije pomnožena sa 100 daje anisidinski broj.

Najpre je pripremljen p-anisidinski reagens. Priprema ovog reagensa se obavlja pred sam početak analize, jer njegova apsorbancija ne sme da bude veća od 0,2. Odmereno je 0,125 g p-anisidina i rastvoreno u 50 ml glacijalne sirćetne kiseline. Uzorak A₁ pripremljen je rastvaranjem uzoraka ulja u heksanu, tako da vrednost njegove apsorbancije bude u granicama 0,2–0,8. Da bi se odredila apsorbancija proreagovanog uzorka A₁, u ependorf test tubu sa rastvorom uzorka (800 µl), dodato je 160 µl p-anisidinskog reagensa i nakon mešanja na vorteksu i inkubacije od 10 minuta u mraku, određena je apsorbancija na 350 nm, u odnosu na heksan. Na istoj talasnoj dužini je određena apsorbancija neproreagovanog uzorka A₀, koji je pripremljen na isti način kao i uzorak A₁, s tom razlikom, što je umesto p-anisidinskog reagensa, korišćena ista količina glacijalne sirćetne kiseline.

Za slepu probu (A₂), umesto rastvora uzorka, upotrebljen je heksan (800 µl), uz dodatak 160 µl p-anisidinskog reagensa. Anisidinski broj je bezdimenzionalna vrednost koja se računa prema formuli:

$$Abr = V \times \frac{[1,2 \times (A_1 - A_2 - A_0)]}{m} \quad (4.10)$$

gde su:

A₀ – apsorbancija rastvora uzorka bez p-anisidina;

A₁ – apsorbancija rastvora uzorka sa p-anisidinom;

A₂ – apsorbancija slepe probe; m – masa uzorka za ispitivanje (g);

V - zapremina heksana koja je upotrebljena za rastvaranje uzorka ulja (ml);

Ispitivani uzorak je imao faktor razblaženja 1,2 zbog dodatka glacijalne sirćetne kiseline.

Na osnovu peroksidnog i anisidinskog broja može da se izračuna oksidativna vrednost (OV) ulja, koja je pokazatelj sadržaja primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, prema sledejoj formuli (Dimić i Turkulov, 2000): $OV = 2 \times Pbr + Abr$

4.6.3. Određivanje sadržaja konjugovanih diena i triena

Konjugovani dieni (*Conjugated Diene* - CD) i trieni (*Conjugated Triene* – CT), određivani su u uzorcima ulja koji su rastvarani u n-heksanu, radi merenja apsorbancije na 232 nm, odnosno, 270 nm, redom, prema standardnoj metodi IUPAC (1987). Podešavanje koncentracije ispitivanih uzoraka ulja se obavlja tako da se vrednosti apsorbancije kreću u intervalu 0,2-0,8. Vrednosti apsorbancije, očitane sa spektrofotometra, se izražavaju u odnosu na koncentraciju uzoraka ulja od 1 g na 100 ml. Na ovaj način su dobijene specifične apsorbancije na talasnim dužinama 232 i 270 nm, koje se definišu kao apsorbancije rastvora ulja koncentracije 1 % (1g/100 ml), izmerene u kivetu debljine 1 cm, na osnovu kojih se izračunava sadržaj konjugovanih diena i triena u uzorcima ulja, prema sledećim formulama, redom:

$$CD = \frac{A_{232}}{c \times b} \quad (4.11)$$

$$CT = \frac{A_{270}}{c \times b} \quad (4.12)$$

gde je:

A - apsorbancija ispitivanog uzorka na 232 ili 270 nm;

c - koncentracija ispitivanog uzorka, u g/100 ml;

b - debljina kivete, u cm.

4.6.4. Određivanje održivosti ulja Rancimat testom

Određivanje indukcionog perioda (h) radi ispitivanja održivosti ulja je zasnovano na principima Rancimat testa, koga je Američko udruženje za ulje standardizovalo kao metodu, pod oznakom *AOCS Standard Method Cd 12b:1992*.

U kivete za testiranje odmeravano je po 2,5g ulja. Ulje je zagrevano na 100°C, uz protok vazduha kroz uzorke 20 l/h, u Rancimat aparatu, model 743 (Methrom, Herisau, Switzerland). Uzorci su temperirani 10 minuta.

4.6.5. Određivanje oksidativne stabilnosti ulja DSC testom

Za određivanje oksidativne stabilnosti ulja primenjena je DSC neizotermalna metoda. U ovu svrhu korišćen je diferencijalno-skenirajući kalorimetar Setaram TG-DSC 111, sa termovagom (Tan i Che Man, 2002; Ulkowski i sar., 2005; Malićanin i sar., 2014).

Ispitivanje je izvršeno u atmosferi sintetičkog vazduha (Messer Tehnogas AD, Srbija), čiji je protok bio 30 ml/min i pritisak 1 atm. Količina uzorka ulja 10±2 mg je stavljena u kvarcne nosače za uzorak. Uzorak je zagrevan od početne temperature 25°C, do krajnje temperature 250°C, uz linearnu brzinu promene temperature 10°C/min. Merenja su vršena u triplikatu.

Rezultat DSC merenja je OOT (*Oxidation Onset Temperature*) temperatura koja karakteriše početak oksidacije i očitava se sa DSC krive.

4.7. Metode određivanja antioksidativne aktivnosti ulja

4.7.1. DPPH test

Antioksidativna aktivnost polarnih ekstrakata ulja, koji su dobijeni po proceduri, opisanoj u poglavlju 4.5.3., je određivana DPPH testom koji je baziran na reakciji antioksidanata, iz ekstrakata ulja sa DPPH radikalima (Brand-Williams i sar., 1995).

1,5 ml polarnog ekstrakta ili standardnog rastvora je pomešano sa 1,5 ml rastvora DPPH koncentracije 2×10^{-4} mol/l. Rastvori su ostavljeni 30 minuta u mraku, nakon čega je vršeno spektrofotometrijsko merenje apsorbancije na uređaju (Shimadzu UV 1650 PC) na 516 nm.

Kalibraciona prava dobijena je korišćenjem rastvora troloksa. Rezultati su izraženi kao mikromol ekvivalenti troloksa na 1 kg ulja (μmol/kg). Merenja su vršena u triplikatu.

U posebnim merenjima ispitivana je kinetika reakcije ekstrakata ulja sa DPPH radikalima. Reakcione smeše, u identičnim odnosima, kao što je ranije navedeno, stavljene su u spektrofotometar 15 sekundi nakon mešanja i vršeno je kontinuirano merenje apsorbancije na 516 nm u vremenu od 20 sati.

4.7.2. ABTS test

Određivanje antioksidativne aktivnosti ekstrakata iz uzoraka ulja je vršeno spektrofotometrijski ABTS testom (Marfil i sar., 2011). Rastvor ABTS⁺ pripremljen je mešanjem 7 mM rastvora ABTS i 2,45 mM kalijum persulfata. Smeša je ostavljena da izreaguje u mraku, na sobnoj temperaturi, tokom 16 časova, i potom je razblažena do vrednosti apsorbancije 1 na 730 nm.

Rastvori za merenje su dobijeni mešanjem 1ml ABTS⁺ i 0,3 ml polarnog ekstrakta ulja, dobijenog po proceduri opisanoj u poglavlju 4.5.3. Merenja su vršena posle pola sata spektrofotometrijski (Shimadzu UV 1650 PC) na 730 nm. Kalibraciona prava je dobijena korišćenjem rastvora troloksa. Rezultati su izraženi u mikromolovima ekvivalenta troloksa po 1 kg ulja ($\mu\text{mol/kg}$). Merenja su izvršena u triplicatu.

4.8. Metode inkapsulacije ulja semenki jabuke

U postupcima inkapsulacije, kao aktivna komponenta, korišćena su hladno ceđena ulja sorti jabuka Ajdared, Zlatni delišes i Šumatovka dobijena prema proceduri opisanoj u poglavlju 4.2. Kao materijali nosača korišćeni su prirodni materijali dozvoljeni za upotrebu u prehrambenoj industriji. Polazni nosač za inkapsulaciju ulja semenki jabuke u čestice na bazi Ca-alginata je bio natrijum-alginat (Carl Roth, Nemačka), dok je kao sredstvo za geliranje korišćen kalcijum-hlorid (Carl Roth, Nemačka). U procesu inkapsulacije ulja iz semenki jabuka, metodom sprej sušenja, kao nosači korišćeni su maltodekstrin dekstroznog ekvivalenta (DE=16-19,9) proizvođača Cargill (Palco, Srbija) i natrijum-alginat (Carl Roth, Nemačka).

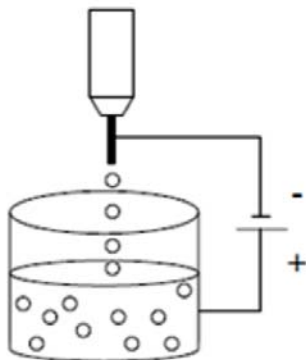
4.8.1. Inkapsulacija ulja semenki jabuke u kalcijum-alginatni gel (čestice)

Rastvor natrijum-alginata (0,02 g/ml) je pripreman rastvaranjem nosača u destilovanoj vodi (na sobnoj temperaturi), uz mešanje na magnetnoj mešalici. Kako bi se izbegla eventualna pojava razdvajanja uljane od vodene faze, priprema emulzije ulje/Na-alginat je vršena neposredno pre same inkapsulacije tj. dobijanja kalcijum-alginatnog gela sa inkapsulisanim uljem. Polazni sadržaj ulja semenki jabuke u odnosu na rastvor alginata je bio 10% w/w. Dobijanje emulzije ulje/Na-alginat je vršeno primenom mehaničkog homogenizatora Ultra-Turrax® T25 (Janke and Kunkel Ika-Labortechnik, Nemačka) pri 10000 o/min, u trajanju od 5 minuta.

Na-alginat gelira u prisustvu divalentnih katjona, pri čemu se formira čvrsti gel. Ukupavanjem rastvora Na-alginata u pogodan rastvor tj. rastvor za geliranje, moguće je dobiti sferne čestice. Kontrola veličine čestica se može vršiti nekom od poznatih ekstruzionih tehnika. U eksperimentalnom delu ove teze je za kontrolu veličine čestica korišćena tehnika elektrostatičke ekstruzije, a prema proceduri koja je data u literaturi (Nedovic i sar., 2001; Lević i sar., 2015). Jedna od glavnih prednosti ove tehnike inkapsulacije je što se njenom primenom mogu dobiti čestice manjih dimenzija, uz minimalne gubitke materijala. Šema procesa dobijanja čestica elektrostatičkom ekstruzijom je predstavljena na slici 4.2.

Za dobijanje čestica kalcijum-alginata sa inkapsulisanim uljem korišćen je uređaj za elektrostatičku ekstruziju VAR V1 (Nisco Engineering Inc., Švajcarska). Emulzija ulje/Na-alginat je potiskivana kroz negativno naelektrisanu iglu od nerđajućeg čelika sa ravnim vrhom prečnika 1,1 mm. Protok emulzije je iznosio 70 ml/h, a sam protok je kontrolisan špic pumpom (Pump 11, Harvard Apparatus, SAD). Za geliranje Na-alginata, tj. dobijanje Ca-alginata, korišćen je rastvor kalcijum-hlorida (0,015 g/ml). Rastvor za geliranje je kod datog inkapsulacionog uređaja spojen sa (+) konekcijom na generatoru napona. Razlika potencijala između pozitivne elektrode (rastvora za

geliranje) i negativne elektrode (igle tj. emulzije) je iznosio 6 kV, a rastojanje između vrha igle i površine rastvora za geliranje je podešeno na 2,5 cm.



Slika 4.2. Pojednostavljena šema procesa elektrostatičke ekstruzije i dobijanja inkapsulata na bazi Ca-alginata sa inkapsulisanim uljem iz semenki jabuke

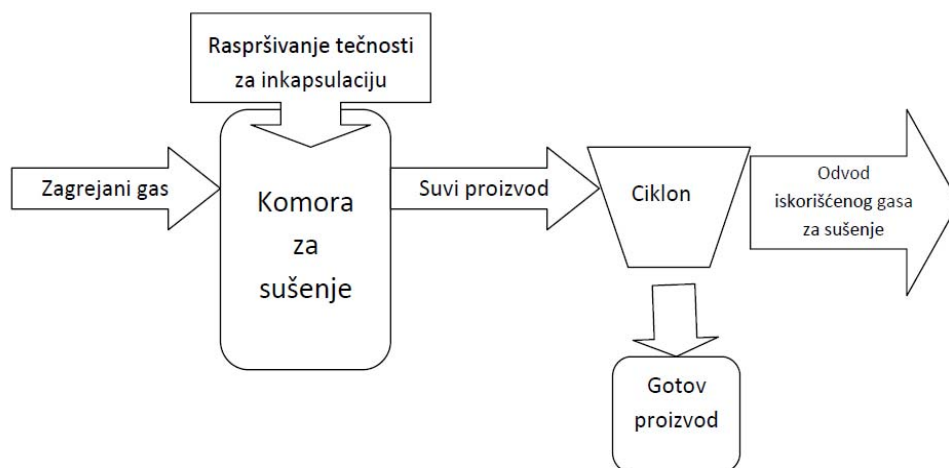
Po završetku procesa elektrostatičke ekstruzije, čestice su ostavljene u rastvoru za geliranje još dodatnih 60 minuta kako bi se obezbedilo što potpunije formiranje Ca-alginata. Nakon perioda geliranja, čestice su odvojene iz rastvora za geliranje pomoću sita i ispirane destilovanom vodom i sušene na sobnoj temperaturi pod sniženim pritiskom (vakuumpumpa KNF Nemačka), do konstantne mase. Osušene čestice su zatim zatvorene u plastične sudove i čuvane do daljih analiza na +4°C. Proces inkapsulacije vršen je u duplikatu.

4.8.2. Inkapsulacija ulja semenki jabuke postupkom sprej sušenja

Proces dobijanja inkapsulata sa uljem iz semenki jabuke, postupkom sprej sušenja, se sastojao iz dva dela:

- Priprema polazne emulzije: pre samog procesa sprej sušenja bilo je neophodno pripremiti stabilnu emulziju ulje/rastvor nosača. Priprema se sastojala u homogenizaciji ulja (10 g) sa 235,5 g 1 % w/w rastvora natrijum alginata, u koji je pre homogenizacije rastvoreno 47 g maltodekstrina. Uloga maltodekstrina je da, pored toga što predstavlja zajedno sa Na-alginatom nosač u procesu inkapsulacije ulja, ujedno predstavlja i pomoćno sredstvo koje olakšava prolaz materijala kroz sekcije sprej sušača. Uslovi homogenizacije: homogenizator Ultra-Turrax® T25 (Janke and Kunkel Ika-Labortechnik, Nemačka), brzina mešalice 12000 o/min, vreme trajanja homogenizacije 4 min. Emulzije su, odmah nakon pripreme, sprej sušene prema postupku opisanom ispod.
- Finalna priprema inkapsulata procesom sprej sušenja: sprej sušenje pripremljenih emulzija ulja i nosača je vršeno pomoću sprej sušača Büchi mini B-290 (Švajcarska). Za ovu namenu, uređaj je opremljen dvokomponentnom diznom unutrašnjeg prečnika 0,7 mm. Kroz unutrašnji otvor dizne se dovodi rastvor za sušenje, a kroz spoljašnji otvor prolazi vazduh za disperziju. Vazduh za disperziju se priprema u kompresoru koji je povezan sa sprej sušačem i njegov pritisak se podešava prema potrebi procesa. Procesni parametri sprej sušenja, korišćeni u ovom radu, su bili: ulazna temperatura vazduha za sušenje 140°C, izlazna temperatura vazduha 80±2°C, pritisak gasa za disperziju je podešen na 0,55 bar, protok gasa za sušenje je 600 l/h, a protok tečnosti tj. emulzije, koja se suši, je iznosio 8 ml/min.

Sam proces inkapsulacije sprej sušenjem se može šematski prikazati kao na slici 4.3.



Slika 4.3. Šematski prikaz procesa sprej sušenja emulzija i dobijanja inkapsulata sa uljem iz semenki jabuke

Finalni proizvod sprej sušenja je u obliku finog praha koji je sakupljan, hermetički pakovan i skladišten na temperaturi od $+4^{\circ}\text{C}$. Proces inkapsulacije vršen je u duplikatu.

4.8.3. Karakterizacija inkapsulata

4.8.3.1. Svetlosna mikroskopija

Morfološke karakteristike vlažnih čestica sa inkapsulisanim uljem jabuke su ispitivane pomoću binokularne lupe Leica XTL-3400D (Leica, Nemačka), opremljenom kamerom Leica-DC 300 (Leica, Nemačka) i računarskim programom za merenje veličine objekata Leica-IM 1000 (Leica, Nemačka).

4.8.3.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Morfološke karakteristike osušenih uzoraka analizirane su skenirajućim elektronskim mikroskopom (JEOL JSM-6390LV, Japan) (slika 4.4) uz prethodno nanošenje zlata na uređaju BALTEC SCD 005. Pre nanošenja sloja zlata, suvi uzorci su postavljeni na nosače pomoću samolepljive trake i, uz blagi pritisak, pričvršćeni za nosač kako bi se izbeglo narušavanje strukture uzoraka.

Kod čestica inkapsulata, dobijenih elektrostatičkom ekstruzijom, određeni su srednji prečnik, faktor sferičnosti i faktor skupljanja, nakon sušenja, što je u skladu sa postupcima opisanim od strane Lević i sar. (2015). Prečnici čestica inkapsulata, dobijeni metodom sprej sušenja, su određeni na bazi SEM fotografija, dok su za istu namenu, kod čestica dobijenih elektrostatičkom ekstruzijom, korišćene fotografije dobijene binokularnom lupom. Za merenje je uzeto najmanje 30 čestica, po uzorku, a samo merenje je obavljeno programom ImageJ.



Slika 4.4. Analiza morfoloških karakteristika osušenih čestica sa inkapsulisanim uljem semenki jabuke u skenirajućem elektronskom mikroskopu (SEM)

4.8.3.3. Određivanje prinosa, sadržaja ulja i efikasnosti inkapsulacije

Prinos inkapsulacije izračunat je korišćenjem sledeće jednačine:

$$\text{prinos inkapsulata} = \frac{\text{masa dobijenog inkapsulata (g)}}{\text{masa polaznih komponenti emulzije (bez vode) (g)}} \times 100 (\%) \quad (4.13)$$

Sadržaj ulja u inkapsulatima određen je ekstrakcijom ulja iz inkapsulata. U slučaju inkapsulata dobijenih metodom elektrostatičke ekstruzije, ekstrakcija je vršena metodom opisanom u radu Levic i sar. (2015), korišćenjem n-heksana i 3% w/v natrijum citrata, u odnosu 1 g inkapsulata / 20 ml natrijum citrata / 5 ml n-heksana. U slučaju inkapsulata dobijenih sprej sušenjem, ekstrakciona smeša sastojala se od vode i n-heksana, u odnosu 1g inkapsulata / 10 ml vode / 2 ml n-heksana. Heterogeni tečno-čvrsti sistem je podvrgnut mešanju (magnetna mešalica IKA RCT Basic) tokom 5 h, na sobnoj temperaturi, u zatvorenim posudama. Organska i vodena faza su odvojene centrifugiranjem (Hettich EBA 21, 14000 o/min, 10 min). Ulje je dobijeno isparavanjem n-heksana, na sobnoj temperaturi, pod smanjenim pritiskom (vakuum pumpa KNF Nemačka), do konstantne mase.

Sadržaj ulja izračunat je na osnovu jedančine:

$$\text{sadržaj ulja u inkapsulatu} = \frac{\text{masa ekstrahovanog ulja (g)}}{\text{masa inkapsulata (bez vode) (g)}} \times 100 (\%) \quad (4.14)$$

Efikasnost inkapsulacije određena je kao kod autora (Abreu i sar., 2012; Piacentini E., 2016):

$$\text{efikasnost inkapsulacije} = \frac{\text{ekstrahovani sadržaj ulja (g)}}{\text{teorijski sadržaj ulja (g)}} \times 100 (\%) \quad (4.15)$$

4.8.4. Uticaj inkapsulacije na oksidativne karakteristike ulja

Procena uticaja inkapsulacije na oksidativnu stabilnost ulja rađena je korišćenjem Schaal ili Oven testa. Uzorci ulja i inkapsulata podvrgnuti su termičkom tretmanu na $63 \pm 2^\circ\text{C}$ tokom četiri dana. Mase inkapsulata odabrane su tako da sadržaj ulja u njima odgovara masi slobodnog ulja korišćenog za Oven test. Po završetku tretmana, ulje iz inkapsulata ekstrahovano je po proceduri opisanoj u poglavlju 4.8.3.3. Step en oksidacije svih uzoraka ulja procenjen je određivanjem peroksidnog broja.

4.9. Priprema i ispitivanje kvaliteta hleba obogaćenog obezmašćenom samlevenom pogačom od semenki jabuka

Pored hladno ceđenog ulja, iz prese je dobijena i obezmašćena pogača, kao ostatak od presovanja semenki jabuka, koja je korišćena u proizvodnji specijalnih obogaćenih hlebova, kao delimična zamena za pšenično brašno, u udelima 5 % i 20 %. Po tri hleba su napravljena za svaki udeo pogače. U svrhu poređenja, kao kontrolni uzorak je napravljen hleb od 100 % pšeničnog brašna. Za proizvodnju hlebova korišćeno je pšenično brašno T-500 (Mlin Čeković, Srbija), sveži kvasac (Alfa, Lessafre), so (Solana Tuzla) i komercijalni aditivi za stabilnost testa i zaštitu od mikrobiološkog kvarenja (Puratos, Srbija).

4.9.1. Postupak pripreme obogaćenih hlebova

Pre upotrebe, obezmašćena pogača je prelivena toplom vodom temperature 50°C u masenom odnosu 1:1, uz stajanje od 30 min. Količina vode, koja je dodavana u testo za pripremu obogaćenih hlebova, varirala je u odnosu na udeo pogače (59 % za hleb sa 5 % pogače i 62 % za hleb sa 20 % pogače). Količina vode za natapanje pogače uračunata je u krajnju količinu vode za zames testa. U isto vreme napravljen je kontrolni uzorak, bez obezmašćene samlevene pogače, uz dodatak 57% vode u zames.

Zames testa je rađen u spiralnom mikseru (Bongard, Francuska) u trajanju od 15 minuta. Posle odmaranja od 10 minuta, testo je podeljeno na manje komade, oblikovano, složeno u kalupe i stavljeno u fermentacionu komoru (Bongard, Francuska) 50 minuta, pri relativnoj vlažnosti od 80% i temperaturi 35°C . Pečenje je obavljeno u pekarskoj peći (Bongard, Francuska) na temperaturi $255\text{--}265^\circ\text{C}$ tokom 35 minuta. Po isteku ovog vremena, hleb je vađen iz kalupa i ostavljen još 5 minuta na istom režimu, a zatim je ohlađen tokom 4-5 h (na temperaturu ispod 30°C). Hleb je isečen i upakovan u polipropilenske vreće. Tako pripremljen hleb je skladišten na sobnoj temperaturi 7 dana. Svi hlebovi su rađeni u tri ponavljanja.

4.9.2. Hemijska analiza obogaćenih hlebova

Uzorci pšeničnog brašna su hemijski analizirani korišćenjem standardnih ICC metoda (1996) 109/1, 104/1 i 105/2 za određivanje sadržaja vlage, pepela i sirovih proteina, respektivno. Za preračunavanje količine azota u sadržaj sirovih proteina u brašnu, korišćen je konverzioni faktor 6,25. U isto vreme urađena je i hemijska analiza hlebova obogaćenih obezmašćenom samlevenom pogačom.

Pripremljeni hlebovi su samleveni u mlinu (Knifetec, Germany). Standardne metode AOAC (2005) korišćene su za određivanje hemijskog sastava pšeničnih hlebova obogaćenih samlevenom pogačom, i to standardi AOAC 934.01, AOAC 942.05 i AOAC 990.03 za određivanje sadržaja vlage, pepela i proteina, redom. Za preračunavanje sadržaja azota u sadržaj sirovih proteina korišćen je konverzioni faktor 6,25. Standardi AOAC 920.39 i AOAC 962.09, korišćeni su za određivanje sadržaja ulja i sirovih vlakana, redom. Sadržaj ukupnih ugljenih hidrata dobijen je računskim putem, tako što je od 100 % oduzet sadržaj vlage, pepela, hranljivih vlakana, ulja i proteina.

Energetska vrednost hlebova (kJ/100g) je izračunata na osnovu njihove kalorijske vrednosti koja se sastoji od kalorijskih koeficijenata koji odgovaraju sadržaju proteina, ugljenih hidrata i masti u analiziranim uzorcima hlebova, prema formuli (Dhen i sar., 2018):

$$\text{kalorijska vrednost (kcal/100 g)} = (\text{g proteina} \times 4) + (\text{g masti} \times 9) + (\text{g ugljenih hidrata} \times 4) \quad (4.16)$$

Konverzioni faktor iz kcal u kJ je: 1 kcal = 4,184 kJ

4.9.3. Analiza boje obogaćenih hlebova

Boja hlebova (kore i sredine) je izmerena korišćenjem sistema CVS (*Computer Vision System*) kao što je opisano u istraživanju koje su sprovedli Tomasevic i sar. (2019). Za analizu boje korišćen je softver Adobe Photoshop CC (64 bita). Kolorimetrijske karakteristike su merene na digitalnim fotografijama uzoraka pomoću Photoshop Average Colour Sample Tool (31x31 piksel).

Prethodno su svi uzorci hlebova isečeni na parčiće debljine oko 2cm i stavljeni su na bele podmetače. Jedna slika od svakog uzorka je uzeta za CVS analizu. Boja je određena na tri kriške hleba, po sedam puta za svaku, a za statističku analizu korišćene su prosečne vrednosti za svako ponavljanje.

Ukupna razlika boje (ΔE) je određena korišćenjem standardne jednačine:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (4.17)$$

Vrednosti za L^* , a^* , b^* i L_0^* , a_0^* , b_0^* su karakteristike boja obogaćenih i kontrolnih hlebova.

Stepen razlike nijansi, kao kvantitativni pokazatelj intenziteta obojenosti uzoraka obogaćenih hlebova (C^*) i kontrolnog uzorka (C_0^*), je izračunat prema formuli koju su saopštili Fernández-Vázquez i sar. (2013):

$$C^* = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (4.18)$$

$$C_0^* = \sqrt{a_0^2 + b_0^2} \quad (4.19)$$

Razlike u vrednosti intenziteta boje su izračunate prema standardnoj formuli:

$$\Delta C = C^* - C_0^* \quad (4.20)$$

4.9.4. Sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativna aktivnost obogaćenih hlebova

Za određivanje sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti, uzorci osušenog, samlevenog hleba su podvrgnuti ekstrakciji. 6 g uzorka je dodato u 25 ml rastvora za ekstrakciju (70 % etanola, 29,5 % vode, 0,05 % mravlje kiseline, v/v) (Poleksic i sar., 2018) i mešano je 10 h na magnetnoj mešalici (IKA RCT basic) na 25°C, u zatvorenoj posudi. Nakon ekstrakcije, čvrsta i tečna faza su odvojene centrifugiranjem (Hettich EBA 21, 11000 o/min, 30 minuta). Ukupan sadržaj polifenola određen je metodom po Folin-Ciocalteu (Singleton i sar., 1999). Kao standard je korišćena galna kiselina. 0,1 ml standarda ili uzorka je pomešano sa 0,2 ml vode i 0,1 ml Folin-Ciocalteu reagensa. Posle 5 minuta dodato je 1,6 ml 5 % rastvora Na₂CO₃. Rastvori su držani u mraku 30 minuta, a zatim su merene apsorbcije na 765 nm. Ukupan sadržaj polifenola izračunat je kao ekvivalenti galne kiseline (mg GAE/100 g sušenog hleba).

Antioksidativne aktivnosti uzoraka određene su DPPH metodom (Brand-Villiams i sar., 1995). Troloks je korišćen kao standard. 2,8 ml rastvora DPPH (10⁻⁴ mol/l u etanolu) dodato je u 0,2 ml ekstrakta obogaćenog hleba i kontrolnog uzorka. Smeša je držana 0,5 h u mraku, i potom je merena apsorbcija na 516 nm. Aktivnost DPPH izračunata je kao ekvivalenti troloksa (μmol troloksa/1g osušenog hleba).

4.9.5. Analiza teksture obogaćenih hlebova

Teksturane karakteristike svih šest uzoraka hleba obogaćenih sa 5 % i 20 % pogače sorti Ajdared, Zlatni Delišeš i Šumatovka, kao i kontrolni uzorak, prema kojima su dobijene referentne vrednosti, izmerene su prvog, trećeg i sedmog dana nakon pečenja, pomoću mašine za analizu teksture (Ametek Test & Calibration Instruments, Texture Analyzer Machine TA1 Series, LLOYD TA 500) sa cilindrom prečnika 25 mm i sondom od 50 N.

Vekne hleba su sečene mehanički na mašini za rezanje debljine 15 mm (Graef, Bradford, Velika Britanija, ABS 07). Na taj način se iz svakog uzorka hleba dobija 16 jednakih komada. Bilo je potrebno odabrati pojedine kriške svakog hleba, kako bi rezultati bili najpribližniji stvarnoj svežini hleba, uzimajući u obzir središnje kriške i krajeve vekne. Iz tog razloga su odabrani 4., 8., 9. i 13. parče, i samo na tim kriškama je izmerena svežina.

Mašina za analizu teksture bila je povezana sa računarom gde se, nakon pokretanja sistema, pojavljuje sila pritiska na određenu površinu. Svaka sila pritiska predstavlja silu izraženu u njutnima (N), koja je potrebna da se uzorak deformiše za 25 %. Što je veća dobijena vrednost, veća je sila potrebna za deformaciju, odnosno, kriška hleba je tvrđa, a svežina manja.

4.9.6. Senzorna analiza obogaćenih hlebova

Senzorne karakteristike hleba su određivane 24 sata i 7 dana nakon pečenja, uz pomoć 8 obučanih stručnih senzoričara-panelista, koristeći relevantne ISO standarde (1993). Senzorna evaluacija je izvršena kako je opisano u istraživanju koje su sprovedi Stikić i sar. (2012).

Panelisti su analizirali izgled, strukturu na poprečnom preseku (elastičnost, mrvljivost), žvkljivost, miris i ukus uzoraka obogaćenih hlebova sa 5 % i 20 % dodate obezmašćene pogače Ajdareda, Zlatnog Delišeša i Šumatovke, kao i kontrolni uzorak, bez dodatka pogače. Za procenu senzornih karakteristika hlebova, panelisti su koristili vizuelnu, olfaktornu i gustativno-oralnu tehniku.

Za svaku, pojedinačno analiziranu, senzornu karakteristiku hlebova, svaki panelista je dao svoju ocenu, koja se, na osnovu atributa njihove senzorne percepcije, kretala u rasponu od 1 (najgore) do 5 (najbolje). Zatim je za svaki uzorak hleba izračunata prosečna ocena za svako

ispitivano senzorno svojstvo. Na osnovu kojih je urađena interpretacija i evaluacija senzornog kvaliteta ispitivanih hlebova.

4.10. Statistička analiza

Rezultati u disertaciji su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija. Statistička analiza je izvršena korišćenjem softverskog paketa STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., Tulsa , OK, SAD). Primenjena je jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA) i Tukey–ev HSD test, na osnovu kojeg su određene statistički značajne razlike srednjih vrednosti, na nivou značajnosti $p < 0,05$. Sva testiranja su urađena u triplikatu.

U disertaciji je korišćena i analiza glavnih komponentata (*Principal Component Analysis - PCA*) za utvrđivanje mogućih korelacija izmerenih hemijskih i parametara boje, kod analize obogaćenih hlebova sa 5 % i 20 % dodate pogače od iscedjenih semenki jabuka.

5. REZULTATI I DISKUSIJA

5.1. Hemijski sastav ispitivanih semenki jabuka

Pre presovanja, izvršeno je ispitivanje hemijskog sastava semenki tri sorte jabuka: Ajdared, Zlatni Delišeš i Šumatovka. Rezultati analiza su prikazani tabelarno i izraženi su u masenim procentima (tabela 5.1).

Tabela 5.1. Hemijski sastav ispitivanih semenki jabuka

parametar / sorta	Ajdared	Zlatni Delišeš	Šumatovka
sadržaj vlage (% m/m)	7,85±0,33 ^a	8,69±0,25 ^b	7,55±0,39 ^a
sadržaj pepela (% m/m)	3,53±0,18 ^a	3,64±0,21 ^a	3,45±0,11 ^a
sadržaj ulja (% m/m)	20,6±0,1 ^a	21,7±0,2 ^b	24,4±0,2 ^c
sadržaj sirovih proteina (% m/m)	28,41±0,15 ^b	25,76±0,23 ^a	29,47±0,29 ^c

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Sadržaj vlage u semenkama jabuka se kretao u rasponu 7,55–8,69 %, što je u skladu sa literaturnim podacima (Bada i sar., 2014; Pieszka i sar., 2014). Poznavanje sadržaja vlage u sirovini je veoma važan pokazatelj, jer veći sadržaj vlage semena dovodi do niza nepoželjnih promena, pre svega, do pogoršanja kvaliteta semena usled razvoja mikroorganizama, kao i pogoršanja kvaliteta ulja usled ubrzanja hidrolitičkih procesa koji povećavaju kiselost ulja, odnosno, sadržaj slobodnih masnih kiselina. Zbog toga je potrebno semenke osušiti, pre presovanja, ispod vrednosti tzv. kritične vlage. To je granična vrednost vlage iznad koje počinju intenzivni biohemijski procesi i zavisi od sadržaja ulja u semenkama. Što je sadržaj ulja veći, kritična vlaga semenki je manja i za većinu semenki uljarica se kreće u intervalu 6 – 12 % (Dimić, 2005).

Sadržaj pepela u ispitivanim semenkama bio je 3,45–3,64 %, što su nešto niže vrednosti u odnosu na 4,3–5,2 %, koje su saopštili Tian i sar. (2010).

Sadržaj ulja ili heksanski ekstrakt predstavlja količinu ekstrahovane supstance iz sirovine korišćenjem organskog rastvarača (Dimić, 2005). Pored toga što je sortna karakteristika, zavisi i od fenotipskih faktora (klimatski uslovi, uslovi uzgajanja, primenjene agrotehničke mere, itd.) koji mogu dovesti do znatnog variranja u sadržaju ulja (Rabrenović, 2011). Sadržaj ulja u ispitivanim semenkama se kretao u intervalu 20,6 – 24,4 %, što je u saglasnosti sa saopštenim rezultatima iz literature (Tian i sar., 2010; Bada i sar., 2014; Gornas i sar., 2014a; Walia i sar., 2014; Matthaus i Ozcan, 2015; Madrera i Valles, 2018).

U ispitivanim semenkama jabuka, sadržaj sirovih proteina je bio u granicama 25,76–29,47 %. U odnosu na rezultat koji su saopštili Tian i sar. (2010), za sadržaj proteina u semenkama jabuka (38,85–49,55 %), ova vrednost je znatno niža.

Semenke jabuka, ne samo da su dobar izvor ulja, nego sadrže, u nezanemarljivim količinama i druge hranljive materije, poput proteina, što obezmašćenu pogaču, koja zaostaje kao nusproizvod ceđenja ulja, čini, potencijalno, veoma pogodnom zamenom za standardne tipove pšeničnog brašna.

5.2. Fizičko-hemijski parametri identifikacije i kvaliteta ispitivanih ulja

U tabeli 5.2 date su vrednosti fizičko-hemijskih parametara identifikacije i kvaliteta biljnih ulja iz semenki Ajdareda, Zlatnog Delišesa i Šumatovke. Prinosi ulja dobijenih hladnim ceđenjem bili su $9,8 \pm 0,1$ %, $11,9 \pm 0,2$ % i $13,4 \pm 0,2$ %, w/w, redom.

Tabela 5.2. Vrednost parametara za identifikaciju i kvalitet ulja iz semenki tri sorte jabuka

parametar	Ajdared	Zlatni Delišes	Šumatovka
gustina (kg/l)	$0,9450 \pm 0,0003^b$	$0,9317 \pm 0,0002^a$	$0,9487 \pm 0,0003^c$
indeks refrakcije	$1,4734 \pm 0,0002^b$	$1,4735 \pm 0,0002^b$	$1,4731 \pm 0,0002^a$
jodni broj (g joda/100g)	127 ± 2^b	129 ± 1^b	121 ± 1^a
saponifikacioni broj (mg KOH/g)	187 ± 1^a	192 ± 1^b	187 ± 1^a
kiselinski broj (mg KOH/g ulja)	$1,8 \pm 0,1^b$	$1,8 \pm 0,2^b$	$1,5 \pm 0,1^a$

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Vrednosti za gustinu ispitivanja ulja, posebno za ulja iz semenki Ajdareda i Šumatovke ($0,9450$ i $0,9487$ kg/l, redom), više su od navedenih u Pravilniku (2013), za nerafinisana biljna ulja.

Vrednosti za indeks refrakcije u ovom istraživanju ($1,4731$ - $1,4735$) su u saglasnosti sa rezultatima iz literature za ulje semenki jabuka (Walia i sar., 2014).

Jodni broj u ovom istraživanju se kretao u intervalu $121 - 129$, što odgovara navodima iz literature za ulje poreklom iz ove sirovine, $121,8 - 128,0$ (Walia i sar., 2014).

Saponifikacioni broj u ispitivanim uljima kretao se u rasponu $187 - 192$, što potvrđuju saopšteni rezultati iz literature $179,1 - 197,0$ (Tian i sar., 2010) i $184,91 - 188,0$ (Walia i sar., 2014). Takođe, mnoga nerafinisana jestiva biljna ulja imaju slične vrednosti saponifikacionog broja, poput suncokretovog, sojinog i ulja kukuruznih klica, koštica grožđa i dr., prema Pravilniku (2013).

U poređenju sa drugim biljnim uljima iz Pravilnika (2013), prikazani rezultati nam ukazuju da ispitivana ulja semenki jabuka poseduju značajan procenat nezasićenih masnih kiselina, kao i prisustvo masnih kiselina dugog lanca.

Kiselinski broj (mg KOH/g) ispitivanih uzoraka ulja se kretao u rasponu $1,5$ - $1,8$ mg KOH/g ulja, i pokazuje da se radi o kvalitetnim uljima u kojima nije došlo do značajnije hidrolitičke razradnje triacilglicerola tokom čuvanja i pripreme semenki za presovanje. To potvrđuje i Pravilnik (2013), na osnovu koga je maksimalna dozvoljena vrednost kiselinskog broja za hladno ceđena jestiva biljna ulja $4,0$ mg KOH/g ulja. Ovi rezultati su znatno niži od onih koji se navode u literaturi za istu vrstu ulja, $4,28$ mg KOH/g (Walia i sar., 2014) i $4,036 - 4,323$ mg KOH/g (Tian i sar., 2010).

5.3. Nutritivna vrednost ispitivanih ulja

5.3.1. Sastav i sadržaj masnih kiselina ispitivanih ulja

U tabeli 5.3 dat je prikaz sastava i sadržaja masnih kiselina u ispitivanim uzorcima ulja iz semenki tri sorte jabuka.

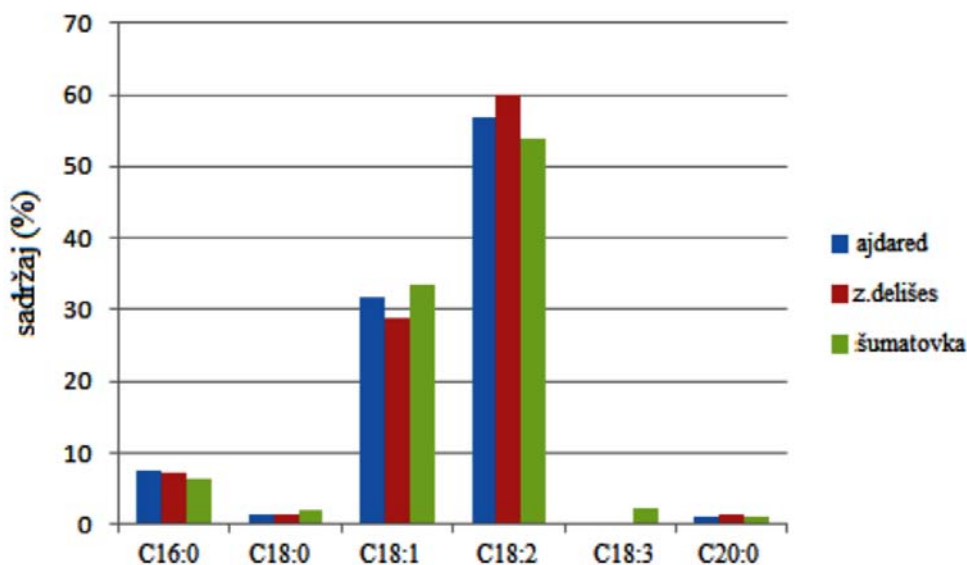
Tabela 5.3. Sastav i sadržaj masnih kiselina ulja iz semenki tri sorte jabuka

Masna kiselina	Ajdared	Zlatni Delišes	Šumatovka
C _{12:0} (%) m/m	0,08 ± 0,05 ^a	0,07 ± 0,03 ^a	0,06 ± 0,04 ^a
C _{14:0} (%) m/m	0,06 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,02 ^a	0,08 ± 0,03 ^a
C _{16:0} (%) m/m	7,41 ± 0,08 ^c	7,23 ± 0,02 ^b	6,3 ± 0,04 ^a
C _{17:0} (%) m/m	0,04 ± 0,03 ^a	0,05 ± 0,02 ^a	0,09 ± 0,02 ^b
C _{17:1} (%) m/m	0,04 ± 0,03 ^a	0,03 ± 0,02 ^a	0,08 ± 0,03 ^b
C _{18:0} (%) m/m	1,27 ± 0,07 ^a	1,29 ± 0,05 ^a	1,98 ± 0,09 ^b
C _{18:1} (%) m/m	31,76 ± 0,15 ^b	28,76 ± 0,38 ^a	33,37 ± 0,11 ^c
C _{18:2} (%) m/m	56,82 ± 0,53 ^b	60,02 ± 0,19 ^c	53,83 ± 0,40 ^a
C _{18:3} (%) m/m	0,28 ± 0,09 ^a	0,27 ± 0,01 ^a	2,31 ± 0,03 ^b
C _{20:0} (%) m/m	1,19 ± 0,02 ^b	1,20 ± 0,05 ^b	1,11 ± 0,05 ^a
C _{20:1} (%) m/m	0,49 ± 0,05 ^b	0,48 ± 0,03 ^b	0,34 ± 0,02 ^a
C _{20:2} (%) m/m	0,06 ± 0,03 ^a	0,06 ± 0,04 ^a	0,08 ± 0,04 ^a
C _{20:3} (%) m/m	0,06 ± 0,05 ^a	0,06 ± 0,05 ^a	0,08 ± 0,03 ^a
C _{22:0} (%) m/m	0,22 ± 0,04 ^a	0,27 ± 0,02 ^b	0,29 ± 0,03 ^b
C _{22:1} (%) m/m	0,05 ± 0,03 ^a	0,04 ± 0,03 ^a	/
C _{23:0} (%) m/m	0,08 ± 0,05 ^a	0,07 ± 0,02 ^a	/
C _{24:0} (%) m/m	0,09 ± 0,01 ^b	0,05 ± 0,04 ^a	/

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Masne kiseline prisutne u molekulima triacilglicerola predstavljaju reaktivni deo molekula ulja i određuju njegova fizička i hemijska svojstva. Prema sastavu masnih kiselina, ulje iz semenki jabuke pripada grupi ulja linolnog tipa, s obzirom da je esencijalna ω -6 ili n-6 linolna masna kiselina (C_{18:2 ω -6}) najzastupljenija i čini od 53,83 % (ulje semenki Šumatovke) do 60,02 % (ulje semenki Zlatnog Delišesa) ukupnih masnih kiselina u molekulima triacilglicerola (slika 5.1). Druga

po sadržaju je oleinska masna kiselina (C_{18:1}), čiji se sadržaj kretao od 28,76 % do 33,37 %. Treba istaći i prisustvo zasićene palmitinske masne kiseline (C_{16:0}) 6,3–7,41 %, dok su od ostalih zasićenih masnih kiselina bile prisutne stearinska (C_{18:0}) 1,27–1,98 % i arahinska (C_{20:0}) 1,11–1,20 % masna kiselina. Ostale masne kiseline su identifikovane u tragovima, uz izuzetak linolenske masne kiseline u ulju semenki Šumatovke (2,31 %). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima navedenim u literaturi za sastav masnih kiselina semenki jabuke (Tian i sar., 2010; Gornas i sar., 2014a; Bada i sar., 2014; Kiran i Prajapati, 2017; Mikolajczak, 2018; Madrera i Valles, 2018).



Slika 5.1. Grafički prikaz sadržaja masnih kiselina u ulju semenki tri sorte jabuka

Ulja semenki tri sorte jabuka sadrže 89,56–90,09 % nezasićenih i 9,91–10,44 % zasićenih masnih kiselina. Visok sadržaj linolne i oleinske kiseline sugerise da se ulje semenki jabuka može smatrati nutritivno visokovrednim, s obzirom da navedene masne kiseline poseduju niz značajnih fizioloških i nutritivnih efekata u organizmu, što je detaljno objašnjeno u poglavlju 2.5.2.2. Ulje iz semenki jabuka slično je po sastavu masnih kiselina suncokretovom i ulju semenki grožđa (Dimić, 2005).

Visok sadržaj PUFA u ulju je sa nutritivnog aspekta itekako poželjan, međutim ovakva ulja su izuzetno nestabilna i podložna oksidativnim promjenama, što se odnosi i na procese *in vivo* i *in vitro* (Lepšanović i Lepšanović, 2000; Đilas i sar., 2002; Dimić, 2005).

5.3.2. Sastav i sadržaj tokoferola

Sastav i sadržaj tokoferola u ispitivanim uljima semenki jabuka prikazan je u tabeli 5.4. Postoje 4 izomerna oblika tokoferola, α , β , γ i δ . α -tokoferol povećava biološku vrednost biljnih ulja zbog čega se i označava kao vitamin E, a γ - i δ - izomeri povećavaju oksidativnu stabilnost ulja, dok je β -izomer, sa izvesnim izuzecima, retko prisutan u biljnim uljima (Kamal-Eldin, 2006).

U uzorcima ispitivanih ulja, α -izomer je dominantan, pri čemu se njegov sadržaj kretao u rasponu 17,8–34,1 mg/100g, odnosno, 75,5–76,3 % od sadržaja ukupnih tokoferola. Sledeći po sadržaju je β + γ -tokoferol 5,7–11,1 mg/100g, odnosno, 22,2–24,6 % od sadržaja ukupnih tokoferola (slika 5.2).

Tabela 5.4. Sastav i sadržaj tokoferola u ispitivanim uljima

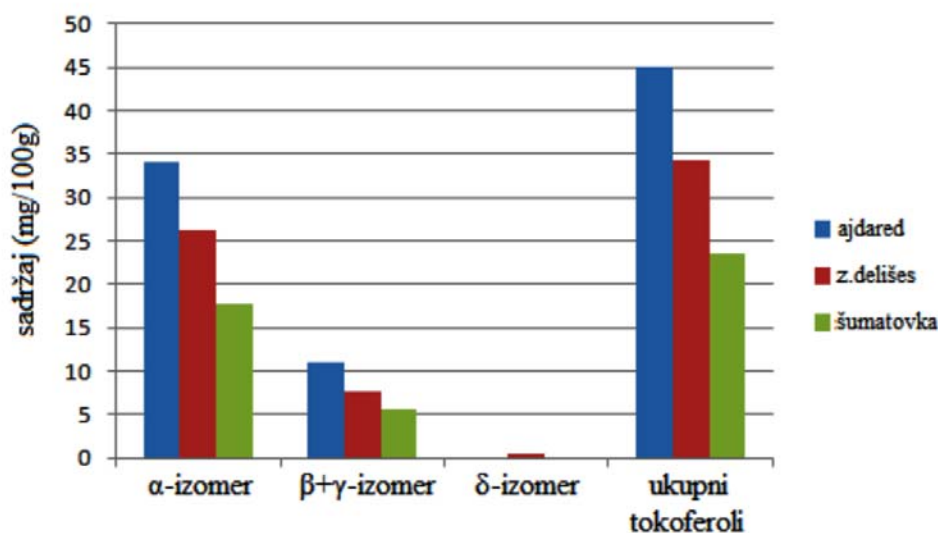
Tokoferol (mg/100g)	Ajdared	Zlatni Delišeš	Šumatovka
α -tokoferol	34,1 ± 0,5 ^c	26,3 ± 0,7 ^b	17,8 ± 0,4 ^a
β + γ -tokoferol	11,1 ± 0,3 ^c	7,6 ± 0,3 ^b	5,7 ± 0,2 ^a
δ -tokoferol	0 ^a	0,6 ± 0,1 ^b	0 ^a
ukupni tokoferoli	45,1 ± 0,8 ^c	34,4 ± 1,1 ^b	23,4 ± 0,6 ^a

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Sadržaj α - i $\beta+\gamma$ -tokoferola u ovom istraživanju, niži je od sadržaja ovih izomera u ulju semenki jabuka prema podacima drugih autora (Pieszka i sar., 2014; Gornas i sar., 2015a; Matthaus i Ozcan, 2015; Da Silva i Jorge, 2017; Madrera i Valles, 2018). Alasalvar i sar. (2003) smatraju da presudnu ulogu igraju klima i zemljište na kojima je biljka rasla, kao i godina berbe (Gornas, 2015a).

Može se konstatovati da ulja iz semenki jabuka, u ovom istraživanju, zbog visokog sadržaja α -tokoferola, pokazuju visoku nutritivnu vrednost i imaju blagotvoran uticaj na zdravlje, dok visok sadržaj β + γ -tokoferola doprinosi dobroj oksidativnoj stabilnosti. Reverzno-fazna hromatografija ne pravi razliku između izomera β - i γ -tokoferola i zato je njihov sadržaj izražen kao ukupni.

δ -tokoferol je registrovan samo u ulju semenki Zlatnog Delišeša u količini od 0,6 mg/100g, što je značajno niža vrednost u odnosu na sadržaj istog izomera u uzorcima ulja poreklom iz semenki šest sorti jabuka (12,1 – 110,5 mg/kg ulja) koje su ispitivali Fromm i sar. (2012a).



Slika 5.2. Grafički prikaz sadržaja pojedinih izomera tokoferola i ukupnih tokoferola u ulju semenki tri sorte jabuka

Ukupan sadržaj tokoferola se kretao u intervalu od 23,4±0,6 mg/100 g do 45,1±0,8 mg/100 g. Dobijene vrednosti su uporedive sa vrednostima koje su u svom istraživanju naveli Bada i sar. (2014). Međutim, većina autora u literaturi navodi viši sadržaj ukupnih tokoferola u uljima poreklom iz semenki jabuke (Fromm i sar., 2012a; Pieszka i sar., 2014; Gornas i sar., 2015a;

Matthaus i Ozcan, 2015; Da Silva i Jorge, 2017; Madrera i Valles, 2018), u odnosu na ovo istraživanje.

Sva četiri izomera tokoferola, kao i ukupan sadržaj tokoferola u uljima iz semenki jabuka su pokazala dosta veliki varijabilitet, što se može objasniti uticajem porekla i genotipa biljnog materijala (Beardsell i sar., 2002).

5.3.3. Sadržaj ukupnih polifenola

Sadržaj ukupnih polifenola u ispitivanim uljima određen je metodom po Folin-Ciocalteu, a rezultati prikazani u tabeli 5.5 i na slici 5.3 i izraženi su u miligram ekvivalentima galne kiseline na 100 g ulja (mg GAE/100 g).

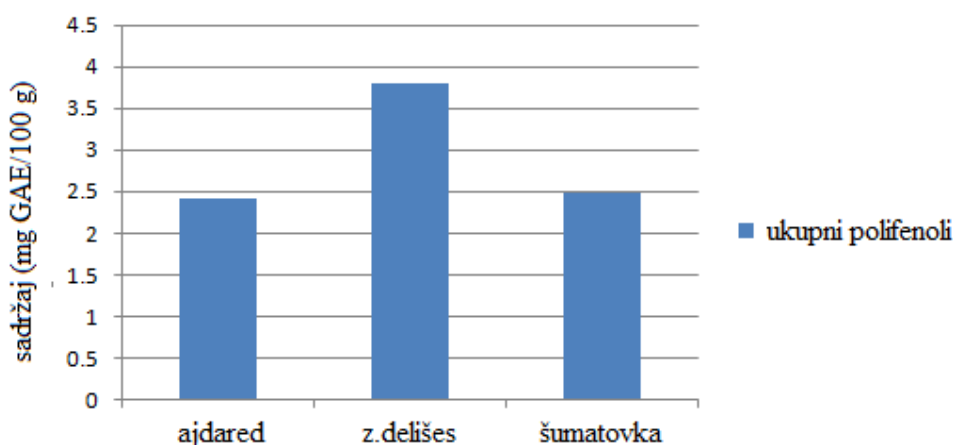
Tabela 5.5. Sadržaj ukupnih polifenola u uljima tri sorte jabuka

parametar	Ajdared	Zlatni Delišes	Šumatovka
ukupni polifenoli (mg GAE/100g)	2,42 ± 0,12 ^a	3,81 ± 0,09 ^b	2,49 ± 0,11 ^a

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Da Silva i Jorge (2017) su u ulju semenki jabuka našli ukupno 1,37 mg/100 g polifenolnih materija (p-kumarna+kvercetin), a u hladno ceđenim uljima semenki grožđa (sličnog masnokiselinskog sastava ulju semenki jabuka), sadržaj polifenola koji su saopštili Bjelica (2019) i Malićanin (2014), bio je 0,93 -2,6 mg/100g i 5,99-7,35 mg/100g, redom.

U poređenju sa gore prikazanim rezultatima, može se konstatovati da ispitivana ulja, u ovom istraživanju, predstavljaju sasvim dobar izvor polifenolnih materija.



Slika 5.3. Dijagram prikaza sadržaja ukupnih polifenola u ulju semenki tri sorte jabuka

Rezultati dobijeni Folin-Ciocalteu metodom nije lako upoređivati, jer metoda nije standardizovana, autori je često modifikuju, što utiče na variranje rezultata. Pored toga, postoji čitav niz supstanci koje učestvuju u reakciji i koje mogu uticati na tok metode i određivanje fenolnih jedinjenja (Prior i sar., 2005). Takođe, zbog ograničene rastvorljivosti, samo manji deo fenolnih jedinjenja se prenosi u ulje. Tokom procesa presovanja ulja, znatan deo ovih jedinjenja zaostaje u

pogači (Bjelica i sar., 2019), što pokazuju rezultati za sadržaj ukupnih polifenola u obezmašćenoj samlevenoj pogači od semenki jabuka (poglavlje 5.7.3.).

5.4. Antioksidativna aktivnost ispitivanih ulja

Antioksidativna aktivnost uzoraka ulja je određena korišćenjem metanolnih ekstrakata ulja semenki tri sorte jabuka, iz kojih je utvrđena sposobnost neutralisanja stabilnih slobodnih DPPH radikala (DPPH test) i ABTS⁺ radikala (ABTS test). Rezultati primene ovih metoda na uzorcima ispitivanih ulja, izraženi u mikromolovima Troloks ekvivalenta (TE) po kg ulja, prikazani su u tabeli 5.6.

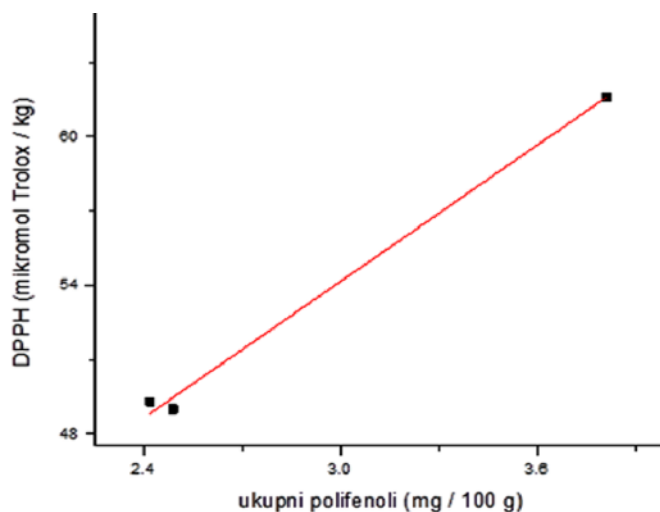
Tabela 5.6. Vrednosti parametara antioksidativne aktivnosti

parametar	Ajdared	Zlatni Delišes	Šumatovka
DPPH ($\mu\text{mol TE/kg}$)	$49,3 \pm 0,9^a$	$61,6 \pm 1,4^b$	$49,0 \pm 0,7^a$
ABTS ($\mu\text{mol TE/kg}$)	$62,8 \pm 0,5^b$	$68,2 \pm 0,8^c$	$46,9 \pm 0,8^a$

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Ukupni polifenoli su pokazali izuzetno jaku korelaciju sa DPPH vrednošću ($r = 0,998$) (slika 5.4), dok je ta korelacija sa ABTS slabija ($r = 0,66$).

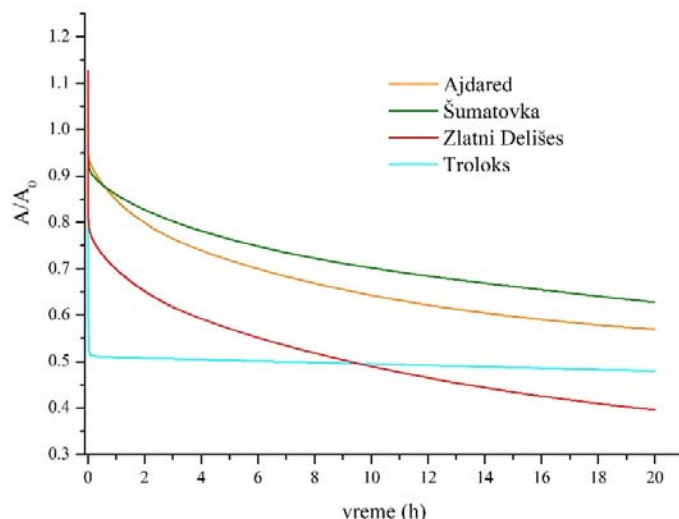
Neusaglašenost rezultata dobijenih primenom metoda DPPH i ABTS nije retka u literaturi (Marfil i sar., 2011; Kesen i sar., 2014; Xu i sar., 2016). Zbog kompleksnosti reakcionih mehanizama smatra se da nijedan test ne kvantifikuje antioksidativne osobine u potpunosti (Marfil et al., 2011), i preporučuje se da se za procenu antioksidativne aktivnosti koriste barem dve različite metode.



Slika 5.4. Grafički prikaz linearne zavisnosti sadržaja ukupnih polifenola i DPPH vrednosti uzoraka ulja

Iako se merenje apsorbancije u DPPH testu standardno vrši posle 30 min, Bondet i sar. (1997) su utvrdili da većina polifenola reaguje sporo sa DPPH radikalom, pri čemu se dinamička ravnoteža postiže tek posle 1-6 h, pa i duže. U zavisnosti od uzorka, za procenu antioksidativne aktivnosti korišćenjem DPPH testa nekada je potrebno više vremena (Shalaby i Shanab, 2013).

Merenje pada apsorbancije u ovom istraživanju se radilo nakon 20 sati reakcije. Primetno je da, u tom vremenskom periodu, apsorbancija nastavlja eksponencijalno da opada (slika 5.5).



Slika 5.5. Pad apsorbancije u toku DPPH testa za ulja semenki jabuka praćen 20 sati

5.5. Oksidativna stabilnost ispitivanih ulja

5.5.1. Sadržaj primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije ulja

Oksidacija ulja je jedan od najčešćih uzroka kvarenja biljnih ulja. Određivanjem peroksidnog broja (Pbr), dobija se podatak o sadržaju primarnih proizvoda oksidacije (peroksida i hidroperoksida) (Vujaninović i sar., 2016).

Rezultati određivanja peroksidnog broja u ulju semenki tri sorte jabuka (tabela 5.7) pokazuju vrednosti 2,8-5,2 mmol/kg, što je u skladu sa Pravilnikom (2013), prema kome je maksimalna dozvoljena vrednost peroksidnog broja za nerafinisana jestiva biljna ulja 7,5 mmol/kg. Ovi rezultati nam govore da tokom i nakon hladnog presovanja ulja iz semenki jabuka nije došlo do značajnijih oksidativnih promena.

Tabela 5.7. Vrednosti parametara za primarne i sekundarne proizvode oksidacije ulja

parametar	Ajdared	Zlatni Delišes	Šumatovka
Pbr (mmol O ₂ /kg)	2,8 ± 0,2 ^a	5,2 ± 0,1 ^c	4,0 ± 0,2 ^b
p-anisidinski broj	0,65 ± 0,01 ^b	0,61 ± 0,02 ^a	0,63 ± 0,02 ^{ab}
konjugovani dieni (A ₂₃₂)	1,95 ± 0,03 ^a	3,09 ± 0,02 ^b	3,67 ± 0,05 ^c
konjugovani trieni (A ₂₇₀)	0,39 ± 0,01 ^a	0,75 ± 0,01 ^b	0,40 ± 0,01 ^a
OV	6,25	11,15	8,40

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa; OV – oksidativna vrednost.

U cilju što boljeg praćenja procesa oksidacije lipida, istovremeno se prati promena sadržaja primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije (Poiana, 2012). U ulju semenki Ajdareda, Zlatnog Delišesa i Šumatovke određene su vrednosti anisidinskog broja 0,65, 0,61 i 0,63, konjugovanih diena 1,95, 3,09 i 3,67 i konjugovanih triena 0,39, 0,40 i 0,75, redom. Oksidativna vrednost (OV), dobijena na osnovu podataka za sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, je značajan pokazatelj kvaliteta ulja. Ukoliko je vrednost OV niža, ulje je boljeg oksidativnog statusa, što je u ovom istraživanju bio slučaj sa uljem poreklom iz semenki Ajdareda. Kada je u pitanju sadržaj konjugovanih diena i triena, što je viši sadržaj triena ulje je lošijeg kvaliteta. Dobijeni rezultati za sadržaj sekundarnih produkata oksidacije su u skladu sa rezultatima koje su saopštili Hashemi i sar. (2017), koji su takođe ispitivali ulje iz semenki jabuka

5.5.2. Rancimat test

Rancimat testom određen je indukcioni period za uzorke ispitivanih ulja (tabela 5.8).

Tabela 5.8. Određivanje održivosti ulja Rancimat testom

parametar	Ajdared	Zlatni Delišes	Šumatovka
IP (h)	13,96 ± 0,07 ^b	13,97 ± 0,05 ^b	13,24 ± 0,11 ^a

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Rezultati ovog testa pokazali su dužinu indukcionog perioda (h) ispitivanih uzoraka odnosno njihovu otpornost prema oksidaciji, koja se kretala u intervalu 13,24 - 13,97 h, pri temperaturi od 100 °C, i protoku vazduha od 20 l/h. Ovi rezultati ne ukazuju na značajne razlike u održivosti među uzorcima, uprkos razlikama u masnokiselinskom sastavu i sadržaju polifenola i tokoferola. Pod istim uslovima izvođenja Rancimat testa, u literaturi se navode podaci indukcionog perioda za ulje iz semenki grožđa 8,9 h, za orahovo ulje 4,2 h, za bademovo ulje 10,2 h, ulje lešnika 16 h, za ulje avokada 16,9 h, dok je indukcioni period za ulje makadamije bio čak 37 h (Madawala i sar., 2012).

5.5.3. DSC test

Još jedan test oksidativne stabilnosti ulja semenki jabuka, koji je sproveden u ovom istraživanju, je DSC test. Rezultati DSC merenja predstavljeni su OOT (*Oxidation Onset Temperature*) vrednostima za ispitivane uzorke ulja (tabela 5.9).

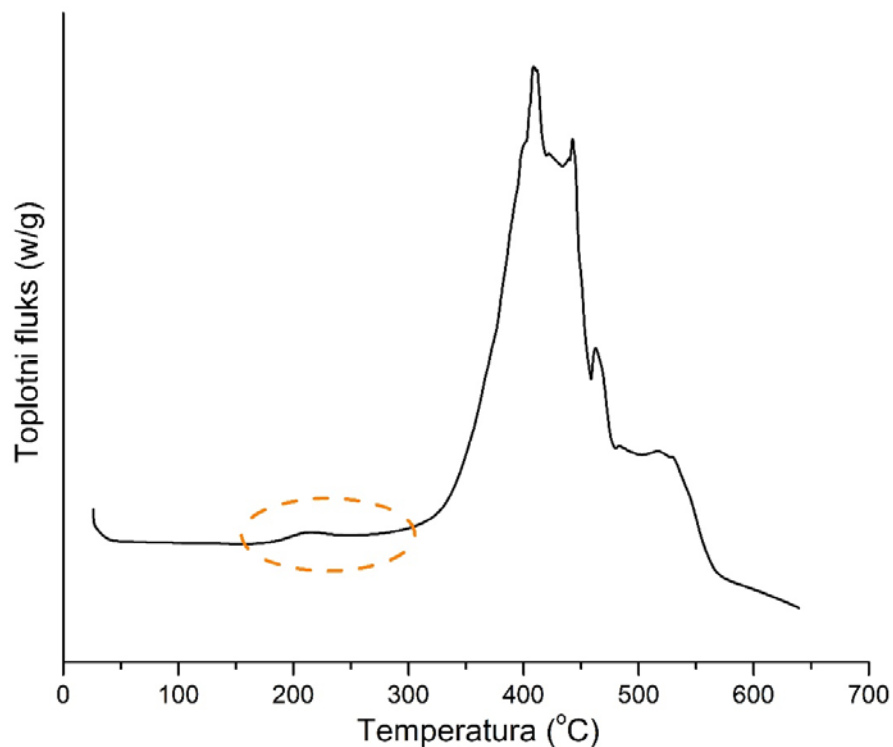
Tabela 5.9. Određivanje održivosti ulja DSC testom

parametar	Ajdared	Zlatni Delišes	Šumatovka
OOT (°C)	177,9 ± 0,6 ^b	174,7 ± 0,9 ^a	187,5 ± 0,7 ^c

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Na slici 5.6 je prikazana promena toplotnog fluksa uzorka ulja (semenke Šumatovke) tokom zagrevanja u vazduhu do temperature od 650°C. Na grafikonu se uočava mali egzotermni pik, uokviren isprekidanom linijom, na temperaturi 200–250°C, koji potiče od oksidacije ulja. Na

temperaturama iznad 350°C uočava se izraženi, kompleksni egzotermni efekat koji potiče od termooksidativne degradacije ulja.

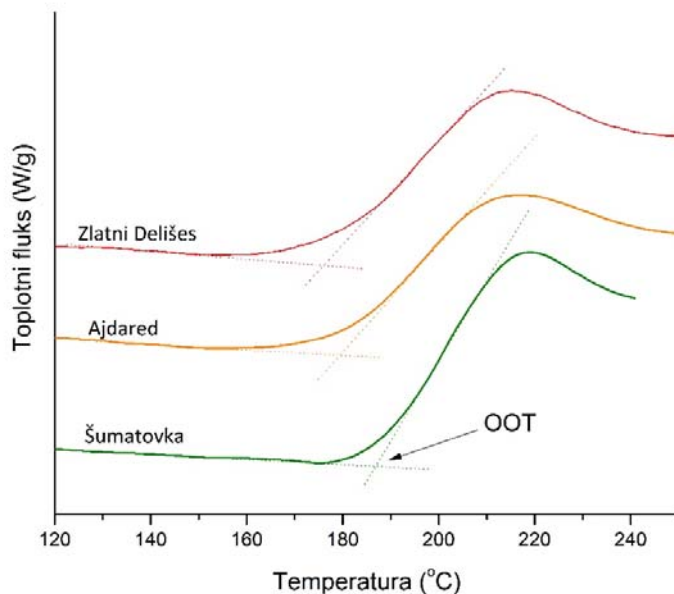


Slika 5.6. Grafički prikaz DSC krive za ulje semenki Šumatovke

OOT vrednost karakteriše početak oksidacije ulja i očitava se sa DSC krive. Ova vrednost je dobijena ekstrapolacijom na način kako je prikazano na slici 5.7 i može se posmatrati kao relativna mera oksidativne stabilnosti ispitivanih ulja. Na slici 5.7 su prikazani pikovi oksidacije za sva tri uzorka ulja.

Nasuprot Rancimat testu, DSC merenja ukazala su na izraženije razlike u oksidativnoj stabilnosti ispitivanih uzoraka ulja. Vrednosti OOT za ulja semenki tri sorte jabuka su u intervalu 174,7-187,5°C. Ulje iz semenki Šumatovke je imalo najvišu temperaturu početka oksidacije, i time pokazalo najveću oksidativnu stabilnost, pod uslovima izvođenja DSC testa. Ovi rezultati pokazuju kasniji početak oksidacije, a time i veću oksidativnu stabilnost ovih ulja, u odnosu na rezultate koje je saopštio Malićanin (2014) za 10 uzoraka ulja iz koštica grožđa (138–161°C).

Sastav masnih kiselina i prisustvo pro- ili anti- oksidanata (fenolna jedinjenja, tokoferoli, steroli, fosfolipidi itd.) predstavlja faktore koji određuju stepen podložnosti ulja oksidaciji. Vrste masnih kiselina, a naročito broj njihovih dvostrukih veza, utiču na hemijske reakcije koje se javljaju tokom perioda čuvanja ulja (Frankel, 1985).



Slika 5.7. Deo DSC termograma koji prikazuje OOT i pikove oksidacije za uzorke ulja

Pearson-ovi koeficijenti korelacije (tabela 5.10), pokazuju da najjači negativan uticaj na OOT u uzorcima ulja, ima sadržaj linolne kiseline. Jak negativan uticaj ima i odnos sadržaja polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina, respektivno. Najjači pozitivan uticaj ima sadržaj oleinske kiseline. S druge strane, sadržaj pojedinih izomera tokoferola, ukupni sadržaj tokoferola i ukupni polifenoli, nemaju tako jaku korelaciju sa OOT (tabela 5.10). Negativne korelacije OOT i sadržaja tokoferola i polifenola ne treba tumačiti u smislu da njihove više koncentracije dovode do smanjenja oksidativne stabilnosti, već da je dominantan uticaj masnokiselinskog sastava.

Različiti zaključci koji se dobijaju na osnovu DSC i Rancimat merenja, kao i nedovoljno izražene razlike IP vrednosti međusobno, ukazuju na kompleksnost uticaja različitih faktora (masnokiselinski sastav, prisustvo polifenola, tokoferola, slobodnih masnih kiselina...) na otpornost ispitivanih ulja prema oksidaciji. Takođe treba imati u vidu da se DSC merenjem neposredno određuje sam početak procesa oksidacije, dok se rezultati Rancimat testa dobijaju u odmakloj fazi oksidacije.

Tabela 5.10. Korelaciona zavisnost OOT i pojedinih ispitanih parametara u ulju semenki jabuka

komponenta	koeficijent korelacije (r)
linolna kiselina (C _{18:2})	-0,96
oleinska kiselina (C _{18:1})	0,90
odnos polinezasićene / mononezasićene m.k.	-0,85
α-tokoferol	-0,74
β + γ-tokoferol	-0,60
ukupni tokoferoli	-0,73
ukupni polifenoli	-0,66

5.6. Rezultati inkapsulacije ulja

Postupkom inkapsulacije, pored toga što je olakšana dalja manipulacija uljem semenki jabuka, omogućena je i njegova zaštita od nepovoljnih spoljašnjih faktora, pre svega, od oksidacionih procesa. U tabeli 5.11 prikazani su osnovni kvantitativni pokazatelji postupka inkapsulacije ulja iz semenki jabuke: prinos inkapsulata, sadržaj ulja u inkapsulatu i efikasnost postupka inkapsulacije. U ovom istraživanju korišćene su metode elektrostatičke ekstruzije i sprej sušenja.

Tabela 5.11. Prinos i sadržaj ulja u inkapsulatima i efikasnost inkapsulacije ulja semenki jabuke metodama elektrostatičke ekstruzije i sprej sušenja

METODA ELEKTROSTATIČKE EKSTRUZIJE			
Sorta jabuke	Prinos inkapsulata (%)	Sadržaj ulja u inkapsulatu (%)	Efikasnost inkapsulacije (%)
Ajdared	77,1±1,6 ^{aA}	78,9±3,2 ^{aA}	91,9±3,4 ^{bA}
Zlatni Delišes	78,1±2,3 ^{aA}	77,5±1,9 ^{aA}	91,4±3,1 ^{bA}
Šumatovka	78,6±1,8 ^{aA}	80,0±2,6 ^{aA}	94,4±2,5 ^{bA}
METODA SPREJ SUŠENJA			
Sorta jabuke	Prinos inkapsulata (%)	Sadržaj ulja u inkapsulatu (%)	Efikasnost inkapsulacije (%)
Ajdared	45,0±2,1 ^{bA}	15,5±2,5 ^{aA}	85,7±4,8 ^{cAB}
Zlatni Delišes	45,8±2,4 ^{bA}	14,7±1,9 ^{aA}	87,2±4,5 ^{cB}
Šumatovka	46,2±2,3 ^{bA}	14,2±4,2 ^{aA}	84,1±2,9 ^{cA}

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Inkapsulati dobijeni metodom elektrostatičke ekstruzije su imali bolji prinos inkapsulata (prosečno 78 %), za razliku od ostvarenog prinosa inkapsulata kod sprej sušenja, koji je u slučaju sva tri ulja iznosio približno 45,5 %. To je prva prednost inkapsulacije metodom elektrostatičke ekstruzije, u odnosu na sprej sušenje. Najbolji prinos inkapsulata je bio u slučaju ulja iz semenki Šumatovke, i to, 78,6 % metodom elektrostatičke ekstruzije, odnosno, 46,2 % metodom sprej-sušenja.

Druga prednost inkapsulacije ulja metodom elektrostatičke ekstruzije je što omogućava dobijanje inkapsulata sa visokim sadržajem ulja, u odnosu na masu inkapsulata, što je od posebnog značaja kod dodataka inkapsulata u prehrambene proizvode. U ovom istraživanju prosečan sadržaj za sva tri ekstrahovana ulja iz inkapsulata, dobijenih metodom elektrostatičke ekstruzije, bio je 78,8 %, u odnosu na prosečan sadržaj ulja ekstrahovanih iz inkapsulata dobijenih metodom sprej-sušenja, koji je bio 14,8 %. Ovi rezultati su očekivani, s obzirom na niži polazni sadržaj ulja u emulziji kod sprej sušenja. Pojedinačno, po uzorcima, ulje semenki Šumatovke je najviše ekstrahovano (80 %) iz inkapsulata dobijenih metodom elektrostatičke ekstruzije, dok je iz inkapsulata dobijenih sprej-sušenjem najviše ekstrahovano ulja semenki Ajdareda (15,5 %).

Efikasnost inkapsulacije, kod obe metode, je bila visoka. Najbolju efikasnost inkapsulacije je pokazana kod ulja Šumatovke (94,4 %), što je logična posledica rezultata za prethodna dva

parametra. Kod sva tri inkapsulata, dobijenih sprej-sušenjem, inkapsulacija je pokazala, takođe, visoku efikasnost, pri čemu je bila najveća kod ulja Zlatnog Delišeša (87,2 %).

Nedostatak inkapsulacije metodom sprej-sušenja, pored niskog prinosa i malog sadržaj ulja u inkapsulatima, ogleda se i u primeni visokih temperatura vazduha za sušenje, što za posledicu može imati pregrevanje materijala, pa se moraju koristiti termootporni nosači (Lević, 2014). S druge strane dobijeni inkapsulati, u obliku praha, su suvi i stabilni (Salević i sar., 2018).

Prinos inkapsulata lipofilnih komponenti dobijenih sprej sušenjem, sa aspekta literaturnih podataka, generalno je nizak (Mujica-Álvarez i sar., 2020). Naime, tokom dobijanja inkapsulata ulja semenki jabuke metodom sprej sušenja, primećena je pojava gubitaka u komori za sušenje tj. dolazilo je do vezivanja materijala za zidove komore za sušenje. Ovaj deo inkapsulata nije uključen u ukupnu masu inkapsulata. Postoje rešenja koja uključuju kontinualno uklanjanje zalepljenog materijala i njegovo sakupljanje kao finalnog proizvoda (Bhandari i sar., 1997). Na ovaj način se utiče na povećanje prinosa dobijenog inkapsulata i isplativost procesa. Drugim rečima, može se smatrati da je prinos inkapsulacije sprej sušenjem, zapravo, značajno veći od izmerenog.

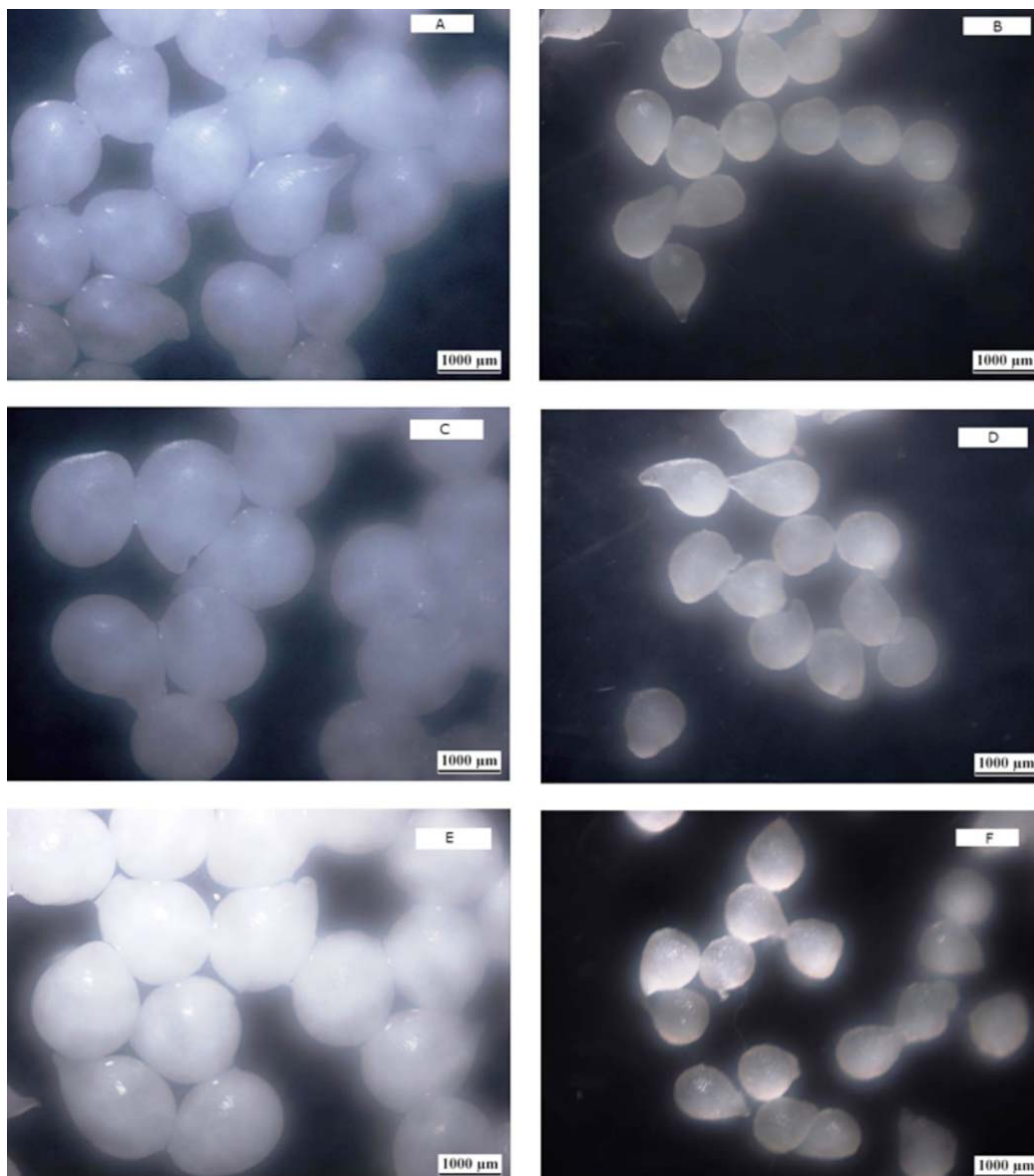
Treba imati u vidu nekoliko faktora koji su direktno uticali na pojavu gubitaka u komori za sušenje i time i niskog prinosa inkapsulata. Prvo, primenjene su jednostavne formulacije nosača čija upotreba je dozvoljena i široko prihvaćena u prehrambenoj industriji. Prema Mujica-Álvarez i sar. (2020) visoki prinosi (u nekim slučajevima i preko 80 %) sprej sušenih lipofilnih komponenti (vitamin A i E) su postignuti u kombinacijama nosača koje su uključivale specijalne komponente za inkapsulaciju, smešu proteinskih i ugljenohidratnih nosača i emulzifikatora. U ovoj tezi je primenjena relativno jednostavna kombinacija nosača tj. maltodekstrin i alginat. Maltodekstin daje dobra mehanička svojstva sprej sušenim inkapsulatima, a alginat, pored uloge nosača, ima i ulogu stabilizatora emulzije. Ovako se izbegava primena dodatnih emulzifikatora, jer prisustvo alginata u formulacijama se pokazalo kao dovoljno za dobijanje stabilnih emulzija ulja semenki jabuke pre procesa sprej sušenja.

U literaturi se mogu naći podaci o prinosima sprej sušenih inkapsulata ulja (kombinacija nosača maltodekstrin/guma akacija) koji se kreću oko 65 %, ali uz primenu jako visokih temperatura sušenja (ulazna temperatura gasa za sušenje od 220°C, a izlazna temperatura 100°C) (Fuchs i sar., 2006). Cilj inkapsulacije ulja u ovoj tezi je bio da se pored primene jednostavnijih kombinacija nosača, primene i što je moguće niže temperature, pri sprej sušenju, kako bi se izbegla termička degradacija ulja.

Dalji razvoj metode dobijanja sprej sušenih inkapsulata ulja semenki jabuke bi mogao ići prema upotrebi nekih od strategija koje se mogu naći u literaturi. Postoji više primera kao što je, gore pomenuto, kontinualno uklanjanje materijala iz komore za sušenje ili se pak može primeniti hlađenje komore za sušenje, pri čemu se dodatno smanjuje vezivanje materijala i gubici. Na kraju, odabirom posebnih konstrukcija sprej sušača je moguće smanjiti gubitke i povećati prinose inkapsulata (Bhandari i sar., 1997).

5.6.1. Morfološke karakteristike inkapsulata ulja iz semenki jabuke dobijenih tehnikom elektrostatičke ekstruzije

Inkapsulati dobijeni metodama elektrostatičke ekstruzije i sprej sušenja su analizirani i sa aspekta njihove morfologije u veličine čestica. Na slici 5.8 su prikazane fotografije inkapsulata ulja semenki jabuke na bazi Ca-alginata.



Slika 5.8. Mikroskopske fotografije inkapsulata na bazi Ca-alginata sa inkapsulisanim uljima iz semenki jabuke dobijenih tehnikom elektrostatičke ekstruzije:

- A, B-ulje Ajdared (vlažne i suve);
- C, D-ulje Šumatovka (vlažne i suve);
- E, F-ulje Zlatni delišes (vlažne i suve).

Čestice koje su dobijene metodom elektrostatičke ekstruzije su, u cilju dalje stabilizacije i očuvanja svojstava inkapsulisanog ulja, podvrgnute sušenju kako bi se dobile suve čestice, odnosno, suvi inkapsulati. Ono što se može zapaziti je da dobijeni inkapsulati imaju izduženi oblik, koji verovatno potiče usled izduženja kapi emulzije pri ekstruziji i dejstvu elektrostatičkog polja. Ova pojava je očekivana, i u literaturi se mogu pronaći slični primeri za sisteme Ca-alginat/tečna aroma

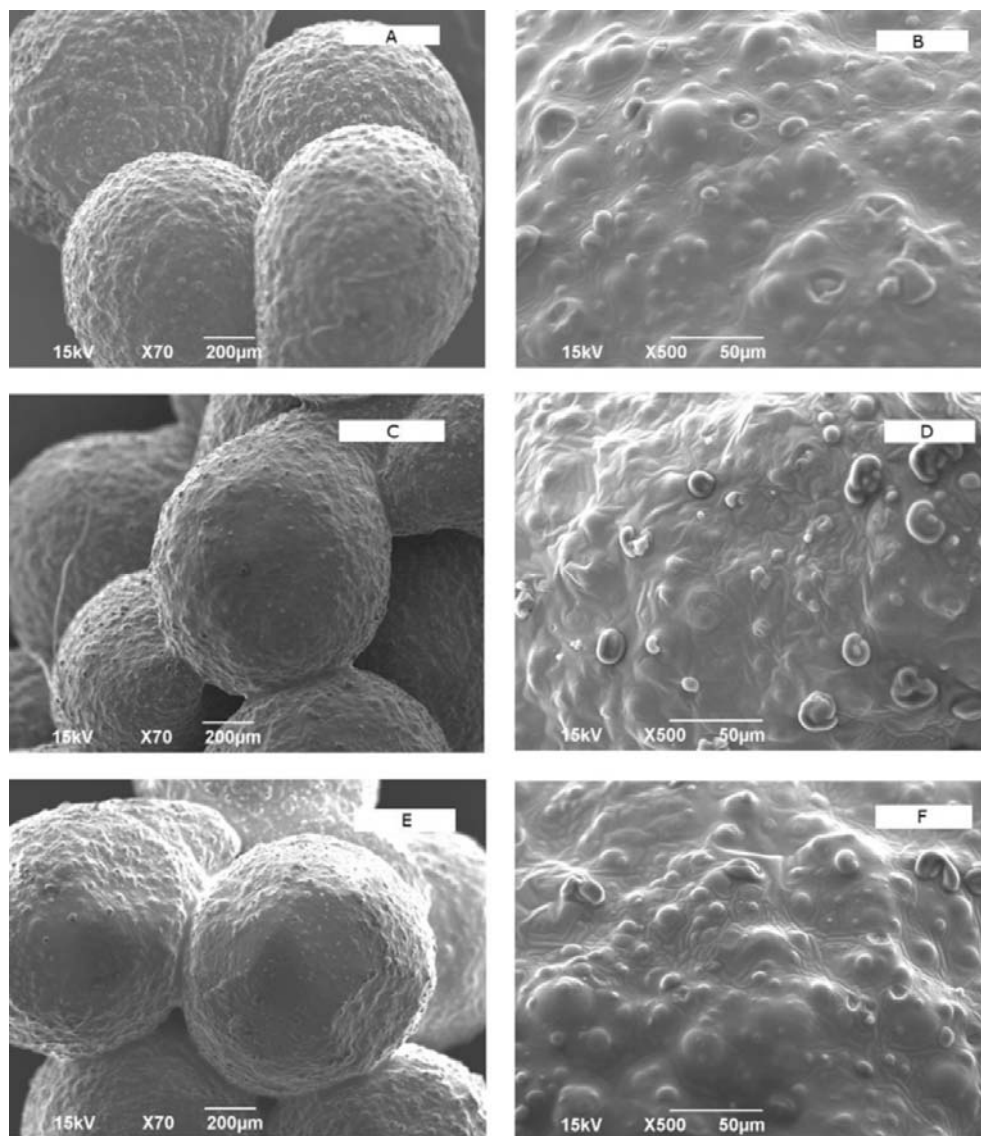
(Lević i sar., 2015). Druge morfološke karakteristike inkapsulata, kao što su faktor sferičnosti i faktor skupljanja (usled sušenja) (tabela 5.12) ukazuju na to da se inkapsulati tokom dobijanja tj. geliranja alginata i sušenja čestica, ponašaju slično, odnosno, da dodatak ulja iz različitih izvora ne utiče u većoj meri na morfološke karakteristike inkapsulata. Bez obzira na činjenicu da čestice nemaju sferični oblik, inkapsulati na bazi Ca-alginata, dobijeni u ovom radu, su uspešno zadržali ulje iz semenki odabranih sorti jabuka, i to, bilo u vlažnom, bilo u suvom stanju.

Tabela 5.12. Morfološki parametri dobijenih inkapsulata na bazi Ca-alginata i ulja iz semenki odabranih sorti jabuke dobijenih tehnikom elektrostatičke ekstruzije

Inkapsulati ulja	Srednji prečnik (µm)	Faktor sferičnosti	Faktor skupljanja
Ajdared vlažne	1705±71	0,111	-
Ajdared suve	1041±70	0,163	0,39
Šumatovka vlažne	1854±81	0,136	-
Šumatovka suve	1084±56	0,152	0,41
Zlatni delišes vlažne	1786±73	0,108	-
Zlatni delišes suve	1012±48	0,132	0,43

Dalja analiza morfologije inkapsulata na bazi Ca-alginata i ulja iz semenki odabranih sorti jabuka je rađena korišćenjem skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). Kako je pod uslovima snimanja moguće analizirati samo osušene čestice, urađeno je snimanje površine suvih inkapsulata na bazi Ca-alginata i rezultati su prikazani na slici 5.9.

Rezultati SEM analize površine inkapsulata na bazi Ca-alginata ukazuju na to da nakon sušenja nema vidljivih pukotina koje bi dalje mogle negativno da utiču na mehaničku stabilnost čestica kod manipulacije ili potencijalne primene u prehrambenim proizvodima. Pored toga, odsustvo pukotina je važno i zbog očuvanja hemijske stabilnosti ulja, iz razloga što se može očekivati da kompaktne čestice pružaju bolju zaštitu aktivnoj komponenti, odnosno ulju, za razliku od oštećenih ili čestica sa poroznom površinom. Interesantno je da površina dobijenih inkapsulata veoma podseća na slične sisteme opisane u literaturi, a koji su za aktivnu komponentu imali tečnu aromu i Ca-alginat kao nosač (Lević i sar., 2015).

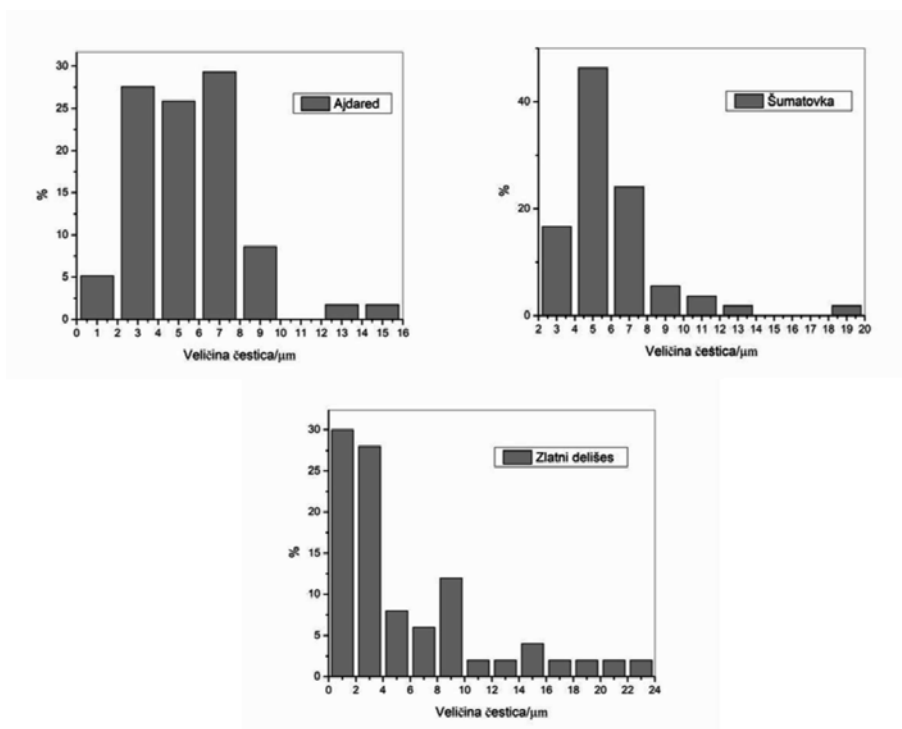


Slika 5.9. SEM mikroskopske fotografije inkapsulata na bazi Ca-alginata sa inkapsulisanim uljima semenki jabuke dobijenih tehnikom elektrostatičke ekstruzije:

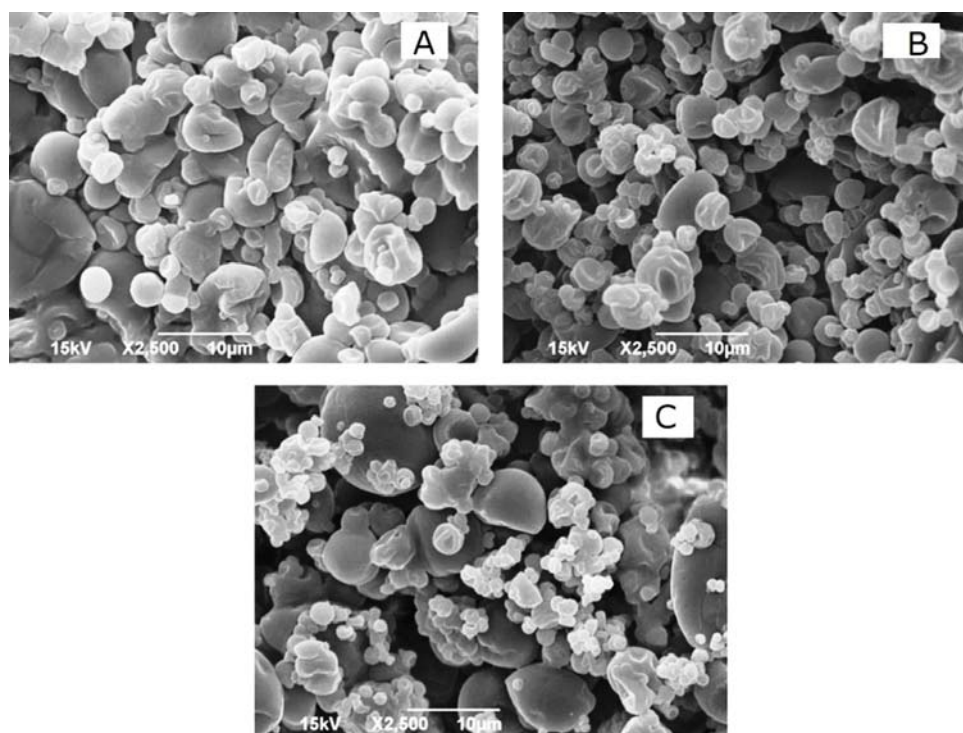
- A,B - ulje Ajdared (manje i veće uvećanje);
- C,D - ulje Šumatovka (manje i veće uvećanje);
- E,F - ulje Zlatni delišes (manje i veće uvećanje).

5.6.2. Morfološke karakteristike inkapsulata ulja iz semenki jabuke dobijenih tehnikom sprej sušenja

Inkapsulati ulja iz semenki jabuke dobijeni tehnikom sprej sušenja su bili u formi prahova, blago žute boje i bez vidljivog izdvajanja ulja kao posebne faze. Generalno posmatrano, rezultati ostvareni sprej sušenjem su u skladu sa literaturnim podacima za ovu tehniku inkapsulacije (Kalušević i sar., 2017). Naime, sprej sušenjem se dobijaju čestice čija veličina varira značajno u okviru istog uzorka, a to je posledica neujednačene disperzije polazne emulzije koja se vrši primenom komprimovanog vazduha. Disperzijom se dobijaju kapi neujednačene veličine, koje se zatim veoma brzo suše i sakupljaju u obliku praha. Analizom slika dobijenih pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije, došlo se do okvirne distribucije veličina čestica (slika 5.10).



Slika 5.10. Raspodela veličine čestica inkapsulata ulja iz semenki jabuke dobijenih tehnikom sprej sušenja



Slika 5.11. SEM mikroskopske fotografije inkapsulata sa inkapsulisanim uljima semenki jabuke dobijenih tehnikom sprej sušenja:

- A-ulje Ajdared;
- B-ulje Šumatovka;
- C-ulje Zlatni delišes.

5.6.3. Uticaj inkapsulacije na oksidativne karakteristike ulja

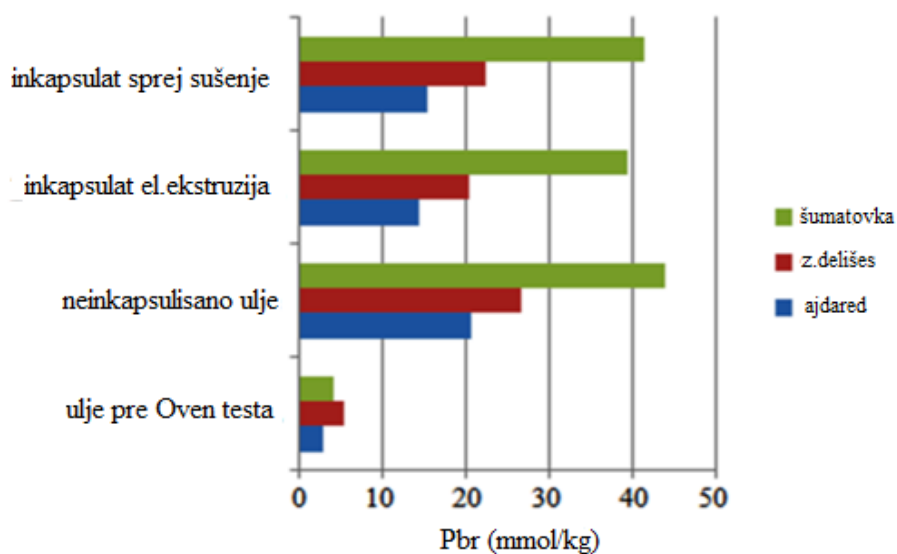
Oven ili Schaal test je korišćen za ispitivanje stepena zaštitnog delovanja inkapsulata na ulje semenki jabuke od procesa oksidacije. U tabeli 5.13 prikazane su vrednosti perioksidnog broja neinkapsulisano ulja i ulja ekstrahovanih iz inkapsulata, posle Oven testa, dobijenih metodama elektrostatičke ekstruzije i sprej sušenja. Takođe, prikazan je procenat relativnog smanjenja peroksidnog broja (Pbr) inkapsulata ulja, u odnosu na neinkapsulisano ulje, a kao referentna vrednost uzet je Pbr ispitivanih ulja pre Oven testa.

Tabela 5.13. Rezultati Oven testa na ispitivanim uljima sa i bez inkapsulata

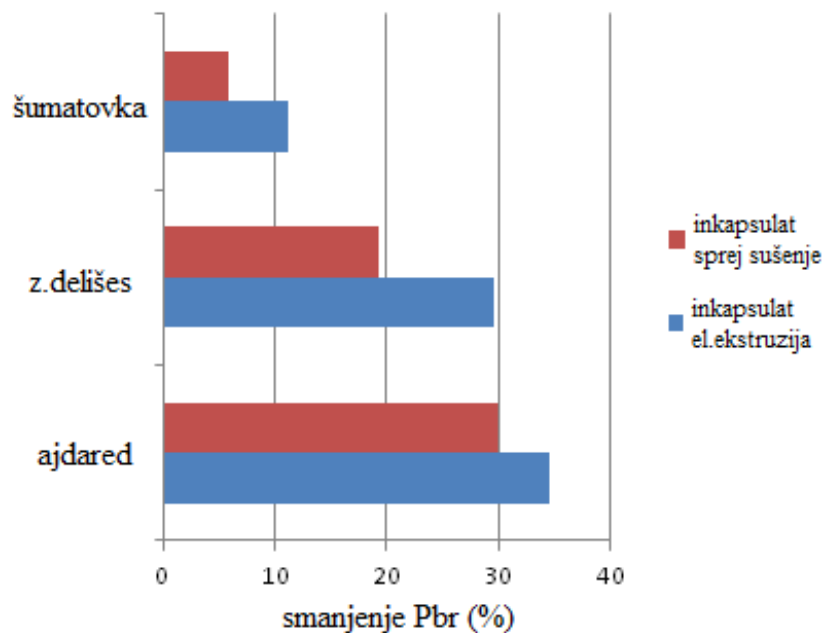
ulje	Pbr pre Oven testa (mmol/kg)	Pbr posle Oven testa (mmol/kg)			% relativnog smanjenja Pbr u inkapsulatima	
		neinkapsulisano ulje	inkapsulat el.ekstruzija	inkapsulat sprej-sušenje	inkapsulat el.ekstruzija	inkapsulat sprej-sušenje
Ajdared	2,8	20,5±0,5 ^{ba}	14,4±0,9 ^{aA}	15,2±1,1 ^{aA}	29,8±2,7 ^{cC}	25,9±3,5 ^{cC}
Z.Delišes	5,2	26,5±0,8 ^{dB}	20,2±1,1 ^{bB}	22,4±0,8 ^{cB}	23,8±1,9 ^{cB}	15,5±0,5 ^{aB}
Šumatovka	4,0	43,7±0,6 ^{dC}	39,3±0,9 ^{cC}	41,4±1,1 ^{cC}	10,1±0,8 ^{ba}	5,3±1,2 ^{aA}

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Rezultati pokazuju izrazit skok peroksidnog broja kod ulja Šumatovke, nakon Oven testa, što je primetno, i u inkapsulatima. Neinkapsulisano ulje semenki Ajdareda imalo je najmanje povećanje peroksidnog broja na Oven testu. Kako bi rezultati iz tabele 5.13, što preciznije dočarali efekat oksidativne zaštite ispitivanih ulja od strane inkapsulata, prikazani su u obliku grafikona (barova) (slike 5.12 i 5.13).



Slika 5.12. Vrednosti peroksidnog broja (Pbr) inkapsuliranog i neinkapsulisanog ulja nakon Oven testa u odnosu na Pbr ulja pre Oven testa



Slika 5.13. Procenat relativnog smanjenja peroksidnog broja (Pbr) ulja u inkapsulatima

Inkapsulacija, donekle, štiti ulja od oksidacije. Pokazalo se da bolji efekat zaštite, kod sva tri ispitana ulja, imaju inkapsulati dobijeni elektrostatičkom ekstruzijom, što je još jedna od prednosti ove metode, u odnosu na inkapsulaciju sprej-sušenjem. Činjenica je da, ipak, inkapsulati ne mogu zaštititi, u većoj meri, ulja koja su osetljiva na oksidaciju. Ovim ispitivanjem je postignuta osnovna ideja, a to je, da se dobiju čvrsti inkapsulati, pogodni za tehnološke postupke, koji pritom imaju i zaštitnu ulogu.

5.7. Rezultati ispitivanja hlebova obogaćenih pogačom od iscedenih semenki jabuka

5.7.1. Analiza hemijskih karakteristika pogače od iscedenih semenki jabuka i obogaćenih hlebova

Hemijska analiza obezmašćene pogače od iscedenih semenki jabuka (nadalje - pogača) Ajdareda (A), Zlatnog Delišesa (D) i Šumatovke (Š), kontrolnog uzorka hleba bez dodate pogače (nadalje - kontrola) i obogaćenih hlebova u kojima je pšenično brašno zamenjeno 5 % i 20 % sa pogače A, D i Š, prikazani su u tabeli 5.14.

Tabela 5.14. Hemijska analiza pogače, kontrole i hlebova sa 5 % i 20 % dodate pogače

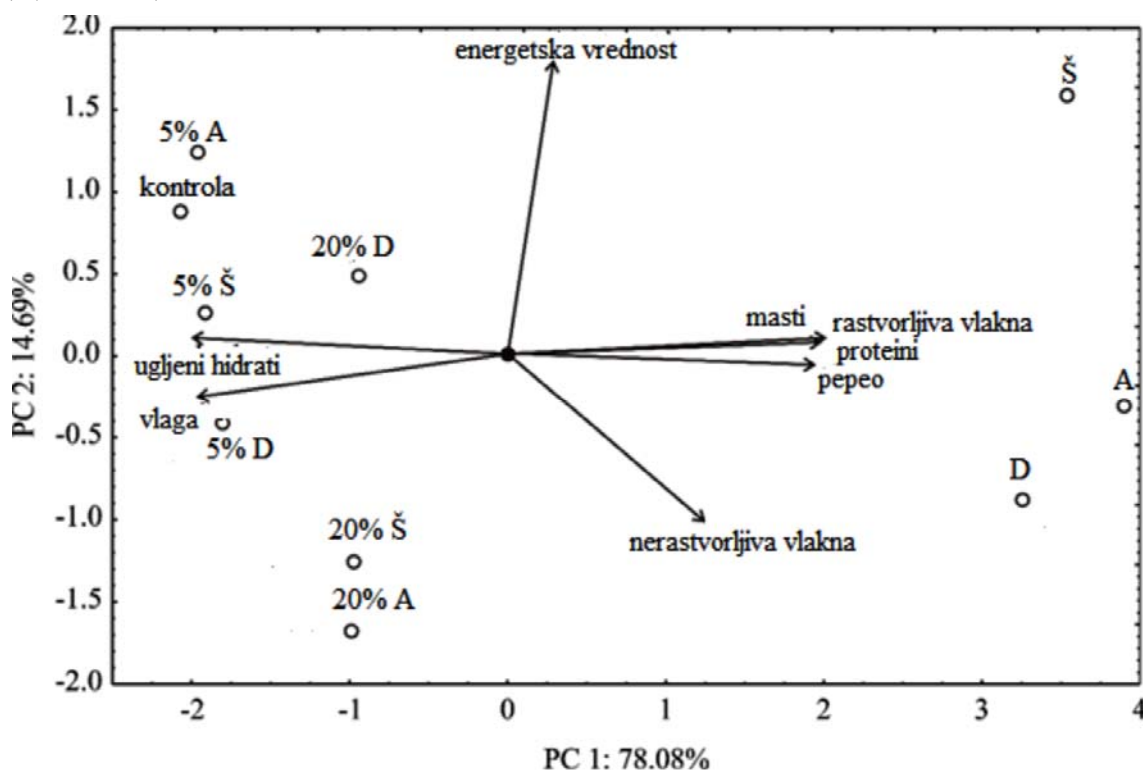
	Uzorak	Vlaga (%)	Pepeo (%)	Proteini (%)	Masti (%)	Ugljeni hidrati (%)	Rastvorljiva vlakna (%)	Nerastvorljiva vlakna (%)	Energetska vrednost (kJ/100g)
pogača	A	6.7 ± 0.3 ^f	4.4 ± 0.2 ^b	35.1 ± 0.5 ^d	11.8 ± 0.1 ^d	1.26 ± 0.02 ^a	34.0 ± 0.6 ^b	6.6 ± 1.1 ^a	1054 ± 13 ^{ab}
	Š	8.2 ± 0.3 ^e	4.0 ± 0.2 ^b	37.7 ± 0.5 ^e	12.2 ± 0.2 ^d	2.3 ± 0.1 ^a	28.6 ± 0.6 ^c	6.4 ± 1.0 ^a	1139 ± 8 ^b
	D	8.8 ± 0.3 ^e	4.0 ± 0.2 ^b	33.7 ± 0.4 ^c	10.9 ± 0.2 ^e	3.0 ± 0.1 ^a	33.2 ± 0.7 ^b	6.4 ± 1.0 ^a	1025 ± 15 ^{ab}
	kontrola	30.5 ± 0.3 ^c	3.0 ± 0.2 ^a	11.5 ± 0.5 ^a	1.8 ± 0.1 ^c	49.6 ± 3.0 ^e	1.0 ± 0.4 ^a	2.6 ± 0.7 ^{bc}	1082 ± 70 ^{ab}
	5% A	29.9 ± 0.4 ^c	2.9 ± 0.2 ^a	12.4 ± 0.5 ^a	2.3 ± 0.1 ^a	47.9 ± 2.9 ^{ef}	2.3 ± 0.8 ^a	2.4 ± 0.6 ^b	1096 ± 61 ^{ab}
	20% A	31.7 ± 0.3 ^b	3.1 ± 0.25 ^a	15.6 ± 0.6 ^b	3.4 ± 0.2 ^b	37.4 ± 1.3 ^{bf}	1.6 ± 0.6 ^a	7.2 ± 2.0 ^a	1014 ± 39 ^a
hleb	5% Š	32.1 ± 0.3 ^{ab}	3.0 ± 0.2 ^a	12.8 ± 0.5 ^a	2.3 ± 0.1 ^a	45.2 ± 2.3 ^{bc}	1.9 ± 0.7 ^a	2.8 ± 0.8 ^{bc}	1057 ± 52 ^{ab}
	20% Š	30.5 ± 0.3 ^c	3.0 ± 0.2 ^a	16.0 ± 0.6 ^b	3.5 ± 0.2 ^b	37.8 ± 1.6 ^{bcd}	2.0 ± 0.7 ^a	7.2 ± 1.9 ^a	1033 ± 44 ^{ab}
	5% D	32.7 ± 0.3 ^a	3.2 ± 0.3 ^a	12.5 ± 0.5 ^a	2.2 ± 0.1 ^{ac}	43.9 ± 2.1 ^{cd}	2.6 ± 0.9 ^a	2.9 ± 0.8 ^{bc}	1027 ± 49 ^{ab}
	20% D	27.6 ± 0.3 ^d	3.2 ± 0.3 ^a	15.3 ± 0.6 ^b	3.4 ± 0.2 ^b	42.6 ± 2.2 ^d	2.1 ± 0.7 ^a	5.8 ± 1.6 ^{ac}	1097 ± 54 ^{ab}

Različita mala slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Nakon hemijske analize, urađena je analiza glavnih komponenata (*Principal component analysis* – PCA) prezentovanih podataka. Na ovaj način se dobijaju linearne kombinacije promenljivih koje se nazivaju glavne komponente (PC). Prva glavna komponenta (PC1) izražava najveću varijabilnost, dok svaka sledeća glavna komponenta (PC2, PC3...) predstavlja što je moguće veću preostalu varijabilnost.

U ovom istraživanju se pokazalo da prve dve glavne komponente čine 92,77 % ukupne varijanse u okviru sedam promenljivih (parametri hemijske analize). Prva glavna komponenta čini 78,08 %, a druga glavna komponenta 14,69 % ukupne varijanse (slika 5.14). Razmatrajući prikazanu šemu PCA kojom su predstavljeni analizirani podaci, sadržaj masti (koji učestvuje u 15,9 % ukupne varijanse, baziranoj na korelacijama), rastvorljivih vlakana (15,4 %), proteina (15,8 %) i pepela (15,1 %) pokazuju pozitivan odnos prema prvoj glavnoj komponenti (PC1), dok sadržaj vlage (15,6 %) i ugljenih hidrata (15,9 %), pokazuju negativan odnos prema prvoj glavnoj

komponenti. Pozitivan odnos prema drugoj glavnoj komponenti (PC2), uočen je kod energetske vrednosti (73,3 % ukupne varijanse), dok su negativan odnos pokazala nerastvorljiva vlakna (24,2 %) (slika 5.14).



Slika 5.14. Raspedela glavnih komponenti (PC) zasnovana na analizi hemijskog kontrole i obogaćenih hlebova sa dodatkom 5 % i 20 % pogače A, D i Š

Prva glavna komponenta (PC1) objašnjava razlike u korišćenim uzorcima prema količini dodavanja pogače od semena tri sorte jabuka. Uzorci pogače od semenki A, D i Š, bili su bogati lipidima, proteinima, pepelom i rastvorljivim vlaknima, dok su kontrolni uzorak, kao i obogaćeni hlebovi sa dodatkom 5 % i 20 % pogače, bili bogati ugljenim hidratima i vlagom.

Zahvaljujući visokom sadržaju proteina, masti i hranljivih vlakana, pogače A, D i Š ima visoku hranljivu vrednost.

Ukupan sadržaj hranljivih vlakana u pogačama se kretao između 35–40,68 %, pri čemu su dominantna rastvorljiva vlakna (28,64 – 34,04 %). Optimalan maseni odnos nerastvorljivih i rastvorljivih hranljivih vlakana je 1:3, mada često dostiže i do 1:9 (Han i sar., 2017). U ovom istraživanju, najmanji maseni odnos nerastvorljiva:rastvorljiva vlakna je bio 1:4,5 u pogači Š, dok je kod druga dva uzorka obezmašćene samlevene pogače ovaj odnos bio veći 1:5 i 1:5,2 (pogača A i pogača D, redom). Ovakav odnos nerastvorljivih i rastvorljivih vlakana utiče na apsorpciju vode i varenje u ljudskom organizmu, a takođe i na fizičke i hemijske karakteristike proizvoda. Visok sadržaj rastvorljivih vlakana je poželjan jer su ova vlakna sklonija stvaranju gel-strukture, i mogu se lako ubaciti u hranu, za razliku od nerastvorljivih vlakana koja utiču na peristaltiku i pražnjenje creva (Dai i Chau, 2017).

Ukupan sadržaj hranljivih vlakana u pogači Š (35 %) smanjen je na račun povećanja udela masti i proteina, za razliku od sadržaja ukupnih vlakana u pogači A (40,68 %), i pogači D (39,56 %). Prema tome, činjenica je da su sorte jabuka imale značajan uticaj na sastav dobijenih pogača.

Delimična zamena pšeničnog brašna sa 5 % i 20 % pogače, značajno utiče na hemijski sastav obogaćenih hlebova. Moglo se uočiti značajno povećanje sadržaja proteina i hranljivih

vlakana. U uzorcima sa dodatkom 20 % pogače, zabeleženo je značajno povećanje sadržaja proteina, i to za više od 30 % u odnosu na kontrolni uzorak. Ovaj podatak je u saglasnosti sa saopštenim rezultatima za hleb u kome je pšenično brašno zamenjeno brašnom iz koštica kajsije u masenom udelu 24 % (Dhen i sar., 2018).

Sadržaj rastvorljivih vlakana u obogaćenim hlebovima je značajno veći u odnosu na kontrolu (1,01 %), što se posebno odnosi na hlebove u kojima je pšenično brašno zamenjeno sa 5 % pogače, i to, hlebovi sa 5 % pogače D (2,58 %), i 5% pogače A (2,27 %). Obogaćeni hleb sa 5 % pogače Š (1,89 %) takođe je imao veći sadržaj rastvorljivih vlakana u odnosu na kontrolu, ali manji od prethodno pomenutih obogaćenih hlebova, što se objašnjava time da je pogača Š siromašnija rastvorljivim hranljivim vlaknima u odnosu na pogaču A i pogaču D.

Za razliku od obogaćenih hlebova sa 5 % pogače, obogaćeni hlebovi sa 20 % pogače imali su znatno veći sadržaj nerastvorljivih vlakana, u odnosu na kontrolu (2,57 %), posebno hlebovi sa 20 % pogače A (7,24 %) i 20% pogače Š (7,19 %). Na osnovu prikazanih podataka, može se zaključiti da hlebovi sa visokim udelom pogače, mogu biti odličan izvor nerastvorljivih hranljivih vlakana, i mogu nositi nutritivnu oznaku „bogati vlaknima“.

Smanjenje sadržaja ugljenih hidrata je zapaženo kod svih obogaćenih hlebova u kojima je pšenično brašno zamenjeno sa 20 % pogače, naročito hlebovi sa 20 % pogače A (37,38 %) i 20 % pogače Š (37,81 %), u poređenju sa kontrolom koja sadrži 49,6 % ugljenih hidrata, što je u saglasnosti sa niskom energetsom vrednošću za iste obogaćene hlebove (1014 kJ/100 g i 1033 kJ/100 g, redom), i ove vrednosti su niže u odnosu na energetska vrednost kontrole (1082 kJ/100 g).

5.7.2. Analiza boje

Vrsta brašna, korišćeni aditivi, temperatura i dužina pečenja, kao i uslovi i vreme skladištenja hlebova, su neki od najznačajnijih faktora, koji utiču na boju kore i sredine hleba, njihovu teksturu i ukus, i značajno utiču na njihovu prihvatljivost od strane potrošača (Kolleta i sar., 2014; Rusinek i sar., 2020). Parametri boje L^* (psihometrijska svetlost), a^* (psihometrijski ton) i b^* (psihometrijska hroma) za koru i sredinu ispitivanih hlebova su prikazani u tabeli 5.15.

Tabela 5.15. Bojene karakteristike obogaćenih hlebova i kontrolnog uzorka

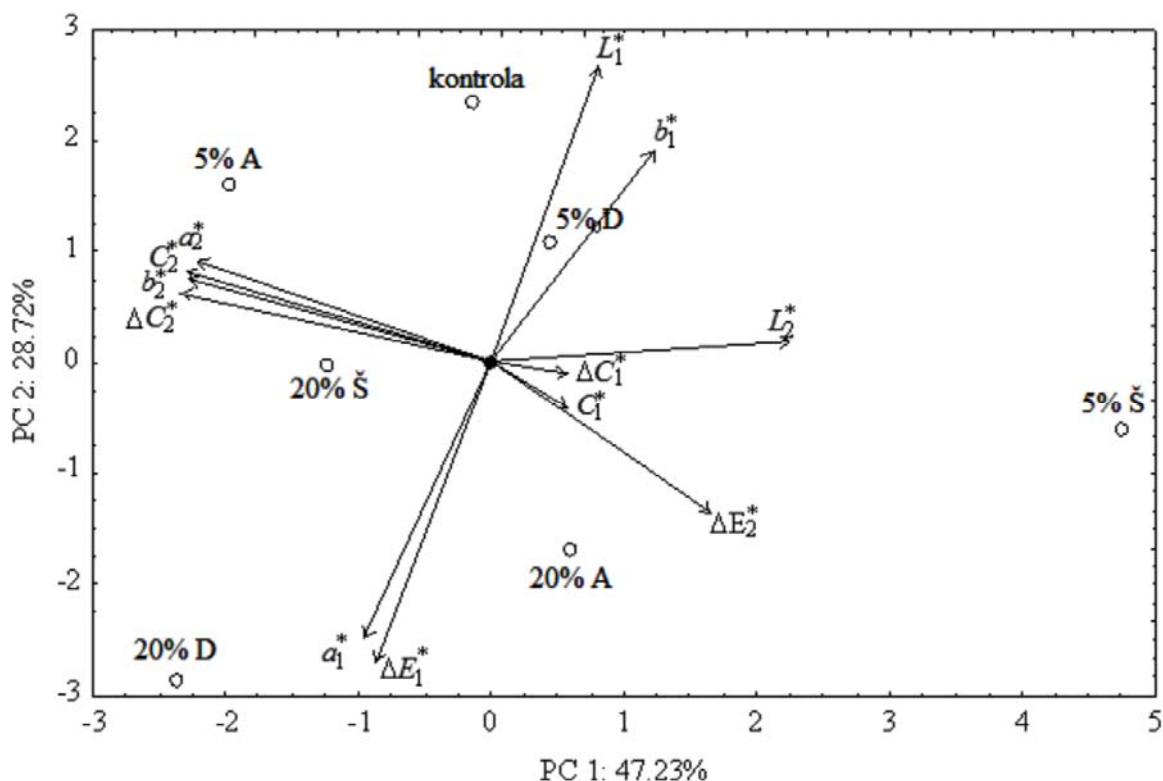
HLEB	BOJA SREDINE				BOJA KORE			
	L_1^*	a_1^*	b_1^*	ΔE_1	L_2^*	a_2^*	b_2^*	ΔE_2
kontrola	83.0±0.9 ^a	3.2±0.4 ^a	7.3±1.0 ^a	0.0±0.0 ^a	64.0±2.0 ^{cd}	16.5±1.0 ^{ab}	27.3±1.4 ^a	0.0±0.0 ^a
5% A	82.2±1.3 ^{ab}	3.3±0.5 ^{ab}	6.7±0.8 ^a	1.1±0.3 ^b	62.7±1.5 ^{bcd}	16.2±1.2 ^{ab}	22.7±2.1 ^a	4.8±0.8 ^b
20% A	76.5±1.6 ^c	4.5±0.5 ^{bc}	6.5±1.0 ^a	6.7±0.7 ^d	66.3±1.6 ^{de}	13.7±1.0 ^b	23.2±1.8 ^a	5.5±0.5 ^{bc}
5% Š	81.3±0.8 ^{ab}	3.2±0.4 ^a	6.8±0.8 ^a	1.8±0.3 ^b	71.2±1.5 ^e	9.8±0.8 ^c	14.5±1.0 ^b	16.2±0.2 ^c
20% Š	79.0±1.3 ^{bc}	4.0±0.6 ^{abc}	6.7±0.8 ^a	4.1±0.4 ^c	57.7±2.3 ^{ab}	18.8±1.2 ^a	26.2±3.7 ^a	7.1±0.5 ^d
5% D	82.5±1.2 ^a	3.2±0.4 ^a	6.2±1.2 ^a	1.2±0.4 ^b	60.3±2.0 ^{abc}	19.0±1.4 ^a	28.5±2.7 ^a	4.7±0.5 ^b
20% D	72.8±1.5 ^d	4.7±0.5 ^c	5.7±0.8 ^a	10.4±0.6 ^e	57.3±2.7 ^a	16.8±1.9 ^{ab}	26.3±2.1 ^a	6.9±0.7 ^{cd}

Različita mala slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Za analizu boje, takođe je primenjena metoda analize glavnih komponenti (PCA). Prve dve glavne komponente čine 75,95 % od ukupne varijanse za 8 promenljivih tj. ispitanih bojenih karakteristika uzoraka. Pri tome, je učešće prve glavne komponente u ukupnoj varijansi (47,23 %), dok je učešće druge glavne komponente (28,72 %). Koordinate boje L_2^* (koja ima učešće 15,3 % ukupne varijanse, bazirane na korelacijama) i ΔE_2^* (8,1 % ukupne varijanse), pokazuju pozitivan odnos prema prvoj glavnoj komponenti, dok koordinate boje a_2^* (14,9 %), b_2^* (15,7 %), C_2^* (15,9 %) i ΔC_2 (16,6 %), pokazuju negativan odnos prema prvoj glavnoj komponenti. S druge strane, pozitivan odnos sa drugom glavnom komponentom imaju koordinate boje b_1^* (12,9 % ukupne varijanse) i L_1^* (25,1 %), dok negativan odnos prema drugoj glavnoj komponenti pokazuju koordinate boje a_1^* (21,4 %), and ΔE_1 (24,9 %). (slika 5.15).

Kontrola, kao i uzorci obogaćenih hlebova sa 5 % dodate pogače A, D i Š su okarakterisani visokim vrednostima koordinata boje L_1^* i b_1^* , dok su uzorci sa 20 % dodate pogače A, D i Š pokazali visoke vrednosti bojenih koordinata a_1^* i ΔE_1 . U uzorcima hlebova sa 20 % dodate pogače Š i D i 5 % dodate pogače D, uočavaju se visoke vrednosti bojenih koordinata a_2^* i b_2^* , dok su povišene vrednosti koordinata boje ΔE_2 i L_2^* uočene kod uzoraka hleba sa 5 % dodate pogače Š.

Parametar razlike obojenosti ΔE (uzimajući u obzir kontrolni uzorak kao referentni), pokazao je da postoji značajan uticaj dodatka pogače na boju analiziranih hlebova. Dobijene ΔE vrednosti su znatno niže od onih koje su saopštili Bchir i sar. (2014), a koje se odnose na hleb u kome je pšenično brašno bilo delimično zamenjeno hranljivim vlaknima iz jabuke ($\Delta E = 20,17$ za mrvicu and $\Delta E = 10,23$ za koru). Uzimajući u obzir da su sve razlike u boji veće od 6 značajne (Ramirez-Navas i Rodriguez de Stouvenel, 2012), moglo bi se reći da dodatak pogače uslovljava značajne razlike u boji kore i sredine, vidljive golim okom kao složena distribucija boja i neravnomerno obojeni proizvodi (slika 5.16). Najveća uočena razlika boje kore hleba je sa 5 % dodate pogače Š.



Slika 5.15. PCA raspodela promenljivih koje su bazirane na bojenim karakteristikama uzoraka hlebova

Posmatrajući boju sredine, postoji blaga razlika između kontrole i hlebova sa 5 % dodate pogače A i Š. Značajno smanjenje vrednosti koordinate L^* je primećeno kod svih hlebova sa 20 % dodate pogače, kao i za koordinatu b^* kod svih obogaćenih hlebova, a posebno se pad ove dve koordinate odnosi na hleb sa 20% dodate pogače D (72,8 i 5,7, redom). Nasuprot ovim rezultatima, primećuje se značajno povećanje vrednosti parametra a^* za sve uzorke hleba sa 20 % dodate pogače, a posebno sa 20 % pogače A (4,5) i 20 % pogače D (4,7). Ovi rezultati boje sredine su posledica boje brašna (Dhen i sar., 2018), a takođe i originalne boje pogače, koja može uticati na boju sredine hleba (Bchir i sar., 2014).

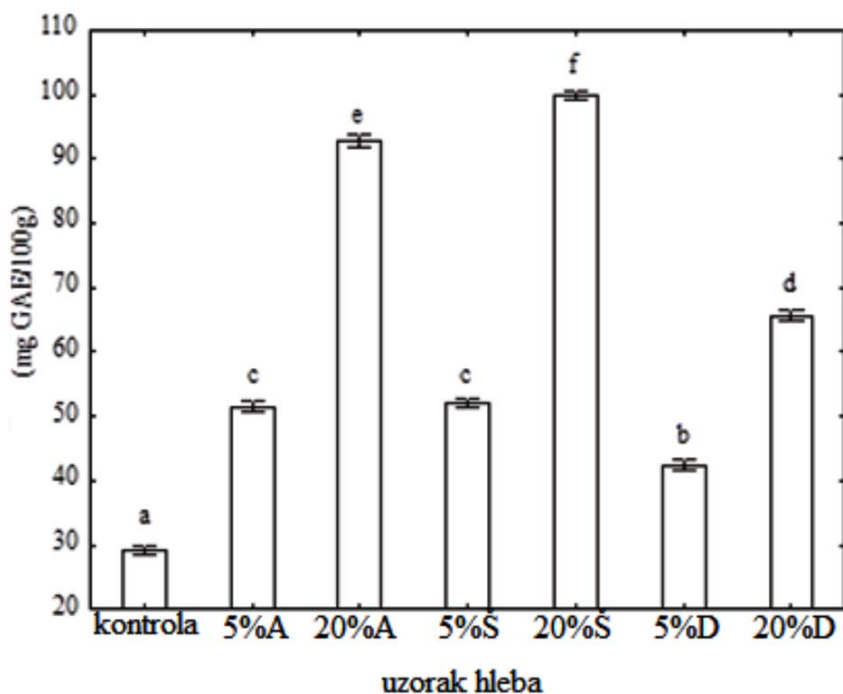


Slika 5.16. Parče kontrolnog uzorka i hlebova sa 5% i 20% dodate pogače D

Što se tiče boje kore, primećuje se značajno povećanje koordinate L^* za uzorak hleba sa 5 % dodate pogače Š (71,2) u odnosu na kontrolu (64,0) i smanjenje vrednosti koordinata a^* and b^* za isti uzorak (9,8 i 14,5, redom). Uočeno je i znatno smanjenje vrednosti koordinate L^* za hleb sa 20 % dodate pogače Š (57,7) i 20 % pogače D (57,3), u odnosu na kontrolu (64,0). Rezultati koji se odnose na vrednost koordinate L^* su očekivani zbog visokog sadržaja proteina kod uzoraka hleba sa po 20 % dodate pogače D i 20 % dodate pogače Š. Ove promene boje sredine uzrokovane su reakcijom između slobodne strane lanca aminokiseline u molekulu proteina i molekula ugljenih hidrata tokom pečenja hleba (Martins Sara i sar., 2001).

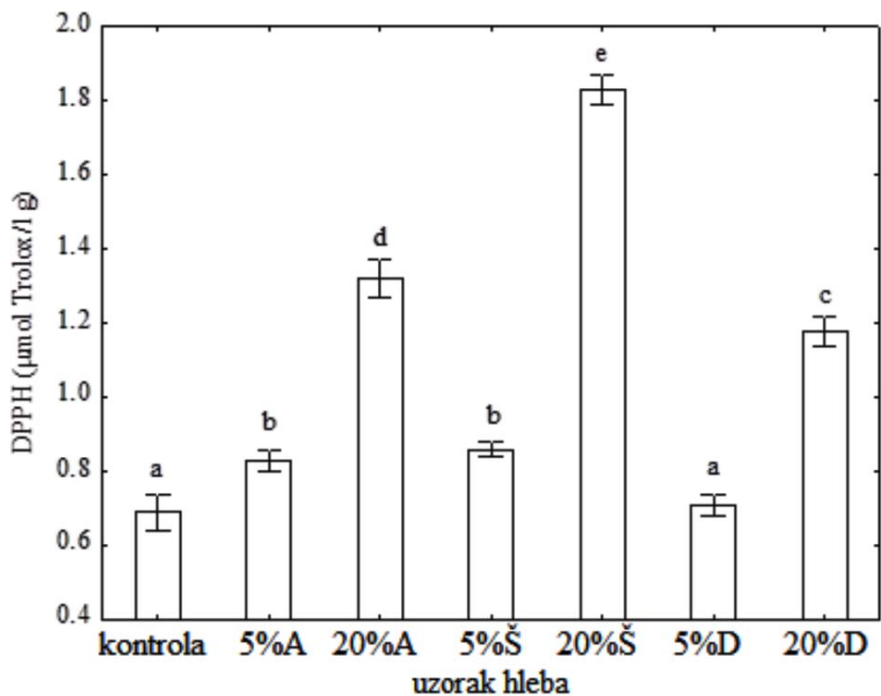
5.7.3. Analiza sadržaja ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti

Obogaćeni hlebovi imaju mnogo veći antioksidativni potencijal i sadržaj polifenola u odnosu na kontrolu. Prosečna vrednost sadržaja ukupnih polifenola u obogaćenim hlebovima sa 5 % dodate pogače je 48,7 mg GAE/100 g, što je 1,7 puta viša vrednost u odnosu na kontrolu. Prosečna vrednost sadržaja ukupnih polifenola u obogaćenim hlebovima sa 20 % dodate pogače je 86,1 mg GAE/100 g, što 2,9 puta viša vrednost u odnosu na kontrolu, i 1,8 puta viša vrednost od prosečne vrednosti za obogaćene hlebove sa 5 % dodate pogače (slika 5.17).



Slika 5.17. Dijagram sadržaj ukupnih polifenola (mg GAE/100g) u kontroli i uzorcima obogaćenih hlebova sa 5 % i 20 % dodate pogače

DPPH vrednosti za obogaćene hlebove sa 5% dodate pogače se kreću u intervalu od 0,71 do 0,86 $\mu\text{mol Trolox/g}$ (prosek je 0,8 $\mu\text{mol Trolox/g}$), dok su za obogaćene hlebove sa 20% dodate pogače, DPPH vrednosti se kretale u intervalu 1,18 – 1,83 $\mu\text{mol Trolox/g}$ (prosek je 1,44 $\mu\text{mol Trolox/g}$) (slika 5.18).



Slika 5.18. Dijagram DPPH vrednosti ($\mu\text{mol Trolox/g}$) kontrole i uzoraka obogaćenih hlebova sa 5 % i 20 % dodate pogače

Dobijeni rezultati za sadržaj ukupnih polifenola i DPPH vrednost se savršeno podudaraju sa podacima za pšenični hleb koje su saopštili Alvarez-Jubete i sar. (2010). Pogača A i pogača Š su pokazale da imaju najveći uticaj na DPPH vrednost i sadržaj ukupnih polifenola obogaćenih hlebova, u odnosu na slabiji uticaj koji ima pogača D. Ovaj uticaj je veći sa povećanjem udela dodate pogače, što rezultuje najvećom količinom ukupnih polifenola i najboljim DPPH testom za obogaćeni hleb sa 20 % pogače Š (99,9 mg/100 g i 1,83 μ mol Trolox/g, redom), a prati ga obogaćeni hleb sa 20 % pogače A (92,8 mg/100 g i 1,32 μ mol Trolox/g, redom). Obogaćeni hlebovi sa 20 % pogače Š i 20 % pogače A se ističu po visokom sadržaju proteina u kojima aminokiseline mogu učestvovati u interakcijama sa redukujućim šećerima i proizvodima oksidacije lipida (Majardova reakcija neenzimatskog potamnjenja).

Proizvodi Majardove reakcije *in vitro* pokazuju antioksidativnu aktivnost jer melanoidini, kao konačni proizvodi Majardove reakcije, i furanov prsten, doprinose antioksidativnim karakteristikama pečenih proizvoda od žita (Shen i sar., 2018). Smatra se da postoji čitav niz faktora (vrsta reaktanata, temperatura, pH, aktivnost vode, dostupnost kiseonika) koji snažno utiču na antioksidativnu aktivnost Majardovih proizvoda (Yu i sar. 2013), koji su odgovorni i za boju hlebova.

5.7.4. Analiza teksturnih svojstava

Prosečna tvrdoća svih vrsta hleba testiranih prvog, trećeg i sedmog dana od početka skladištenja i promena svežine hlebova nakon sedam dana, kao posledica promene tvrdoće, prikazane su u tabeli 5.16.

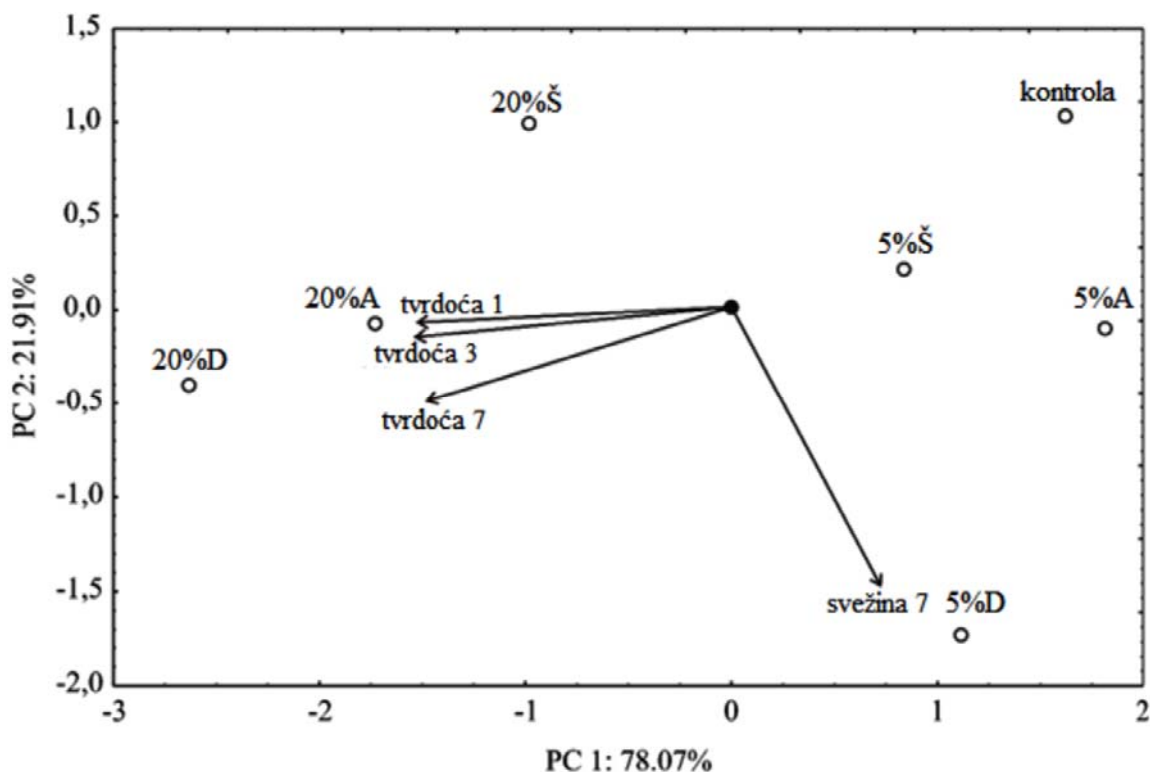
Tabela 5.16. Prosečne vrednosti tvrdoće analiziranih uzoraka hleba u njutnima [N] dobijene na Texture Analyser uređaju i promena svežine hleba (%) 7 dana nakon pečenja

Vrsta hleba	Tvrdoća 1 (N)	Tvrdoća 3 (N)	Tvrdoća 7 (N)	Promena svežine hleba nakon 7 dana (%)
kontrola	4,10 \pm 0,72 ^a	4,14 \pm 0,61 ^a	4,44 \pm 0,27 ^a	8.30
5 % A	4,08 \pm 0,81 ^a	4,11 \pm 3,77 ^a	4,67 \pm 0,63 ^a	14.50
20 % A	5,88 \pm 0,41 ^b	6,04 \pm 0,53 ^a	6,42 \pm 0,65 ^{bc}	9.20
5 % Š	4,55 \pm 0,10 ^a	4,62 \pm 0,22 ^a	5,07 \pm 0,53 ^{ab}	11,40
20 % Š	5,47 \pm 0,04 ^b	5,53 \pm 0,05 ^a	5,73 \pm 0,39 ^{ab}	4.75
5 % D	4,49 \pm 0,15 ^a	4,67 \pm 0,21 ^a	5,48 \pm 0,74 ^{ab}	22.05
20 % D	6,39 \pm 0,21 ^c	6,50 \pm 0,39 ^a	7,00 \pm 0,59 ^c	9.55

Različita mala slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou $p < 0,05$, na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Za analizu teksture, primenjena je i metoda analize glavnih komponenti (PCA). Prvim dvema glavnim komponentama se može objasniti 99,98 % ukupne varijanse u okviru 4 promenljive (prosečna tvrdoća hlebova testirana prvog, trećeg i sedmog dana od početka skladištenja i promena svežine hlebova (%) 7 dana nakon pečenja). Tvrdoća nakon prvog dana skladištenja (koja učestvuje

sa 31,9 % ukupne varijanse, bazirane na korelacijama), tvrdoća nakon trećeg dana skladištenja (31,7 % ukupne varijanse) i tvrdoća nakon sedmog dana skladištenja (29,2 % ukupne varijanse) pokazali su negativan odnos prema prvoj glavnoj komponenti. Promena u svežini hlebova nakon sedam dana skladištenja (89,0 % ukupne varijanse), pokazuje negativan odnos prema drugoj glavnoj komponenti (slika 5.19).



Slika 5.19. PCA raspodela promenljivih koje su bazirane na tvrdoći uzoraka hlebova nakon prvog, trećeg i sedmog dana od početka skladištenja kao i promeni svežine posle 7 dana

Prvom glavnom komponentom se objašnjavaju razlike u uzorcima na osnovu prosečne tvrdoće hlebova testiranih nakon prvog, trećeg i sedmog dana od početka skladištenja. Prosečna tvrdoća u uzorcima hlebova se može prikazati sledećim redosledom: kontrola < 20 % Š < 20 % A < 20 % D, dok je promena svežine hlebova nakon sedam dana od pečenja prikazana ovim redosledom: kontrola < 5 % Š < 5 % A < 5 % D.

Iako su uzorci sa 5 % dodate pogače pokazali bolju svežinu, u poređenju sa uzorcima sa 20 % dodate pogače, nakon sedam dana skladištenja, promena svežine hlebova, izražena u procentima, bila je uočljivija kod uzoraka sa 5 % dodate pogače (11,4 - 22,05 %), dok je kod uzoraka sa 20 % dodate pogače bila primetna blaga promena svežine nakon sedam dana skladištenja (4,75 – 9,55 %). To govori da uzorci sa većim udelom dodate pogače bolje zadržavaju svežinu nakon sedam dana skladištenja.

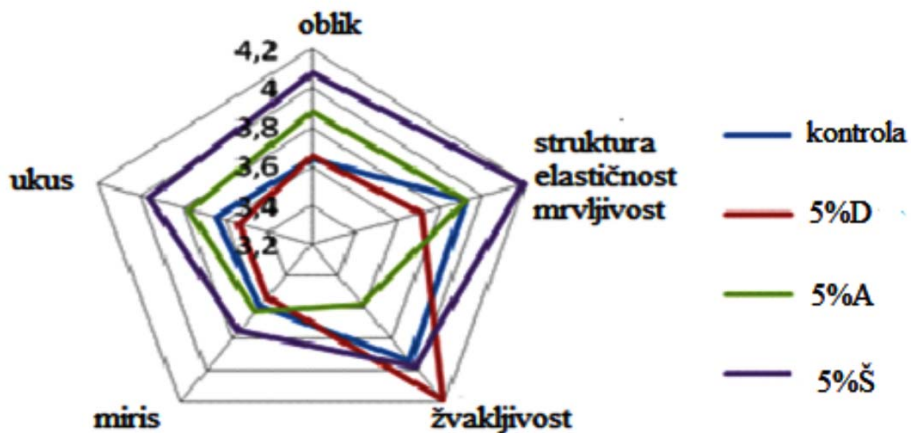
Pretpostavlja se da je veći sadržaj hranljivih vlakana u uzorcima sa 20 % dodate pogače uticao na bolje zadržavanje svežine hleba, što bi se moglo potvrditi na osnovu zaključaka istraživanja koje su saopštili Kurek i Wyrwisz (2015), da primena hranljivih vlakana u procesu proizvodnje hleba dovodi do povećanja kapaciteta zadržavanja ulja i vode, smanjenja sinereze, modifikacije teksturnih svojstava, i produženja roka trajanja hleba.

Uzorci hleba sa najvišim procentom pogače imali su znatno veći sadržaj proteina u odnosu na kontrolu, što je rezultiralo debljim zidovima i čvršćom strukturom sredine hleba. Gluten iz

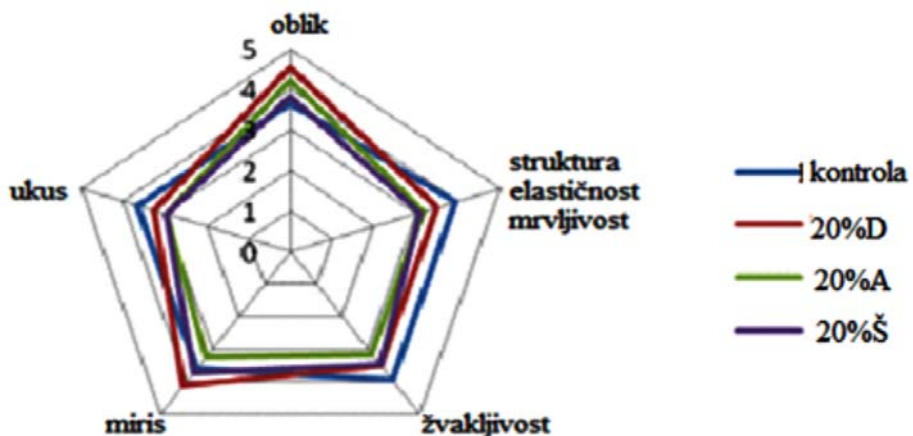
pšeničnog brašna zadržava meku strukturu hleba, jer je kretanje vode usporeno, a proteinska mreža je rastegljiva (Baiano i sar., 2009).

5.7.5. Analiza senzornih svojstava

Uzorci obogaćenih hlebova sa 5 % i 20 % dodate pogače A, D i Š su senzorno analizirani, u poređenju sa kontrolom, sedam dana nakon pečenja, što je prikazano pentogramima (slike 5.20 i 5.21).



Slika 5.20. Rezultati senzorne analize obogaćenih hlebova sa 5 % dodate pogače u poređenju sa kontrolom



Slika 5.21. Rezultati senzorne analize obogaćenih hlebova sa 20 % dodate pogače u poređenju sa kontrolom

Na osnovu senzorne analize uzoraka hleba, primećuje se da testirani hlebovi imaju ujednačen kvalitet i pripadaju kategoriji sa vrlo dobrim senzornim kvalitetom, što je kvalitativno izraženo ocenama koje se kreću u intervalu od 3,22 (uzorak sa 20 % dodate pogače A) do 3,97 (uzorak sa 5 % dodate pogače Š).

Delovi pogače su vidljivi na poprečnom preseku obogaćenih hlebova i daju doprinos njegovom interesantnom izgledu. Odličan oblik i atraktivan izgled primećen je kod uzoraka obogaćenog hleba sa 20 % pogače D ($X_m = 4,56$), i sa 20 % pogače A ($X_m = 4,23$).

Među uzorcima obogaćenih hlebova sa 5 % dodate pogače, posebno se ističe hleb obogaćen sa 5 % pogače Š sa najboljom prosečnom ocenom strukture ($X_m = 4,19$) i izgleda ($X_m = 4,08$) i, generalno posmatrano, najboljom prosečnom ocenom senzornog kvaliteta u odnosu na sve ispitane uzorke ($X_m = 3,97$). U uzorcima obogaćenih hlebova sa 20 % dodate pogače, struktura sredine je lošija. Suva, mrvičasta i kompaktna struktura sredine, kao i nepravilne pore, primećene su, u manjoj meri, i kod uzoraka sa 5 % dodate pogače. Razlog za to verovatno leži u sposobnosti pogače da apsorbuje veliku količinu vode i destabilizaciji matrice gluten-skrob u prisustvu vlakana iz pogače.

Hleb sa 5% pogače D je imao najbolju ocenu za žvakljivost ($X_m = 4,19$). Tokom dužeg žvakanja, kada se pomeša sa pljuvačkom, suvi izmravljeni hleb stvarao je osećaj blagog grebanja nepca tokom žvakanja i gutanja zalogaja, kao i delimičnog zaostajanja pogače u usnoj duplji, što posebno dolazi do izražaja u uzorcima hleba sa 20 % dodate pogače, što je doprinelo nešto nižoj oceni (od $X_m = 3,15$ za obogaćeni hleb sa 20 % pogače A do $X_m = 3,5$ za obogaćeni hleb sa 20 % pogače D).

Aroma kontrole i obogaćenih hlebova sa 5 % dodate pogače je bila neutralna ($X_m = 3,54$ za uzorak sa 5% pogače D do $X_m = 3,75$ za uzorak sa 5 % pogače Š) dok je njihov ukus bio vrlo dobar ($X_m = 3,54$ za uzorak sa 5 % dodate pogače D do $X_m = 3,96$ za uzorak sa 5 % dodate pogače Š). Uzorci hleba sa 20 % pogače su se isticali po prijatnom mirisu, poput mirisa kolača, posebno hleb sa 20 % dodate pogače D ($X_m = 4,11$), dok je ukus uzoraka hleba sa 20 % dodate A ili Š podsećao na ukus badema i marcipana i bio je blago gorak, pa je ocenjen nižim ocenama ($X_m = 2,96$, za oba uzorka).

Dobijeni rezultati ukazuju, pre svega, da se razlike u žvakanju i aromi (mirisu i ukusu) mogu pripisati prisustvu i količini pogače, kao i vrsti semenki jabuke. Generalno, dodavanje pogače standardnom pšeničnom hlebu menja ocenjena senzorna svojstva. Pri tome, uzorci sa 20 % dodate pogače znatno se razlikuju od kontrolnih, ali krajnji proizvod je značajno obogaćen proteinima i vlaknima.

6. ZAKLJUČAK

U prvom delu istraživanja je izvršena hemijska analiza semenki tri sorte jabuka, koje su potom hladno ceđene i dobijena su ulja kojima su ispitane fizičko-hemijske karakteristike.

1. Na osnovu hemijske analize semenki tri sorte jabuka, dobijeni su podaci o sadržaju vlage u semenkama (7,55-8,69 %), što je od presudnog značaja za njihovu manipulaciju u skladištu, kao i tokom postupka prerade. Na osnovu sadržaja ulja (20,6-24,4 %) i proteina (25,76-29,47 %) nagovešten je potencijal semenki jabuka, ne samo kao alternativne uljarice, nego i sirovine koja se može dodavati drugim prehrambenim proizvodima, radi poboljšanja njihove nutritivne vrednosti.
2. Vrednosti za gustinu hladno ceđenih ulja semenki jabuka (0,9317-0,9487 kg/l) su bile više u odnosu na gustinu nerafinisanih (sirovih) biljnih ulja, prema Pravilniku (2013). Slično je i sa vrednostima za indeks refrakcije (1,4731-1,4735). Ovi rezultati su nagovestili da se radi o ulju sa visokim procentom nezasićenih masnih kiselina, kao i da su u uljima prisutne masne kiseline dugog lanca. To su potvrdile vrednosti za jodni (121-129) i saponifikacioni broj ulja (187-192).
3. Kiselinski broj ispitivanih ulja je bio nizak (1,5-1,8 mg KOH/g ulja). U semenkama nije došlo do značajnog hidrolitičkog razlaganja triacilglicerola na slobodne masne kiseline i glicerol tokom perioda čuvanja do momenta hladnog ceđenja. To se moglo i očekivati, s obzirom da su semenke imale nizak sadržaj vlage.
4. Masnokiselinski sastav govori o tome da ulja semenki jabuka pripadaju uljima linolnog tipa, jer je sadržaj polinezasićene linolne kiseline bio najviši (53,83-60,02 %). Sledeća, po sadržaju, je bila mononezasićena oleinska kiselina (28,76-33,37 %). Ovo ulje se može smatrati visokovrednim, sa fiziološkog i nutritivnog aspekta, zbog svih pozitivnih efekata koje navedene masne kiseline imaju u organizmu.
5. Od izomera tokoferola, najzastupljeniji je bio α -tokoferol (17,8-34,1 mg/100 g), koji čini 75,5-76,3 % ukupnih tokoferola, a ulje sa najvišim sadržajem, kako ovog izomera, tako i ukupnih tokoferola, bilo je ulje semenki Ajdareda. Ulja semenki jabuka imaju značajnu biološku vrednost jer, pored α -izomera, ulje semenki jabuka sadrži β -tokoferol, koji je retko prisutan u biljnim uljima. Međutim, reverzno faznom hromatografijom nije bilo moguće razdvojiti β i γ -tokoferol, i zato su rezultati sadržaja β - i γ -tokoferola prikazani zbirno.
6. Po sadržaju ukupnih polifenola prednjačilo je ulje semenki Zlatnog Delišesa (3,81 mg/100 g), koje je imalo i najbolje vrednosti za antioksidativnu aktivnost prema DPPH (61,6 μ mol TE/kg) i ABTS testu (68,2 μ mol TE/kg). To je još jedna potvrda činjenice da su polifenoli veoma efikasni prirodni antioksidansi. Vrednosti antioksidativne aktivnosti za svako pojedinačno ulje, dobijene DPPH i ABTS testom, su se dosta razlikovale, što je čest slučaj u literaturi. Zbog toga je preporučljivo da se, prilikom ispitivanja antioksidativne aktivnosti ulja, uvek koriste bar dve metode.
7. Rezultati sadržaja primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, peroksidnog broja (2,8-5,2 mmol/kg), anisidinskog broja (0,61-0,65), konjugovanih diena (1,95 – 3,67) i konjugovanih triena (0,39 – 0,75), govore da je reč o kvalitetnim uljima, u kojima nije došlo do oksidativnog kvarenja.
8. Rezultati Rancimat testa su pokazali da ne postoje značajne razlike u stabilnosti između ispitivanih uzoraka ulja prema oksidaciji (13,24-13,97 h). S druge strane, rezultati DSC testa su pokazali značajne razlike u održivosti ulja prema oksidaciji. Na rezultate ovog testa najveći uticaj je imao sadržaj linolne kiseline, kao dominantne masne kiseline ulja semenki jabuke. Ulje Šumatovke je pokazalo najbolju održivost, pod uslovima izvođenja ovog testa, 187,5°C, s obzirom da ima niži sadržaj linolne kiseline 53,83 %, u odnosu na druga dva ulja.

To znači da sastav masnih kiselina ulja, a posebno, prisustvo veće količine onih sa više dvostrukih veza, utiče na oksidativnu stabilnost ulja tokom perioda njegovog čuvanja.

U drugom delu istraživanja, izvršena je inkapsulacija ulja metodama elektrostatičke ekstruzije i sprej-sušenja.

1. Dobijeni inkapsulati metodom elektrostatičke ekstruzije su imali bolji prinos i veći sadržaj ulja, u odnosu na inkapsulate dobijene metodom sprej-sušenja. Po ovim parametrima, posebno su se istakli inkapsulati ulja semenki Šumatovke (78,6 % i 80 %, redom).
2. Efikasnost inkapsulacije primenom obe metode je bila veoma visoka, što ulje semenki jabuka čini pogodnom komponentom za inkapsulaciju.
3. Ispitivanja morfoloških karakteristika inkapsulata dobijenih metodom elektrostatičke ekstruzije, su pokazala da dobijeni inkapsulati imaju izdužen oblik. Druge morfološke karakteristike inkapsulata, kao što su faktor sferičnosti i faktor skupljanja (usled sušenja) nisu uticali, u većoj meri, na karakteristike inkapsulata. Iako nisu imali sferični oblik, inkapsulati na bazi Ca-alginata, dobijeni u ovom radu, su uspešno zadržali ulje, kako u vlažnom, tako i u suvom stanju.
4. Rezultati SEM analize površine inkapsulata, dobijenih metodom elektrostatičke ekstruzije su pokazali da se, nakon sušenja, nisu pojavile vidljive pukotine, koje bi mogle negativno da utiču na mehaničku stabilnost čestica kod manipulacije. S druge strane, odsustvo pukotina je važno za bolju zaštitu aktivnih komponenti i očuvanje hemijske stabilnosti inkapsulisanog ulja.
5. Ispitivanja morfoloških karakteristika inkapsulata dobijenih metodom sprej-sušenja su pokazala da su dobijene čestice imale veliku varijabilnost veličina, čak i u okviru istog uzorka, što je posledica neujednačene disperzije polazne emulzije komprimovanim vazduhom. Većina čestica su imale dimenzije ispod 10 μm .
6. Rezultati SEM analize su pokazale očiglednu razliku u veličinama čestica dobijenih metodom sprej-sušenja. Za sitnije čestice je posebno zanimljivo bilo to što su pokazale sklonost ka formiranju agregata, što je, verovatno, posledica prisustva ulja koje je doprinelo tome.
7. Rezultati Oven testa su pokazali da inkapsulati samo donekle imaju zaštitnu ulogu od procesa oksidacije. U tom pogledu, inkapsulati dobijeni elektrostatičkom ekstruzijom su imali nešto bolji zaštitni efekat, u odnosu na inkapsulate dobijene sprej-sušenjem. Važno je istaći da proces sprej sušenja, koji podrazumeva kratkotrajno izlaganje ulja povišenoj temperature, nije doveo do negativnih oksidativnih efekata.

U trećem delu istraživanja, ispitana je mogućnost dodavanja obezmašćene mlevene pogače od iscedenih semenki jabuka u pšenično brašno za proizvodnju hleba, i to, kao delimična zamena, u udelima 5% i 20%, u odnosu na brašno. Na taj način su dobijeni specijalni obogaćeni hlebovi, čije su karakteristike detaljno ispitane.

1. Delimična zamena pšeničnog brašna sa 5 % i 20 % pogače, značajno je uticala na hemijski sastav obogaćenih hlebova, pre svega, na povećanje sadržaja proteina i hranljivih vlakana, u odnosu na kontrolni uzorak. U uzorcima sa dodatkom 20 % pogače je utvrđeno povećanje sadržaja proteina za više od 30 % u odnosu na kontrolni uzorak. Kod hlebova sa 20 % pogače primećeno je značajno povećanje i sadržaja nerastvorljivih vlakana, u odnosu na kontrolni uzorak (2,57 %), te se ovi hlebovi mogu smatrati odličnim izvorom nerastvorljivih hranljivih vlakana i nositi nutritivnu oznaku „bogati vlaknima“.
2. Dodatak pogače je značajno uticao na boju sredine i kore obogaćenih hlebova. Primećeno je značajno smanjenje vrednosti parametra b^* kod svih obogaćenih hlebova i smanjenje

vrednosti parametra L^* kod svih hlebova sa 20 % pogače. Jedino su porasle vrednosti parametra a^* za sve uzorke hleba sa 20 % pogače. Na boju sredine značajno je uticala kako boja brašna, tako i boja dodate pogače. Kod boje kore, značajno su povećane vrednosti parametra L^* za uzorak hleba obogaćenog sa 5 % pogače Šumatovke (71,2), u odnosu na kontrolni uzorak (64,0). Istovremeno, primećeno je smanjenje vrednosti istog parametra za hleb sa 20 % pogače Šumatovke (57,7) i 20 % pogače Zlatnog Delišesa (57,3), u odnosu na kontrolni uzorak, što je posledica visokog sadržaja proteina, odnosno, reakcije između slobodne strane lanca aminokiseline u molekulu proteina i molekula ugljenih hidrata tokom pečenja hleba.

3. Prosečna vrednost sadržaja ukupnih polifenola u obogaćenim hlebovima sa 5 % dodate pogače je bila 1,7 puta viša vrednost u odnosu na kontrolni uzorak, dok je u obogaćenim hlebovima sa 20 % dodate pogače bila 2,9 puta viša vrednost, u odnosu na kontrolni uzorak. Sa porastom sadržaja pogače u obogaćenim hlebovima, rastao je i antioksidativni potencijal, po kojem su se naročito istakli uzorci hleba sa 20 % dodate pogače Šumatovke i Ajdareda, koji su, u isto vreme, imali i visok sadržaj proteina. Visokom antioksidativnom potencijalu ovih uzoraka, doprineli su i melanoidini, nastali kao produkt Majardovih reakcija tokom pečenja hleba.
4. Uzorci hleba sa većim udelom pogače su imali bolju svežinu nakon sedam dana skladištenja, što je posledica veće količine hranljivih vlakana u uzorcima obogaćenog hleba sa 20 % pogače. Naime, hranljiva vlakna omogućavaju bolje zadržavanje vode, sprečavaju pojavu sinereze i promenu teksturnih karakteristika hleba, čime se produžava rok trajanja hleba. Generalno gledano, uzorci hleba sa visokim sadržajem pogače, imali su znatno veći sadržaj proteina u odnosu na kontrolni uzorak, što je, u smislu teksturnih karakteristika obogaćenih hlebova, uticalo na veću debljinu zidova i čvršću strukturu sredine. Gluten iz pšeničnog brašna je uticao na zadržavanje mekoće.
5. Na osnovu senzorne analize uzoraka hleba, primećeno je da su testirani hlebovi imali ujednačen kvalitet i visoke ocene, i to, 3,22 za hlebove sa 5 % dodate pogače i 3,97 sa 20 % dodate pogače. Delovi pogače su bili vidljivi na poprečnom preseku obogaćenih hlebova, što je dalo značajan doprinos njihovom atraktivnom izgledu, po čemu se posebno isticao obogaćeni hleb sa 20 % pogače dodate pogače Zlatnog Delišesa. Uzorci hleba sa 5 % dodate pogače Šumatovke imali su vrlo dobru strukturu i izgled poprečnog preseka. Kod uzoraka sa 20 % dodate pogače, struktura je bila suva i mrvljiva, što je uticalo da, kada se pomeša sa pljuvačkom, suvi izmrvljeni hleb stvara osećaj blagog grebanja nepca tokom žvakanja i gutanja zalogaja, kao i delimičnog zaostajanja pogače u usnoj duplji. Aroma kontrolnog uzorka i obogaćenih hlebova sa 5 % dodate pogače je bila neutralna. Uzorci hleba sa 20 % pogače su se posebno istakli po prijatnom mirisu na kolače, a posebno hleb sa 20 % dodate pogače Zlatnog Delišesa, dok je ukus uzorka hleba sa 20 % dodate pogače Ajdareda i Šumatovke podsećao na ukus badema i marcipana i bio je blago gorak.

Shodno urađenim ispitivanjima i rezultatima fizičko-hemijske karakterizacije ulja semenki tri sorte jabuka, mogućnosti njihove inkapsulacije, kao i ispitanim karakteristikama obogaćenih hlebova sa obezmašćenom pogačom od iscedenih semenki, konstatovano je da semenke jabuka mogu imati svoju upotrebnu vrednost, u potpunosti, u prehrambenoj industriji. Na taj način, ne samo da se smanjuje mogućnost zagađenja životne sredine, nego i jabuka u industrijskoj preradi dobija dodatnu vrednost.

7. LITERATURA

Abreu, O.M.S.F., Oliveira, F.E., Paula, C.B.H., de Paula, C.M.R. (2012): Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 89: 1277–1282.

Adhvaryu, A., Erhan, S.Z., Perez, J.M. (2000): Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Thermochimica Acta*, 364: 87-97.

Akar, Z., Kucuk, M., Dogan, H. (2017): A new colorimetric DPPH scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1): 640–647.

Al-Bukhaiti, Q.W., Noman, A., Qasim, S.A., Al-Farga, A. (2017): Gas chromatography: principles, advantages and applications in food analysis. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 6(1): 123 - 128.

Alasalvar, C., Shahidi, B., Ohshima, T., Wanasundara, U., Yurttas, H.C., Liyanapathirana, C.M., Rodrigues, B.F. (2003): Turkish tumbul hazelnut (*Corylus avellana* L.). 2. Lipid characteristics and oxidative stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3797-3805.

Altunkaya, A., Hedegaard, R.V., Brimer, L., Gokmen, V., Skibsted, L.H. (2013): Antioxidant capacity versus chemical safety of wheat bread enriched with pomegranate peel powder. *Food and Function*, 4: 722–727.

Aluyor, E.O., Ozigagu, C.E., Oboh, O.I., Aluyor, P. (2009): Chromatographic analysis of vegetable oils: A review. *Scientific Research and Essay*, 4: 191-197.

Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E.K., Gallagher, E. (2010): Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 119: 770–778.

Anderson J.W., Baird P., Davis Jr R.H., Ferreri S., Knudtson M., Koraym A., Waters V., Williams Ch.L. (2009): Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67: 188–205.

Andreasen, M.F., Landbo, A.K., Christensen, L.P., Hansen, A., Meyer, A.S. (2001): Antioxidant effects of phenolic rye (*Secale cereale* L.) extracts, monomeric hydroxycinnamates, and ferulic acid dehydromers on human low density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4090–4096.

Anhwange, B.A., Ikyenge. B.A., Nyiatagher. D.T., Ageh, J.T. (2010): Chemical analysis of *Citrullus lanatus* (Thumb), *Cucumeropsis manni* (Naud) and *Telfairia occidentalis* (Hook F.) seeds oils. *Journal of Applied Sciences Research*, 6: 265-268.

Antonio, C. (1998): An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochemical Analysis*, 9: 196–202.

Antonović, G.D. (2010): Gasna hromatografija. Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu.

AOAC (2005): Determination of crude fat. Official method 920.39. Association of Official Analytical Chemists International. Gaithersburg, MD, USA.

AOAC (2005): Determination of moisture. Official method 934.01. Association of Official Analytical Chemists International. Gaithersburg, MD, USA.

AOAC (2005): Determination of ash. Official method 942.05. Association of Official Analytical Chemists International. Gaithersburg, MD, USA.

AOAC (2005): Determination of crude fiber. Official method 962.09. Association of Official Analytical Chemists International. Gaithersburg, MD, USA.

AOAC (2005): Determination of crude protein. Official method 990.03. Association of Official Analytical Chemists International. Gaithersburg, MD, USA.

AOCS Cd-12b (1992): American Oil Chemists' Society. Sampling and analysis of commercial fats and oils; Oil Stability Index.

Arain, S., Sherazi, S.T.H., Bhangar, M.I., Memon, N., Mahesar, S.A., Rajput, M.T. (2012): Prospects of fatty acid profile and bioactive composition from lipid seeds for the discrimination of apple varieties with the application of chemometrics. *Grasas y Aceites*, 63 (2): 175-183.

Augustin, M.A., Hemar, Y. (2009): Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38: 902-912.

Bada, J.C., Leon-Camacho, M., Copovi, P., Alonso, L. (2014): Characterization of apple seed oil with Denomination of Origin from Asturias, Spain. *Grasas y Aceites*, 65 (2): e027.

Baiano, A., Romaniello, R., Lamacchia, C., La Notte, E. (2009): Physical and mechanical properties of bread loaves produced by incorporation of two types of toasted durum wheat flour. *Journal of Food Engineering*, 95: 199–207.

Baiano, A., Viggiani, I., Terracone, C., Romaniello, R., Del Nobile, M.A. (2015): Physical and sensory properties of bread enriched with phenolic aqueous extracts from vegetable wastes. *Czech Journal of Food Science*, 33(3): 247–253.

Bail, S., Stuebiger, G., Krist, S., Unterweger, H., Buchbauer, G., (2008): Characterization of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 108: 1122–1132.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006): Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1): 191-203.

Bchir, B., Rabetafika, H.N., Paquot, M., Blecker, C. (2014): Effect of pear, apple and date fibres from cooked fruit by-products on dough performance and bread quality. *Food Bioprocess Technology*, 7(4): 1114–1127.

Beardsell, D., Francis, J., Ridley, D. (2002): Health promoting constituents in plant derived edible oils. *Journal of Food Lipids*, 9: 1-34.

Berend, S., Z. Grabarić (2008): Determination of total polyphenol content in food with the flow-injection method. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 59(3): 205–212.

Bezbradica, D., Matić, G., Nedović, V., Čukalović-Leskošek, I., Bugarski, B. (2004): Immobilization of brewing yeast in PVA/alginate microbeads using electrostatic droplet generation. Session 5. *Chemical Industry*, 58: 118-120.

Bhandari, B.R., Datta, N., Howes, T. (1997): Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technology*, 15: 671-684.

Bhushan, S., Kalia, K., Sharma, M., Singh, B., Ahuja, P.S. (2008): Processing of apple pomace for biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28: 285–296.

Bhushan, S., Gupta, S., Kiran, D.G., Sharma, M., Ahuja, S.P. (2012): Method and apparatus for the separation of seeds from fruit pulp/slurry/pomace. Council of Scientific and Industrial Research CSIR. Patents US9011952B2, United States.

Bialek, A., Bialek, M., Jelinska, M., & Tokarz, A. (2017): Fatty acid composition and oxidative characteristics of novel edible oils in Poland. *CyTA - Journal of Food*, 15(1): 1-8.

Bjelica, M. (2019): Uticaj kvaliteta semenki grožđa na bioaktivne komponente i održivost hladno presovanog ulja. Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.

Bjelica, M., Vujasinović, V., Rabrenović, B., Dimić, S. (2019): Some chemical characteristics and oxidative stability of cold pressed grape seed oils obtained from different winery waste. *European Journal of Lipid Science and Technology*, ejlt.201800416.

Blois, M.S. (1958): Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199 – 1200.

Bockisch, M. (1998): *Fats and oils handbook*, AOCS Press, Champaign, Illinois.

Bolarinwa, I.F., Orfila, C., Morgan, M.R.A. (2014): Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially-available in the UK. *Food Chemistry*, 152: 133–139.

Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C. (1997): Kinetics and mechanism of antioxidant activity using the DPPH· free radical method. *LWT – Food Science and Technology*, 30(6): 609-615.

- Botham, K.M., Mayes, P.A. (2009): Lipids of Physiological Significance, Harper's Illustrated Biochemistry, 15. Charter, 28. Edition.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Brenchley, R., Spannagl, M., Pfeifer, M., Barker, G. L. A., D'Amore, R. (2012): Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. *International Weekly Journal of Science*, 491: 705–710.
- Brennan, C.S., Cleary, L.J. (2007): Utilisation Glucagel® in the β -glucan enrichment of breads: a physicochemical and nutritional evaluation. *Food Research International*, 40: 291–296.
- Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., Jokić, S., Mujić, I., Bilić, M., Velić, D. (2011): Effect of extraction conditions on the extractability of phenolic compounds from lyophilised fig fruits (*Ficus carica* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 3: 195–199.
- Buttriss, J.L., Stokes, C.S. (2008): Dietary fibre and health: an overview. *Nutrition Bulletin*, 33: 186–200.
- Chan, H.W.S. (Ed.) (1987): Autooxidation of Unsaturated Lipids. Academic Press, pp. 1-16.
- Chang, R., Li, C., Shiau, S. (2015): Physico-chemical and sensory properties of bread enriched with lemon pomace fiber. *Czech Journal of Food Science*, 33: 180–185.
- Chena, H., Angiuli, M., Ferrari, C., Tombari, E., Salvetti, G., Bramanti, E. (2011): Tocopherol speciation as first screening for the assessment of extra virgin olive oil quality by reversed-phase high-performance liquid chromatography/fluorescence detector. *Food Chemistry*, 125: 1423–1429.
- Choe, E., Min, D.B. (2006): Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Critical Reviews in Food Science*, 46: 1-22.
- Codex Alimentarius. International Food Standards. Standard for named vegetable oils. Codex stan 210-1999, revision 2001, 2003, 2009. Amendment 2005, 2011, 2013 and 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization.
- Coello, M.S., Salas-Mellado, M.M. (2015): Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *LWT-Food Science and Technology*, 60: 729-736.
- Collar, C., Rosell, C.M., Muguerza, B., Moulay, L. (2009): Bread making performance and keeping behavior of cocoa-soluble fiber-enriched wheat breads. *Food Science and Technology International*, 15: 79–87.
- Criado, M.N., Romero, M.P., Casanovas, M., Motilva, M.J. (2008): Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. *Food Chemistry*, 110(4): 873–880.

Curaković, M., Lazić, V., Gvozdenović, J. (1996): Osnovne karakteristike ambalažnih materijala za pakovanje ulja. 37. savetovanje industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica, Zbornik radova, pp. 445-451.

Da Silva, A.C., Jorge, N. (2017): Bioactive compounds of oils extracted from fruits seeds obtained from agroindustrial waste. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119: 1600024 (1-5).

Dai, F-J., Chau, C-F. (2017): Classification and regulatory perspectives of dietary fibre. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25, 37-42.

Dall'Asta, C., Cirlini, M., Morini, E., Rinaldi, M., Ganino, T., Chiavaro, E. (2013): Effect of chestnut flour supplementation on physico-chemical properties and volatiles in bread making. *LWT-Food Science and Technology*, 53: 233–239.

Deak, M. (2008): Visoko pritisna tečna hromatografija (HPLC), <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/visokopritisna-tecna-hromatografija-hplc>

Desai, K.G.H., Jin Park, H. (2005): Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23: 1361-1394.

Dewettnick, K., Van Bockstaele, F., Kühne, B., VandeWalle, D., Courtens, T.M., Gellynck, X. (2008): Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. *Journal of Cereal Science*, 48: 243–247.

Dhen, N., Ben Rejeb, I., Boukhris, H., Damergi, C., Gargouri, M. (2018): Physicochemical and sensory properties of wheat - Apricot kernels composite bread. *LWT - Food Science and Technology*, 95: 262-267.

Dhillon, G.S., Kaur, S., Brar, S.K. (2013): Perspective of apple processing wastes as lowcost substrates for bioproduction of high value products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27: 789-805.

Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., Patil, R.T. (2012): Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3): 255-266.

Dikeman, C.L., Fahey, G.C. Jr. (2006): Viscosity as related to dietary fiber: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8): 649-663.

Dimić, E. (2005): Hladno ceđena ulja, Tehnološki fakultet, Novi Sad.

Dimić, E., Turkulov, J. (2000): Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja, Tehnološki fakultet, Novi Sad.

Downing, D.L. (1995): *Processed Apple Products*. Van Nostrand Reinhold New York, book, 318-319.

Dwiecki, K., Górnas, P., Jackowiak, H., Nogala-Kałużka, M., Polewski, K., (2007): The effect of d-alpha-tocopherol on the solubilization of dipalmitoylphosphatidyl-choline membrane by anionic detergent sodium dodecylsulfate. *Journal of Food Lipids*, 14: 50–61.

Dziki, D., Rozyło, R., Gawlik-Dziki, U., Swieca, M. (2014): Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. *Trends in Food Science and Technology*, 40: 48–61.

Dilas, S., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G. (2002): Antioxidants in food. *Chemistry Industry*, 56(3): 105-112.

Dorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., Kostić, I., Komes, D., Bugarski, B., Nedović, V. (2015): Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7: 452-490.

Eitenmiller, R., Lee, J. (2004): *Vitamin E - Food chemistry, composition and analysis*. New York: Marcel Dekker.

Elfalleh, W., Ying, M., Nasri, N., Hua, H.S., Guasmi, F., Ferchichi, A. (2011): Fatty acids from Tunisian and Chinese pomegranate (*Punica granatum* L.) seeds. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 62: 200-206.

Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H. (2011): Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124: 411-421.

Elmadfa, I., Wagner, K-H. (1997): Vitamin E und Haltbarkeit von Pflanzenölen. *Fett Lipid*, 99: 234–238.

Fang, Z., Bhandari, B. (2010): Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science and Technology*, 21: 510-523.

FAOSTAT (2013): *FAO Statistical Database*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/>(accessed 12.12.13)

FAOSTAT (2019): *FAO Statistical Database*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/>(accessed 18.01.19)

Fennema, O.R., Parkin, K.L., Damodaran, S. (2007): *Food Chemistry*, Taylor and Francis Group.

Fernandez-Vazquez, R., Stinco, C.M., Hernanz, D., Heredia, F.J., Vicario, I.M. (2013): Colour training and colour differences thresholds in orange juice. *Food Quality and Preference*, 30(2): 320–327.

Fidelis, M., de Moura, C., Kabbas Junior, T., Pap, N., Mattila, P., Mäkinen, S., Putnik, P., Bursać-Kovačević, D., Tian, Y., Yang, B., Granato, D. (2019): Fruit seeds as sources of bioactive compounds: Sustainable production of high value-added ingredients from by-products within circular economy. *Molecules*, 24(21): 1-54.

Figuerola, F., Hurtado, M.L., Estevez, A.M., Chiffelle, I., Asenjo, F. (2005): Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91: 395–401.

Fiore, A., Troise, D.A., Mogol, A.B., Roullier, V., Gourdon, A., El Mafadi Jian, S., Hamzalıoğlu, A.B., Gokmen, V., Fogliano, V. (2012): Controlling the Maillard reaction by reactant encapsulation: sodium chloride in cookies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 10808-10814.

Foschia, M., Peressini, D., Sensidoni, A., Brennan, C.S. (2013): The effects of dietary fibre addition on the quality of common cereal products. *Journal of Cereal Science*, 58: 216-227.

Fowles, I.A. (1995): *Gas Chromatography-Analytical chemistry by open learning*. 2nd Edition, John Wiley and Sons.

Frankel, E.N. (1985): Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Progress in Lipid Research*, 23: 197–221.

Frankel, E.N. (1999): Antioxidants and hydroperoxides, *INFORM* 10(9): 889-896.

Fromm, M., Bayha, S., Carle, R., Kammerer, D.R. (2012a): Characterization and quantitation of low and high molecular weight phenolic compounds in apple seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 1232–1242.

Fromm, M., Bayha, S., Carle, R., Kammerer, D. R. (2012b): Comparison of fatty acid profiles and contents of seed oils recovered from dessert and cider apples and further Rosaceous plants. *European Food Research and Technology*, 234: 1033-1041.

Fromm, M., Loos, H.M., Bayha, S., Carle, R., Kammerer, D.R. (2013): Recovery and characterisation of coloured phenolic preparations from apple seeds. *Food Chemistry*, 136: 1277 – 1287.

Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M.E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M.N., Dumoulin, E. (2006): Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75: 27-35.

Gelroth, J., Ranhotra, G.R. (2001): Food uses of fiber. In: Cho SS, Dreher ML (eds) *Handbook of dietary fibre*. Marcel Dekker Inc, New York.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007): Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International*, 40: 1107-1121.

Gil M.I., Tomas-Barberan F.A., Hess-Pierce B., Holcroft D.M., Kader A.A. (2000): Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4581–4589.

Giri, P., Pal, C. (2014): An overview on the thermodynamic techniques used in food chemistry. *Modern Chemistry*, 2: 142.

Gliha, R. (1978): Sorte jabuka u suvremenoj proizvodnji. Radničko sveučilište “Moša Pijade”, Zagreb.

Gómez, M., Ronda, F., Blanco, C.A., Caballero, P.A., Apesteguia, A. (2003): Effect of dietary fibre on dough rheology and bread quality. *European Food Research and Technology*, 216: 51–56.

Gornas, P., Rudzinska, M., Seglina, D. (2014a): Lipophilic composition of eleven apple seed oils: A promising source of unconventional oil from industry by-products. *Industrial Crops and Products*, 60: 86–91.

Górnas, P., Seglina, D., Lacis, G., Pugajeva, I. (2014b): Dessert and crab apple seeds as a promising and rich source of all four homologues of tocopherol (α , β , γ and δ). *LWT - Food Science and Technology*, 59: 211-214.

Gornas, P., Siger, A., Juhneviča, K., Lacis, G., Šne, E., Seglina, D. (2014c): Cold-pressed Japanese quince (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach) seed oil as a rich source of α -tocopherol, carotenoids and phenolics: A comparison of the composition and antioxidant activity with nine other plant oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116: 563–570.

Gornas, P. (2015a): Unique variability of tocopherol composition in various seed oils recovered from by-products of apple industry: Rapid and simple determination of all four homologues (α , β , γ and δ) by RP-HPLC/FLD. *Food Chemistry*, 172: 129–134.

Gornas, P., Misina, I., Olšteine, A., Krasnova, I., Pugajeva, I., Lacis, G., Siger, A., Michalak, M., Soliven, A., Seglina, D. (2015b): Phenolic compounds in different fruit parts of crab apple: Dihydrochalcones as promising quality markers of industrial apple pomace by-products, *Industrial Crops and Products*, 74: 607–612.

Gouin, S. (2004): Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 330-347.

Gromadzka, J., Wardencki, W. (2011): Trends in edible vegetable oils analysis. Part A. Determination of different components of edible oils – a review. *Polish Journal of Food Nutrition Sciences*, 61(1): 33-43.

Grundy, S.M. (2003): Factors determining blood cholesterol levels. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd Edition), p. 1237-1243.

Gunstone, F.D. (2004): The chemistry of oils and fats; sources, composition, properties and uses. Blackwell Publishing, Ltd., USA and Canada, pp 23-24,107-112.

Gunstone, F.D. (2005): Vegetable Oils, In Shahidi F. (Ed.), Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th Edition. John Wiley and Sons, Inc. pp. 213-267.

Gupta, R. (2006): Incorporation of dried apple pomace pulp powder in bread. Journal of Dairying Food and Home Science, 25: 200-205.

Halliwel, B. (1997): Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutrition Reviews, 5: 544-552.

Hamilton, R.J., Rossell, J.B. (1986): Analysis of oils and fats. Elsevier Applied Science, London and New York, p. 36.

Han, W., Sen, M., Li, L., Wang, X-X., Zheng, X-L. (2017): Application and development prospects of dietary fibers in flour products. Hindawi Journal of Chemistry, Article ID 2163218.

Harborne, J.B., Baxter, H., Moss, G.P. (1999): Phytochemical dictionary: Handbook of bioactive compounds from plants. (2nd ed.), Taylor and Francis.

Hashemi, S.M.B., Khaneghah, A.M., Koubaa, M., Lopez-Cervantes, J., Yousefabad, S.H.A., Hosseini, S.F., Karimi, M., Motazedian, A., Asadifard, S. (2017): Novel edible oil sources: Microwave heating and chemical properties. Food Research International, 92: 147-153.

Heinemann, T., Axtmann, A., von Bergmann, K. (1993): Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. European Journal of Clinical Investigation, 23: 827-831.

Hites, R.A. (1997): Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Ch.31, In: Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, Ed., Frank, A.Settle.

Hoffman, G. (1989): The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products. Academic Press, Inc., San Diego, pp. 8-10.

ICC (1996). International Association for Cereal Science and Technology. Standards overview.

ISO 8586-1. (1993): Sensory Analysis - General guidance for selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected assessors.

IUPAC (1987): International Union of Pure and Applied Chemistry. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. Method 2.505. Evidence of purity and deterioration from ultraviolet spectrophotometry. 7th ed. (C. Paquot and A. Hautfenne, ed.). Blackwell Scientific. Palo Alto, California, 212-213.

Ivanović L, Jeločnik M. (2009): Analysis and planning of apple production as factor of rural development support. *Economic Analysis*, 42(3-4): 78-85.

Jašić, M., Begić, L. (2008): *Biohemija hrane I*. Univerzitet u Tuzli.

Joshi, V.K., Devender, A. (2006): Solid state fermentation of apple pomace for the production of value added products. *Natural Product Radiance*, 5(4): 289-296.

Kaack, K., Pedersen, L., Laerke, H.N., Meyer, A. (2006): New potato fibre for improvement of texture and colour of wheat bread. *European Food Research and Technology*, 224: 199–207.

Kachel, M., Matwijczuk, A., Przywara, A., Kraszkiewicz, A., Koszel, M. (2018): Profile of fatty acids and spectroscopic characteristics of selected vegetable oils extracted by cold maceration. *Agricultural Engineering*, 22(1): 61-71.

Kalušević A., Lević, S., Čalija, B., Pantić, M., Belović, M., Pavlović, V., Bugarski, B., Milić, J., Žilić S., Nedović, V. (2017). Microencapsulation of anthocyanin-rich black soybean coat extract by spray drying using maltodextrin, gum Arabic and skimmed milk powder. *Journal of Microencapsulation*, 34(5): 475-487.

Kamal-Eldin A (2006): Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 58: 1051-1061.

Kamal-Eldin, A., Appelqvist, L-A. (1996): The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31: 671-701.

Karlović, Đ., Andrić, N. (1996): Kontrola kvaliteta semena uljarica. Tehnološki fakultet, Novi Sad, pp. 264-274.

Karlović Đ., Turkulov J., Berenji J., Verešbaranji I. (1988): Esencijalne masne kiseline i ulje zrna konoplje, *Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, Novi Sad, 26: 137-148.

Kartika, I.A., Pontalier, P.Y., Rigal, L. (2010): Twin-screw extruder for oil processing of sunflower seeds: Thermo-mechanical pressing and solvent extraction in a single step. *Industrial Crops and Products*, 32(3): 297-304.

Kasprzak, K., Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, T., Kuboń, M., Oniszczyk, A. (2018): Secondary metabolites, dietary fiber and conjugated fatty acids as functional food ingredients against overweight and obesity. *Natural Product Communications*, 13: 1073-1082.

Kedare, B.S., Singh, P.R. (2011): Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4): 412–422.

Kesen, S., Kelebek, H., Selli, S. (2014): LC--ESI--MS characterization of phenolic profiles Turkish olive oils as influenced by geographic origin and harvest year. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91: 385-394.

Kiran, U., Prajapati, T.M. (2017): Study of fatty acid composition of fruit seed oils. *International Journal of Academic Research and Development*, 2(5): 36 – 40.

Kodre, K.V., Attarde, S.R., Yendhe, P.R., Patil, R.Y., Barge, V.U. (2014): Differential scanning calorimetry: a review. *Research and Reviews: Journal of Pharmaceutical Analysis*.

Kohajdova, Z., Karovičova, J., Magala, M., Kuchtova, V. (2014): Effect of apple pomace powder addition on farinographic properties of wheat dough and biscuits quality. *Chemical Papers*, 68(8): 1059–1065.

Kohlmeier, L., Hastings, S.B. (1995): Epidemiological evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62: 1370S-1376S.

Kolanowski, W., Zakrzewska, M. (2019): Apple processing wastes as potential source of new edible oil. *Journal of Food and Nutrition Research*. 58(1): 92–98.

Koletta, P., Irakli, M., Papageorgiou, M., Skendi, A. (2014): Physicochemical and technological properties of highly enriched wheat breads with wholegrain non wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 60: 561–568.

Kostić, T.I., Isailović, D.B., Đorđević, B.V., Lević, M.S., Nedović, A.V., Bugarski, M.B. (2012): Elektrostatička ekstruzija kao disperziona tehnika za inkapsulaciju ćelija i biološki aktivnih supstanci. *Hemijska industrija*, 66: 505-517.

Kruczek, M., Drygaś, B., Habryka, C. (2016): Pomace in fruit industry and their contemporary potential application. *World Scientific News*, 48: 259-265.

Kruczek, M., Gumul, D., Kačaniova, M., Ivanišhova, E., Mareček, J., Gambus, H. (2017): Industrial apple pomace by-products as a potencial source of pro-health compounds in functional food. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 7(1): 22-26.

Kuchtová, V., Karovičová, J., Kohajdová, Z., Minarovičová, L. (2016): Chemical composition and functional properties of pumpkin pomace-incorporated crackers. *Acta Chimica Slovaca*, 9: 54-57.

Kunzek, H., Müller, S., Vetter, S., Godeck, R. (2002): The significance of physico chemical properties of plant cell wall materials for the development of innovative food products. *European Food Research and Technology*, 214(5): 361-376.

Kurek, M., Wyrwisz, J. (2015): The application of dietary fiber in bread products. *Journal of Food Processing and Technology*, 6: 447-455.

Lazić, V., Dimić, E., Gvozdrenović, J., Curaković, M., Suturović, Z. (2003): Barijerna svojstva staklenih boca za pakovanje ulja. 44. Savetovanje industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica, *Zbornik radova*, 157-163.

Lebesi, D.M., Tzia, C. (2011): Effect of the addition of different dietary fiber and edible cereal bran sources on the baking and sensory characteristics of cupcakes. *Food Bioprocess Technology*, 4: 710–722.

Leclercq, S., Reineccius, G.A., Milo, C. (2007): Effect of type of oil and 38. addition of δ -tocopherol on model flavor compound stability during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 9189–9194.

Leong, L.P., Shui, G. (2002): An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76: 69–75.

Lepšanović, L., Lepšanović, Lj. (1995): Povišeni holesterol – Kako ga sniziti?. Velarta, Beograd.

Lepšanović, L., Lepšanović, Lj. (2000): Klinička lipidologija, Savremena administracija, Beograd.

Lević, S. (2014): Inkapsulacija aroma u karnauba vosku, alginatu i ploivinil-alkoholu, Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Zemun, Univerziteta u Beogradu.

Lević, S., Lijaković, I.P., Đorđević, V., Rac, V., Rakić, V., Knudsen, T.Š., Pavlović, V., Bugarski, B., Nedović, V. (2015): Characterization of sodium alginate/D-limonene emulsions and respective calcium alginate/D-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food Hydrocolloids*, 45: 111-123.

Liang, N., Kitts, D.D. (2014): Antioxidant property of coffee components: Assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19: 19180 – 19208.

Lizcano, S.C., Davila, J.A., Hernandez, V. (2019): Fruit agroindustrial wastes for preparing beverages for medicinal purposes by supercritical fluid extraction technology: Andes Berry (*Rubus glaucus benth*) case. *Production and Management of Beverages*. Vol.1: The Science of Beverages, p. 151-177.

Lu, Y., Foo, L.Y. (1997): Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. *Food Chemistry*, 59(2): 187–194.

Lu, Y., Foo, L.Y. (1998): Constitution of some chemical components of apple seed. *Food Chemistry*, 61(1-2): 29-33.

Lu, Y., Foo, L.Y. (2000): Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*, 68: 81–85.

Lunn, J., Buttriss, J.L. (2007): Carbohydrates and dietary fibre. *British Nutrition Foundation - Nutrition Bulletin*, 32(1): 21–64.

Lyu, F., Luiz, F.S., Azeredo, R.P.D., Cruz, G.A., Ajlouni, S., Ranadheera, S.C. (2020): Apple pomace as a functional and healthy ingredient in food products: a review. *Process*, 319(8): 1-15.

Madawala, S.R.P., Kochhar, S.P., Dutta, P.C. (2012): Lipid components and oxidative status of selected specialty oils. *Grasas y Aceites*, 63(2): 143–151.

Madrera, R.R., Valles, S.B. (2018): Characterization of apple seeds and their oils from the cider-making industry. *European Food Research and Technology*, Springer-Verlag GmbH Germany, 7 pages.

Malićanin, M. (2014): Izolovanje i fizičko-hemijska karakterizacija ulja iz semena crvenih sorti grožđa. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Beograd.

Malićanin, M., Rac, V., Antić, V., Antić, M., Palade, L.M., Kefalas, P., Rakić, V. (2014): Content of antioxidants, antioxidant capacity and oxidative stability of grape seed oil obtained by ultra sound assisted extraction. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91: 989-999.

Malviya, R., Bansal, V., Pal, O.P., Sharma, P.K. (2010): High performance liquid chromatography: A short review. *Journal of Global Pharma Technology*, 22 – 26.

Manojlović V. (2008): Imobilizacija biološki aktivnih supstanci i ćelija u mikročestičnim i nanočestičnim sistemima. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, Srbija.

Manojlović, V., Nedović, V., Kailasapathy, K., Zuidam, J.N. (2010): Encapsulation of Probiotics for use in Food Products. In: Zuidam, N.J., Nedovic, V.A (Eds.), *Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing*, Springer, Dordrecht, 269-301.

Marfil, R., Giménez, R., Martínez, O., Bouzas, P.R., Rufián-Henares, J.A., Mesías, M., Cabrera-Vique, C. (2011): Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*, Skeels). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113: 886–893.

Masoodi, F.A., Chauhan, G.S. (1998): Use of apple pomace as a source of dietary fiber in wheat bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 22: 255–263.

Marinova, E., Yanishlieva, V., Bankova, S. (1989): Natural antioxidants, chemistry, health effects and application. *Fifth International Conference on Chemistry and Biotechnology of Biological Active Natural Products, Proceedings*, 244-252.

Martin, J.D.P., Porto, E., Correa, C.B., De Alencar, S.M., Da Gloria, E.M., Carbal, I.S.R., De Aquino, L.M. (2012): Antimicrobial potential and chemical composition of agro-industrial wastes. *Journal of Natural Products*, 5: 27-36.

Martínez-Monteaudo, S.I., Saldaña, M.D.A., Kennelly, J.J. (2012): Kinetics of non-isothermal oxidation of anhydrous milk fat rich conjugated linoleic acid using differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 107: 973-981.

Martins Sara, I.F.S., Jongen Wim, M.F., van Boekel Martinus, A.J.S. (2001): A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science and Technology*, 11: 364–373.

Matijašević, B.O., Turkulov, J. (1980): *Tehnologija ulja i masti*. Tehnološki fakultet Novi Sad.

Matsakidou, A., Blekas, G., Paraskevopoulou, A. (2010): Aroma and physical characteristics of cakes prepared by replacing margarine with extra virgin olive oil. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 949-957.

Matthaus, B., Ozcan, M.M. (2015): Oil content, fatty acid composition and distributions of vitamin-E-active compounds of some fruit seed oils. *Antioxidants*, 4: 124-133.

Mikołajczak, N. (2018): Fatty acids composition of selected plant oils obtained from seeds and stones of fruit and their impact on human health. *Journal of Education, Health and Sport*, 8(8): 1117-1132.

Milosavljević, S.M. (2004): *Strukturne instrumentalne metode*. Univerzitet u Beogradu, Hemijski Fakultet, Beograd.

Mišić, D.P. (2004): *Jabuka*. Nolit, Beograd.

Mohammed, I., Abdelrahman, R.A., Sengea, B. (2012): Dough rheology and bread quality of wheat-chickpea flour blends. *Industrial Crops and Products*, 36: 196-202.

Mratinić, E. (2016): *Jabuka*, 2. izdanje. Partenon, Beograd.

Mujica-Álvarez, J., Gil-Castell, O., Barra, P.A., Ribes-Greus, A., Bustos, R., Faccini, M., Matiacevich, S. (2020): Encapsulation of vitamins A and E as spray-dried additives for the feed industry. *Molecules*, 25: 1357.

Nair, K.K, Kharb, S., Thompkinson, D.K. (2010): Inulin dietary fiber with functional and health attributes. A Review. *Food Reviews. International*, 26: 189-203.

Nagakura, T., Matsuda, S., Shichijyo, K., Sugimoto, H., Hata, K. (2000): Dietary supplementation with fish oil rich in omega-3 polyunsaturated fatty acid in children with bronchial asthma. *European Respiratory Journal*, 16: 861-865.

Nandhakumar, E., Indumathi, P. (2013): In vitro antioxidant activities of methanol and aqueous extract of *Annona squamosa* (L.) fruit pulp. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 6(3): 142 – 148.

National Institutes of Health (2016): *Nutrient Recommendations*, https://ods.od.nih.gov/Health_Information/Dietary_Reference_Intakes.aspx.

- Naudet, M., Soulier, J., Farines, M. (1992): Principaux constituants chimiques des corps gras. In: Karleskind, (ed). Manuel des Corps Gras, Paris. pp. 65-115.
- Nedović, V. (1999): Imobilisani ćelijski sistemi u fermentaciji piva. Zadužbina Andrejević, Beograd.
- Nedović, V., Obradović, B., Leskošek-Čukalović, I., Trifunović, O., Pešić, R., Bugarski, B. (2001): Electrostatic generation of alginate microbeads loaded with brewing yeast. *Process Biochemistry*, 37: 17-22.
- Nedovic, V., Manojlovic, V., Pruesse, U., Bugarski, B., Djonlagic, J., Vorlop, K.D. (2006): Optimization of the electrostatic droplet generation process for controlled microbead production – single nozzle system. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly (CI&CEQ)*, 12: 53-57.
- Nedović, V., Kalušević, A., Manojlović, V., Lević, S., Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. In: G. Saravacos (Ed.), *Procedia Food Science 1 of the 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11)*, 1806-1815.
- Nedović, V., Kalušević, A., Manojlović, V., Petrović, T., Bugarski, B. (2013): Encapsulation systems in the food industry. In: S. Yanniotis, P. Taoukis, N. G. Stoforos, V. T. Karathanos (Eds.), *Advances in Food Process Engineering Research and Applications*, New York: Springer, 229-253.
- Nelson, A. L. (2001): High-fiber ingredients. St Paul: Eagan Press.
- Niketić, M. (1958): Sortno voće jabuka, Zadržna knjiga, Beograd.
- Normén, L., Frohlich, J., Trautwein, E. (2004): Role of plant sterols in cholesterol lowering. In: Dutta P C. (Ed.), *Phytosterols as functional food components and nutraceuticals*, Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 243-315.
- Nukhet, A., Akpinar, M.A., Turkoglu, S. (2001): Total lipid content and fatty acid composition of the seeds of some *Vicia L.* species. *Food Chemistry*, 74: 444-453.
- O'Keefe, S.F. (2002): Nomenclature and classification of lipids. In: Casimir C. Akoh, David B. Min (Eds.), "Food Lipids, Chemistry, Nutrition and Biotechnology", 2nd. Marcel Dekker, Inc. New York.
- O'Keefe, S.F., Pike, O.A. (2010): Fat characterization. Chapter 14, In: *Food Analysis*, 4th SS Nielsen, ed. pp 239-260.
- O'Shea, N., Arendt, E., Gallagher, E. (2012): Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16: 1-10.
- O'Shea, N., Kilcawley, K.N., Gallagher E. (2017): Aromatic composition and physicochemical characteristics of crackers containing barley fractions. *Cereal Chemistry*, 94: 611-618.

Obiedzińska, A., Waszkiewicz-Robak, B. (2012): Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(80): 27-44.

Ohimain, E.I. (2014): Recent advances in the production of partially substituted wheat and wheatless bread. *European Food Research and Technology*, 240: 257–271.

Oluwajoba, S.O., Malomo, O., Ogunmoyela, O.A.B., Dudu, O.E., Odeyemi, O.A. (2012): Microbiological and nutritional quality of warankashi enriched bread. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2(1): 42-68.

Oštrić-Matijašević, B., Turkulov, J. (1971): Sadržaj linolne kiseline i α -tokoferola – pokazatelja biološke vrednosti u suncokretovom ulju. *Bilten: Biljna ulja i masti*, 8 (1-2).

Padmanabhan, P., Jangle, S.N. (2012): Evaluation of DPPH radical scavenging activity and reducing power of four selected medicinal plants and their combinations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4(2): 143-146.

Panfilis, F., Gallina Toschi, T., Lercker, G. (1998): Quality control for cold-pressed oils. *INFORM*, 9: 212-221.

Papas, A.M. (1993): Oil-soluble antioxidants in foods. *Toxicology and Industrial Health*, 9: 123–149.

Pardun, H. (1989): Pflanzenlecithine – wertvolle Hilfs und Wirkstoffe? *Fat Science Technology*, 91: 45 – 58.

Parry, J., Su, L., Luther, M., Zhou, K., Yurawecz, M P., Whittaker, P., Yu, L. (2005): Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry and blueberry seed oils. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 53(3): 566-573.

Piacetini E. (2016): Encapsulation Efficiency. In: Drioli E., Giorno L. (eds) *Encyclopedia of Membranes*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Pićurić-Jovanović, K., Milovanović, M. (2005): Autooksidacija lipida i antioksidanti flore Srbije. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd - Zemun.

Pieszka, Mar., Migdal, W., Gasiór, R., Rudzińska, M., Bederska-Lojewska, D., Pieszka, Mag., Szczurek, P. (2014): Native oils from apple, blackcurrant, raspberry and strawberry seeds as a source of polyenoic fatty acids, tocochromanols, and phytosterols: A health implication. *Journal of Chemistry*, Article ID 659541, 1-8.

Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035–1042.

Plazzotta, S., Sillani, S., Manzocco, L. (2018): Exploitation of lettuce waste flour to increase bread functionality: effect on physical, nutritional, sensory properties and on consumer response. *International Journal of Food Science and Technology*, 53: 2290–2297.

Poleksić, D., Pavličević, M.Ž., Raković-Simić, J., Rac, V., Vucelić-Radović, B., Rakić, V. (2018): The extraction of antioxidative compounds from rusks enriched with millet flour (*Panicum miliaceum* L.). *Journal of Serbian Chemistry Society*, 83(6): 723-732.

Popa, V.M., Hădărugă, N.G., Hădărugă, D.I., Gruia, A., Raba, D.N., Moldovan, C., Poiana, A.M. (2010): Fatty acids composition of some vegetable oils obtained in the west area of Romania. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 16(3): 394-398.

Potter, H., Hotchkiss, I. (2006): *Food Science (5-th Edition)*. CBS Publishers and Distributors. New Delhi, India.

Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za jestiva biljna ulja i masti, margarin i druge masne namaze, majonez i srodne proizvode. "Službeni glasnik RS", br. 43/2013.

Prior, R.L., Wu, X.L., Schaich, K. (2005): Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4290–4302.

Qian, M., Peterson, D.G., Reineccius, G.A. (2010): Gas chromatography. Ch. 29. In: Nielsen S.S. (ed). *Food analysis*, 4th edn. Springer, New York.

Rabetafika, H.N., Bchir, B., Blecker, C., Richel, A. (2014): Fractionation of apple by-products as source of new ingredients: Current situation and perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 40: 99-114.

Rabrenović, B. (2011): Uticaj fizičko-hemijskih karakteristika semena uljane tikve (*Cucurbita pepo* L.) na kvalitet i nutritivna svojstva hladno presovanog ulja. Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.

Rabrenović, B.B., Vujasinović, B.V., Novaković, M.M., Čorbo, Č.S., Basić, N.Z. (2016): Usporedni prikaz nutritivne vrednosti hladno presovanih ulja semena tikve (*Cucurbita pepo* L.) različitog porekla. *Hemijska Industrija*, 70(1): 59–65.

Rac, M. (1964): *Ulja i masti*. Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja, Beograd.

Radojkovic, M., Zekovic, Z., Jokic, S., Vidovic, S., Lepojevic, Z., Molosevic, S. (2012): Optimization of solid-liquid extraction of antioxidants from black mulberry leaves by response surface methodology. *Food Technology and Biotechnology*, 50: 167–176.

Radovanović, V. (1986): *Tehnologija vina*, Građevinska knjiga, Beograd.

- Ramirez-Navas, J.S., Rodriguez de Stouvenel, A. (2012): Characterization of Colombian quesoillo cheese by spectrophotometry. *Vitae*, 19(2): 178–185.
- Rana, S., Gupta, S., Rana, A., Bhushan, S. (2015): Functional properties, phenolic constituents and antioxidant potential of industrial apple pomace for utilization as active food ingredient. *Food Science and Human Wellness*, 4: 180–187.
- Ratnayake, W.M.N., Daun J. K. (2004): Chemical composition of canola and rapeseed oils. In F.D. Gunstone (Ed.), *Rapeseed and canola oil. Production, processing, properties and uses*, 37–78. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
- Reuhs, L.B., Rounds, A.M. (2010): High-Performance Liquid Chromatography. Ch. 28. In: Nielsen S.S. (ed). *Food analysis*, 4th edn. Springer, New York.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996): Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20: 933–956.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999): Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66 : 401–436.
- Rohrer, J.R., Robertson, K.R., Phipps, J.B. (1994): Floral morphology of Maloideae (Rosaceae) and its systematic relevance. *American Journal of Botany*, 81: 574-581.
- Rossi, M., Alamprese, C., Ratti, S. (2007): Tocopherols and tocotrienols as freeradical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 102: 812–817.
- Rounds, M.A., Gregory, J.F. (1998): High Performance Liquid Chromatography. In: Nielsen S.S. (Ed.), *Food Analysis* 2nd (ed). Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Rusinek, R., Gancarz, M., Nawrocka A. (2020): Application of an electronic nose with novel method for generation of smellprints for testing the suitability for consumption of wheat bread during 4-day storage. *LWT - Food Science and Technology*, 117: 108665.
- Saldaña, M.D.A., Martínez-Monteaudo, S.I. (2013): Oxidative stability of fats and oils measured by differential scanning calorimetry for food and industrial applications. *ResearchGate*, 19: 444-474.
- Salević, A., Kalušević, A., Lević, S., Nedović, V. (2018): Inkapsulacija bioaktivnih jedinjenja sporednih proizvoda prerade voća. *Journal of Agricultural Sciences*, 63(2): 113-137.
- Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Straumite, E., Sabovics, M., Kruma, Z., Saad, Z., Hijazi, A., Merah, O. (2018): Evaluation of nutritional and technological attributes of whole wheat based bread fortified with chia flour. *Foods*, 7, 135: 1-10.
- Seeram, N.P., Nair, M.G. (2002): Inhibition of lipid peroxidation and structure–activity related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5308–5312.

Shahidi, F., Zhong, Y. (2005): Antioxidants: Regulatory status. In: Shahidi F. (Ed.), Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition. John Wiley and Sons, Inc., pp. 491-512.

Shalaby, E.A., Shanab, S.M.M. (2013): Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of spirulina platensis. Indian Journal Geo-Marine Sciences, 42: 556–564.

Shalini, R., Gupta, D.K. (2010): Utilization of pomace from apple processing industries: a review. Journal of Food Science and Technology, 47: 365-371.

Shen, Y., Chen, G., Li, Y. (2018): Bread characteristics and antioxidant activities of Maillard reaction products of white pan bread containing various sugars. LWT - Food Science and Technology, 95: 308–315.

Shi, J., Yu J., Pohorly, J.E., Kakuda, Y. (2003): Polyphenolics in grape seeds - biochemistry and functionality. Journal of Medicinal Food, 6 (4): 291-299.

Singh, J., Bargale, P.C. (1990): Mechanical expression of oil linseed (*Linum usitatissimum L.*). Journal of Oilseeds Research, 7: 106-110.

Singh, K.K., Wiesenborn, D.P., Tostenson, K., Kangas, N. (2002): Influence of moisture content and cooking on screw pressing of crambe seed. Journal of American Oil Chemist's Society, 79(2): 165-170.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology 299 (Oxidants and Antioxidants, Part A). Academic Press, San Diego, 152-178.

Sivam, A.S., Waterhouse, D.S., Quek, S., Perera, C.O. (2010): Properties of bread dough with added fiber polysaccharides and phenolic antioxidants: a review. Journal of Food Science, 75: 163–174.

Spina, A., Brighina, S., Muccilli, S., Mazzaglia, A., Fabroni, S., Fallico, B., Rapisarda, P., Arena, E. (2019): Wholegrain durum wheat bread fortified with citrus fibres: Evaluation of quality parameters during long storage. Frontiers in Nutrition, 6(13): 1-13.

SRPS EN ISO 659:2011. Određivanje sadržaja ulja (referentna metoda). Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS EN ISO 3657:2014. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje saponifikacionog broja. Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS EN ISO 660:2015. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje kiselinskog broja i kiselosti. Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS EN ISO 12966-2:2015. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Gasna hromatografija metil-estara masnih kiselina - Deo 1: Vodič za modernu gasnu hromatografiju metil-estara masnih kiselina.

SRPS EN ISO 3960:2017. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje peroksidnog broja. Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS EN ISO 6320:2017. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje indeksa refrakcije. Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS EN ISO 6885:2017. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje anisidinskog broja. Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS EN ISO 12966-2:2017. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Gasna hromatografija metil-estara masnih kiselina - Deo 2: Priprema metil-estara masnih kiselina.

SRPS EN ISO 3961:2019. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje jednog broja. Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS EN ISO 665:2020. Određivanje sadržaja vlage i isparljivih materija. Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS ISO 6883:2003. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla - Određivanje konvencionalne zapreminske mase (“litarske mase na vazduhu”). Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS ISO 1871:2013. Opšta uputstva za određivanje azota metodom po Kjeldalu. Institut za standardizaciju Srbije.

SRPS ISO 749:2014. Određivanje ukupnog pepela. Institut za standardizaciju Srbije.

Stikić, R., Glamočlija, Dj., Demin, M., Vucelic-Radović, B., Jovanović, Z., Milojković-Opsenica, Z., Jacobsen, S.E., Milovanović, M. (2012): Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa Willd.*) as an ingredient in bread formulations. *Journal of Cereal Science*, 55(2): 132-134.

Sudha, M.L., Baskaran, V., Leelavathi, K. (2007): Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry*, 104(2): 686-692.

Sullivan, P., O’Flaherty, J., Brunton, N., Arendt, E., Gallagher, E. (2011): The utilisation of barley middlings to add value and health benefits to white breads. *Journal of Food Engineering*, 105: 493–502.

Šarolić, M., Gugić, M., Tuberoso, G.I.C., Jerković, I. (2014): Volatile profile, phytochemicals and antioxidant activity of virgin olive oils from Croatian autochthonous varieties Masnjaca and Krvavica in comparison with Italian variety Leccino. *Molecules*, 19(1): 881-895.

Tan, C.P., Che Man, Y.B. (2002): Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation, *Trends in Food Science and Technology*, 13: 312-318.

Tharise, N., Julianti, E., Nurminah, M. (2014): Evaluation of physico-chemical and functional properties from composite flour from cassava, rice, potato, soybean and xanthan gum as alternative of wheat flour. *International Food Research Journal*, 21: 1641-1649.

Thies, C. (2005): Microencapsulation. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 4(16): 317-327.

Tian, H-L., Zhan, P., Li, K-X. (2010): Analysis of components and study on antioxidant and antimicrobial activities of oil in apple seeds, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61(4): 395–403.

Tomasevic, I., Tomovic, V., Milovanovic, B., Lorenzo, J., Đorđević, V., Karabasil, N., Djekic, I. (2019): Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. *Meat Science*, 148: 5-12.

Toppel, A.L. (1997): Vitamin E as a biological lipid antioxidant, *INFORM* 8(4): 392-395.

Turkulov, J. (1988): Dobijanje i prerada ulja suncokreta. Poglavlje u monografiji: *Suncokret*, Urednici: S.Milošević i V.Polak pp. 549-613, Nolit, Beograd.

Ugarčić-Hardi, Ž., Konceva-Komlenić, D., Jukić, M., Kuleš, A., Jurkin, I. (2009): Quality properties of white bread with native and extruded wheat bran supplements. *Czech Journal of Food Sciences*, 27 (Special Issue): 285–289.

Ulkowski, M., Musialik, M., Litwinienko, G. (2005): Use of differential scanning calorimetry to study lipid oxidation. 1. Oxidative stability of lecithin and linolenic acid, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9073–9077.

van Acker, S.A.B.E., van den Berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H., van Bennekom, W.P., van der Vijgh, W.J.F. (1996): Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20: 331–342.

Van Poppel, G., Goldbohm, R.A. (1995): Epidemiologic evidence for beta carotene and cancer prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62: 1393S-1402S.

Velasco, J., Andersen, M.L., Skibsted, L.H. (2004): Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 85(4): 623-632.

Vereš, M. (2004): Principi konzervisanja namirnica. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.

Viljanen, K., Sundberg, S., Ohshima, T., Heinonen, M. (2002): Carotenoids as antioxidants to prevent photooxidation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 353-359.

Vujasinović, V., Bjelica, M., Lužaić, T., Dimić S. (2016): Hladno presovano ulje koštica grožđa - realnost i budućnost. *Uljarstvo*, 47(1): 85–97.

Wahyono, A., Tifania, A.Z., Kurniawati, E., Kasutjaningati, Kang, W.W., Chung, S.K. (2018): Physical properties and cellular structure of bread enriched with pumpkin flour. 1st International Conference on Food and Agriculture 2018. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 207 (2018) 012054.

Walia, M., Rawat, K., Bhushan, S., Padwad, S.Y., Singh, B. (2014): Fatty acid composition, physicochemical properties, antioxidant and cytotoxic activity of apple seed oil obtained from apple pomace. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 929–934.

Wandrey, C., Bartkowiak, A., Harding, E.S. (2010): Materials for Encapsulation. In: Zuidam, N.J., Nedovic, V.A (Eds.), *Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing*. Springer, Dordrecht, 31-100.

Wang, M., Hamer, R.J., van Vliet, T., Gruppen, H., Marseille, H., Weegels, P.L. (2003): Effect of water unextractable solids on gluten formation and properties: Mechanistic considerations. *Journal of Cereal Science*, 37: 55–64.

Wang, X., Quinn, P.J. (1999): Vitamin E and its function in membranes. *Progress in Lipid Research*, 38: 309-336.

Wijendran, V., Hayes, K.C. (2004): Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Anniversary Review Nutrition*, 24: 597-615.

Wroniak, M., Krygier, K., Kaczmarczyk, M. (2008): Comparison of the quality of cold pressed and virgin rapeseed oils with industrially obtained oils. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58(1): 85-89.

Xu, Y., Fan, M., Ran, J., Zhang, T., Sun, H., Dong, M., Zhang, Z., Zheng H. (2016): Variation in phenolic compounds and antioxidant activity in apple seeds of seven cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23: 379–388.

Yaneva, Z., Georgieva, N. (2018): Physicochemical and morphological characterization of pharmaceutical nanocarriers and mathematical modeling of drug encapsulation/release mass transfer processes. *Nanoscale Fabrication, Optimization, Scale-Up and Biological Aspects of Pharmaceutical Nanotechnology*, 5: 173-218.

Yanishlieva, N.V., Raneva, V.G., Marinova, E.M. (2001): β -karoten in sunflower oil oxidation. *Grasas y Aceites*, 52(1): 10-16.

Yilmaz, E., Karaman, E. (2017): Functional crackers: incorporation of the dietary fibres extracted from citrus seeds. *Journal of Food Science Technology*, 5: 3208-3217.

Younas, M.B., Rakha, A., Sohail, M., Rashid, S., Ishtiaq, H. (2015): Physicochemical and sensory assessment of apple pomace enriched muffins. *Pakistan Journal of Food Science*, 25(4): 224-234.

Youseff, R., Soubh, L., Alassaf, Z. (2014): Detection of vegetable oils adulteration using desmethylsterols composition. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 28: 229–233.

Yu, L., Nanguet, A-L., Trust, B. (2013): Comparison of antioxidant properties of refined and whole wheat flour and bread. *Antioxidants (Basel)*, 2(4): 370-383.

Yu, X., van de Voort, R.F., Li, Z., Yue, T. (2007): Proximate Composition of the apple seed and characterization of its oil. *International Journal of Food Engineering*. 3(5): 1-8.

Yukui, R., Wenya, W., Rashid, F., Qing, L. (2009): Fatty acid composition of apple and pear seed oils. *International Journal of Food Properties*, 12: 774-779.

Zhang, T., Wei, X., Miao, Z., Hassan, H., Song, Y., Fan, M. (2016): Screening for antioxidant and antibacterial activities of phenolics from Golden Delicious apple pomace. *Chemistry Central Journal*, 10: 47.

Zoue, L., Bedikou, M., Faulet, B., Gonnety, J., Niamke, S. (2012): Physicochemical and microbiological characterization of linolenic acid-rich oils from seeds of two tropical plants: *Corchorus olitorius* L. and *Hibiscus sabdariffa* L. *African Journal of Biotechnology*, 11(39): 9435-9444.

Zuidam, N.J., Shimoni, E. (2010): Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In: Zuidam, N.J., Nedovic, V.A (Eds.), *Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing*. Springer, Dordrecht, 3-29.

8. PRILOG. Publikacije proistekle iz disertacije

1. Purić, M., Rabrenović, B., Rac, V., Pezo, L., Tomašević, I., Demin, M. (2020): Application of defatted apple seed cakes as a by-product for the enrichment of wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*, 130: 109391. (M21)

9. BIOGRAFIJA

Mr Miloš (Pero) Purić rođen je 05.03.1980. godine u Beogradu, Republika Srbija.

Osnovnu školu, kao i gimnaziju (opšti smer) završio je na Novom Beogradu. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, Odsek za prehrambenu tehnologiju biljnih proizvoda upisao je 1999. godine, a završio 29.09.2004. godine sa prosečnom ocenom u toku studiranja 9,31. Diplomski rad pod nazivom „Značaj fizičkih parametara za kvalitet novoselekcionisanih sorti duvana tipa Virdžinija“ odbranio je sa ocenom 10. Magistarske studije na istom fakultetu, na Odseku za prehrambenu tehnologiju i biohemiju, upisao je školske 2004/05. godine i završio 2010. godine, odbranivši magistarsku tezu pod naslovom „Optimizacija postupaka dobijanja proizvoda od maline sa smanjenom aktivnošću vode“. Za vreme magistarskih studija, u periodu od 2006. do 2009. godine, bio stipendista Ministarstva za nauku i tehnologiju i za to vreme bio učesnik na projektu „Dobijanje novih prehrambenih i dijetetskih proizvoda od medicinskih gljiva i lekovitog bilja“. Školske 2013/14. godine, upisao doktorske studije po novom nastavnom programu na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, Odsek za prehrambenu tehnologiju i položio sve ispite predviđene planom i programom.

Od 26.10.2009. godine počinje sa radom na Visokoj tehničkoj školi strukovnih studija u Požarevcu, na mestu saradnika u nastavi. U oktobru 2010. godine dobija zvanje predavača. Učestvuje u izvođenju nastave na osnovnim i specijalističkim studijama na katedri za Prehrambenu tehnologiju i nutricionizam.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора МИЛОШ ПУРИЋ

Број индекса ТН 13/59

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

МОГУЋНОСТ ИСКОРИШЋЕЊА СЕМЕНКИ ЈАБУКА КАО НУСПРОИЗВОДА
ПРЕХРАМБЕНЕ ИНДУСТРИЈЕ

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 22.3.2021.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**

Име и презиме аутора МИЛОШ ПУРИЋ

Број индекса ТН 13/59

Студијски програм ПРЕХРАМБЕНА ТЕХНОЛОГИЈА

Наслов рада МОГУЋНОСТ ИСКОРИШЋЕЊА СЕМЕНКИ

ЈАБУКА КАО НУСПРОИЗВОДА ПРЕХРАМБЕНЕ

ИНДУСТРИЈЕ

Ментор 1. проф.др. БИЉАНА РАБРЕНОВИЋ и

2. проф. др. ВЛАДИСЛАВ РАЦ

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 22.3.2021.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

МОГУЋНОСТ ИСКОРИШЋЕЊА СЕМЕНКИ ЈАБУКА КАО
НУСПРОИЗВОДА ПРЕХРАМБЕНЕ
ИНДУСТРИЈЕ

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 22.3.2021.
