

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Aleksandra S. Stojićević

**STABILIZACIJA HLADNO PRESOVANOG
SUNCOKRETOVOG ULJA PRIMENOM
ETARSKIH ULJA I EKSTRAKATA
ODABRANIH VRSTA LEKOVITOG I
ZAČINSKOG BILJA**

doktorska disertacija

Beograd, 2022

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Aleksandra S. Stojićević

**STABILIZATION OF THE COLD PRESSED
SUNFLOWER OIL USING ESSENTIAL OILS
AND EXTRACTS OF SELECTED MEDICINAL
AND CULINARY HERBS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2022

MENTOR:

dr Mališa Antić, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu
Poljoprivredni fakultet

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Stanislava Gorjanović, naučni savetnik

Univerzitet u Beogradu
Institut za opštu i fizičku hemiju

dr Ana Alimpić Aradski, naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu
Institut za botaniku i Botanička bašta „Jevremovac“
Biološki fakultet

dr Biljana Rabrenović, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu
Poljoprivredni fakultet

dr Slavica Jelačić, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu
Poljoprivredni fakultet

Datum odbrane: _____

Izjave zahvalnosti

Najveću zahvalnost dugujem svom mentoru, **dr Mališi Antiću**, redovnom profesoru Poljoprivrednog fakulteta, najpre na tome što mi je ukazao poverenje i prihvatio mentorstvo. Saradnja sa njim mi je otvorila mnoga vrata i omogućila da upoznam i saradujem sa divnim ljudima i vrednim naučnim radnicima. Hvala na podršci, smernicama i uvek spremnim odgovorima na sva moja pitanja, ali i na slobodi koju sam imala u organizaciji eksperimenata i izradi disertacije.

Zahvalna sam svim članovima komisije koji su svojim pristupom, znanjem i savetima učinili ovu disertaciju kvalitetnijom.

Beskrajnu zahvalnost dugujem **dr Stanislavi Gorjanović**, naučnom savetniku Instituta za opštu i fizičku hemiju u Beogradu, na savesnom i odgovornom pristupu i pomoći pri pisanju publikacija i izradi disertacije. Od srca hvala na strpljenju, bezrezervnoj pomoći i podršci, kao i prijateljskim savetima koji su protekle godine učinile poučnim i lakšim.

Dr Ani Alimpić Aradski, naučnom saradniku Biološkog fakulteta, dugujem neizmernu zahvalnost na svemu što je učinila da naša saradnja bude jedno izvanredno iskustvo. Profesionalni pristup radu, eksperimentu i pisanju publikacija, nesebično deljenje znanja kao i prijateljski odnos koji gradi sa saradnicima čine je izuzetnim mladim naučnikom od koga sam mnogo naučila i čiji ću primer slediti u daljoj karijeri.

Najsrdajnije se zahvaljujem **dr Biljani Rabrenović**, vanrednom profesoru Poljoprivrednog fakulteta, na beskrajnoj podršci, prijateljskim savetima i angažovanju oko organizacije dela eksperimenata i korisnim sugestijama u toku izrade disertacije.

Dr Slavici Jelačić, redovnom profesoru Poljoprivrednog fakulteta, dugujem zahvalnost na pomoći pri odabiru lekovitih i začinskim biljaka za eksperimente i omogućenom pristupu Laboratoriji za lekovito bilje Poljoprivrednog fakulteta.

Posebnu zahvalnost bih izrazila i onima koji nažalost nisu više sa nama, **dr Damiru Beatoviću**, koji me je uveo u svet lekovitog i začinskog bilja i **dr Sonji Duletić-Laušević**, redovnom profesoru Biološkog fakulteta, sa kojom je bila privilegija saradivati i koja je svakog ko ju je upoznao zauvek oplemenila svojom pojavom.

Katedri za hemiju i biohemiju Poljoprivrednog fakulteta želim da zahvalim na omogućenom pristupu laboratorijama, opremi i hemikalijama. Iskrenu zahvalnost dugujem **dr Vladislavu Racu**, vanrednom profesoru Poljoprivrednog fakulteta, na pomoći u eksperimentalnom radu, korisnim sugestijama pri planiranju i izvođenju eksperimenata i tumačenju rezultata. Hvala na interesovanju za moj rad, bodrenju i motivaciji.

Izrazila bih zahvalnost i Katedri za tehnološku mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta, posebno **dr Mileni Pantić**, vanrednom profesoru, na pomoći u eksperimentalnom radu i pisanju disertacije. Hvala na podršci i svim stručnim i prijateljskim savetima.

Zahvalnost dugujem i Katedri za morfologiju i sistematiku biljaka Instituta za botaniku i Botaničke bašte „Jevremovac“ Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu na čelu sa **dr Petrom Marinom**, redovnim profesorom Biološkog fakulteta, u čijim laboratorijama je odrađen deo eksperimentalnih analiza.

Iskrenu zahvalnost dugujem **dr Tatjani Šolević Knudsen**, naučnom savetniku Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju u Beogradu, na pomoći u eksperimentalnom radu i pri publikovanju radova. Hvala na svim savetima i korisnim sugestijama pri izradi disertacije.

Dr Igoru Tomaševiću, vanrednom profesoru, kao i **dr Bojani Milovanović**, zahvaljujem na pomoći u realizaciji dela eksperimenata ove disertacije.

Dr Darku Miciću, naučnom saradniku Instituta za opštu i fizičku hemiju u Beogradu zahvaljujem na pomoći oko statističke obrade podataka i korisnim savetima u tumačenju rezultata kao i **dr Ferencu Pastoru**, višem naučnom saradniku Hemijskog fakulteta na pomoći pri pisanju

publikacija i izvođenju dela eksperimentalnih analiza u posebno prijatnoj atmosferi. Hvala na svim profesionalnim i životnim savetima.

Zahvalnost dugujem i gospodinu **Ištvanu Mohačiju**, vlasniku uljare „UVITA“ doo iz Debeljače, koji je donirao hladno presovano suncokretovo ulje.

Zahvaljujem i svima onima koji su na bilo koji drugi način pomogli pri izradi disertacije.

Svakako najveću zahvalnost dugujem onima koji su verovali u mene i onda kada ja to nisam – mojoj porodici. Hvala na pruženoj šansi da studiram i na podršci u toku celokupnog školovanja. Suprugu **Darku** sam zahvalna na svakoj žrtvi koju je podneo da ova disertacija bude privedena kraju. Hvala na svim savetima i pruženoj podršci.

Najveću zahvalnost apsolutno zaslužuje **Ilija**, sunce mamino, čiji me je dolazak na svet upotpunio, dao snagu za koju nisam ni znala da imam u sebi i čiji su mi osmeh i pogled svakodnevna motivacija. Kako će do trenutka odbrane ove doktorske disertacije na mom nebu zasijati još jedno sunce, ova disertacija će biti posvećena njima.

STABILIZACIJA HLADNO PRESOVANOG SUNCOKRETOVOG ULJA PRIMENOM ETARSKIH ULJA I EKSTRAKATA ODABRANIH VRSTA LEKOVITOG I ZAČINSKOG BILJA

SAŽETAK

Predmet istraživanja ove doktorske disertacije bio je stabilizacija hladno presovanog suncokretovog ulja visokog nutritivnog kvaliteta dodatkom etarskih ulja i ekstrakata odabranih biljnih vrsta porodica Lamiaceae i Apiaceae. Visok udeo linolne kiseline u masnokiselinskom sastavu čini hladno presovano suncokretovo ulje podložnim oksidaciji. Uticaj dodatka etarskih ulja i ekstrakata rtanjskog čaja, bosiljka, korijandera, anisa i kima na oksidativnu stabilnost ovog ulja je određen primenom više testova. Takođe, oksidativni status, promena boje i senzorna svojstva uzoraka sa dodatkom ekstrakata i etarskih ulja su praćeni tokom višemesečnog skladištenja na sobnoj temperaturi bez prisustva svetlosti i poređeni sa polaznim uzorkom i međusobno.

Etarska ulja su izolovana metodom hidrodestilacije dok su ekstrakti pripremljeni korišćenjem 70 % i 96 % rastvora etanola maceracijom pomoću ultrazvuka (UZM) i ekstrakcijom po Soksletu (SE). Pored karakterizacije etarskih ulja u smislu hemijskog sastava i određivanja sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja i flavonoida u etanolnim ekstraktima, ispitana je i njihova antioksidativna i antibakterijska aktivnost. Biljke porodice Lamiaceae su pokazale veći antioksidativni potencijal u odnosu na biljke porodice Apiaceae. Sa druge strane, ekstrakti dobijeni primenom 70 % rastvora etanola su bili bogatiji fenolnim komponentama i ispoljili veći antioksidativni efekat. Generalno, ekstrakti ispitivanih biljaka u poređenju sa etarskim uljima su imali izraženiju antioksidativnu aktivnost i bili učinkovitiji u smislu odlaganja oksidativnih promena u ulju, dok su etarska ulja efikasnije inhibirala testirane patogene bakterije.

Rezultati ove disertacije nedvosmisleno potvrđuju da ekstrakti odabranih biljaka mogu biti iskorišćeni kao delotvorna, zdrava i ekološki prihvatljiva zamena sintetičkim aditivima. Produžen rok trajanja kao i specifične senzorne karakteristike aromatizovanih ulja ukazuju i na komercijalni značaj sprovedenih istraživanja.

Ključne reči: hladno presovano suncokretovo ulje, oksidativna stabilnost, rtanjski čaj, bosiljak, korijander, anis, kim, etarsko ulje, ekstrakt, rok trajanja

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Prehrambena tehnologija

UDK broj: 665.347.8:665.52(043.3)

STABILIZATION OF THE COLD PRESSED SUNFLOWER OIL USING ESSENTIAL OILS AND EXTRACTS OF SELECTED MEDICINAL AND CULINARY HERBS

SUMMARY

The subject of this doctoral thesis was the stabilization of the cold pressed sunflower oil of high nutritional value using essential oils and extracts of selected plant species of the families Lamiaceae and Apiaceae. The high content of linoleic acid in its fatty acid content makes the cold pressed sunflower oil prone to oxidation. The influence of addition of the essential oils and extracts of savory, basil, coriander, anise and caraway is determined using several assays. Also, oxidation status, changes in color and sensor properties of the samples with essential oils and extracts were monitored in the course of several months of storage at room temperature, protected from light and compared with the original sample and between each other.

Essential oils were obtained by hydrodistillation method while extracts were prepared using 70 % and 96 % ethanol solutions by ultrasonic assisted maceration (UAM) and Soxhlet extraction (SE). Along with the chemical composition of the essential oils and total phenolic and flavonoid contents in the ethanolic extracts, their antioxidant and antibacterial activity has been examined. The tested Lamiaceae displayed higher antioxidant potential compared to the Apiaceae plants. Also, the 70 % ethanol extracts were richer in phenolic components and exhibited a greater antioxidant effect. Generally, the extracts of examined plants had a more pronounced antioxidant activity compared to essential oils and were more effective in terms of delaying oxidative changes in the oil, whereas the essential oils more efficiently inhibited the tested pathogenic bacteria.

The results of this dissertation unequivocally confirm that the extracts of the selected plants can be used as an effective, healthy and environmentally acceptable alternative to synthetic additives. The longer shelf life and the unique sensory properties of the aromatised oils indicate also the commercial aspect of the conducted research.

Key words: cold-pressed sunflower oil, oxidative stability, savory, basil, coriander, anise, caraway, essential oil, extract, shelf life.

Scientific field: Biotechnical Sciences

Scientific subfield: Food Technology

UDC number: 665.347.8:665.52(043.3)

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Proizvodnja suncokreta i suncokretovog ulja	3
2.1.1. Hladno presovano suncokretovo ulje (HPSU).....	4
2.2. Hemijski sastav suncokretovog ulja	5
2.2.1. Triacilgliceroli i masne kiseline.....	5
2.2.1.1. Nutritivni pokazatelji kvaliteta biljnih ulja.....	10
2.2.2. Minorne komponente hemijskog sastava ulja.....	11
2.2.2.1. Tokoferoli i tokotrienoli	11
2.2.2.2. Steroli.....	18
2.2.2.3. Fosfolipidi.....	20
2.2.2.4. Fenolna jedinjenja.....	21
2.2.2.5. Pigmenti.....	23
2.3. Oksidativna stabilnost ulja.....	25
2.3.1. Lipidna oksidacija.....	25
2.3.2. Faktori koji utiču na oksidativnu stabilnost ulja.....	27
2.3.2.1. Hemijski sastav ulja.....	27
2.3.2.1.1. Sastav masnih kiselina.....	27
2.3.2.1.2. Antioksidansi	28
2.3.2.1.3. Prooksidansi	29
2.3.2.2. Način proizvodnje ulja.....	30
2.3.2.3. Uslovi skladištenja.....	31
2.3.3. Metode određivanja oksidativne stabilnosti i praćenja procesa oksidacije ulja	31
2.3.3.1. Metode određivanja oksidativne stabilnosti	32
2.3.3.2. Metode ispitivanja oksidativnog statusa	34
2.4. Opšte karakteristike ispitivanih biljnih vrsta	36
2.4.1. Rtanjski čaj (<i>Satureja montana</i> L.).....	36
2.4.2. Bosiljak (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	37
2.4.3. Korijander (<i>Coriandrum sativum</i> L.).....	39
2.4.4. Anis (<i>Pimpinella anisum</i> L.).....	39
2.4.5. Kim (<i>Carum carvi</i> L.).....	40
2.5. Primena lekovitih i začinskih biljaka u prehrambenoj industriji.....	41
2.5.1. Primena odabranih lekovitih i začinskih biljaka u cilju stabilizacije jestivih biljnih ulja i masti.....	42
2.5.2. Primena odabranih lekovitih i začinskih biljaka u drugim granama prehrambene industrije	44
3. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	46
4.MATERIJAL I METODE	48
4.1. Polazni materijal	48
4.2. Ispitivanje nutritivne vrednosti HPSU	48
4.2.1. Određivanje sadržaja i sastava MK	48
4.2.2. Određivanje sadržaja izomera tokoferola	49
4.2.3. Sadržaj ukupnih karotenoida	49
4.2.4. Sadržaj ukupnih hlorofila.....	50
4.2.5. Određivanje nutritivnih pokazatelja.....	50
4.3. Ispitivanje oksidativnog statusa i hemijskih karakteristika HPSU.....	50
4.3.1. Određivanje kiselinskog i sadržaja slobodnih MK.....	50

4.3.2. Peroksidni broj.....	51
4.3.3. Anisidinski broj.....	51
4.3.4. Oksidativna vrednost	52
4.3.5. Određivanje konjugovanih diena i konjugovanih triena.....	52
4.4. Ispitivanje odabranih vrsta lekovitih i začinskih biljaka	52
4.4.1. Izolacija etarskog ulja	52
4.4.1.1. Analiza sastava etarskog ulja.....	53
4.4.2. Priprema ekstrakata.....	53
4.4.2.1. Određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja	54
4.4.2.2. Određivanje sadržaja flavonoida	54
4.4.3. Određivanje antioksidativne aktivnosti etarskih ulja i ekstrakata	54
4.4.3.1. DPPH metoda	54
4.4.3.2. FRAP metoda.....	55
4.4.3.3. β -CB metoda.....	55
4.4.3.4. HPMC metoda	55
4.4.4. Ispitivanje antibakterijske aktivnosti etarskih ulja i ekstrakata	56
4.5. Ispitivanje oksidativne stabilnosti HPSU sa dodatkom etarskih ulja i ekstrakata.....	57
4.5.1. Rancimat test.....	57
4.5.2. Schaal-oven test	57
4.5.3. DSC metoda.....	57
4.5.4. Ispitivanje oksidativne stabilnosti ulja u toku šest meseci skladištenja.....	58
4.6. Senzorna ocena kvaliteta	58
4.7. Instrumentalno određivanje boje uzoraka pomoću kompjuterskog vizuelnog sistema	58
4.8. Statistička analiza	60
5. REZULTATI I DISKUSIJA	61
5.1. Sastav i karakteristike HPSU.....	61
5.1.1. Nutritivna vrednost	61
5.1.2. Hemijske karakteristike i oksidativni status	63
5.2. Hemijski sastav etarskih ulja odabranih biljnih vrsta lekovitih i začinskih biljaka	65
5.3. Uticaj rastvarača i metode ekstrakcije na prinos ekstrakata	71
5.4. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima ispitivanih biljnih vrsta	72
5.5. Antioksidativna aktivnost etarskih ulja i ekstrakata	74
5.6. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja i ekstrakata.....	79
5.7. Oksidativna stabilnost HPSU sa dodatkom etarskih ulja i ekstrakata.....	84
5.7.1. Rezultati Rancimat testa	84
5.7.2. Rezultati Schaal oven testa	89
5.7.2.1. Promene peroksidnog broja	89
5.7.2.2. Promene anisidinskog broja.....	93
5.7.2.3. Promene oksidativne vrednosti.....	95
5.7.2.4. Promene sadržaja konjugovanih diena i konjugovanih triena	97
5.7.3. Rezultati DSC metode	102
5.8. Šestomesečno praćenje promena parametara oksidativnog statusa uzoraka HPSU sa dodatkom etarskih ulja i ekstrakata	104
5.8.1. Promene peroksidnog broja	104
5.8.2. Promene anisidinskog broja.....	106
5.8.3. Promene oksidativne vrednosti	108
5.8.4. Promene konjugovanih diena i konjugovanih triena	110
5.9. Senzorna ocena kvaliteta uzoraka HPSU sa dodatkom etarskih ulja i ekstrakata	111
5.10. Instrumentalno određivanje boje uzoraka	114
6. ZAKLJUČAK.....	120
7. LITERATURA.....	124

8. PRILOG	161
BIOGRAFIJA AUTORA	162
Izjava o autorstvu	163
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada	164
Izjava o korišćenju	165

LISTA SKRAĆENICA

- a^* – udeo crvene boje ($+a^*$) ili zelene boje ($-a^*$)
Abr – anisidinski broj
AI – aterogeni indeks
ATCC – američka tipska kolekcija kultura (*American Type Culture Collection*)
 b^* – udeo žute boje ($+b^*$) ili plave boje ($-b^*$)
BHA – butilhidroksianizol
BHT – butilhidroksitoluol
BI – indeks posmeđivanja (*Browning Index*)
CFU – broj bakterija koje formiraju kolonije na podlozi
CVS – kompjuterski vizuelni sistem (*Computer Vision System*)
DMSO – dimetil-sulfoksid
DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DSC – diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (*Differential Scanning Calorimetry*)
EDMU – ekstradevičansko maslinovo ulje
EU – etarsko ulje
TFC – sadržaj flavonoida
FRAP – antioksidativna moć redukcije Fe (III) jona (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)
GAE – ekvivalent galne kiseline
GC-FID – gasna hromatografija sa plameno-jonizujućom detekcijom
GC-MS – gasna hromatografija sa masenom spektrofotometrijom
GRAS – opšte prihvaćeno kao bezbedno (*Generally Recognized As Safe*)
HDL – lipoprotein visoke gustine (*High Density Lipoprotein*)
HH – hipoholesterolski/hiperholesterolski indeks
HPLC – tečna hromatografija visokih performansi
HPMC – *HydroxoPerhydroxoMercury(II) Complex*
HPSU – hladno presovano suncokretovo ulje
HPU – hladno presovano ulje
IP – indukcionni period
 K_{232} – sadržaj konjugovanih diena
 K_{270} – sadržaj konjugovanih triena
Kbr – kiselinski broj
 L^* – svetloća boje
LDL – lipoprotein niske gustine (*Low Density Lipoprotein*)
MBC – minimalna baktericidna koncentracija
MIC – minimalna inhibitorna koncentracija
MK – masna kiselina
MUFA – sadržaj mononezasićenih masnih kiselina (*Monounsaturated Fatty Acid*)
OOT – početna temperatura oksidacije (*Oxidation Onset Temperature*)
OV – oksidativna vrednost
Pbr – peroksidni broj
PDSC – diferencijalna skenirajuća kalorimetrija pod pritiskom (*Pressure Differential Scanning Calorimetry*)
PG – propil-galat
PUFA – sadržaj polinezasićenih masnih kiselina (*Polyunsaturated Fatty Acid*)
QE – ekvivalent kvercentina
SE – ekstrakcija po Soksletu (*Soxhlet Extraction*)
SFA – sadržaj zasićenih masnih kiselina (*Saturated Fatty Acid*)
TAG – triacilgliceroli
TBHQ – *terc*-butil hidrokinon

TCD – ukupna promena boje (*Total Colour Difference*)

TG – termogravimetrija

TI – trombogeni indeks

TPC – sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja

TPTZ – 2,4,6-tripiridil-s-triazin

UZM – maceracija pomoću ultrazvuka

YI – indeks žute boje (*Yellowness Index*)

β -CB – β -karoten/linolna kiselina test (*β -Carotene Bleaching*)

1. UVOD

Bolja informisanost potrošača o zdravstvenom značaju konzumacije hladno presovanih ulja poslednjih decenija je doprinela da rafinirano suncokretovo ulje, koje je najzastupljenije u ishrani stanovništva Republike Srbije, bude češće zamenjeno hladno presovanim. Stoga je i prerada suncokreta u cilju dobijanja ovog tipa ulja pospešena. Ulje dobijeno preradom suncokreta gajenog na našem podneblju karakteriše visok sadržaj linolne kiseline pa se bez obzira na način proizvodnje, suncokretovo ulje smatra bogatim izvorom ove esencijalne masne kiseline i pogodnim sa stanovišta zdrave ishrane. Osim gradivne uloge u ćelijskim membranama ima i regulatornu ulogu budući da je prekursor važnih bioaktivnih jedinjenja koja regulišu brojne fiziološke procese u organizmu (Patterson i sar., 2012; Sanders, 2016). Međutim, visok udeo polinezasićenih masnih kiselina, kao što su linolna i linolenska, negativno utiče na stabilnost ulja s obzirom da brzo podležu oksidaciji (Redondo-Cuevas i sar., 2018; Konuskan i sar., 2019). Ovaj neizbežni proces vodi stvaranju neprijatnih mirisa ali i potencijalno štetnih proizvoda što ulje odnosno hranu koja ga sadrži čini nepodesnim za konzumiranje (Shahidi i Zhong, 2010). Oksidacijom ulja osim što se smanjuje udeo esencijalnih masnih kiselina, dolazi i do smanjenja sadržaja liposolubilnih vitamina i drugih bioaktivnih komponenata.

Pri određivanju sveobuhvatnog kvaliteta ulja, neophodno je odrediti i oksidativnu stabilnost odnosno održivost ulja koja se definiše kao otpornost ulja na oksidativne promene u toku proizvodnje, manipulacije i čuvanja (Dunford, 2015). Iako nije standardni parametar kvaliteta ulja, oksidativna stabilnost je dobar pokazatelj roka trajanja koristan za njegovu procenu (Krichene i sar., 2010). Najznačajniji faktori koji utiču na održivost ulja su hemijski sastav, u prvom redu sastav masnih kiselina i prisustvo antioksidanasa i prooksidanasa, ali nije zanemarljiv ni uticaj načina proizvodnje i skladištenja ulja. Prerada semena suncokreta visokog kvaliteta, pravilno vođenje procesa proizvodnje, pakovanje i zaštita ulja od svetlosti, kiseonika i povišene temperature tokom skladištenja, neki su od koraka ka povećanju održivosti ulja. Budući da se hladno presovano suncokretovo ulje dobija mehaničkim putem a prečišćava samo fizičkim postupcima, u njemu ostaju očuvane visokovredne bioaktivne komponente prirodno prisutne u jezgru suncokreta pa ono, za razliku od rafiniranog, ima više koncentracije vitamina E, karotenoida, polifenola i fitosterola (Kostadinović Veličkova i Mitrev, 2013; Grosshagauer i sar., 2019). Prisustvo ovih komponenti je od posebne važnosti za održivost ulja i odlaganje procesa oksidacije. Sa druge strane, usled minimalne obrade sveže hladno presovano ulje ima veći sadržaj komponenti sa prooksidativnim delovanjem (proizvodi oksidacije, slobodne masne kiseline, tragovi metala, pigmenti) u odnosu na rafinirano, a što ga čini podložnijim oksidaciji.

Uzimajući u obzir sve navedeno, kao i činjenicu da zakonski nije dozvoljen dodatak sintetičkih antioksidanasa hladno presovanom ulju, stabilizacija ulja ovako kompleksnog sastava predstavlja poseban izazov. U cilju odlaganja oksidativnih promena razvijeno je više metoda među kojima je primena biljnih antioksidanasa jedan od najzastupljenijih (Kiralan i sar., 2017). Upotreba antioksidanasa biljnog porekla je efikasan i bezbedan način oksidativne stabilizacije ulja. Poseban značaj se daje upotrebi etarskih ulja i ekstrakata lekovitih i začinskih biljaka jer sadrže aktivne komponente koje usporavaju nepoželjne procese oksidacije lipida (Sayyari i Farahmandfar, 2017). Aromatične biljne vrste familije Lamiaceae, kao što su rtanjski čaj (*Satureja montana* L.) i bosiljak (*Ocimum basilicum* L.), kao i biljne vrste familije Apiaceae, kojoj pripadaju anis (*Pimpinella anisum* L.), kim (*Carum carvi* L.) i korijander (*Coriandrum sativum* L.), tradicionalno se primenjuju u narodnoj medicini u terapiji različitih bolesti i kao začini. Mnogobrojne studije su pokazale da ove biljke deluju kao snažni antioksidativni i antimikrobni agensi zbog čega imaju značajan potencijal za primenu u prehrambenoj industriji (Synowiec i sar., 2014; Carocho i sar.,

2016; Takwa i sar., 2018; Vasiljević i sar., 2019; Khanjari i sar., 2019; Šojić i sar., 2019a, 2019b, 2019c; Jakanović i sar., 2020). Ekstrakti ovih biljaka, dobijeni primenom različitih rastvarača, metoda i uslova ekstrakcije, pokazuju sposobnost odlaganja oksidativnih promena u ulju uporedivu sa sposobnošću sintetičkih antioksidanasa (Máriássyová, 2006; Veronezi i sar., 2014; Cordeiro i sar., 2013; Farah i sar., 2015; Assami i sar., 2016). Pozitivan efekat na stabilnost ulja pokazala su i etarska ulja pomenutih biljnih vrsta koja u nižim koncentracijama usporavaju oksidativne procese dok neka od njih, primenjena u višim koncentracijama, mogu ispoljiti prooksidativni efekat i negativan uticaj na senzorne karakteristike ulja (Cardoso-Ugarte i sar., 2013; Dolati i sar., 2016; Aćimović i sar., 2017). S obzirom da dodatkom etarskih ulja i ekstrakata prijatna aroma hladno presovanog ulja postaje specifična, ispitivanje održivosti ulja koje je na ovaj način i aromatizovano, ne bi bilo potpuno bez ispitivanja senzornih karakteristika i utvrđivanja prihvatljivosti tako dobijenog proizvoda.

Glavni cilj ovog rada bio je ispitivanje mogućnosti primene etarskih ulja i ekstrakata odabranih biljnih vrsta (rtanjskog čaja, bosiljka, korijandera, anisa i kima) radi stabilizacije hladno presovanog suncokretovog ulja. Oksidativna stabilnost je određena primenom više testova zasnovanih na različitim principima kako bi se stekao kompletan uvid u efekat upotrebljenih lekovitih i začinskih biljaka. Pored ispitivanja oksidativne stabilnosti, analizirana su i senzorna svojstva ulja i praćena je promena boje uzoraka instrumentalnom metodom u toku skladištenja.

Prethodno je ispitan kvalitet hladno presovanog suncokretovog ulja u smislu sastava masnih kiselina, sadržaja tokoferola, karotenoida, hlorofila i nutritivnih pokazatelja. Preliminarna ispitivanja su obuhvatila i karakterizaciju etarskih ulja u smislu hemijskog sastava i određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja i flavonoida u pripremljenim ekstraktima. Takođe, ispitana je antioksidativna i antimikrobna aktivnost etarskih ulja i ekstrakata.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Proizvodnja suncokreta i suncokretovog ulja

Kao najveći proizvođači suncokreta u svetu izdvajaju se Ukrajina, Rusija, Evropska Unija, Argentina, Kina i Turska (Tabela 2.1.). Suncokret spada u pet najznačajnijih uljarica u svetu a ujedno predstavlja i najznačajniju sirovinu u proizvodnji jestivog biljnog ulja u Republici Srbiji. Po proizvodnji semena suncokreta, koja je procenjena na 600 hiljada tona, Srbija se 2021. godine nalazila na jedanaestom mestu u svetu, dok je sa 207 hiljada tona bila na desetom mestu po proizvodnji suncokretovog ulja (Tabela 2.2.). U odnosu na 2020. godinu zabeležen je pad u proizvodnji semena suncokreta nešto viši od 11 %, dok je proizvodnja suncokretovog ulja opala za 5 %.

Tabela 2.1. Proizvodnja semena i ulja suncokreta u svetu (u hiljadama tona) za period od 2019. do 2021. godine (internet izvor 1).

Zemlja proizvođač	2019	2020	2021	2019	2020	2021
	Proizvodnja semena suncokreta			Proizvodnja suncokretovog ulja		
Ukrajina	16500	14100	17000	7390	5913	7117
Rusija	15305	13269	15000	5700	5121	5741
Evropska Unija	9456	8851	10150	3645	3481	3865
Argentina	3235	3430	3400	1160	1435	1265
Kina	2420	2375	2900	423	430	624
Turska	1750	1560	1750	1141	1000	1173

U našoj zemlji suncokret se prvenstveno gaji radi proizvodnje ulja koje primenu nalazi u prehrambenoj industriji i u domaćinstvima za pripremu hrane. U ove svrhe gaji se uljani tip suncokreta koji je tanke ljuske i sa udelom ulja preko 40 %. Pored uljanog tipa gaji se i proteinski odnosno konzumni tip suncokreta, koga karakteriše krupnije seme sa lako odvojivom ljuskom, većim udelom proteina i manjim sadržajem ulja u odnosu na uljani tip.

Tabela 2.2. Proizvodnja semena i ulja suncokreta u Republici Srbiji (u hiljadama tona) za period od 2017. do 2021. godine (internet izvor 1).

Godina	Proizvodnja semena suncokreta	Proizvodnja suncokretovog ulja
2017	540	212
2018	680	212
2019	660	225
2020	675	218
2021	600	207

Suncokretovo ulje karakteriše visok sadržaj nezasićenih masnih kiselina (85 – 95 %) među kojima su linolna i oleinska kiselina zastupljene sa oko 90 %. Ulje dobijeno preradom suncokreta gajenog na našem podneblju pripada *linolnom tipu* tj. karakteriše se visokim sadržajem linolne kiseline (60 – 75 %). Zasićene masne kiseline zastupljene su sa oko 10 % u ukupnom masnokiselinskom sastavu (Škorić i sar., 2008). Ovako visok sadržaj nezasićenih masnih kiselina kao i sadržaj drugih biološki vrednih komponenata, u prvom redu vitamina E, čini ulje linolnog tipa veoma vrednim. Međutim, poznato je da visok udeo polinezasićenih masnih kiselina, kao što su

linolna i linolenska, negativno utiče na stabilnost ulja s obzirom da brzo podležu oksidaciji (Redondo-Cuevas i sar., 2018; Konuskan i sar., 2019). Promene kojima podležu ove kiseline dovode do pada kvaliteta ulja, izmene senzornih svojstava i nakupljanja proizvoda oksidacione degradacije štetnih po zdravlje. Iz tih razloga, ulje linolnog tipa ima kraći rok trajanja. Šira primena suncokretovog ulja u prehrambenoj industriji, proizvodnji biodizela i različitim granama hemijske industrije omogućena je oplemenjivanjem postojećih sorti. Upravo zahvaljujući oplemenjivanju, koje se najpre zasnivalo na povećanju prinosa semena i ulja, danas postoje hibridi suncokreta sa preko 50 % ulja, izmenjenim sastavom masnih kiselina, fitosterola i pojedinih izomera tokoferola (Dimić, 2005; Škorić i sar., 2008; Garcés i sar., 2009; Sakač i sar., 2011; Aguirre i sar., 2014). Na ovaj način se pozitivno uticalo na ekonomičnost proizvodnje, nutritivni i zdravstveni aspekt i što je najbitnije, na stabilnost ulja pa samim tim i mogućnost njegove primene.

2.1.1. Hladno presovano suncokretovo ulje (HPSU)

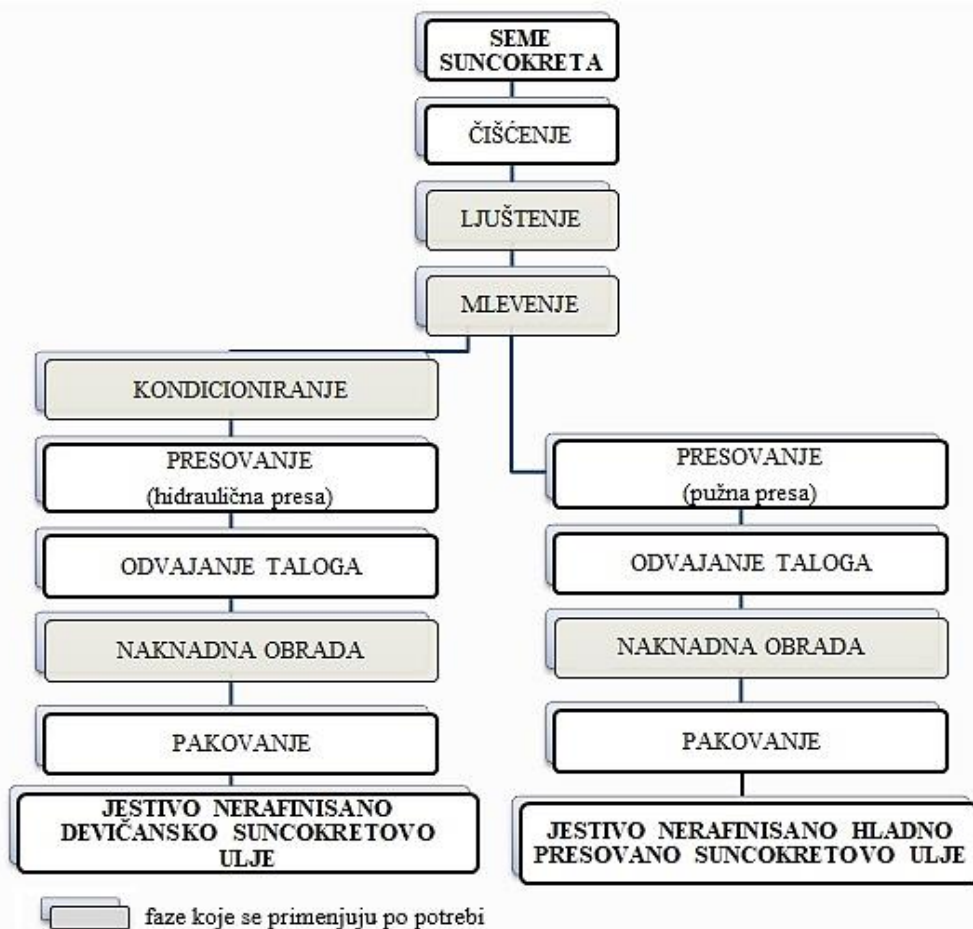
Ponuda suncokretovog ulja na domaćem tržištu se uglavnom zasniva na rafinisanom ulju. Bez obzira na tip, rafinirano suncokretovo ulje je i dalje najzastupljenije. Međutim, u poslednje vreme potražnja za hladno presovanim uljem (HPU) je znatno porasla. Bolja informisanost potrošača o značaju konzumacije HPU, kao i potreba za konzumiranjem namirnica koje su pretrpele minimalan hemijski tretman, doprineli su da rafinirano suncokretovo ulje bude znatno češće zamenjeno HPU. Takođe, proizvodnja HPU je jeftiniji i ekološki prihvatljiviji način prerade semena suncokreta.

Prema Pravilniku o kvalitetu i drugim zahtevima za jestiva biljna ulja i masti, margarin i druge masne namaze, majonez i srodne proizvode (u daljem tekstu Pravilnik), pod jestivim biljnim HPU sa naznakom sirovine podrazumeva se ulje koje je dobijeno mehaničkim presovanjem, bez zagrevanja, a koje se može prečišćavati isključivo fizičkim postupcima i to taloženjem, filtracijom, centrifugiranjem i pranjem vodom (Pravilnik, 2013). Bioaktivne komponente ostaju očuvane u toku procesa proizvodnje i naknadne obrade u nepromenjenom obliku (Chew, 2020). HPU karakteriše prisustvo komponenti koje su kod rafinisanog ulja uklonjene nekom od faza rafinacije a od izuzetnog su značaja sa nutritivnog aspekta. Takođe, ovakva ulja imaju specifične senzorne karakteristike na sirovinu zbog kojih su izuzetno cenjena među potrošačima.

Pored HPU, na tržištu je prisutno i devičansko ulje sa naznakom sirovine koje se takođe dobija mehaničkim postupkom, ali je u proizvodnji ovog tipa ulja dozvoljeno zagrevanje materijala koji se presuje (kondicioniranje). I u proizvodnji ovog ulja prirodni sastojci moraju biti očuvani i ulje se može jedino obraditi fizičkim postupcima. S obzirom na to da su neke komponente ulja termolabilne, primena povišene temperature je značajno ograničena (Matthäus i Spener, 2008). Kondicioniranje materijala, pored toga što omogućava lakše i potpunije izdvajanje ulja, može negativno uticati na senzorna svojstva ulja a nekontrolisanim zagrevanjem se može značajno narušiti kvalitet i održivost ulja (Dimić, 2005). Tehnološki postupak proizvodnje devičanskog i HPSU je predstavljen na Slici 2.1.

Proizvodnja HPU se najčešće izvodi u mini uljarama koje koriste pužne prese kapaciteta od 40 do 200 kg/h (Gunstone, 2013). Proces dobijanja HPU podrazumeva odsustvo termičkog tretmana i primene organskih rastvarača što uz skromne zahteve za opremom proizvodnju čini jednostavnom, ekonomičnom i ekološki prihvatljivom (Celenk i sar., 2018; Çakaloğlu i sar., 2018; Özyurt, 2019). Pužne prese omogućavaju kontinualan rad i izdvajanje ulja iz više različitih sirovina pri čemu se za svaku sirovinu primenjuju optimalni uslovi rada. Ono što je neminovno u toku rada prese jeste zagrevanje materijala usled trenja. Temperatura ulja na izlazu iz prese je izuzetno bitan parametar proizvodnje i ne sme biti viša od 50 °C (Dimić, 2005). Konstrukcija i snaga prese, brzina okretanja puža, kao i prečnik izlaznog konusa su parametri kojima se reguliše temperatura rada i izlaznog ulja, vreme zadržavanja materijala i pritisak u presi a što se sve zajedno odražava na ekstrakciju odgovarajućih komponenti iz materijala, senzorna svojstva i sveukupni kvalitet izdvojenog ulja (Chew, 2020). Kao glavni nedostatak proizvodnje ulja ovom metodom, u odnosu na

metode koje podrazumevaju zagrevanje i/ili ekstrakciju rastvaračima, navodi se nizak prinos i zaostajanje jednog dela ulja u pogači nakon presovanja.



Slika 2.1. Blok šema tehnološkog procesa proizvodnje devičanskog i HPSU (Romanić, 2020).

Proizvodnja HPU nije komercijalizovana zbog niskog prinosa i njome se uglavnom bave uljare malog i srednjeg kapaciteta koje na sve veće interesovanje potrošača za ovim tipom ulja odgovaraju širenjem asortimana u kome HPSU zauzima posebno mesto.

2.2. Hemijski sastav suncokretovog ulja

Biljna ulja su kompleksnog sastava i u najvećem procentu se sastoje od triacilglicerola (> 98 %), dok ostatak predstavljaju minorne komponente - diacilgliceroli, slobodne masne kiseline, steroli, fosfolipidi, tokoferoli, fenolne komponente i pigmenti (Indelicato i sar., 2017; Chew, 2020). Sa nutritivnog aspekta, biljna ulja predstavljaju značajan izvor esencijalnih masnih kiselina i liposolubilnih vitamina. Takođe, predstavljaju i bitan izvor energije, budući da 20 – 35 % dnevnih potreba organizma za energijom treba biti zadovoljeno iz masti i ulja (Sánchez-Muniz i sar., 2016). Kao najzastupljenije komponente sastava biljnih ulja, triacilgliceroli i masne kiseline koje ih izgrađuju, pored energetske u ljudskom organizmu imaju i gradivnu i regulatornu ulogu, jer učestvuju u izgradnji ćelijskih membrana, regulišu nivo holesterola u krvi i preko bioaktivnih jedinjenja čiji su prekursori, regulišu rad imunološkog i nervnog sistema (Lunn i Theobald, 2006).

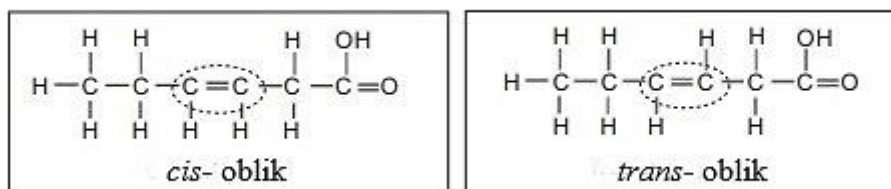
2.2.1. Triacilgliceroli i masne kiseline

Triacilgliceroli (TAG) su molekuli glicerola esterifikovani sa tri masne kiseline. Zastupljenost pojedinih masnih kiselina u masnokiselinskom sastavu i njihov položaj na ostatku

molekula glicerola u najvećoj meri određuju fizičke i hemijske karakteristike ulja i njegovu potencijalnu primenu.

Masne kiseline (MK) se mogu podeliti na više načina:

- Na osnovu dužine lanca:
 - MK kratkog lanca, < 8 ugljenikovih atoma
 - MK srednjeg lanca, 8 – 12 ugljenikovih atoma
 - MK dugog lanca, > 12 ugljenikovih atoma
- Na osnovu broja dvostrukih veza:
 - zasićene MK, bez dvostruke veze u ugljovodonikovom lancu (SFA – *Saturated Fatty Acid*)
 - mononezasićene MK, koje imaju jednu dvostruku vezu u ugljovodonikovom lancu (MUFA – *Monounsaturated Fatty Acid*)
 - polinezasićene MK, u ugljovodonikovom lancu imaju 2 – 6 dvostrukih veza (PUFA – *Polyunsaturated Fatty Acid*)
- Na osnovu geometrijske izomerije (Slika 2.2.):
 - *cis*- geometrijski oblik
 - *trans*- geometrijski oblik.



Slika 2.2. Uporedni prikaz *cis*- i *trans*- geometrijskih oblika MK (Lunn i Theobald, 2006).

U biljnim uljima MK su zastupljene u *cis*-obliku. *Trans*-oblik MK se javlja ređe u prirodi i uglavnom je prisutan u malim količinama u animalnim uljima i mastima. U biljnim uljima *trans*-izomerni oblik MK nastaje termičkim tretmanom ulja pri rafinaciji i u fazi deodorizacije (Lunn i Theobald, 2006; Rabrenović, 2011). Unos *trans*-MK ima štetan efekat po ljudsko zdravlje budući da njihovim unosom dolazi do povećanje nivoa aterogenih lipoproteina, ukupnog i LDL (LDL – *Low Density Lipoprotein*) holesterola, uz istovremeno smanjenje nivoa HDL (HDL – *High Density Lipoprotein*) (Vučić i sar., 2015).

U masnokiselinom sastavu suncokretovog ulja linolnog tipa su najzastupljenije linolna (C_{18:2}, n-6) i oleinska kiselina (C_{18:1}, n-9), koje zajedno čine oko 90 % ukupnog sadržaja (Rauf i sar., 2017). SFA su prisutne sa 8 – 15 % od kojih su palmitinska (C_{16:0}) i stearinska kiselina (C_{18:0}) najzastupljenije (Raš i sar., 2008). Linolenska kiselina (C_{18:3}, n-3), ω-3 esencijalna MK, je u suncokretovom ulju prisutna u zanemarljivo malim količinama.

Linolna kiselina je najznačajniji član PUFA n-6 serije. Njen udeo u ukupnom masnokiselinom sastavu linolnog tipa suncokreta kreće se u opsegu od 48 do 74 % (Salas i sar., 2015). Oleinska kiselina pripada MUFA i njen sadržaj se kreće od 14 do 40 %. Sadržaj linolne i oleinske kiseline u ulju linolnog tipa može znatno varirati u zavisnosti od brojnih faktora (temperature, saliniteta zemljišta, broja sunčanih dana, količine vode i azota) dok je sadržaj oleinske kiseline kod visokooleinskog tipa ulja prilično stabilan i nezavistan od navedenih faktora (Roche i sar., 2006; Anastasi i sar., 2010; Onemli, 2012; Krizmanić i sar., 2013; Kleingartner, 2015; Izquierdo i sar., 2017; Begić i sar., 2020).

Prisustvo linolne kiseline u ovom obimu čini suncokretovo ulje izuzetno vrednim i pogodnim sa stanovišta zdrave ishrane. Osim gradivne uloge koju ostvaruje u ćelijskim membranama, linolna kiselina ima i regulatornu ulogu s obzirom da je prekursor arahidonske kiseline (C_{20:4}, n-6), MK dugog lanca iz koje dalje nastaju eikozanoidi (prostaglandini, prostaciklin, tromboksan, leukotrieni) (Patterson i sar., 2012; Sanders, 2016). Linolenska kiselina se prevodi u

eikozapentaensku (EPA) (C_{20:5}, n-3) a potom i dokozaheksaensku kiselinu (C_{22:6}, n-3). Od EPA se dalje formiraju prostanoidi i leukotrieni koji imaju antiinflamatorno i antiagregativno dejstvo. Ova bioaktivna jedinjenja imaju regulatornu ulogu u brojnim fiziološkim procesima u organizmu i njihov učinak zavisi od koncentracije i toga da li vode poreklo od linolne ili linolenske kiseline (Lunn i Theobald, 2006). Veća koncentracija derivata linolne kiseline (leukotriena 4-serije i prostaglandina 2-serije) ima proinflamatorni efekat, pogotovo kada je odnos unosa ovih dveju kiselina poremećen i sa preporučenih 1:1 do 4:1 biva povećan na 10:1 pa čak i 20:1 u korist linolne kiseline (Patterson i sar., 2012).

Preporučeni unos linolne kiseline je 2 – 3 % dnevnog energetskeg unosa dok se deficit, koji se javlja u slučaju kada je unos manji od 1 %, ogleda u sporom rastu i razvoju novorođenčadi, dermatitisu, slabljenju imunog sistema i reproduktivne moći (Sánchez-Muniz i sar., 2016; Sanders, 2016). Optimalan unos linolne kiseline smanjuje mogućnost razvoja kardiovaskularnih bolesti, s obzirom da se sa njenim većim udelom u masnokiselinskom sastavu smanjuju vrednosti aterogenog i trombogenog indeksa (Ulbricht i Southgate, 1991). Zdravstveni benefit linolne kiseline ogleda se i u tome što snižava nivo LDL. Međutim, ukoliko se unosi u većim količinama, utiče i na vrednosti HDL snižavajući njegov nivo u krvi (Sánchez-Muniz i sar., 2016). Ovo je jedan od razloga zašto je preporučljivo da se u ishrani jedan deo linolne kiseline zameni oleinskom koja ima isti učinak na LDL ali nema negativnog uticaja na HDL. Negativan uticaj prevelikog unosa linolne kiseline ogleda se i u tome što, u odnosu na oleinsku kiselinu, znatno brže podleže oksidaciji, a što se dovodi u pozitivnu korelaciju sa razvojem brojnih patoloških procesa u organizmu (Raš i sar., 2008). Pored visoke oksidativne stabilnosti, oleinsku kiselinu odlikuje i hipoholesterolski efekat (Crupkin i Zambelli, 2008). U cilju prevencije i lečenja kardiovaskularnih bolesti, savremene preporuke zdrave ishrane su prelazak na mediteranski režim ishrane koji se zasniva na većoj upotrebi biljnih ulja bogatih oleinskom kiselinom, a koja u sebi ipak sadrže dovoljnu količinu linolne (Erkkilä i sar., 2008; Karaosmanoglu i sar., 2010; Gotor i sar., 2014; Mohamed i sar., 2014).

Pored nutritivnih potreba za izmenom masnokiselinskog sastava suncokretovog ulja, smanjenje sadržaja linolne kiseline je značajno i sa tehnološkog aspekta. Naime, linolna kiselina je kao PUFA, veoma podložna termo- i oksidativnim promenama što se negativno odražava na stabilnost ulja pri termičkom tretmanu. U toku ovih procesa, dolazi do nakupljanja proizvoda oksidacije koji su štetni po zdravlje, a dolazi i do pogoršanja senzornih karakteristika kako samog ulja tako i hrane koja ga sadrži. Stoga, standardno ulje linolnog tipa ima ograničenu primenu. S druge strane, potrebe prehrambene industrije usmerene su na primenu onih ulja koja na visokim temperaturama ostaju nepromenjena čak i pri dužem korišćenju, odnosno koja pokazuju visoku oksidativnu stabilnost i tačku dimljenja (Izquierdo i sar., 2017). Pošto ulje linolnog tipa nije prilagođeno ovim zahtevima, različitim metodama stvoreni su hibridi suncokreta sa srednjim i visokim udelom oleinske kiseline, kao i hibridi sa povećanim sadržajem SFA (Rauf i sar., 2017). Danas, pored prerade standardnog suncokreta linolnog tipa, prerađuju se i drugi tipovi hibrida suncokreta:

- srednjeoleinski, (MO – *Mid Oleic*)
- visokooleinski, (HO – *High Oleic*)
- visokostearinski, (HS – *High Stearic*)
- visokopalmitinski, (HP – *High Palmitic*)
- visokostearinski visokooleinski, (HSHO – *High Stearic High Oleic*)
- visokopalmitinski visokooleinski, (HPHO – *High Palmitic- High Oleic*)

Ulja dobijena preradom ovih hibrida su znatno različitih fizičko-hemijskih karakteristika u odnosu na standardni tip i odgovaraju zahtevima pojedinih grana prehrambene industrije ali i industriji biodizela, lubrikanata i maziva. S druge strane, potrošači na raspolaganju imaju različite tipove suncokretovog ulja koja odgovaraju savremenim nutricionističkim zahtevima, mogu se

primeniti za različite vidove pripreme hrane i predstavljaju jeftiniju alternativu biljnim uljima drugačijeg porekla uporedivog značaja po ljudsko zdravlje. Udeo pojedinih MK u masnokiselinskom sastavu ulja dobijenog iz različitih hibrida suncokreta je predstavljen u Tabeli 2.3.

Tabela 2.3. Zastupljenost MK u sastavu ulja pojedinih tipova hibrida suncokreta.

Tip ulja	Udeo masnih kiselina (%)				Izvor podataka
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	
Linolni	6,16	4,25	18,52	66,02	Symoniuk i sar. (2018)
	5,96	3,93	27,07	62,73	Romanić i sar. (2017)
	9,86	4,07	22,68	60,12	Nadeem i sar. (2015)
	6,40	4,70	21,00	67,70	Martín-Polvillo i sar. (2004)
MO ¹	4,80	3,57	53,77	36,30	van der Merwe i sar. (2012)
	4,60	4,20	63,00	26,00	Kleingartner (2015)
HO ²	4,8	1,52	79,09	14,26	Romanić i sar. (2017)
	4,00	4,30	72,40	16,80	Martín-Polvillo i sar. (2004)
	3,50	5,20	82,00	9,00	Kleingartner (2015)
	4,00	2,00	91,00	2,00	Salas i sar. (2014)
HS ³	7,20	34,50	13,00	41,70	Fernández-Moya i sar. (2005)
	8,80	31,90	16,20	39,20	Serrano-Vega i sar. (2005)
	3,00	30,00	14,00	50,00	Salas i sar. (2014)
HSHO ⁴	4,00	18,00	70,00	4,00	Kleingartner (2015)
	4,10	16,80	72,00	4,40	Salas i sar. (2011)
	5,00	18,00	71,00	3,00	Salas i sar. (2014)
	5,40	24,90	57,80	8,20	Fernández-Moya i sar. (2005)
HP ⁵	33,20	11,40	4,00	45,80	Serrano-Vega i sar. (2005)
	34,70	2,60	6,90	45,10	
	31,70	2,00	50,50	2,70	
HPHO ⁶	27,90	1,70	57,50	2,40	Marmesat i sar. (2012)*
	25,50	1,90	59,70	2,20	Marmesat i sar. (2005)*
	27,80	1,80	53,40	2,30	Guinda i sar. (2003)

¹srednjeoleinski tip; ²visokooleinski tip; ³visokostearinski tip; ⁴visokostearinski visokooleinski tip; ⁵visokopalmitinski tip; ⁶visokopalmitinski visokooleinski tip; * rafinisano ulje

Izmenom masnokiselinskog sastava u smislu povećanja sadržaja oleinske kiseline i smanjenja sadržaja linolne, dobijen je oleinski tip suncokreta u okviru koga se razlikuju **srednjeoleinski tip (MO)**, kod koga je udeo oleinske kiseline 55 – 75 % i **visokooleinski tip (HO)**, sa 82 – 94 % oleinske kiseline (Kleingartner, 2015). Visok sadržaj ove kiseline se najpre odražava na održivost ovog tipa ulja. U poređenju sa uljem linolnog tipa, oleinski tip ulja pokazuje znatno veću otpornost prema negativnim promenama koje mogu nastati u toku proizvodnje, skladištenja i korišćenja ulja pa su mogućnosti primene ovog ulja znatno veće. Takođe, povoljnim odnosom oleinske i linolne kiseline kod ovog tipa ulja očuvana su kako nutritivna tako i senzorna svojstva.

Kod **visokostearinskih (HS)** hibrida, sadržaj stearinske kiseline prati smanjenje sadržaja oleinske kiseline, dok sadržaj linolne ostaje gotovo nepromenjen. **Visokopalmitinski (HP)** hibridi, u kojima je palmitinska kiselina zastupljena preko 30 %, sadrže manje oleinske i stearinske kiseline u odnosu na linolni tip (Serrano-Vega i sar., 2005; Salas i sar., 2015). Izmene u sastavu MK kod novostvorenih tipova hibrida uglavnom se odnose na dominantne MK, ali ove izmene prati i povećanje sadržaja MK koje nisu bile zastupljene ili su prisutne u zanemarljivo malim količinama. Salas i sar. (2015) navode da je u HS hibridima uočen viši nivo arahidonske (20:0) i behenske kiseline (22:0) i to u količini od 3 %, dok je kod HP hibrida uočeno prisustvo n-7 MK, palmitoleinske (C_{16:1}) i *cis*-vaccenske kiseline (C_{18:1}).

Ulje **visokostearinsko visokooleinskih (HSHO)** hibrida sadrži 20 – 30 % stearinske kiseline što je i do pet puta više u odnosu na linolni tip (Salas i sar., 2015). Najznačajniju primenu

nalazi u proizvodnji margarina i namaza čime je omogućena proizvodnja hidrogenizovanih masnoća sa smanjenim sadržajem *trans*-MK (Salas i sar., 2011; Izquierdo i sar., 2017; Rauf i sar., 2017). *Trans*-MK nisu prirodno prisutne u ulju suncokreta već nastaju njegovom obradom u procesu hidrogenizacije (delimičnom hidrogenizacijom nezasićenih MK). S obzirom da je veći unos *trans*-MK povezan sa razvojem kardiovaskularnih oboljenja, preporuka Svetske Zdravstvene Organizacije je da se unos *trans*-MK ograniči na manje od 1 % (Crupkin i Zambelli, 2008; internet izvor 2). Prisustvo *trans*-MK u margarinima na domaćem tržištu ispitali su Vučić i sar. (2015). Prema njihovim rezultatima udeo *trans*-MK u pojedinim uzorcima je bio znatno veći od preporučenih (0,17 – 6,89 % i 4,53 – 28,8 % u mekim odnosno tvrdim margarinima). Pored smanjenja sadržaja *trans*-MK, prednost ovako dobijenih masnoća je veća oksidativna stabilnost i poboljšane fizičke karakteristike, pre svega plastičnost i viša tačka topljenja, što je posledica većeg sadržaja stearinske kiseline. Ovo je doprinelo da ulja ovog tipa nađu primenu u pekarstvu, poslastičarstvu, proizvodnji čokolade i sladoleda, kao i u proizvodnji različitih tipova namaza, preliva i sličnih proizvoda gde su ovakva svojstva poželjna (Garcés i sar., 2009; Salas i sar., 2011; 2014).

Tabela 2.4. Zastupljenost pojedinih TAG u suncokretovom ulju.

TAG (%)	Tip ulja								
	L ¹	L ²	HO ²	HS ²	HS ³	HP ³	HS ⁴	HS ²	HP ⁵
PLP	-	0,70	-	0,60	1,00	25,10	-	-	0,70
PLL	8,30	5,80	-	3,70	4,20	26,20	0,30	-	-
POP	-	-	-	-	0,50	2,20	0,30	0,50	18,10
POPo+PPoO	-	-	-	-	-	-	-	-	9,50
OOPo+OPoO	-	-	-	-	-	-	-	-	8,60
POL	-	7,30	-	1,70	3,40	3,80	1,00	1,40	2,80
SLL	4,90	5,00	-	28,90	21,20	8,70	-	1,20	-
POO	-	3,00	6,40	-	0,70	-	7,20	6,20	35,60
SOL	-	5,50	-	13,50	13,50	1,10	5,20	7,70	-
SLS	-	-	-	20,50	15,30	3,10	-	-	-
PLS	-	1,00	-	6,80	8,10	14,50	-	0,60	-
SLO	3,00	-	-	-	-	-	5,20	-	-
SOS	-	-	0,50	5,60	5,60	-	4,00	10,40	-
POS	-	-	0,40	2,00	3,10	1,10	2,20	4,50	2,30
SOO	-	2,30	11,70	2,10	3,00	-	32,50	37,70	2,30
OOO	7,40	7,70	70,90	-	-	-	31,90	14,30	17,60
OOL	13,80	20,20	6,60	-	-	-	5,60	4,00	2,20
LOL	28,00	-	-	-	-	-	-	-	-
OLL	-	26,40	-	3,10	3,90	0,60	0,70	0,80	-
LLL	22,02	13,60	-	5,30	3,60	4,40	-	-	-
OLA	-	0,20	-	0,70	1,20	-	0,30	0,50	-
OOA	-	-	0,90	-	1,10	-	2,80	2,80	-
LLA	-	0,30	-	1,10	1,30	0,60	-	-	-
OOB	-	0,30	2,50	-	0,30	-	4,20	3,70	-
OLB	-	0,70	-	0,40	1,20	-	0,40	0,70	-

P- palmitinska kiselina, Po-palmitooleinska kiselina, S- stearinska kiselina, L- linolna kiselina, O-oleinska kiselina, A- arahidonska kiselina, B- behenska kiselina. ¹Kostadinović Veličkova i sar. (2018); ²Fernandez-Moya i sar. (2005); ³Serrano-Vega i sar. (2005); ⁴Salas i sar. (2011); ⁵Guinda i sar. (2003).

Visoka oksidativna stabilnost odlikuje VO, HP a posebno HPVO ulja, pa se i ona mogu primeniti za prženje i pečenje hrane u industrijskim uslovima i u domaćinstvu. Kao HP i HPVO hibridi, i HS i HSVO hibridi predstavljaju zdraviju i ekološki prihvatljiviju alternativu palminom ulju, ali i zamenu animalnim mastima. Takođe, ulja HS hibrida zbog svojih fizičko-hemijskih karakteristika mogu poslužiti kao jeftinija zamena kakao maslacu i ši buteru koji, pored primene u prehrambenoj industriji, imaju primenu i u kozmetici (Salas i sar., 2014; 2015).

Izmene u sastavu MK prate i promene u udelu pojedinih TAG novostvorenih hibrida u odnosu na roditeljske. TAG suncokretovog ulja linolnog tipa pretežno čini tri-linolat (LLL-molekul glicerola esterifikovan sa tri linolne kiseline), dok je drugi po zastupljenosti oleoil-dilinolat (LLO i LOL gde je molekul glicerola esterifikovan jednim molekulom oleinske i dva molekula linolne kiseline). Sastav TAG HO suncokretovog ulja je znatno jednostavniji jer se sastoji u najvećem procentu od trioleina (OOO) koji čini 35 – 72 % ukupnih TAG (Salas i sar., 2015; Sánchez-Muniz i sar., 2016). Udeo pojedinih TAG u ulju iz različitih hibrida prikazan je u Tabeli 2.4.

2.2.1.1. Nutritivni pokazatelji kvaliteta biljnih ulja

U kojoj meri neko ulje zadovoljava nutritivne potrebe određeno je udelom zasićenih, mononezasićenih i polinezasićenih MK i odnosom ω -6 i ω -3 MK (Ratusz i sar., 2018; Ying i sar., 2018). U upotrebi je često i odnos polinezasićenih u odnosu na zasićene MK (PUFA/SFA). Međutim, ovi parametri nisu dovoljni za potpuno sagledavanje nutritivne vrednosti ulja. Zbog potvrđenog hiperholesterolskog efekta, unos SFA treba biti ograničen na 10 % dnevnih energetskih potreba organizma (Crupkin i Zambelli, 2008). Poremećaj lipida ima fundamentalni značaj za aterogenezu kao i pojavu ishemijske bolesti srca i drugih kardio- i cerebrovaskularnih bolesti. Ateroskleroza je prouzrokovana promenama u zidu krvnih sudova koje karakteriše deponovanje lipida iz lipoproteina plazme pri čemu povišeni holesterol a posebno LDL, predstavlja glavni faktor rizika. Takođe, bitan patološki proces koji za posledicu ima kardiovaskularne bolesti a dovodi se u vezu sa unosom MK je tromboza (Lunn i Theobald, 2006).

Kao indikator aterogenosti neke masti ili ulja često se koristi odnos polinezasićenih i zasićenih MK (PUFA/SFA). Međutim, određena istraživanja su pokazala da nemaju sve MK isti uticaj na nivo LDL i HDL. Među SFA dugog lanca, miristinska kiselina se izdvaja kao MK sa najizraženijim aterogenim efektom koji je četiri puta veći u odnosu na laurinsku i palmitinsku, dok stearinska kiselina i zasićene MK sa deset i manje ugljenikovih atoma nemaju efekta (Ulbricht i Southgate, 1991; Crupkin i Zambelli, 2008). S druge strane, MUFA, kao i PUFA n-3 i n-6 serije, ne pokazuju ni aterogeni ni trombogeni efekat. Stoga su Ulbricht i Southgate (1991) predložili da se u odnos PUFA/SFA uključe samo hiperholesterolske (aterogene) SFA koje se smatraju uzročnicima koronarnih bolesti ali i da u proračun budu uključene i MUFA. Na ovaj način se dolazi do pouzdanijeg nutritivnog pokazatelja – **aterogenog indeksa (AI)**. Takođe, autori su predložili obrnuti odnos (SFA/PUFA) kako bi najviše vrednosti AI imale najaterogenije namirnice. Ovaj nutritivni pokazatelj se izračunava prema jednačini (1):

$$AI = \frac{C_{12:0} + 4 \times C_{14:0} + C_{16:0}}{\sum MUFA + \sum (n-6) + \sum (n-3)} \quad (1)$$

Pored AI, isti autori su predložili još jedan nutritivni pokazatelj – **trombogeni indeks (TI)** koji takođe predstavlja modifikovani PUFA/SFA odnos. Vrednost TI se izračunava prema jednačini (2):

$$TI = \frac{C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0}}{0,5 \times \sum MUFA + 0,5 \times \sum (n-6) + 3 \times \sum (n-3) + \frac{n-3}{n-6}} \quad (2)$$

U proračun TI vrednosti uključene su sve trombogene SFA (miristinska, palmitinska i stearinska kiselina), MUFA i PUFA koje pokazuju antitrombogeni efekat kao i odnos PUFA iz n-3 i n-6 serije. Različiti koeficijenti ukazuju da MUFA i PUFA iz n-6 serije nemaju jak antitrombogeni uticaj kao što je to slučaj sa PUFA n-3 reda.

Pojedini autori u proračun AI i TI vrednosti uključuju i *trans*-MK koje imaju aterogeni i trombogeni efekat kao pojedine SFA (Vučić i sar., 2015).

Na osnovu sastava masnih kiselina može se izvesti još jedan nutritivni pokazatelj koji su predložili Santos-Silva i sar. (2002). Odnos MK koje imaju hipoholesterolski efekat u odnosu na one MK koje ispoljavaju hiperholesterolski efekat je predstavljen kao

hipoholesterolski/hiperholesterolski indeks (HH) i računa se prema jednačini (3) (Santos-Silva i sar., 2002):

$$HH = \frac{C_{18:1(cis9)} + C_{18:2(n-6)} + C_{20:4(n-6)} + C_{18:3(n-3)} + C_{20:5(n-3)} + C_{22:5(n-3)} + C_{22:6(n-3)}}{C_{14:0} + C_{16:0}} \quad (3)$$

Niže vrednosti AI i TI a više vrednosti HH ukazuju na bolja nutritivna svojstva i obrnuto. U Tabeli 2.5. je dat prikaz vrednosti ovih indeksa za pojedine tipove ulja.

Tabela 2.5. Vrednosti AI, TI i HH za pojedine vrste HPU.

Sirovina za dobijanje ulja	AI	TI	HH	Izvor podataka
Suncokret	0,07	0,28	-	Ulbricht i Southgate (1991)
Kokosov orah	13,63	6,18	-	
Palmin orah	0,88	1,74	-	
Lanik	0,05 – 0,07	0,1	11,20 – 15,00	Ratusz i sar. (2018)
Koštica kajsije	0,05	0,11	21,49	Ying i sar. (2018)
Avokado	0,40	0,81	2,06	
Argan	0,18	0,45	5,69	
Crni kim	0,15	0,34	6,41	
Konoplja	0,09	0,23	14,88	
Seme peršuna	0,07	0,20	14,21	
Pšenična klica	0,26	0,53	4,24	
Šafranika (linolni tip)	0,11	0,34	9,89	
Šafranika (oleinski tip)	0,04 – 0,18	0,18 – 0,25	-	
Šafranika (linolni tip)	0,10 – 0,13	0,27 – 0,32	-	Montesano i sar. (2018)
Seme bundeve	0,19	0,50	-	
Maslina	0,30 – 0,33	0,51 – 0,52	-	Sánchez-Rodríguez i sar. (2019)
Maslina	0,15	0,38	6,14	Hashempour-Baltork i sar. (2018)
Lan	0,00	0,04	13,24	
Susam	0,13	0,26	7,72	
Seme koprive	0,04	0,09	24,99	Petkova i sar. (2020)
Badem	0,08	0,19	-	Kalogeropoulos i sar. (2013)
Kesten	0,29	0,37	-	
Lešnik	0,08	0,20	-	
Pistaći	0,10	0,23	-	
Orah	0,06	0,10	-	
Suncokret	0,07	0,21	-	

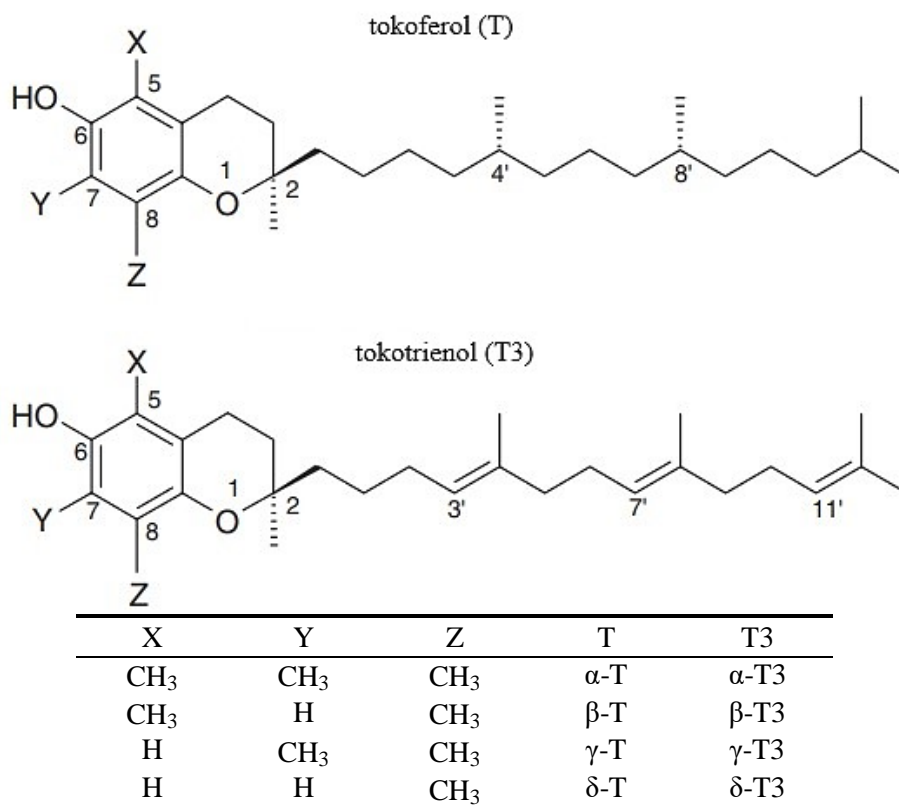
2.2.2. Minorne komponente hemijskog sastava ulja

Suncokretovo ulje se u najvećem procentu sastoji od TAG, ali takođe sadrži i komponente koje, iako zastupljene u vrlo malim količinama, imaju velikog uticaja na nutritivnu vrednost i oksidativnu stabilnost ulja. Od prisutnih minornih komponenata najznačajniju grupu predstavljaju negliceridne (neosapunjive) komponente tj. one komponente koje ne podležu saponifikaciji. Negliceridne komponente prisutne u suncokretovom ulju su tokoferoli, fitosteroli, fenolna jedinjenja, pigmenti i fosfatidi. Sadržaj ovih komponenata je vrlo nizak (0,5 – 1,5 %) (Velasco i sar., 2015), pri čemu je 15 g/kg i maksimalno dozvoljena količina u HPSU prema Codex Alimentarius Commission (Codex Alimentarius, 2013).

2.2.2.1. Tokoferoli i tokotrienoli

Tokoferoli su najrasprostranjeniji lipofilni antioksidansi fenolnog tipa u prirodi. Biljna ulja, pogotovo HPU, predstavljaju bogat izvor ovih bioaktivnih jedinjenja koja se mogu naći i u mastima

animalnog porekla mada u vrlo malim količinama (Choe i Min, 2006). Iako prisutni u svim biljnim uljima, po sadržaju ukupnih tokoferola se izdvajaju suncokretovo, sojino ulje i ulje pšeničnih i kukuruznih klica. Sastoje se od hidroksi-dihromatskog prstena i fitolnog zasićenog bočnog niza (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005). Zajedno sa tokotrienolima se ubrajaju u grupu jedinjenja tokohromanola ili tokola. Tokotrienoli su slične građe kao tokoferoli ali u bočnom fitolnom lancu imaju tri nezasićene veze koje se nalaze u 3', 7' i 11' položaju (Gliszczyńska-Świgło i sar., 2007; Kiokias i sar., 2008). Ulja palme, argana i crnog kima predstavljaju značajnije izvore tokotrienola (Ahsan i sar., 2015; Ying i sar., 2018). Pored tokoferola i tokotrienola, u pojedinim uljima se javlja i plastohromanol-8 (PC-8) koji se smatra derivatom γ -tokotrienola od koga se razlikuje po dužini bočnog lanca (Gawrysiak-Witulska i sar., 2019). Najviše koncentracije PC-8 su nađene u ulju lana (18 – 30 mg/100g), bele slačice (14,3 – 18,3 mg/100g), repice (8,6 – 9 mg/100g) i divljeg lana (4,3 mg/100g) (Gruszka i Kruk, 2007; Gawrysiak-Witulska i sar., 2019).



Slika 2.3. Struktura tokoferola i tokotrienola (Müller i sar., 2010).

Tokoli se u prirodi javljaju u četiri forme (α -, β -, γ - i δ -tokoferol, odnosno α -, β -, γ - i δ -tokotrienol) koje se međusobno razlikuju po broju metil grupa i mestu supstitucije na hromanolnom prstenu koji može biti supstituisan u položaju 5, 7 i 8. Na Slici 2.3. su prikazane strukturne formule tokola i raspored metil grupa na hromanolnom prstenu. Razlike u strukturi pojedinih izomera uslovljavaju razlike u metabolizmu i biološkoj aktivnosti. Iako se svi izomeri podjednako brzinom apsorbuju u gastrointestinalnom traktu, α -tokoferol se najbrže inkorporira u lipoproteine što rezultuje višim nivoom ovog izomera u plazmi u odnosu na ostale (Schwartz i sar., 2008; Müller i sar., 2010).

Svi izomeri tokoferola i tokotrienola ispoljavaju dejstvo kao vitamin E iako se ono ranije pripisivalo samo α -tokoferolu (Ahsan i sar., 2015). Tokoferol pokazuje i najjače antioksidativno dejstvo *in vivo*, ali najslabije dejstvo u *in vitro* uslovima. Sa druge strane, γ - i δ -tokoferol pokazuju najizraženije antioksidativno dejstvo *in vitro*, ali slabu aktivnost *in vivo* (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Warner i sar., 2008). Vitaminska aktivnost izomera zavisi od stepena supstitucije i položaja metil grupa na hromanolnom prstenu.

Utvrdeni redosled na osnovu aktivnosti je $\alpha > \beta > \gamma > \delta$ -tokoferol (Müller i sar., 2010; Shahidi i Ambigaipalan, 2015; Kamal-Eldin i Budilarto, 2015). Tako u odnosu na α -tokoferol, ostali izomeri imaju slabiji efekat (50 % β -tokoferol, 10 % γ -tokoferol i 3 % δ -tokoferol) i njihova aktivnost se predstavlja kao ekvivalent α -tokoferola (Kamal-Eldin i Budilarto, 2015). Vitaminsko delovanje tokotrienola se tumači na različite načine. Kamal-Eldin i Budilarto (2015) su naveli da usled prisustva nezasićenih veza u bočnom fitolnom lancu, tokotrienoli imaju smanjenu bioraspoloživost u odnosu na tokoferole pa samim tim i manje izražen efekat od vitamin E, pri čemu α -tokotrienol ima 30 % a β -tokotrienol svega 3 % aktivnosti u odnosu na α -tokoferol. S druge strane, Wong i Radhakrishnan (2012) navode da je α -tokotrienol efikasniji u uklanjanju peroksil radikala u lipozomima u odnosu na α -tokoferol. Razlika u aktivnosti je posledica ravnomernije distribucije α -tokotrienola u lipidnom dvosloju membrane što uslovljava efikasniju reakciju sa slobodnim radikalima.

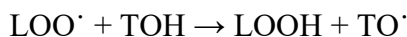
Vitamin E sintetišu samo više biljke i cijanobakterije tako da je unos ovog vitamina kroz hranu od esencijalnog značaja za pravilno funkcionisanje ljudskog organizma (Müller i sar., 2010; Karmowski i sar., 2015). Vitamin E je značajan za biljke koje ga sintetišu jer štiti membrane od fotooksidativnog stresa dok se fiziološka uloga tokoferola ogleda u sprečavanju lipidne peroksidacije u semenu biljaka u fazi mirovanja i najranijih faza razvoja (Gliszczyńska-Świągło i sar., 2007). U ljudskom organizmu tokoferoli deluju kao snažni antioksidansi koji sprečavaju oksidativna, kancerogena, metabolička i inflamatorna oštećenja na ćelijskom nivou, a samim tim i razvoj mnogih oboljenja (Velasco i Fernández-Martínez, 2015). Odgovarajući izomeri vitamina E, kao što su γ - i δ -tokoferol i tokotrienoli, među kojima se posebno izdvaja γ -tokotrienol, pokazuju jako antiinflamatorno dejstvo. Takođe, tokotrienoli pokazuju radioprotektivno, antikancerogeno i neuroprotektivno dejstvo (Seppanen i sar., 2010; Ahsan i sar., 2014; Jiang, 2014). Optimalna koncentracija ukupnih tokoferola u hrani (bilo da su prirodno prisutni ili dodati) kreće se u rasponu od 50 do 500 ppm (Kiokias i sar., 2008). Dnevne potrebe odrasle osobe za vitaminom E su 15 mg. Jednom supenom kašikom suncokretovog ulja se unosi 37 % a istom količinom ulja pšeničnih klica čak 135 % dnevno potrebne količine ovog vitamina (internet izvor 3).

Kada je u pitanju antioksidativna aktivnost tokoferola *in vitro*, utvrđen je redosled aktivnosti $\alpha < \beta = \gamma < \delta$, što je u suprotnosti sa očekivanim s obzirom da je α -tokoferol jači donor vodonikovog atoma od ostalih izomera (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Müller i sar., 2010). Naime, reakcija tokoferola sa slobodnim radikalima se intenzivira sa brojem metil grupa u *orto*- položaju. Kako ima dve metil grupe u *o*-polažaju, α -tokoferol je najjači donor vodonika za razliku od β - i γ -tokoferola koji imaju samo jednu, i δ -tokoferola koji nema nijedan *o*-metil supstituent (Kamal-Eldin i Appelqvist, 1996). Odnos aktivnosti tokoferola *in vitro* i *in vivo* ukazuje da antioksidativnost ne zavisi samo od reaktivnosti pojedinih izomera sa peroksil i drugim radikalima, već da uticaj imaju i uslovi reakcije kao što su koncentracija tokoferola, temperatura, svetlost, prisustvo kiseonika, hemijska priroda i fizičke karakteristike lipida kao i prisustvo drugih jedinjenja koja mogu imati sinergističko ili antagonističko dejstvo (Kamal-Eldin i Appelqvist, 1996; Seppanen i sar., 2010; Kamal-Eldin i Budilarto, 2015; Shahidi i Ambigaipalan, 2015). Antioksidativno dejstvo tokoferola je pojačano prisustvom sekundarnih antioksidanasa kao što su askorbinska kiselina, askrobil-palmitat, katehini, limunska kiselina, fenolna jedinjenja, fosfolipidi i karotenoidi (Réblová i Okrouhlá, 2010; Shahidi i Zhong, 2010; Kamal-Eldin i Budilarto, 2015). Visoka temperatura, prisustvo kiseonika ili zastupljenost nekog izomera u višoj koncentraciji može biti uzrok izostanka antioksidativne aktivnosti ili čak i prooksidativnog delovanja (Kamal-Eldin i Appelqvist, 1996; Warner, 2005; Choe i Min, 2006; Gunstone, 2013; Ahsan i sar., 2015).

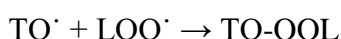
Određene studije ukazuju da se u pojedinim lipidnim sistemima tokotrienoli ponašaju kao delotvorniji antioksidansi u odnosu na odgovarajuće tokoferole (Nesaretnam i sar., 2007; Seppanen i sar., 2010; Jiang, 2014; Karmowski i sar., 2015). Izraženija aktivnost tokotrienola se objašnjava bržom regeneracijom radikala nastalog u reakciji sa lipidnim slobodnim radikalima u polazni tokotrienol (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005). Sa druge strane, prema Ahsan i sar. (2015), α -

tokotrienol u mastima i uljima najbrže podleže degradaciji pa samim tim i ne ispoljava značajniju antioksidativnost.

Tokoferoli ostvaruju dvostruko antioksidativno delovanje: kao „hvatači“ lipidnih peroksil radikala i kao inaktivatori singletnog kiseonika (*quencher*s) (Shahidi i Ambigaipalan, 2015). Antioksidativno delovanje tokoferola (TOH) se zasniva na elektron- donorskim osobinama fenolne grupe u hromanolnom prstenu (Jiang, 2014). Otpušteni vodonikov atom se vezuje za peroksil radikal (LOO[·]) pri čemu nastaje hidroperoksid (LOOH) i tokoferil radikal (TO[·]):



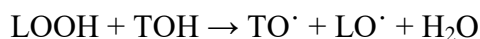
U poređenju sa peroksil radikalom, tokoferil radikal (TO[·]) je stabilniji, ima manju sposobnost propagiranja oksidacije i brže reaguje sa drugim peroksil radikalom nego sa nezasićenom MK (LH) (Kamal-Eldin, 2006). U reakciji sa drugim peroksil radikalom gradi stabilan neradikalni proizvod (TO-OOL) (Kamal-Eldin i Budilarto, 2015):



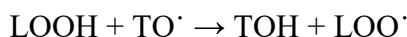
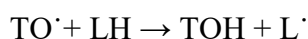
Pored toga što reaguju sa peroksil radikalom, značaj tokoferola se ogleda i u tome što stabilizuju nastali hidroperoksid i sprečavaju njegovo raspadanje na sekundarne proizvode oksidacije (Kamal-Eldin i Budilarto, 2015).

Zbog visoke rastvorljivosti u mastima i uljima, tokoferoli se smatraju najbitnijim antioksidansima odgovornim za stabilnost biljnih ulja. Iako i drugi antioksidansi mogu imati značajnu ulogu, oksidativna stabilnost ulja zavisiće prevashodno od prisustva tokoferola i to najpre od prisustva α - i γ -tokoferola. Brojne studije ukazuju da reaktivnost pojedinih izomera sa peroksil radikalima ne zavisi samo od sposobnosti doniranja H⁺ atoma, već je u funkciji koncentracije izomera, temperature i svetlosti. Prisutan u nižim koncentracijama (≤ 50 ppm), α -tokoferol je znatno stabilniji i pokazuje jače antioksidativno dejstvo u odnosu na γ -tokoferol, dok je pri višim koncentracijama (> 100 ppm) slabiji antioksidans od γ -tokoferola (Kamal-Eldin, 2006). Uticaj smeše tokoferola sa dominantnim α - odnosno γ - i δ -izomerom (karakterističnim za suncokretovo odnosno sojino ulje) na oksidativnu stabilnost na povišenoj temperaturi je ispitala Warner (2005). Rezultati ove studije ukazuju da su uzorci čuvani na tamnom pokazali veću otpornost prema oksidaciji ukoliko su imali viši sadržaj γ - i δ -tokoferola dok je u slučaju uzoraka izloženih svetlosti smeša tokoferola sa dominantnim α -izomerom pokazala jači zaštitni efekat.

Kao razlog zašto se javlja razlika u reaktivnosti između pojedinih izomera navodi se i da tokoferoli i tokoferil radikali, kada su prisutni u višim koncentracijama, mogu učestvovati i u sporednim reakcijama (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Seppanen i sar., 2010):



Izostanak antioksidativnosti α -tokoferola u odnosu na γ -tokoferol u ovom slučaju može se obrazložiti time da α -tokoferol i α -tokoferil radikal znatno brže stupaju u sporedne reakcije u odnosu na γ -tokoferol i njegov radikal (Kamal-Eldin, 2006; Seppanen i sar., 2010). U sporednim reakcijama, nastali alkoksil radikal (LO[·]) troši tokoferole i usled slabe selektivnosti, inicira nove lančane reakcije pri čemu je utrošak α -tokoferola znatno veći u odnosu na druge izomere. Tokoferil radikal dalje stupa u reakciju sa nezasićenim MK (LH) i njihovim peroksidima:



Sadržaj ukupnih tokola kao i zastupljenost pojedinih izomera u biljnim uljima znatno varira između biljnih vrsta, pa se stoga koristi za utvrđivanje porekla i eventualne adulteracije (Dimić,

2005; Shahidi i Ambigaipalan, 2015). Zastupljenost pojedinih tokola i PC-8 u HPU dobijenim iz različitih sirovina prikazan je u Tabeli 2.6.

Najzastupljeniji tokol u suncokretovom, maslinovom ulju i ulju semenki grožđa, repice i šafranike je α -tokoferol, dok je γ -tokoferol dominantan izomer u sojinom, kukuruznom, lanenom, tikvinom, repičinom, susamovom ulju i ulju kikirikija i divljeg lana (Tuberoso i sar., 2007; Schwartz i sar., 2008; Zaunschirm i sar., 2018; Ying i sar., 2018). δ -tokoferol je u značajnijim koncentracijama prisutan u ulju boražine i soje (Warner, 2005; Gliszczyńska-Świgło i sar., 2007; Tuberoso i sar., 2007; Shahidi i Ambigaipalan, 2015).

Suncokretovo ulje je bogato tokoferolima čiji sadržaj može varirati u zavisnosti od kvaliteta sirovine, pripreme semena za ekstrakciju, metode i uslova ekstrakcije, dužine i uslova skladištenja ulja (Romanić i sar., 2009; Azadmard-Damirchi i sar., 2010; Vidrih i sar., 2010; Tasan i sar., 2011; Vrbiková i sar., 2014; Siger i sar., 2015; Wroniak i sar., 2016a). Kvalitet sirovine podrazumeva količinu ulja i tokoferola u jezgru suncokreta koji su uslovljeni genetskim i klimatskim faktorima i njihovom međusobnom interakcijom (Tasan i Demirci, 2005; Velasco i Fernández-Martínez, 2015) s jedne strane, i sadržajem nečistoća, ljske i perioda skladištenja semena pre izdvajanja ulja, sa druge strane (de Figueiredo i sar., 2019; Xu i sar., 2019). Sam postupak proizvodnje HPU je vođen tako da bioaktivne komponente, među kojima i tokoferoli, ostanu očuvani u toku proizvodnje pa samim tim sveže HPSU karakteriše visok sadržaj ukupnih tokoferola. Predtretman semena, metod ekstrakcije ulja kao i postupak rafinacije umnogome mogu uticati na sadržaj ovih bioaktivnih jedinjenja (Azadmard-Damirchi i sar., 2010; Vujasinović i sar., 2012; Wroniak i sar., 2016a; Rękas i sar., 2017; de Figueiredo i sar., 2019). Iako rafinacija ulja ima za cilj uklanjanje nepoželjnih komponenata koje mogu negativno uticati na održivost ulja kao i senzorne karakteristike, u toku ovog procesa neminovno dolazi do gubitka vrednih komponenata pri čemu se gubici ukupnih i pojedinih tokoferola mogu kretati od 30 do 70 % (Ergonul i Köseoğlu, 2013). Isti autori navode da je gubitak ukupnih tokoferola u toku rafinacije suncokretovog ulja bio 14 %, pri čemu je gubitak pojedinih izomera 10 %, 50 % odnosno 100 % za α -, β - odnosno γ -tokoferol.

Sadržaj ukupnih tokoferola kao i pojedinih izomera u rafinisanom i HPSU predstavljen je u Tabeli 2.7. Na smanjenje ukupnih i individualnih tokoferola uticale su sve faze rafinacije mada ne srazmerno. Tasan i Demirci (2005) su ispitivali uticaj fizičke i hemijske rafinacije na sadržaj tokoferola u suncokretovom ulju. Gubitak ukupnih tokoferola pri fizičkoj rafinaciji je bio 35,5 % sa najvećim gubicima u toku destilacije vodenom parom (24,6 %) dok su gubici pri hemijskoj rafinaciji bili nešto manji (30,2 %) i sa najvećim gubicima u fazi degumiranja/neutralizacije (14,7 %). Pojedini autori navode da se najveći gubici tokoferola javljaju u fazi deodorizacije (Wroniak i sar., 2008; Gotor i Rhazi, 2016; Wu i sar., 2019). Gubici ukupnih tokoferola u rafinisanom suncokretovom ulju u toku skladištenja mogu biti i do 50 % u zavisnosti od uslova čuvanja (Romanić i sar., 2009; Vrbiková i sar., 2014; Zaunschirm i sar., 2018).

Tabela 2.6. Zastupljenost pojedinih tokola i PC-8 u HPU dobijenim iz različitih sirovina.

Sirovina	Sastav tokoferola i tokotrienola (mg/100g)								PC-8
	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T3	β -T3	γ -T3	Σ	
Suncokret ¹	60,70	-	-	-	-	-	-	60,70	-
Kikiriki ¹	21,30	0,80	32,00	9,50	-	-	-	63,60	-
Maslina ²	21,20	-	0,50	-	-	-	-	21,70	-
Soja ²	9,20	-	143,20	27,30	-	-	-	179,80	-
Tikva ²	7,10	-	42,30	1,40	-	-	-	50,80	-
Semenke grožđa ²	13,90	-	0,30	0,01	-	-	-	14,21	-
Kukuruz ²	4,90	-	152,30	4,60	-	-	-	161,80	-
Borovnica ³	1,60	-	3,90	0,20	-	-	124,50	130,20	-
Šafranika ⁴	53,50	1,00	5,50	1,50	-	-	-	61,50	-
Crna ribizla ⁴	22,20	-	79,70	9,30	0,50	0,80	0,40	112,90	-
Argan ⁴	3,90	-	37,10	2,20	43,10	-	-	86,30	-
Crni kim ⁴	1,70	-	1,92	-	3,20	18,10	-	24,90	-
Čičak ⁴	54,40	2,10	5,10	1,70	-	-	-	63,30	-
Konoplja ⁴	2,40	-	74,50	1,50	-	-	-	78,40	-
Pšenična klica ⁴	83,50	60,90	0,70	-	0,50	1,80	7,80	155,10	-
Badem ⁵	36,90	0,25	6,50	0,74	0,73	-	0,16	45,40	1,04
Lešnik ⁵	27,40	0,64	5,60	0,40	-	-	-	33,98	-
Repica ⁶	42,20	0,20	50,80	1,10	-	-	-	94,30	6,11
Lanik ⁷	1,60 – 2,80	0,20 – 0,30	64,20 – 72,30	1,40 – 20	-	-	-	67,70 – 76,10	-
Susam ⁸	-	-	57,60	0,30	-	-	-	57,90	-
Gorko jezgro kajsije ⁸	3,30	-	41,30	-	-	-	-	44,60	3,00
Slatko jezgro kajsije ⁸	4,00	-	36,90	4,20	-	-	-	45,10	2,50
Pirinač ⁹	4,93	-	4,74	0,30	7,76	-	9,99	27,72	0,11
Lan ⁹	1,04	-	40,50	0,85	0,03	-	0,06	42,48	30,15
Orah ⁹	7,53	-	23,64	2,64	-	-	0,09	33,90	0,04
Suncokret ¹⁰	21,14	-	1,00	-	-	-	-	22,14	-
Pistaći ¹⁰	-	-	16,60	0,40	-	-	-	17,00	-
Boražina ¹¹	-	-	17,10	143,20	-	-	-	160,30	-

¹Rafałowski i sar. (2008); ²Tuberoso i sar. (2007); ³Li i sar. (2011); ⁴Ying i sar. (2018); ⁵Górnaš i sar. (2014); ⁶Siger i sar. (2015); ⁷Ratusz i sar. (2018); ⁸Kostadinović Veličkova i sar. (2018); ⁹Gruszka i Kruk (2007); ¹⁰Kalogeropoulos i sar. (2013); ¹¹Czaplicki i sar. (2011).

Sadržaj ukupnih tokoferola i zastupljenost pojedinih izomera umnogome određuju nutritivne i tehnološke karakteristike suncokretovog ulja. Budući da je α -tokoferol najzastupljeniji izomer sa oko 95 – 98 %, suncokretovo ulje predstavlja najbolji izvor vitamina E koji je komercijalno dostupan (Velasco, 2015; Zaunschirm i sar., 2018). Pored toga što je ulje sa većim sadržajem α -tokoferola hranljivije, ovako visok udeo α -tokoferola suncokretovo ulje čini i otpornijim na fotooksidaciju, ali i manje stabilnim na povišenim temperaturama u odnosu na ona ulja kod kojih su γ - i δ -tokoferol dominantni izomeri (Garces i sar., 2009; Foster i sar., 2009; Rauf i sar., 2017).

Tabela 2.7. Sadržaj tokoferola u rafinisanom i HPSU.

Tokoferoli (mg/100 g)					Izvor podataka
α -T	β -T	γ -T	δ -T	Σ	
Rafinirano suncokretovo ulje					
60,80	2,30	0,40	-	63,20	
56,80	2,20	0,70	-	58,90	Franke i sar. (2010)
45,70	1,70	0,80	-	48,20	
66,50	2,90	2,60	-	72,00	Hassanien (2012)
62,02	1,85	1,65	-	65,50	
74,80	-	3,06	-	77,90	Rafałowski i sar. (2008)
64,10	-	-	-	64,10	
46,00	-	-	-	46,00	Karmowski i sar. (2015)
57,80	-	2,54	0,66	61,00	
38,70	-	1,78	0,46	41,00	Redondo-Cuevas i sar. (2018)
HPSU					
72,20	2,70	0,70	-	75,50	
63,50	2,30	3,10	-	68,90	Franke i sar. (2010)
49,40	-	13,10	0,90	63,40	Tuberoso i sar. (2007)
20,70	2,10	5,10	0,20	28,50	Kostantinović Veličkovska i sar. (2015)
22,80	1,90	5,10	0,20	30,30	Kostantinović Veličkovska i sar. (2018)
60,70	-	-	-	60,70	Rafałowski i sar. (2008)
48,50	-	8,20	1,10	57,80	Górnaš i sar. (2014)
57,00	-	0,40	21,0	78,40	Nadeem i sar. (2015)
44,90	2,21	-	0,82	48,10	Redondo-Cuevas i sar. (2018)
49,00	3,10	-	1,10	53,20	

Ukoliko bi bio povećan udeo γ - i δ -tokoferola, oksidativna stabilnost suncokretovog ulja bi bila znatno viša (Warner i sar., 2008). Prethodnih decenija su stvoreni hibridi suncokreta sa modifikovanim sadržajem tokoferola čiji je profil prikazan u Tabeli 2.8. Škorić i sar. (2008) su stvorili eksperimentalni hibrid suncokreta sa sadržajem ukupnih tokoferola od čak 1900 mg/kg ulja.

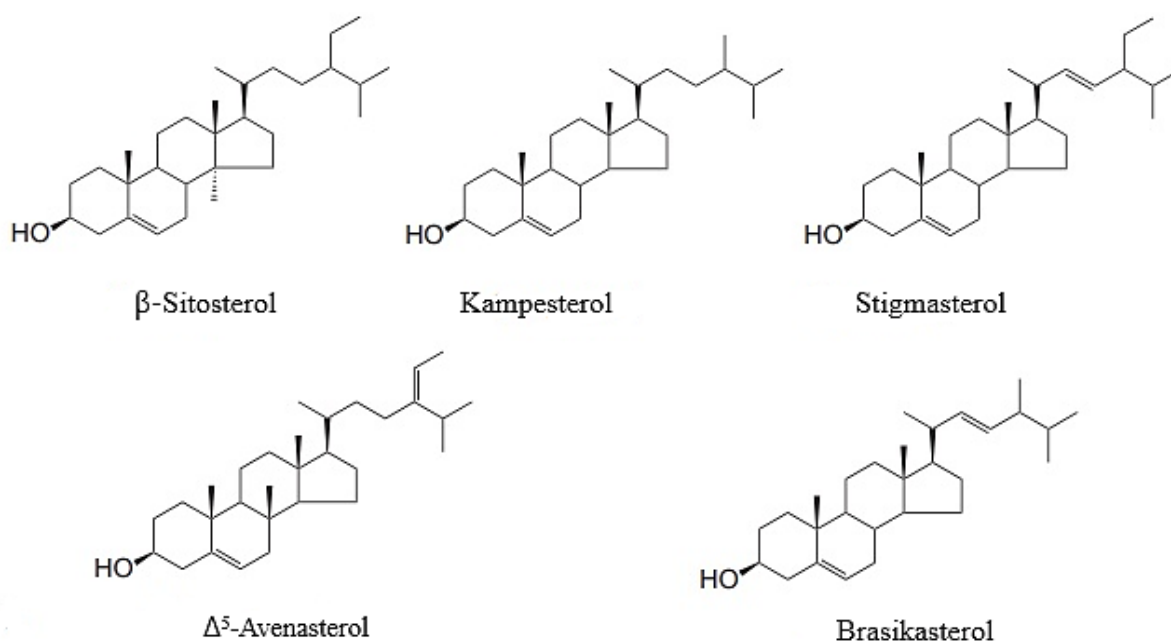
Tabela 2.8. Sadržaj tokoferola u ulju modifikovanih linija suncokreta (Garces i sar., 2009).

Tip ulja	Sastav tokoferola (%)			
	α -T	β -T	γ -T	δ -T
Standardni α -T	95	4	1	0
Srednji β -T	50	50	0	0
Visoki β -T	75	25	0	0
Visoki γ -T	5	0	95	0
Visoki δ -T	5	0	30	65

2.2.2.2. Steroli

Najveći udeo u neosapunjivim materijama biljnih ulja čine steroli. To su visokomolekularni ciklični alkoholi, 3-hidroksi derivati ciklopentano-perhidrofenantrena koji se sastoji od 4 kondenzovana prstena sa 17 ugljenikovih atoma (Blekas i Boskou, 2016). Svi steroli sadrže hidroksilnu grupu vezanu za C₃ atom i alifatični bočni lanac sa 8 – 10 ugljenikovih atoma vezan za C₁₇.

Na osnovu porekla se mogu podeliti na animalne sterole (*zoosterole*) i biljne sterole (*fitosterole*). Najzastupljeniji zoosterol je holesterol koji se može naći i u biljnim uljima mada u zanemarljivim količinama (20 – 50 mg/kg) (Gunstone, 2013). Holesterol je gradivni sterol animalnih tkiva i prekursor steroidnih hormona i žučnih kiselina. Iako sadržaj holesterola u biljnim uljima retko prelazi 50 mg/kg, pojedina ulja sadrže ovaj zoosterol u većim količinama (ulje divljeg lana 188 mg/kg, kakao buter 59 mg/kg, laneno ulje 42 mg/kg, palmino ulje 26 mg/kg, kokosovo ulje 23 mg/kg) (Kochhar i sar., 2005). Fitosteroli, po građi slični holesterolu, predstavljaju gradivne komponente ćelijskih membrana biljaka, ostvaruju regulatornu ulogu u propustljivosti membrane i bitni su kao prekursori biološki aktivnih jedinjenja kao što su steroidni saponini, steroidni glukoalkaloidi i brasinosteroidi (Moreau i sar., 2018). Uloga fitosterola u ljudskom organizmu ogleda se u snižavanju nivoa LDL u krvi pa samim tim učestvuju u sprečavanju pojave i razvoja kardiovaskularnih oboljenja. Unos fitosterola u količini od 2 g/dan rezultuje redukcijom LDL za 10 % (Foster i sar., 2009). Na Slici 2.4. prikazane su strukturne formule najzastupljenijih fitosterola.



Slika 2.4. Strukturne formule najzastupljenijih fitosterola u biljnim uljima (Kochhar i sar., 2005).

Fitosteroli se mogu naći u slobodnom ili vezanom obliku kao sterol-estri (esterifikovani masnim kiselinama), hidroksicinamat sterol-estri (esterifikovani ferulnom ili *p*-kumarnom kiselinom), sterol-glikozidi i acilovani sterol-glikozidi (Moreau i sar., 2018). U prirodi se mogu naći i zasićeni oblici sterola (*stanoli*) ali znatno ređe u odnosu na nezasićene sterole. Dužina bočnog lanca i prisustvo dvostruke veze koja se najčešće nalazi na C₅ atomu, kao i dodatne dvostruke veze, čine osnovnu razliku između pojedinih sterola (Fine i sar., 2015; Blekas i Boskou, 2016). Većina fitosterola sadrži 28 do 29 ugljenikovih atoma i ima jednu ili više dvostrukih veza. Fitosteroli kod kojih je dvostruka veza između C₅ i C₆ atoma su označeni kao Δ⁵ i predstavljaju najzastupljeniju grupu fitosterola. U prirodi se takođe sreću i Δ⁷-steroli (kod kojih je dvostruka veza na C₇ atomu) i Δ^{5,22}-steroli (kod kojih su prisutne dve dvostruke veze, na C₅ i C₂₂ atomu) (Velasco i Ruiz-Méndez, 2015). Glavni predstavnici fitosterola su β-sitosterol (C₂₉, Δ⁵), kampesterol (C₂₈, Δ⁵) i stigmasterol (C₂₉, Δ^{5,22}). U sastavu fitosterola gotovo svih biljnih ulja dominira β-sitosterol sa 50 – 80 %.

Zajedno sa stigmasterolom i kampesterolom čini najveći deo negliceridne frakcije sojinog i kukuruznog ulja dok su za ovsene mekinje i pirinač karakteristični Δ^5 -avenasterol odnosno γ -orizanol (Zawistowski, 2010). Brasikasterol je u repičinom ulju zastupljen sa oko 10 %, dok je u drugim biljnim uljima prisutan u zanemarljivim količinama ili nije detektovan (Gunstone, 2013).

Većina biljnih ulja sadrži 1,0 – 5,0 g/kg sterola. Među biljnim uljima po sadržaju ukupnih sterola izdvajaju se ulje kukuruznih klica i repice sa sadržajem od ~ 11 g/kg do 14 g/kg (Gunstone, 2013; Velasco i sar., 2014). U odnosu na ulje repice, ostala biljna ulja koja imaju široku upotrebu kao što su sojino, suncokretovo i palmino ulje, imaju znatno niži sadržaj ukupnih fitosterola (2,3 – 4,0 g/kg, 2,1 – 4,5 g/kg odnosno 0,2 – 0,6 g/kg) (Vlahakis i Hozebroek, 2000; Gunstone i Harwood, 2007). U Tabeli 2.9. prikazan je udeo pojedinih sterola u ukupnom sadržaju sterola u biljnim uljima (mg/kg).

Tabela 2.9. Udeo pojedinih sterola u ukupnom sadržaju sterola u biljnim uljima (mg/kg).

Sterol (mg/kg)	Ulje					
	soje ¹	suncokreta ²	repice ²	kukuruza ²	masline ²	palme ³
Holesterol	-	-	26	15	-	-
Brasikasterol	-	12	700	38	tr	-
Kampesterol	620 – 1310	340	3070	1710	59	170 – 177
Kampestanol	-	68	17	150	75	27 – 34
Stigmasterol	470 – 770	280	28	480	15	71 – 79
β -sitosterol	1250 – 2360	2060	4120	5150	1200	371 – 388
Sitostanol	-	51	18	290	39	-
Δ^5 -avenasterol	-	110	370	210	23	-
Stigmasta-5,24-dienol	-	99	48	49	tr	-
Gramisterol+ α -amyrin	-	150	46	85	16	-
Δ^7 -avenasterol	-	640	120	49	310	-
Cikloartenol	-	150	10	230	tr	-
24-metilencikloartanol	-	150	47	170	540	-
Citrostadienol	-	400	22	95	120	-
Ukupno	2350 – 4050	4510	8610	8710	2560	656 – 662

¹Vlahakis i Hozebroek, (2000); ²Schwartz i sar. (2008); ³Hassanien (2012).

Ispitujući sastav fitosterola HPU, Szterk i sar. (2010) i Czaplicki i sar. (2011) su naveli ulje amaranta kao najbogatiji izvor fitosterola (12,5 g/kg odnosno 19,9 g/kg). Hassanien i sar. (2014) su utvrdili da ulje pšenične klice ekstrahovano heksanom sadrži ~ 24 g/kg ukupnih fitosterola, dok su Ying i sar. (2018) za HPU naveli niže vrednosti (8,6 g/kg). Dulf i sar. (2010) su naveli ulje kukuruzne klice kao najbogatiji izvor sterola (7,4 g/kg), dok su ostala ulja imala znatno manji sadržaj (ulje pšenične klice - 4,4 g/kg, semenki grožđa - 3,0 g/kg i badema - 2,0 g/kg). Navedene vrednosti su niže od prosečnih za ulja pšeničnih i kukuruznih klica iako je reč o nerafinisanim uljima. Prema podacima koje su dali Rabrenović i sar. (2014) za ulje semena tikve golicke i semena sa ljuskom, sadržaj ukupnih sterola se kretao od 7,2 do 9,0 g/kg sa dominantnim $\Delta^{7,22,25}$ -stigmastatrienolom i spinasterolom. Ove vrednosti su znatno više od vrednosti koje su utvrdili Szterk i sar. (2010) i Raczyk i sar. (2018) za HPU tikve a koji su naveli 3,5 g/kg odnosno 1,7 – 2,2 g/kg za sadržaj ukupnih sterola.

Sadržaj fitosterola u ulju i semenu suncokreta uslovljen je genetskim i klimatskim faktorima. Visoka temperatura i deficit vode u toku vegetacije dovode do veće akumulacije fitosterola u semenu suncokreta i viših vrednosti odnosa β -sitosterol/kampesterol (Vlahakis i Hozebroek, 2000; Anastasi i sar., 2010; Roche i sar., 2010; Velasco i sar., 2014). Roche i sar. (2010) navode da je veći sadržaj fitosterola u semenu suncokreta zapravo odgovor na stresne uslove s obzirom na osnovnu ulogu fitosterola u regulisanju protoka i propustljivosti membrane.

Prema podacima koje su dali Fernández-Cuesta i sar. (2012a; 2012b), sadržaj ukupnih fitosterola u jezgru suncokreta bio je 2,2 – 3,5 g/kg odnosno 1,4 – 4,7 g/kg, dok su Kalogeropoulos i sar. (2013) ukazali na značajno niže koncentracije (1,3 g/kg). Ispitujući 22 komercijalna hibrida suncokreta, Velasco i sar. (2013) su ustanovili da se sadržaj fitosterola u jezgru suncokreta kretao u opsegu 2,9 – 3,8 g/kg, dok je u ulju sadržaj fitosterola bio u rasponu od 4,7 do 6,0 g/kg. Vlahakis i Hazebroek (2000) su naveli da se sadržaj sterola u sirovom suncokretovom ulju kretao od 2,1 do 4,5 g/kg. Aguirre i sar. (2012) su analizirali 10 hibrida suncokreta sa visokim sadržajem fitosterola i došli do zaključka da su u ukupnom sadržaju sterola slobodni steroli dominantni (4,0 – 8,5 g/kg) u odnosu na steril-glikozide koji su bili prisutni zastupljeni u značajno manjoj meri (do 0,3 g/kg). Sadržaj sterola u HPSU od ~ 3,0 g/kg naveli su Hassanien i sar. (2012) i Konstadinović Veličkova i sar. (2015; 2018). U svim studijama kao dominantan fitosterol suncokretovog jezgra i ulja naveden je β -sitosterol.

Postupak izdvajanja ulja iz sirovine utiče na sadržaj ukupnih fitosterola kao i na odnos slobodnih i esterifikovanih (Velasco i Ruiz-Méndez, 2015). Ekstrakcija ulja pomoću rastvarača rezultuje višim sadržajem ukupnih fitosterola ali je udeo esterifikovanih u odnosu na slobodne veći u HPU. Azadmard-Damirchi i sar. (2010) takođe navode da ekstrakcija rastvaračima daje veće prinose fitosterola u repičinom ulju ali i da tretman mikrotalasima pre presovanja utiče na povećanje sadržaja ukupnih sterola. Ukupan sadržaj sterola u HPU uljane repice je bio 6,6 g/kg dok je u ulju nakon tretmana mikrotalasima u toku 4 min bio 7,8 g/kg. Pozitivan efekat termičkog (zagrevanje i tretman mikrotalasima) i mehaničkog (ljuštenje) predtretmana na sadržaj ukupnih sterola u repičinom ulju potvrdili su i Rekas i sar. (2017). Tostiranje semena tikve pre postupka hladnog presovanja imalo je pozitivan učinak na sadržaj ukupnih fitosterola (netostirano 1,7 g/kg; tostirano 2,2 g/kg) (Raczyk i sar. 2018). Isti autori su naveli da je sadržaj ukupnih fitosterola nakon 3 meseca skladištenja na temperaturi od 20 °C smanjen na 1,6 g/kg u slučaju netostiranog semena tikve i 1,8 g/kg, u slučaju tostiranog. Rafinacijom ulja dolazi do značajnog gubitka ukupnih fitosterola posebno u fazama neutralizacije i deodorizacije. Wu i sar. (2019) su ispitivali uticaj svih faza rafinacije na sastav minornih komponenata i antioksidativnu aktivnost ulja repice. Postupkom rafinacije sadržaj fitosterola je smanjen sa 4,5 – 5,5 g/kg koliko je bilo u sirovom ulju, na 3,7 – 4,5 g/kg bez uticaja na odnos pojedinih sterola. Gubici ukupnih fitosterola u toku rafinacije se kreću od 10 do 70 % (Foster i sar., 2009, Velasco i Ruiz-Méndez, 2015).

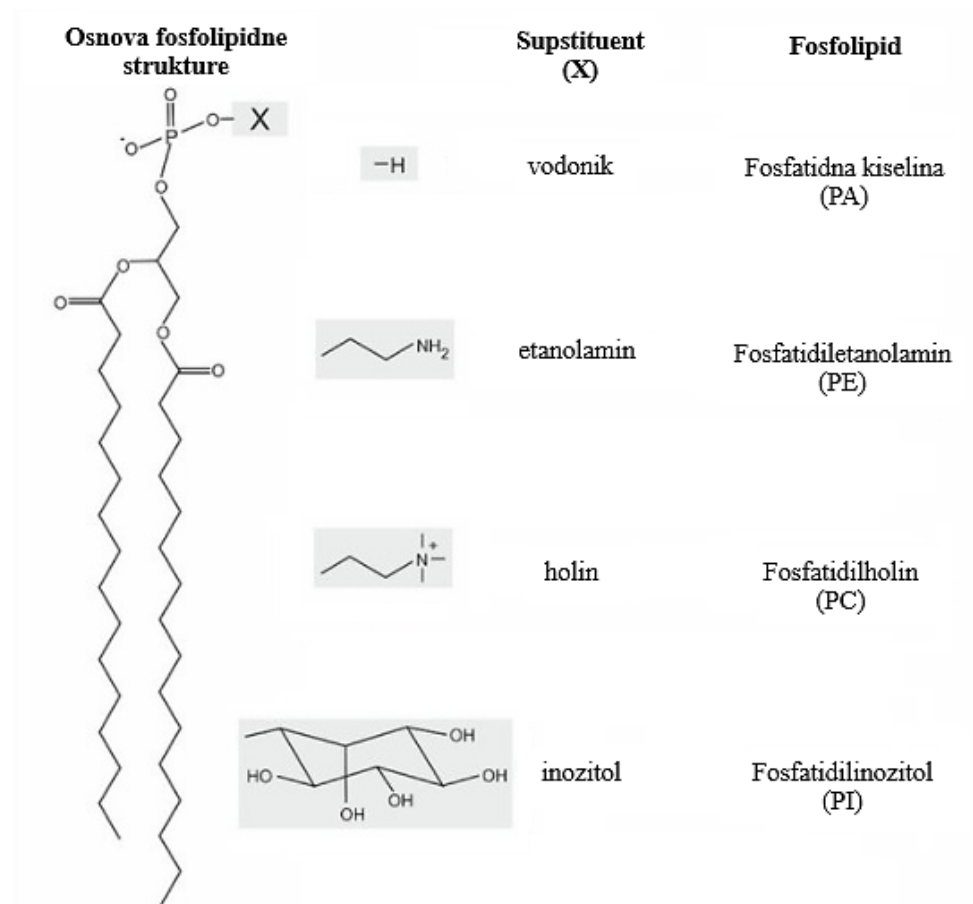
Sa tehnološkog aspekta značaj fitosterola se ogleda u povećanju termičke stabilnosti ulja koja sadrže visok udeo PUFA. Pored toga, određene studije ukazuju da pri visokim temperaturama određeni steroli ispoljavaju i antioksidativno dejstvo smanjujući nivo polimerizacije i gubitak tokoferola (Winkler i Warner, 2008a; Winkler i Warner, 2008b). Pozitivan uticaj fitosterola na oksidativnu i termičku stabilnost ulja tumači se dvojako. Antipolimerizaciono dejstvo je pripisano sterolima koji imaju etilidensku grupu u bočnom lancu kao što su Δ^5 -avenasterol, Δ^7 -avenasterol, fukosterol, vernosterol i citrostadienol (Winkler i Warner, 2008a). Sa druge strane, isti autori u drugom istraživanju su došli do zaključka da su broj i položaj dvostrukih veza u molekulu fitosterola bitniji za ostvarivanje antipolimerizacionog efekta od prisustva etilidenske grupe u bočnom lancu (Winkler i Warner, 2008b). Pri visokim koncentracijama fitosteroli imaju jači antipolimerizacioni efekat ali se u zavisnosti od lipidnog sistema i sastava masnih kiselina mogu ponašati i prooksidativno.

2.2.2.3. Fosfolipidi

Fosfolipidi su amfifilni molekuli koji su glavni sastojci bioloških membrana. Sastoje se od diacilglicerola esterifikovanog MK u *sn*-1 i *sn*-2 položaju molekula glicerola i fosfatne grupe u *sn*-3 položaju. Na fosfatnu grupu može biti estarski vezana neka bazna grupa pa se tako fosfolipidi (fosfatidi) mogu podeliti na estre fosfatidilne kiseline sa aminoalkoholima (fosfatidilaminoalkoholi) ili sa polialkoholima (fosfatidilpolialkoholi) (Dimić, 2005). Specifičnost strukture fosfolipida je

prisustvo i lipofilne i hidrofilne grupe što ih čini površinski aktivnim supstancama pa imaju značajnu ulogu u ljudskom organizmu, ali i uticaj na oksidativnu stabilnost ulja.

Sirova ulja su bogata fosfolipidima pri čemu uticaj na njihov sadržaj imaju kvalitet sirovine i parametri izdvajanja ulja. Njihovo prisustvo u sirovom ulju je značajno zbog hranljive vrednosti ulja, ali s obzirom da su osetljiviji na oksidaciju u odnosu na TAG, u toku skladištenja utiču na smanjenje oksidativne stabilnosti ulja i narušavanje senzornih karakteristika (Velasco i Ruiz-Méndez, 2015; Romanić, 2020). Za razliku od sirovog ulja, u rafinisanom ulju gotovo da ih i nema. U fazi deodorizacije mogu izazvati potamnjenje ulja što negativno utiče na aromu i izgled, pa se gotovo potpuno uklanjaju u procesu degumiranja (Choe i Min, 2006; Gotor i Rhazi, 2016). Ulje soje, repice i suncokreta sadrži 1,5 – 2,5 %, ≤ 2,5 % odnosno ~ 1 % fosfolipida (Gunstone, 2013). Najznačajniji fosfolipidi suncokretovog ulja (Slika 2.5.) su fosfatidna kiselina (PA), fosfatidiletanolamin (PE) fosfatidilholin (PC) i fosfatidilinozitol (PI) (Aktas i sar., 2014). Fosfolipidi se ponašaju kao jaki antioksidansi i ispoljavaju sinergizam sa tokoferolima i flavonoidima, ali se u određenim uslovima mogu ponašati i kao prooksidansi. Antioksidativno dejstvo ispoljavaju gradeći helatne komplekse sa jonima metala i inaktivišući hidroperokside (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Shahidi i Zhong, 2010).



Slika 2.5. Strukturne formule najznačajnijih fosfolipida suncokretovog ulja (Aktas i sar., 2014).

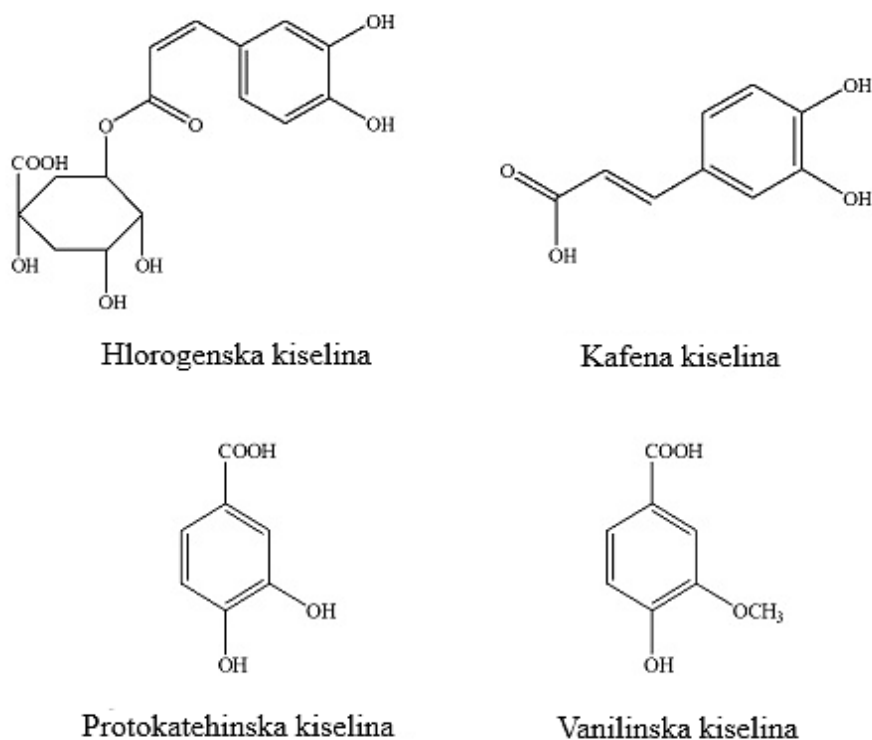
2.2.2.4. Fenolna jedinjenja

Fenolna jedinjenja su sekundarni proizvodi metabolizma biljaka koji se sastoje od jednog ili više aromatičnih prstenova za koje su direktno vezane hidroksilne grupe. Poznato je više od 8000 fenolnih jedinjenja koja se po strukturi značajno razlikuju, od jednostavnih molekula, kao što su fenolne kiseline, do visokokondenzovanih jedinjenja kao što su tanini (Vuolo i sar., 2019). Fenolne materije prisutne u biljnim tkivima imaju veoma značajnu fiziološku ulogu dok unete putem hrane učestvuju u sprečavanju i lečenju hroničnih bolesti (Siger i sar., 2008).

Fenolne komponente prisutne u ulju su važan pokazatelj kvaliteta budući da utiču na održivost, nutritivne i senzorne karakteristike ulja (Siger i sar., 2008; Mazaheri i sar, 2019). Sva nerafinisana biljna ulja sadrže fenolna jedinjenja koja, zajedno sa tokoferolima, ostvaruju primarnu ulogu u održivosti ulja tokom skladištenja i upotrebe (Žilić i sar., 2010). Od posebne važnosti je njihova snažna antioksidativna aktivnost koja je u funkciji broja i položaja hidroksilnih grupa vezanih za aromatični prsten, polarnosti, rastvorljivosti i stabilnosti u toku tehnološkog procesa izdvajanja i prerade ulja (Siger i sar., 2005). Antioksidativno dejstvo fenolna jedinjenja ostvaruju kao redukujući i helatni agensi, prekidanjem lančane reakcije i vezivanjem za radikale lipida prevodeći ih u stabilnija jedinjenja i kao hvatači slobodnog kiseoničnog radikala (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Symoniuk i sar., 2018).

Semenke suncokreta su bogate fenolnim materijama (1 – 3 g/100g) (De Leonardis i sar., 2003). Žilić i sar. (2010) su naveli da je sadržaj ukupnih fenolnih komponenata bio veći u jezgru nego u semenki suncokreta u svim ispitivanim hibridima. U HPU zastupljenija su polarna fenolna jedinjenja čiji se sadržaj kreće od 18 do 99 ppm ekvivalenta kafeinske kiseline (Siger i sar., 2005). Nizak sadržaj potiče od slabe rastvorljivosti fenolnih jedinjenja pa u toku procesa ekstrakcije najveći deo ostaje u pogači. Pri proizvodnji rafinisanih ulja, u fazi neutralizacije, prisutne polarne fenolne komponente se gotovo u potpunosti uklanjaju (Van Hoed, 2010).

U ulju izolovanom iz semena, kao glavne fenolne komponente izdvajaju se fenolne kiseline od kojih su vanilinska i hlorogenska kiselina najzastupljenije, potom protokatehinska, *p*-hidroksibenzoeva, cimetna, *p*-kumarna, ferulična, sinapinska, elenoinska, 3,4-dihidroksibenzoeva, elaginska i galna kiselina (Van Hoed, 2010; Žilić i sar., 2010). Strukturne formule najzastupljenijih fenolnih kiselina u suncokretovom ulju predstavljene su na Slici 2.6.



Slika 2.6. Najzastupljenije fenolne kiseline u suncokretovom ulju (Miura i sar., 2015).

Prisutne fenolne kiseline mogu biti slobodne ili vezane u obliku estara ili glikozida (Rekas i sar., 2017). Na sadržaj fenolnih komponenata u HPU uljane repice uticaj imaju kultivar, primenjene agrotehničke mere, ekološki uslovi i stepen zrelosti ali i primenjena analitička metoda i način izdvajanja ulja (Romani i sar., 2017; Chew, 2020). Ispitivanjem HPSU iz Makedonije, Kostadinović Veličkovska i sar. (2018) su utvrdili sadržaj ukupnih fenolnih materija od 50,5 mg ekvivalenta galne kiseline/L ulja, dok su De Leonardis i sar. (2003) naveli sadržaj od 10 mg ekvivalenta

kafeinske kiseline/kg. Siger i sar. (2005) su potvrdili da je veći sadržaj ukupnih fenolnih komponenata u HPU nego u rafinisanom. Najvišu vrednost za ukupne fenolne komponente, izraženo u ekvivalentima kafeinske kiseline, imalo je HPU soje (1,44 mg/100g), dok je u suncokretovom ulju detektovan najniži sadržaj (1,19 mg/100g). Međutim, suncokretovo ulje je pretrpelo najmanje gubitke u toku rafinacije pa je u rafinisanom ulju utvrđen sadržaj ukupnih fenolnih komponenti od 1,15 mg/100g, dok je u ulju soje i repice sadržaj bio 1,09 mg/100g odnosno 0,78 mg/100g. Fenolne kiseline nisu detektovane u rafinisanom ulju suncokreta, dok su u HPSU dominantne bile vanilinska kiselina sa 6,80 $\mu\text{g}/100\text{g}$ i kafeinska sa 4,84 $\mu\text{g}/100\text{g}$. Takođe, antioksidativna aktivnost fenolne frakcije HPU je bila veća od fenolne frakcije rafinisanih. Nezirević-Nizić i sar. (2019) su ispitivali sadržaj ukupnih fenolnih komponenti, hlorofila i karotenoida u HPU tikve, lana i suncokreta, poredeći dve sezone. Sadržaj ukupnih fenolnih komponenata (izraženih u mg galne kiseline po 100g) u suncokretovom ulju je bio značajno veći u prvoj sezoni (3,68 mg/100g) u odnosu na drugu (0,69 mg/100g). Symoniuk i sar. (2018) su utvrdili da se HPSU oleinskog i linolnog tipa međusobno razlikuju ne samo po održivosti i antioksidativnom kapacitetu, već i po sadržaju fenolnih jedinjenja koja su bila zastupljena sa 53,2, odnosno 43,8 mg ekvivalenta ferulične kiseline/100g. Proučavajući uticaj različitih tipova gajenja suncokreta (agro-eko sistema kao što su konvencionalni metod i organski metodi- stariji i noviji tip) na sadržaj fenolnih jedinjenja u jezgru, ljusci i ulja suncokreta, Romani i sar. (2017) su došli do zaključka da između starije metode organske proizvodnje i konvencionalnog načina gajenja suncokreta nema značajne razlike (7,38 mg/L i 7,46 mg/L), dok je noviji metod organske proizvodnje imao najmanji sadržaj fenolnih jedinjenja u ulju (4,37 mg/L). Za konvencionalni metod gajenja je utvrđen najviši sadržaj fenolnih jedinjenja u jezgru (20,5 mg/g sveže mase) a najmanje u ljusci (0,46 mg/g sveže mase).

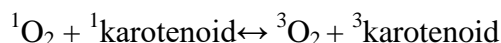
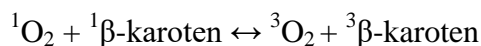
Termički netretirana ulja imaju viši sadržaj fenolnih komponenti koja ispoljavaju snažnije antioksidativno dejstvo. Gubitke fenolnih kiselina i flavonoida prisutnih u rafinisanom suncokretovom ulju oleinskog tipa u toku višestrukog prženja ispitali su Sonmezdag i sar. (2019). Pokazalo se da su u netretiranom ulju od fenolnih kiselina dominantne hlorogenska (1,7 mg/kg), vanilinska (1,3 mg/kg) i kafeinska kiselina (0,9 mg/kg) a od flavonoida rutin sa 2,7 mg/kg. Nakon desetog ciklusa prženja (pri čemu je jedan ciklus trajao 10 minuta na temperaturi od 190 °C), sadržaj ukupnih fenolnih materija je od 8,6 mg/kg koliko je bilo u netretiranom ulju, pao na svega 0,18 mg/kg.

2.2.2.5. Pigmenti

Najzastupljeniji pigmenti u svim biljnim uljima su karotenoidi i hlorofili (Slika 2.7.). U suncokretovom ulju se kao dominantni pigmenti izdvajaju **karotenoidi**. Po strukturi pripadaju tetraterpenoidima i sastoje se od osam izoprenskih jedinica. Na osnovu prisustva funkcionalne grupe mogu se podeliti na karotene, koji predstavljaju ugljenohidratni lanac bez funkcionalne grupe i ksantofile, oksidovane karotenoide koji imaju funkcionalnu grupu. Takođe, mogu biti podeljeni na osnovu provitaminske aktivnosti gde α -karoten, β -karoten i β -kriptoksantin predstavljaju provitamine vitamina A dok ostali nemaju ovo dejstvo (Ribeiro i sar., 2018). U suncokretovom ulju su najzastupljeniji ksantofili koji, zajedno sa dihidroksi karotenoidima (pretežno luteinom), čine 76 – 81 % ukupno prisutnih karotenoida (Rade i sar., 2004). Rafinacijom dolazi do značajnih gubitaka pogotovo u fazi beljenja i deodorizacije, kada se izgubi i do 77 % ukupno prisutnih karotenoida (Velasco i Ruiz-Méndez, 2015).

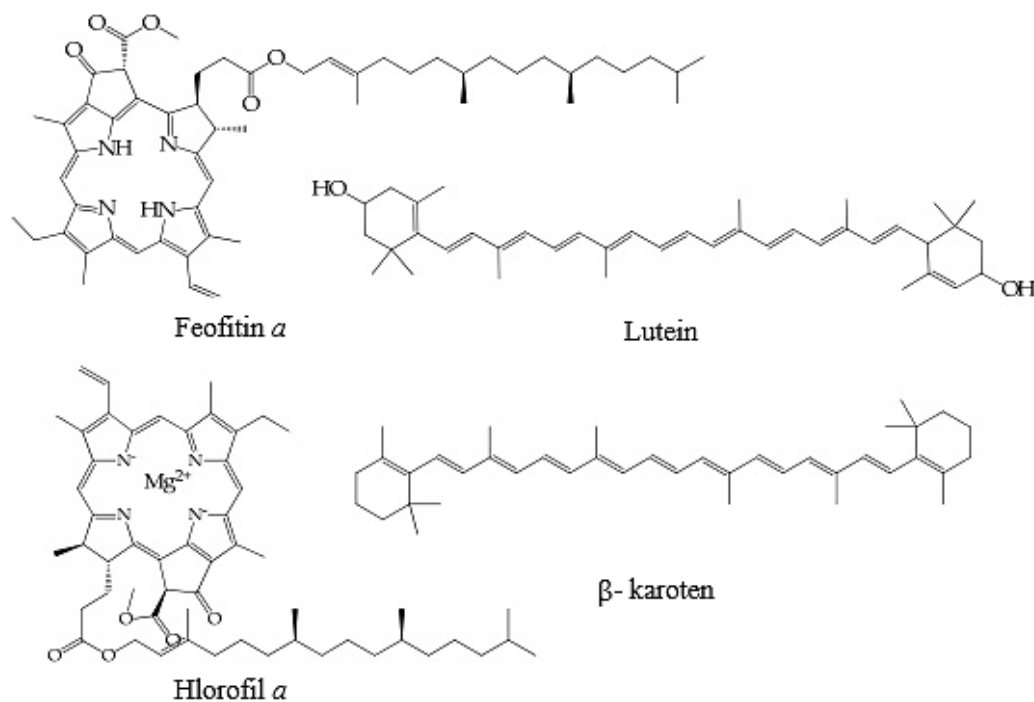
Pri proizvodnji HPU, predtretman može uticati na sadržaj karotenoida. Vujašinović (2011) je navela da je sadržaj karotenoida u HPU tikve značajno varirao u zavisnosti od primenjenog tretmana. Sa povećanjem temperature i vremena tostiranja dolazi do degradacije termolabilnih karotenoida i intenziviranja oksidativnih procesa pri čemu dolazi i do gubitka karotenoida usled oksidacije. Budući da karotenoidi ispoljavaju antioksidativno dejstvo, njihov gubitak neminovno vodi i smanjenju oksidativne stabilnosti ulja. Mehanizam antioksidativnog dejstva β -karotena je inaktivacija kiseoničnog radikala, čime se zaustavlja formiranje hidroperoksida i sprečava faza

propagacije (Choe i Min, 2006; Chew, 2020). Antioksidativna aktivnost karotenoida se odvija prema sledećoj reakciji (Choe i Min, 2006):



Inaktivisuće dejstvo karotenoida zavisi od broja konjugovanih dvostrukih veza u molekulu pa tako svi karotenoidi sa najmanje 9 konjugovanih veza (β -karoten, lutein, likopen) predstavljaju efikasne inaktivatore. U određenim uslovima, karotenoidi se mogu ponašati i kao prooksidansi (Ribeiro i sar., 2018).

Hlorofili su zeleni pigmenti prisutni u HPSU u veoma malim količinama dok ih u rafinisanom ulju gotovo i nema. Prema Gunstone (2013), sirovo ulje suncokreta sadrži 200 – 500 ppb dok u rafinisanom ulju ima manje od 30 ppb. Na sadržaj hlorofila u HPU veliki uticaj ima proces proizvodnje tako da zadržavanjem materijala u presi, smanjenjem dijametra izlaznog konusa i broja obrtaja u minuti, neminovno dolazi do potpunije ekstrakcije pigmentata (Chew, 2020). Ovu grupu pigmentata čine hlorofil *a*, hlorofil *b* i derivati hlorofila bez jona Mg^{2+} - feofitin *a* i feofitin *b* (Chen i sar., 2011).



Slika 2.7. Najzastupljeniji pigmenti u suncokretovom ulju (Jimenez-Lopez i sar., 2020).

Budući da se ponašaju kao jaki prooksidansi kada su izloženi svetlu, pri proizvodnji rafinisanog ulja poželjno je da se rafinacijom što potpunije uklone jer se ovaj tip ulja najčešće pakuje u transparentnu ambalažu. Hlorofili i njihovi derivati, feofitini i feoforbidi, ispoljavaju prooksidativno dejstvo kao fotosenzibilizatori, inicirajući proces fotooksidacije apsorpcijom energije UV svetlosti i prevodeći kiseonik iz osnovnog u singletni oblik (Shahidi i Zhong, 2010). Feofitini i feoforbidi imaju izraženije prooksidativno dejstvo u odnosu na hlorofile. Sa druge strane, ukoliko je ulje skladišteno bez prisustva svetlosti na temperaturi oko 30 °C, hlorofili ispoljavaju antioksidativno dejstvo pri čemu hlorofil *a* ima izraženije dejstvo u odnosu na hlorofil *b*, feofitin *a* i feofitin *b*. Aktivnost svih hlorofila pokazuje doznu zavisnost. Takođe, sa povećanjem temperature dolazi do gubitka antioksidativnosti, najverovatnije zbog termolabilnosti i kompeticije sa jačim antioksidansima kao što je α -tokoferol (Giuliani i sar., 2011).

Sadržaj pigmenata u suncokretovom ulju varira u zavisnosti od brojnih faktora. Njihov sadržaj zavisi od porekla, stepena zrelosti sirovine, načina proizvodnje i stepena obrade ulja. Fizičko-hemijske karakteristike sirovine, geografsko poreklo, klimatski uslovi, navodnjavanje, proces ekstrakcije, kao i uslovi skladištenja i finalnog pakovanja, neki su od faktora koji utiču na sadržaj pigmenata ekstra devičanskog maslinovog ulja (Jimenes- Lopez i sar., 2020). Sadržaj karotenoida i hlorofila u HPSU dobijeno u industrijskim i laboratorijskim uslovima ispitivali su Rade i sar. (2004). Pokazalo se da su u industrijski dobijenom ulju pigmenti prisutni u većim količinama. Sadržaj ukupnih karotenoida i hlorofila je bio 1,26 mg/kg i 0,36 mg/kg u odnosu na ulje dobijeno u laboratorijskim uslovima koje je imalo vrednosti 1,15 mg/kg i 0,02 mg/kg. Romanić (2015) je za HPSU sa različitim udelom ljuske i nečistoća utvrdio sadržaj karotenoida u opsegu od 2,86 mg/kg do 9,48 mg/kg, dok je sadržaj hlorofila bio od 0,15 mg/kg do 2,06 mg/kg. Tuberoso i sar. (2007) su utvrdili sadržaj ukupnih hlorofila u HPSU 2,3 mg/kg, dok je sadržaj β -karotena bio 0,1 mg/kg. Najviše vrednosti su utvrđene za maslinovo i tikvino ulje (33,9 mg/kg odnosno 30,8 mg/kg ukupnih hlorofila i 6,9 mg/kg odnosno 5,5 mg/kg β -karotena). Nezirević-Nizić i sar. (2019) su ispitivali sadržaj hlorofila i karotenoida HPSU u toku dve sezone. Sadržaj hlorofila izražen preko feofitina *a* bio je značajno viši u prvoj sezoni (3,24 mg/100g) u odnosu na drugu (0,45 mg/100g) dok se sadržaj karotenoida, izražen preko β -karotena, neznatno razlikovao (1,26 mg/100g u prvoj sezoni odnosno 1,30 mg/100g u drugoj).

Mazaheri i sar. (2019) su ustanovili da skladištenjem HPSU na 4 °C i bez prisustva svetlosti dolazi do statistički značajnog smanjenja sadržaja pigmenata. Sadržaj karotenoida je od početnih 0,6 mg/kg nakon 90 dana skladištenja pao na 0,28 mg/kg, dok je sadržaj hlorofila smanjen sa 2,9 mg/kg na 1,15 mg/kg. U organskom HPSU, Redondo-Cuevas i sar. (2018) su utvrdili sadržaj hlorofila 0,22 mg/kg i sadržaj ukupnih karotenoida 0,09 mg/kg, izraženo preko β -karotena. Ispitujući uticaj sadržaja nečistoće i ljuske u materijalu za presovanje pri proizvodnji HPSU, Premović i sar. (2010) su utvrdili sadržaj ukupnih karotenoida u intervalu 4,29 – 11,38 mg/kg. Ukupni hlorofili su u nekim uzorcima bili prisutni u tragovima, dok je u uzorku sa najvećim sadržajem ljuske i nečistoća utvrđen maksimalan sadržaj (0,09 mg/kg). U ispitivanju koje je uključivalo 27 uzoraka HPU dobijenih preradom različitih sirovina, Symoniuk i sar. (2018) su za HPSU oleinskog i linolnog tipa utvrdili sadržaj hlorofila 0,09 i 0,11 mg/kg izraženo preko feofitina, dok je sadržaj karotenoida bio 6,49 odnosno 5,67 mg β -karotena/kg. Ispitujući hemijski sastav HPU istočno-mediteranskog regiona, Konuskan i sar. (2019) su u HPSU utvrdili sadržaj karotenoida od 3,06 mg/kg.

2.3. Oksidativna stabilnost ulja

Oksidativna stabilnost se definiše kao otpornost ulja i masti na oksidativne promene u toku proizvodnje, manipulacije i čuvanja (Dunford, 2015). S obzirom da su ulja podložna kvarenju, u smislu definisanja roka trajanja i sveobuhvatnog kvaliteta, potrebno je odrediti i oksidativnu stabilnost. Sastav MK, odnosno udeo onih sa više nezasićenih veza, u najvećoj meri određuje oksidativnu stabilnost ulja. Što je njihov udeo veći to je otpornost ulja prema oksidaciji manja, bez obzira na prisutne minorne komponente koje su od značaja za sprečavanje ovog neželjenog procesa. Oksidacijom ulja se smanjuje udeo esencijalnih MK, liposolubilnih vitamina i drugih bioaktivnih komponenata. Pored toga, ovaj neizbežni proces vodi i stvaranju neprijatnih mirisa ali i potencijalno štetnih proizvoda što ulje odnosno hranu koja ga sadrži čini nepodesnim za konzumiranje (Shahidi i Zhong, 2010).

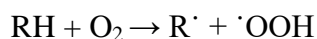
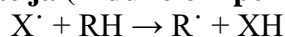
2.3.1. Lipidna oksidacija

Oksidativne promene kojima podležu ulja su: *autooksidacija*, *fotooksidacija*, *termooksidacija* i *enzimska oksidacija*. Proces *autooksidacije* je najčešći tip oksidativnog kvarenja ulja i predstavlja lančanu reakciju slobodnih lipidnih radikala sa atmosferskim kiseonikom, u tripletanom stanju ($^3\text{O}_2$). S obzirom da lipidni radikali nastaju termolizom, temperatura predstavlja

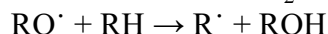
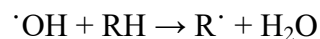
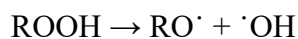
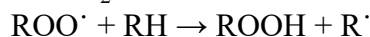
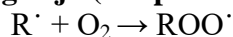
značajan faktor za brzinu procesa autooksidacije. Nezasićene MK hemolizuju na nižim temperaturama od zasićenih što ulja bogata nezasićenim MK čini podložnijim oksidaciji. Takođe, ove MK su i glavni reaktanti bez obzira u kom se obliku nalaze s tim da slobodne MK oksiduju brže od esterifikovanih (Shahidi i Zhong, 2010). Faktori koji utiču na tok i brzinu autooksidacije su masnokiselinski sastav, temperatura, prisustvo kiseonika i svetlosti, odnosno UV zračenje, ali i minorne komponente (joni metala, fosfolipidi, slobodne MK, mono- i diacilgliceroli, proizvodi oksidacije i antioksidansi) (Choe i Min, 2006). Nijedan faktor pojedinačno nema dominantnu ulogu u ovom procesu, već deluje u interakciji sa ostalim činiocima te svi zajedno određuju reakcione uslove (Pućurić-Jovanović i Milovanović, 2005).

Iako dosta složen, mehanizam autooksidacije se može predstaviti kroz tri faze a to su inicijacija, propagacija i terminacija.

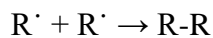
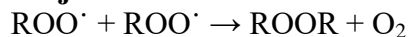
- **Inicijacija (Indukcioni period)**



- **Propagacija (Eksponencijalna faza)**



- **Terminacija**



Autooksidacija je lančana autokatalitička reakcija pri kojoj slobodni radikali MK (R^{\cdot}) vezuju kiseonik gradeći na taj način peroksi radikale (ROO^{\cdot}) i hidroperoksidi ($ROOH$). Fazu inicijacije je najteže definisati zbog veoma niske koncentracije radikala, odvijanja više od jedne reakcije i formiranja velikog broja različitih radikala koji mogu reagovati sa vodonikom iz nezasićenih MK (RH) gradeći R^{\cdot} . Osnovni inicijalni proces počinje katalitičkom razgradnjom hidroperoksida u prisustvu jona metala, i to je najverovatnije osnovno poreklo nastajanja radikala (Pućurić-Jovanović i Milovanović, 2005). U fazi propagacije nastaju hidroperoksidi kao primarni oksidacioni proizvodi čije prisustvo deluje katalitički na proces autooksidacije. Hidroperoksidi su neisparljivi, bez mirisa i relativno stabilni samo na nižim temperaturama i u odsustvu metalnih jona (Choe i Min, 2006; Shahidi i Zhong, 2010). Međutim, na povišenim temperaturama su izuzetno nestabilni i razgrađuju se na različite sekundarne proizvode kao što su aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline, estri, epoksidi i ugljeni hidrati kratkog lanca (Shahidi i Zhong, 2010; Dunford, 2015; Madhujith i Sivakanthan, 2019). Užegao i neprijatan miris ulja koja su podlegla oksidaciji potiče upravo od ovih jedinjenja. Do razgradnje hidroperoksida dolazi odmah po njihovom nastanku s tim da je u početnim fazama autooksidacije njihovo formiranje daleko intenzivnije od razgradnje. Kojim tempom dolazi do razgradnje primarnih i formiranja sekundarnih proizvoda zavisi i od tipa ulja. U slučaju maslinovog i repičinog ulja, sekundarni proizvodi nastaju odmah po formiranju primarnih, dok je za njihovo formiranje u slučaju suncokretovog ulja i ulja šafranike potrebno da primarni proizvodi oksidacije dostignu određenu koncentraciju (Van de Voort i sar., 1994). Terminacija je završna faza autooksidacije u kojoj dolazi do smanjenja koncentracije slobodnih radikala jer međusobno reaguju, gradeći stabilne i neutralne molekule čime se završava lančana reakcija (Pućurić-Jovanović i Milovanović, 2005).

Fotooksidacija predstavlja proces pri kome dolazi do reakcije singletnog kiseonika ($^1\text{O}_2$) i dvostrukih veza nezasićenih MK. Singletni kiseonik nastaje pod dejstvom UV zraka u prisustvu fotosenzibilizatora kao što su hlorofil, mioglobin, porfirin ili flavin. Svetlost odnosno zračenje i prisustvo hlorofila su najbitniji činioci od kojih zavisi brzina i stepen procesa fotooksidacije. Budući da temperatura ima manjeg uticaja, ovaj proces se može svesti na najmanju moguću meru upotrebom odgovarajućeg ambalažnog materijala nepropustljivog za svetlost. Fotooksidacija se od autooksidacije razlikuje po sledećim karakteristikama (Gunstone, 2013; Talbot, 2016; Madhujith i Sivakanthan, 2019):

- zasnovana je na reakciji singletnog kiseonika nastalog iz tripletnog pod dejstvom svetla i u prisustvu fotosenzibilizatora;
- u pitanju je jedna reakcija a ne lančana reakcija kao što je slučaj sa autooksidacijom;
- nema indukcionu period;
- reakcija je brza, pogotovo u slučaju MUFA;

Termooksidacija je proces koje se dešava pri zagrevanju ulja. U kom stepenu će nastati proizvodi termooksidacije zavisi najpre od tipa ulja, visine temperature i dužine zagrevanja.

Enzimski katalizovana oksidacija je posledica aktivnosti lipooksigenaze. Nastali hidroperoksidi i proizvodi njihove degradacije se ekstrahuju zajedno sa uljem ali mogu biti uklonjeni procesom rafinacije ukoliko je predviđena (Talbot, 2016).

2.3.2. Faktori koji utiču na oksidativnu stabilnost ulja

Kako bi oksidativne promene ulja bile odložene i smanjene na što manju meru, potrebno je poznavati faktore koji utiču na ove neželjene procese. Svi faktori se mogu grupisati kao:

- hemijski sastav ulja
- način proizvodnje ulja
- uslovi čuvanja ulja (uticaj temperature, kiseonika i svetlosti)

2.3.2.1. Hemijski sastav ulja

2.3.2.1.1. Sastav masnih kiselina

Kada je reč o uticaju hemijskog sastava ulja na oksidativnu stabilnost, kao najbitniji parametar se izdvaja sastav MK. MK definišu fizičke i hemijske karakteristike ulja, a broj i položaj nezasićenih veza imaju ključnu ulogu u oksidativnoj stabilnosti (Rabrenović, 2011). Oksidativna stabilnost MK opada sa porastom broja dvostrukih veza u molekulu pa ulja sa visokim udelom PUFA, imaju manju oksidativnu stabilnost u odnosu na ulja koja u većem procentu sadrže SFA i MUFA (Marmesat i sar., 2009; van der Merwe i sar., 2012; Redondo-Cuevas i sar., 2018). Karakteristike ulja i otpornost na oksidaciju, pored kvalitativnog i kvantitativnog sastava MK, umnogome zavise i od raspodele MK u molekulu TAG (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Lunn i Theobald, 2006). Raspodela MK je takva da su prisutne SFA pretežno esterifikovane u *sn*-1 ili *sn*-3 položaju, nezasićene MK gotovo isključivo esterifikovane u *sn*-2 položaju, a ukoliko se u jednom molekulu TAG nalaze i linolna i oleinska kiselina, one će biti esterifikovane u 2- odnosno 3- položaju (Gunstone, 2013; Salas i sar., 2015; Indelicato i sar., 2017). Oksidativna stabilnost svakog molekula TAG se smanjuje sa porastom dužine lanca prisutnih SFA i brojem dvostrukih veza kod prisutnih nezasićenih MK. S druge strane, prisustvo SFA kratkog lanca povećava oksidativnu stabilnost nezasićene MK esterifikovane u istom molekulu TAG.

Stepen autooksidacije MK je definisan na osnovu kapaciteta vezivanja kiseonika i za stearinsku, oleinsku, linolnu i linolensku kiselinu iznosi 1 : 100 : 1200 : 2500, dok je odnos oleata, linolata i linolenata 1 : 12 : 25 kada je u pitanju brzina formiranja peroksida (Shahidi i Zhong, 2010; Madhujith i Sivakanthan, 2019). Linolna kiselina, pored toga što oksiduje brže od oleinske, kada je prisutna sa više od 25 % ispoljava i prooksidativno dejstvo ubrzavajući oksidaciju stabilnije

oleinske kiseline (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005). Aladedunye i Przybylski (2013) su ovo potvrdili u slučaju rafinisanog HO suncokretovog ulja sa različitim udelom linolne kiseline u toku višekratnog zagrevanja ulja na 180 °C. Naime, oni su došli do zaključka da ulje sa dominantnom oleinskom kiselinom već sa 10 % linolne kiseline nema zadovoljavajuću oksidativnu stabilnost na visokim temperaturama.

U cilju poređenja oksidativne stabilnosti ulja primenjuje se i „inherentna stabilnost“. Ova vrednost se izračunava množenjem procentualnog udela MK prisutnih u sastavu ulja i njihove reaktivnosti sa kiseonikom (Talbot, 2016). Inherentna stabilnost, kao i jodni broj, ukazuje na stepen nezasićenosti MK zastupljenih u ulju i odbrnuto je srazmerna sa oksidativnom stabilnošću tj. visoke vrednosti inherentne stabilnosti i jodnog broja ukazuju na nisku oksidativnu stabilnost ulja (Dunford, 2015; Talbot, 2016). Inherentna stabilnost linolnog tipa suncokretovog ulja je 6,8, maslinovog 1,5, dok suncokretovo ulje HO tipa sa udelom oleinske kiseline od 90 % ima vrednost od 0,2.

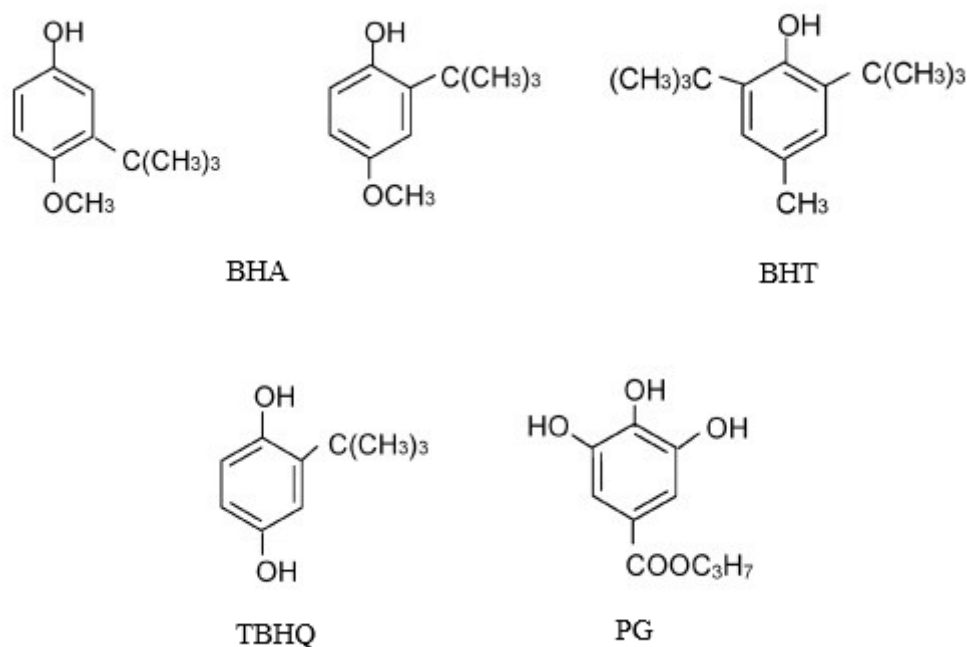
U cilju povećanja oksidativne stabilnosti ulja na različite načine je vršena izmena masnokiselinskog sastava. Mešanje ulja različitog sastava i arome je uobičajena praksa u industriji sa ciljem dobijanja ulja veće oksidativne stabilnosti i željenog aromatskog profila (Ramadan, 2013; Kiralan i sar., 2017; Ghosh i sar., 2018; Mazaheri i sar., 2019). Pored navedenog, mešanjem se postiže i izmena fizičko-hemijskih karakteristika i funkcionalnih svojstava ulja (Madhujith i Sivakanthan, 2019). Povećanje oksidativne stabilnosti i proširenje mogućnosti primene suncokretovog ulja postignuto je oplemenjivanjem i genetskom modifikacijom. Dobijeni su novi hibridi sa znatno izmenjenim masnokiselinskim sastavom u odnosu na linolni tip suncokreta pri čemu se pozitivno uticalo i na nutritivni aspekt. Ulje dobijeno iz HO hibrida suncokreta karakteriše izuzetna stabilnost na visokim temperaturama, pa se u odnosu na linolni tip, sojino ulje i ulje kikirikija smatraju pogodnijim za prženje hrane (Rauf i sar., 2017). Stabilnost HO ulja tri puta je veća u odnosu na stabilnost ulja sa prosečnim sadržajem ove kiseline (Krizmanić i sar., 2013). Marmesat i sar. (2005) su, ispitujući stabilnost HPHO ulja u odnosu na palmino, došli do zaključka da je HPHO ulje znatno stabilnije u toku procesa prženja. Bolja stabilnost se može dovesti u vezu sa nižim udelom linolne kiseline što ulje ovog tipa, pored manjeg udela zasićenih MK u odnosu na palmino ulje, čini podesnijim i zdravijim za primenu. Izmjena masnokiselinskog sastava sojinog ulja u cilju smanjenja linolenske MK, postignuta je mutacijama. Kako je ova MK zaslužna za nisku oksidativnu stabilnost ulja koja je sadrže u većem udelu, delimična hidrogenacija ulja ovog tipa je mera kojom se značajno povećava otpornost na oksidaciju. Međutim, ovim postupkom se kod visokonezasićenih ulja formiraju *trans*-MK pa se u cilju povećanja održivosti ulja prednost daje oplemenjivanju i genetskim modifikacijama (Madhujith i Sivakanthan, 2019).

2.3.2.1.2. Antioksidansi

S obzirom da se proces autooksidacije ulja može sprečiti jedino uklanjanjem kiseonika i prooksidativnih faktora, izmena uslova reakcije i dejstvo inhibitora oksidacije mogu samo usporiti reakciju ili produžiti indukcionu period (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005). Antioksidansi su supstance koje usporavaju proces autooksidacije i na osnovu načina delovanja mogu se podeliti na primarne i sekundarne. Primarni antioksidansi prekidaju lančanu reakciju autooksidacije tako što stupaju u reakciju sa slobodnim radikalima ili se ponašaju kao „scavenger“ supstance koje vezuju radikale lipida i prevode ih u stabilnija jedinjenja (Dunford, 2015). Efikasnost antioksidanasa zavisi od njihove strukture, koncentracije, temperature, tipa supstrata, prisustva prooksidanasa i sinergista (Shahidi i Zhong, 2010). Najčešće su u primeni antioksidansi fenolnog tipa koji deluju kao *scavenger*-i slobodnih radikala i čija aktivnost raste sa uvođenjem druge hidroksilne grupe u *o*- i *p*-položaju (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005). Antioksidansi ostvaruju najviši stepen aktivnosti pri niskim koncentracijama (100 – 200 mg/kg) (Dunford, 2015). Pri visokim koncentracijama brzina reakcije antioksidans-radikal je konstantna zbog ograničene koncentracije lipidnih radikala pa sporedne reakcije postaju značajnije, a antioksidativno dejstvo se smanjuje. Sporedne reakcije mogu postati dominantne u toj meri da antioksidansi mogu delovati kao katalizatori autooksidacije.

Pojava da se antioksidansi u visokim koncentracijama ponašaju kao prooksidansi je izražena kod tokoferola (Kamal-Eldin i Appelqvist, 1996; Warner i sar., 2005; Choe i Min, 2006; Gunstone, 2013; Ahsan i sar., 2015). Sekundarni antioksidansi usporavaju brzinu autooksidacije na taj način što vezuju metalne jone, vrše dekompoziciju hidroperoksida do neradikalnih oblika, „hvataju“ kiseonik, apsorbuju UV zračenje, deaktiviraju singletni kiseonik ili regenerišu primarne antioksidanse (Pičurić-Jovanović i Milovanović, 2005; Shahidi i Zhong, 2010). U biljnim uljima se kao sekundarni antioksidansi ponašaju karotenoidi, fenolna jedinjenja, steroli, fosfolipidi, amino kiseline i proizvodi Majlardovih reakcija. Réblová i Okrouhlá (2010) su ispitivali zaštitni efekat fenolnih kiselina prema α -tokoferolu u toku prženja suncokretovog ulja. Galna, kafeinska i gentizinska kiselina su pokazale najjače zaštitno dejstvo od svih testiranih fenolnih kiselina pri čemu je efekat galne bio dva puta jači od ostalih navedenih.

Sa ciljem povećanja oksidativne stabilnosti i produženja roka trajanja, kod onih ulja gde je to potrebno i zakonski dozvoljeno, primenjuju se sintetički antioksidansi. Pri proizvodnji rafinisanog ulja najveći deo prirodno prisutnih antioksidanasa se izgubi, tako da je dodatak antioksidanasa, bilo prirodnih ili sintetičkih, nakon procesa rafinacije neophodan. U odnosu na druge metode produženja roka trajanja biljnih ulja, primenu sintetičkih antioksidanasa odlikuje ekonomičnost, visoka stabilnost i efikasnost. Bez obzira na poznat negativan uticaj na zdravlje ljudi, usled brojnih pogodnosti ipak se nalaze u širokoj primeni (Inanç i Maskan, 2012).



Slika 2.8. Najčešće primenjivi sintetički antioksidansi (Shahidi i Zhong, 2010).

Najčešće primenjivani sintetički antioksidansi (Slika 2.8.) su butilhidroksianizol (BHA), butilhidroksitoluol (BHT), *tercijarni*-butil hidrokinon (TBHQ) i propil-galat (PG) koji antioksidativnu aktivnost ostvaruju kao primarni antioksidansi prekidajući lančanu reakciju autooksidacije. U upotrebi se sve češće nalazi i askorbil-palmitat koji se nalazi na GRAS listi (*eng. Generally Recognized As Safe*) i čije količine nisu ograničene.

Takođe, poslednjih godina postoji interes da se zamene sintetički antioksidansi onima prirodnog porekla koji su delotvorniji i bezbedniji (Inanç i Maskan, 2012). Poseban akcenat je na lekovitim i začinskim biljkama, kao bogatim izvorima bioaktivnih komponenti.

2.3.2.1.3. Prooksidansi

Nerafinisana ulja sadrže negliceridne komponente a koje se ponašaju kao prooksidansi odnosno deluju katalitički na proces oksidacije lipida (Madhujith i Sivakanthan, 2019). Slobodne

MK, mono- i diacilgliceroli sadrže hidrofilne grupe zbog kojih su koncentrisani na površini ulja. Prooksidativno dejstvo ispoljavaju tako što smanjuju površinski napon i olakšavaju difuziju kiseonika (Choe i Min, 2006). Slobodne MK, u odnosu na esterifikovane, znatno brže podležu oksidaciji. Ukoliko su prisutni metali (bakar i gvožđe), oni će ubrzavati proces oksidacije na taj način što reaguju direktno sa lipidima gradeći lipidne alkil radikale i prevodeći $^3\text{O}_2$ u $^1\text{O}_2$. Fosfolipidi ostvaruju i prooksidativno i antioksidativno dejstvo u zavisnosti od koncentracije i prisustva metalnih jona. Prooksidativno dejstvo ostvaruju na isti način kao slobodne MK, dok antioksidativna uloga još uvek nije u potpunosti razjašnjena, ali je poznato da grade helatne komplekse sa jonima metala, inaktiviraju hidroperokside formiranjem labilnih kompleksa sa dimernim hidroperoksidima i ispoljavaju sinergizam sa tokoferolima i flavonoidima (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005). Za oksidativnu stabilnost ulja najznačajnije je prisustvo fosfatidiletanolamina i fosfatidilserina. Optimalna koncentracija za ispoljavanje maksimalne antioksidativnosti fosfolipida je 3 – 60 ppm (Choe i Min, 2006). Hlorofili ispoljavaju antioksidativno dejstvo u mraku dok se, kada su izloženi svetlosti, ponašaju kao jaki prooksidansi i iniciraju proces fotooksidacije tako što kao fotosenzibilizatori apsorbuju energiju UV svetlosti i prevode kiseonik iz osnovnog u singletni oblik (Shahidi i Zhong, 2010).

2.3.2.2. Način proizvodnje ulja

Na oksidativnu stabilnost značajno utiče i primenjeni način izdvajanja ulja. Proizvodnja rafinisanog ulja podrazumeva uklanjanje svih nepoželjnih negliceridnih komponenata koje mogu izazvati zamućenje, taloženje ili pojavu nepoželjnih mirisa. Uklanjanje ovih nečistoća neminovno prati i eliminacija bioaktivnih komponenata koje bi pozitivno uticale na oksidativnu stabilnost. HPU i devičanska ulja nemaju nikakav vid prerade, pa ova bitna jedinjenja ostaju u sastavu ulja čineći ga otpornijim na oksidativne promene. Sa druge strane, u ovim uljima su prisutni proizvodi hidrolitičke razgradnje i proizvodi oksidacije koji se mogu ponašati kao promotori nepoželjnih promena u toku skladištenja i korišćenja. I pored inicijalno veće koncentracije oksidacionih proizvoda, HPU imaju veću oksidativnu stabilnost od rafinisanih. Romanić i Kravić (2017) su ispitivali oksidativnu stabilnost rafinisanog suncokretovog ulja i HPU dobijenih od HO i standardnog tipa suncokreta. Nakon 14 dana zagrevanja uzoraka na 63 °C, porast peroksidnog broja je bio sa 1,95 na 28,67 mmol/kg za HO tip, dok je povećanje u slučaju HPSU i RSU dobijenog iz standardnog tipa suncokreta bilo sa 3,64 na 137,51 mmol/kg odnosno sa 0,15 na 199,28 mmol/kg.

Kvalitet polazne sirovine je takođe od značaja za oksidativnu stabilnost ulja. S obzirom na to da proces proizvodnje devičanskih i HPU nema tehnološku operaciju u kojoj bi nepoželjne komponente bile uklonjene, utoliko je značajnije da se za proizvodnju ulja koristi što kvalitetnija sirovina (Romanić, 2020). Dimić i sar. (2015) su ispitivali uticaj sadržaja nečistoća i ljuške na oksidativnu stabilnost HPSU određivanjem specifičnih ekstinkcija pre i nakon četvorodnevno zagrevanja na 65 °C. Iako se zna da prisustvo nečistoće i ljuške u materijalu za presovanje utiče na sadržaj konjugovanih diena i triena, autori navode da uticaj nije bio statistički značajan. Oksidativna stabilnost HPSU se smanjuje sa povećanjem udela ljuške i nečistoća u materijalu za presovanje pri čemu je uticaj nečistoća znatno izraženiji (Dimić i sar., 2012a). Tostiranje semena pre presovanja je jedan od načina povećanja oksidativne stabilnosti. Na ovaj način se povećava ekstrakcija komponenti koja imaju antioksidativno dejstvo kao što su pigmenti, ali i nastaju proizvodi Majlardovih reakcija koji se takođe ponašaju kao antioksidansi.

Grosshagauer i sar. (2019) su, između ostalih preporuka za poboljšanje oksidativne stabilnosti ulja, naveli na koje načine se može unaprediti način proizvodnje ulja sa ciljem povećanja ekstrakcije fenolnih komponenata i tokoferola. Ovi autori navode postupak tostiranja semena kao predtretman koji ima pozitivno dejstvo u smislu smanjenja kontakta sa atmosferskim kiseonikom i formiranja komponenata koja imaju antioksidativno dejstvo. Pozitivan efekat tostiranja na oksidativnu stabilnost DSC metodom potvrdili su Róžańska i sar. (2019) koji su takođe naveli da se tostiranjem povećava sadržaj karotenoida, hlorofila i tokohromanola. Takođe, upotreba suvog leda

pre ili inertnog gasa u toku presovanja, kao i pužne prese dizajnirane tako da je onemogućen kontakt kiseonika i materijala za presovanje neke su od ideja za unapređenje načina proizvodnje a samim tim i povećanje oksidativne stabilnosti ulja (Grosshagauer i sar., 2019).

2.3.2.3. Uslovi skladištenja

Da bi proces oksidacije otpočeo potrebno je da se ulje nađe u kontaktu sa kiseonikom. Oblik u kome se kiseonik nalazi i njegova koncentracija podjednako utiču na tok oksidacije. U prisustvu singletnog kiseonika oksidacija se odvija brže u odnosu na reakciju tripletnog kiseonika s obzirom da $^1\text{O}_2$ reaguje direktno sa MK dok $^3\text{O}_2$ reaguje sa njihovim radikalima. Oksidacioni procesi se ubrzavaju sa porastom koncentracije rastvorenog kiseonika u ulju a njegova rastvorljivost je veća u nerafinisanim uljima nego u rafinisanim (Choe i Min, 2006). Efekat koncentracije je utoliko veći ukoliko je temperatura viša i ukoliko su prisutni neki od prooksidanata- svetlost ili joni metala. Odnos površine ulja koja je u kontaktu sa kiseonikom i zapremine ulja takođe je bitan faktor koji utiče na brzinu oksidacije, jer se povećanjem ovog odnosa ubrzavaju i reakcije oksidacije.

Proces autooksidacije i razgradnja hidroperoksida se značajno ubrzavaju sa porastom temperature (Choe i Min, 2006; Madhujith i Sivakanthan, 2019). Talbot (2016) navodi da se brzina autooksidacije udvostručuje sa svakim porastom temperature za 10 °C. Uticaj temperature na singletni kiseonik $^1\text{O}_2$ i njegovu aktivaciju je neznatan u odnosu na uticaj koji ima svetlost manjih talasnih dužina. Sa druge strane, efekat svetlosti na lipidnu oksidaciju se umanjuje sa porastom temperature. Kako na proces fotooksidacije svetlost ima najvećeg uticaja, tako način pakovanja ulja predstavlja jedan od ključnih koraka u sprečavanju ovog procesa. Rafinisano suncokretovo ulje pakovano u flaše od polietilena visoke gustine može zadržati prihvatljiv hemijski i senzorni kvalitet i do dve godine. Sa devičanskim i HPU to nije slučaj, pa je za pakovanje ulja ovog tipa pogodnija obojena staklena ambalaža.

Romanić i sar. (2009) su ispitivali promene u oksidativnoj stabilnosti i koncentraciji tokoferola u rafinisanom suncokretovom ulju pakovanom u različiti ambalažni materijal (tetra brik, polietilen-tereftalat (PET) boce i polietilen (PE) kanister). Najviše proizvoda oksidacije i najveći gubitak tokoferola uočeno je u slučaju PE kanistera, dok se kao najefektivniji način pakovanja pokazala upotreba tetra brika. Wroniak i sar. (2016b) su ispitivali uticaj uduvavanja azota pri pakovanju HPU uljane repice i suncokreta, u uslovima ubrzanog starenja i skladištenja na sobnoj temperaturi u toku 180 dana. U oba slučaja se pokazalo da je uduvavanje azota doprinelo značajnom usporavanju procesa oksidacije (formiranju peroksida), ali nije eliminisalo sve oksidativne promene. Uočeno je ubrzano stvaranje sekundarnih proizvoda oksidacije, kako u slučaju ubrzanog starenja, tako i pri uobičajenom skladištenju na sobnoj temperaturi, i to već nakon 30 odnosno 60 dana. Kiralan i sar. (2020) su ispitivali prisustvo pet različitih tipova ftalata u HPU sa tržišta Turske. U najvećem broju uzoraka (18 od 30 ukupno ispitivanih), di(2-etilheksil)-ftalat (DEHP) je detektovan u količinama od 0,56 do 91,12 mg/kg dok je diizononil-ftalat (DINP) detektovan u 5 uzoraka u koncentraciji od 4,26 do 80,74 mg/kg. Pereira i sar. (2019) su DEHP i DINP detektovali u svim ispitivanim uzorcima maslinovog ulja (n = 16) ali u nižim koncentracijama koje su iznosile maksimalno 7,5 odnosno 6,3 mg/kg. S obzirom na toksičnost ftalata i njihovih metabolita, kao i njihovu brzu migraciju iz ambalažnog materijala u lipidne sisteme, odabiru ambalaže se mora posvetiti puno pažnje.

2.3.3. Metode određivanja oksidativne stabilnosti i praćenja procesa oksidacije ulja

Metode praćenja oksidativnih promena ulja mogu se podeliti u dve grupe (Wąsowicz i sar., 2004):

- **Metode određivanja oksidativne stabilnosti** - dinamičke metode ubrzanog starenja ulja;
- **Metode ispitivanja oksidativnog statusa** - statičke metode kojima se određuje stepen oksidacije do trenutka uzimanja uzorka.

2.3.3.1. Metode određivanja oksidativne stabilnosti

Oksidativna stabilnost nije standardni parametar kvaliteta ulja, ali s obzirom da je dobar indikator roka trajanja, vrlo je korisna za njegovu procenu (Krichene i sar., 2010). Metode koje se primenjuju za određivanje održivosti ulja zasnivaju se na ubrzanom oksidaciji pod uticajem jednog ili više faktora koji ubrzavaju proces (Rabrenović, 2011). Faktori koji se najčešće primenjuju radi intenziviranja oksidacije u uslovima ubrzanog starenja su povišena temperatura, prisustvo svetlosti, metala, povećan pritisak i prisustvo vazduha odnosno kiseonika (Wąsowicz i sar., 2004).

Jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda za određivanje otpornosti ulja prema oksidaciji je **Schaal Oven test**. Rezultati dobijeni ovim testom na 63 ± 2 °C daju najpribližniji podatak za procenu stvarne održivosti ulja (Dimić i Turkulov, 2000). Schaal Oven test podrazumeva da se uzorak, koji se nalazi u otvorenoj posudi, kontrolisano zagreva u sušnici bez prisustva svetlosti, na temperaturi od 63 ± 2 °C u toku određenog vremena. Pokazalo se da rezultati dobijeni ovim testom imaju dobru korelaciju sa onima dobijenim u toku praćenja oksidativnog stanja u realnim uslovima (sobna temperatura), pa mnogi autori navode da je ovaj test simulacija realnih uslova starenja ulja. Zapravo, postoji hipoteza da je starost ulja od jednog dana u uslovima Schaal oven testa ekvivalentna starosti ulja nakon 30 dana na sobnoj temperaturi (Morales i Przybylski, 2013). Međutim, kako navode Douny i sar. (2016), ova tvrdnja se ne odnosi i na ulja koja u masnokiselinskom sastavu imaju visok udeo linolenske MK. Test se najčešće izvodi u toku 12 dana, ali se u dostupnoj literaturi može naći i drugačiji vremenski interval. Na unapred predviđenom vremenskom intervalu, najčešće dnevnom ili nedeljnom, uzima se deo uzorka za analizu. Parametri koji se prate su peroksidni broj, promena senzornih karakteristika ili količina isparljivih jedinjenja. Pored određivanja peroksidnog broja, ovaj test ubrzanog starenja ulja može podrazumevati praćenje primarnih proizvoda oksidacije i preko specifičnih ekstinkcija, a preko anisidinskog broja i količina nastalih sekundarnih proizvoda.

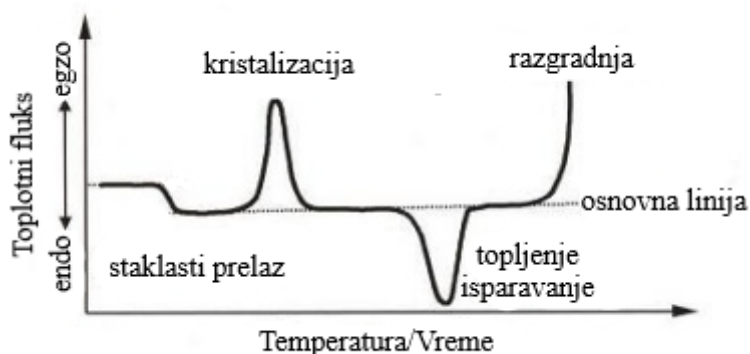
Swift test ili AOM (*Active Oxygen Method*) je još jedan test koji je ranije bio znatno češće u upotrebi. Ovaj test se zasniva na prodivavanju uzorka vazduhom na temperaturi od 98 °C i praćenju peroksidnog broja u određenom intervalu (Talbot, 2016).

Metode koje su danas najšire u upotrebi su Rancimat test i OSI (*Oil Stability Index*) a zapravo predstavljaju unapređene prethodno navede metode (Ciemniewska-Zytkeiwicz i sar., 2014). **Rancimat test** se bazira na ubrzanom kvarenju ulja pri povišenim temperaturama i prodivavanju vazduha kroz uzorak, pri čemu se indukcioni period određuje na osnovu količine izdvojenih niskomolekularnih isparljivih kiselina (Dimić i Turkulov, 2000). Pri oksidaciji ulja nastaju znatne količine isparljivih kiselina i niskomolekularnih jedinjenja čiji se sadržaj meri konduktometrijski, njihovim uvođenjem u ćeliju sa destilovanom vodom i merenjem porasta provodljivosti u funkciji vremena. Temperature koje se primenjuju se kreću od 100 do 120 °C. Na promenu provodljivosti mogu uticati i neoksidovane slobodne MK i izazvati neznatan porast. Osnovna razlika između Rancimat i OSI metode je što se kod OSI metode primenjuju jednokratne posude za smeštanje uzorka čime se prevazilazi nedostatak Rancimat metode. Posude za uzorak moraju biti potpuno čiste jer bi prisustvo bilo kakve nečistoća ili ostatka starog ulja značajno uticalo na dobijeni rezultat (Talbot, 2016). S druge strane, obe metode, za razliku od Swift testa, zahtevaju znatno manju količinu uzorka.

Oxitest (Oxidation Test Reactor) je instrument koji omogućava određivanje oksidativne stabilnosti kako tečnih tako i čvrstih uzoraka bez prethodne pripreme čime se prevazilazi osnovni nedostatak Rancimata i OSI metode kod kojih se podrazumeva prethodna ekstrakcija ulja iz čvrstih uzoraka odnosno hrane koja ga sadrži (Ciemniewska-Zytkeiwicz i sar., 2014; Talbot, 2016). Metod je koncipiran tako da uređaj beleži količinu usvojenog kiseonika od strane uzorka koji se nalazi pod pritiskom kiseonika do 0,8 MPa i na zadatoj temperaturi koja se kreće od sobne do 110 °C (Tinello i sar., 2018).

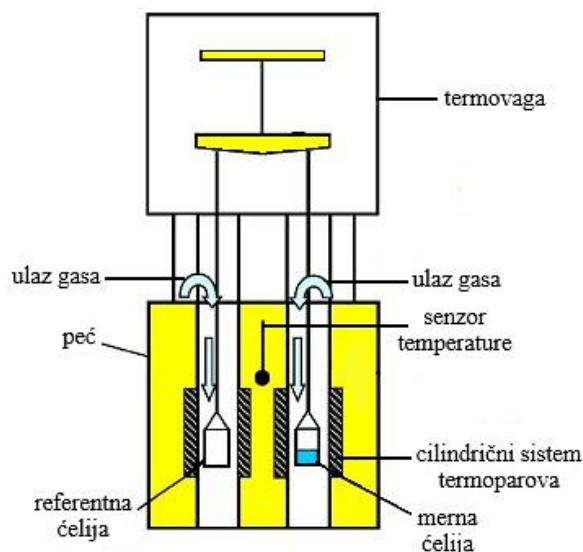
Oksidativna stabilnost ulja može se odrediti i metodama termalne analize od kojih je najčešću primenu našla **diferencijalna skenirajuća kalorimetrija** (*Differential Scanning Calorimetry - DSC*). Ova metoda je često u upotrebi zbog jednostavnosti, visoke osetljivosti instrumenta i dostupnosti softvera koji omogućavaju preciznu analizu eksperimentalnih podataka. Prednosti DSC u odnosu na klasične metode određivanja oksidativne stabilnosti su i brzina, preciznost, odsustvo toksičnih hemikalija, mala količina uzorka koji ne zahteva pripremu ili je minimalna (Saldaña i Martínez-Monteaagudo, 2013; Ratusz i sar., 2016; Róžańska i sar., 2019; Almoselhy, 2020). Ovom tehnikom se meri razlika u toplotnom fluksu između uzorka i referentnog materijala a koja se javlja kao posledica apsorpcije ili oslobađanja toplote od strane uzorka usled fizičkih ili hemijskih procesa do kojih dolazi pri zagrevanju odnosno hlađenju. Uzorak i referentni materijal se istovremeno zagrevaju odnosno hlade, brzinom koja je unapred definisana, uz pretpostavku da se oba materijala nalaze pod istim uslovima.

Pri proučavanju hrane, fizičko-hemijske promene se mogu uočiti u temperaturskom opsegu između -100 i 300 °C i one mogu biti endotermne (topljenje, denaturacija, isparavanje) ili egzotermne (kristalizacija, oksidacija, fermentacija, degradacija). Zbirni DSC termogram koji pokazuje neke od navedenih promena dat je na Slici 2.9.



Slika 2.9. Zbirni DSC termogram koji pokazuje endotermne i egzotermne promene toplotnog fluksa u funkciji temperature odnosno vremena (Almoselhy, 2020).

U ispitivanju oksidativne stabilnosti jestivih ulja, najčešće se zajedno primenjuju DSC i termogravimetrija (TG) (Slika 2.10). TG je metoda kojom se prati količina i brzina promene mase uzorka kao funkcija temperature ili vremena u kontrolisanoj atmosferi (Micić, 2016).



Slika 2.10. Šematski prikaz DSC-TG 111 uređaja (Setaram, Francuska), diferencijalno skenirajućeg kalorimetra kuplovanog termovagom (Ferrasse i Lecomte, 2004).

Za analizu biljnih ulja podjednako uspešno se primenjuju izotermna i neizotermna DSC tehnika pri čemu je kod neizotermne tehnike porast temperature uvek linearan (Ciemniewska-Zytkiewicz i sar., 2014). Izotermna metoda podrazumeva izlaganje uzorka atmosferi kiseonika i vazduha na povišenoj temperaturi zadatoj u zavisnosti od prirode uzorka, i merenju toplotnog efekta u funkciji vremena. Primenjene temperature kod izotermne metode se kreću od 80 do 180 °C, dok protok kiseonika može varirati od 10 do 100 mL/min (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013). Oksidacija ulja se detektuje kao egzotermni pik na termogramu. Kao indukciono vreme oksidacije (OIT – *Oxidative Induction Time*) se uzima vreme od momenta uključivanja kiseonika do pojave pika i poželjno je da ima vrednosti od 3 do 5 minuta kako bi se postigao dobro izražen pik oksidacije. Na OIT utiče brzina zagrevanja tako da nisu poželjne ni male brzine zagrevanja niti veće od 25 °C/min, s obzirom da značajno utiču na kinetiku procesa oksidacije ulja.

DSC metodom u neizotermnim uslovima dolazi se do drugog bitnog parametra a to je početna temperatura oksidacije (OOT – *Oxidative Onset Temperature*). U neizotermnim uslovima primenjuju se temperature od 50 do 350 °C uz brzinu zagrevanja od 1 do 25 °C/min (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013). Početna temperatura oksidacije zavisi od brzine zagrevanja i kompozicije uzorka. Na DSC krivoj se usled oksidacije javljaju dva egzotermna pika, pri čemu prvi potiče od procesa autooksidacije ulja i stvaranja peroksida, dok drugi pik odgovara termo-oksidativnom razlaganju peroksida do sekundarnih proizvoda.

Za ispitivanje oksidativne stabilnosti HPU, DSC i DSC pod pritiskom (*Pressure Differential Scanning Calorimetry* – PDSC) metode se smatraju podesnijim od Rancimat i OSI metode. Naime, u slučaju Rancimat metode na temperaturama višim od 105 °C intenziviraju se reakcije polimerizacije i dolazi do promene konzistencije uzorka što umanjuje kontakt sa kiseonikom i vodi manje pouzdanim rezultatima (Symoniuk i sar., 2016). Takođe, mnogi autori kao prednosti DSC i PDSC metoda navode malu količinu uzorka (2 – 4 mg u odnosu na Rancimat 2,5 g), kratko vreme trajanja analize, zatim tačnost i ponovljivost dobijenih rezultata, ali kao osnovni nedostatak navode cenu instrumenta i činjenicu da upotreba kiseonika dodatno poskupljuje određivanje i ograničava primenu u industrijskim uslovima (Ciemniewska-Zytkiewicz i sar., 2014; Ratusz i sar., 2016; Symoniuk i sar., 2016). Svakako, nezavisno od uzorka, između ovih metoda se javlja visok stepen korelacije.

Sve navedene metode imaju nedostatke i ograničenja. Svaka od njih dozvoljava različite eksperimentalne uslove što, uz neuniformnost među laboratorijama, može voditi značajno različitim rezultatima. Takođe, proizvodi oksidacije su podložni razgradnji što njihovu detekciju otežava i može uzrokovati dodatna neslaganja (Barriuso i sar., 2013). U zavisnosti od eksperimentalnih uslova, sporedne reakcije mogu biti intenzivirane, a može doći i do gubitka isparljivih antioksidanasa (Wąsowicz i sar., 2004; Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013).

2.3.3.2. Metode ispitivanja oksidativnog statusa

Stepen oksidacije ulja može se pratiti preko niza metoda koje se zasnivaju na praćenju fizičkih, hemijskih ili senzornih promena nastalih u ulju kao posledica oksidacije. Metode kojima se prati stepen nastalih oksidativnih promena mogu se podeliti na volumetrijske, spektrofotometrijske i hromatografske, dok ih neki autori dele i na osnovu toga da li se njima prate primarni ili sekundarni proizvodi oksidacije.

Peroksidni broj. Za određivanje količine peroksida najčešće je u upotrebi jodometrijska metoda. Određivanje količine ovih primarnih proizvoda oksidacije je od velikog značaja za proveru kvaliteta ulja, jer su prekursori sekundarnih proizvoda oksidacije i važni indikatori održivosti. Formiranje peroksida u fazi inicijacije daleko je intenzivnije od njihove razgradnje da bi u kasnijim fazama oksidacije brzina razgradnje peroksida nadmašila brzinu njihovog nastajanja. Stoga ova volumetrijska metoda daje pouzdanije rezultate o stepenu oksidacije u početnim fazama (Wąsowicz i sar., 2004; Shahidi i Zhong, 2005). Iako je metoda standardizovana, postoje nedostaci kao što su

dužina trajanja analize, velika količina uzorka, mala osetljivost i otežano određivanje završne tačke titracije. Kao modifikacija standardne jodometrijske metode u primeni su kolorimetrijsko određivanje na 560 nm, potenciometrijsko određivanje završne tačke titracije i spektrofotometrijsko određivanje I^{3-} hromofora na 290 ili 360 nm (Shahidi i Zhong, 2005). Pored navedenih metoda, za određivanje prisustva ukupnih i pojedinačnih peroksida primenjuju se spektrofotometrijske (oksidacija Fe^{2+} i oksidacija I, infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom - FTIR) i hromatografske metode (tečna hromatografija visokih performansi – HPLC i gasna hromatografija-masena sprektrometrija – GC-MS) (Wąsowicz i sar., 2004; Kamal Eldin, 2010; Barriuso i sar., 2013; Shahidi i Zhong, 2005).

Određivanje peroksidnog broja kao jedinog pokazatelja nastalih oksidativnih promena nije poželjno, jer može voditi pogrešnom tumačenju pa se danas retko samostalno koristi.

Prema Pravilniku, maksimalna vrednost peroksidnog broja za HPU, devičanska i nerafinisana ulja je 7,5 mmol/kg i 5 mmol/kg za rafinisana ulja (Pravilnik, 2013).

Konjugovani dieni i konjugovani trieni (Apsorbancije u UV oblasti izražene kao specifična ekstinkcija). Proces oksidacije PUFA neminovno prati promena apsorpcije u UV oblasti s obzirom da se od hidroperoksida ovih MK formiraju konjugovani sistemi koji pokazuju maksimum apsorpcije u UV delu spektra. Apsorpcioni maksimum na talasnoj dužini od 232 nm ukazuje na sadržaj hidroperoksida linolne i linolenske kiseline i konjugovanih diena koji nastaju njihovom razgradnjom, dok konjugovani trieni, kao sekundarni proizvodi oksidacije, pokazuju maksimum apsorpcije na 268 – 270 nm. Prema četvrtoj verziji standarda (SRPS EN ISO 3656:2013), za rastvaranje uzorka mogu se koristiti izooktan i cikloheksan za koje je poznato da i sami imaju efekat na UV apsorbciju između 260 i 276 nm. Stoga se, u zavisnosti od primenjenog rastvarača, koristi odgovarajuća talasna dužina – za izooktan 268 nm dok za cikloheksan 270 nm. Specifična ekstinkcija (K_{232} , K_{268} , K_{270}) se definiše kao apsorbcija 1 g uzorka, rastvorenog u 100 mL izooktana ili cikloheksana, izmerena u kivetu od 10 mm na specifičnim talasnim dužinama od 232 nm, 268 nm i 270 nm. Ova metoda je brza, jednostavna i zahteva malu količinu uzorka, ali je i manje osetljiva u poređenju sa jodometrijskim određivanjem peroksidnog broja s obzirom da u ovom delu spektra maksimum apsorpcije pokazuju i druge prisutne komponente ulja kao što su karotenoidi (Shahidi i Zhong, 2005). Ono što dodatno ograničava primenu ove metode je i visoka zavisnost od masnokiselinskog sastava – ulja sa visokim sadržajem PUFA pokazivaće brži porast vrednosti K_{232} i K_{270} . Hidroperoksidi MUFA ne mogu biti detektovani što vodi nižim vrednostima sa jedne strane dok, sa druge strane, eventualno prirodno prisutne MK sa konjugovanim dvostrukim vezama mogu uticati na više vrednosti od realnih (Barriuso i sar., 2013). Za razliku od peroksidnog broja, koji je merilo nastalih primarnih proizvoda oksidacije, K_{232} uvek pokazuje tendenciju povećanja tokom oksidacije ulja (Dimić, 2005). Više vrednosti apsorbcije ukazuju da su ulja u većoj meri oksidovana. Promene apsorpcije u UV oblasti osim za određivanje oksidativnog statusa ulja, koriste se i kao kriterijum kvaliteta, čistoće i autentičnosti masti i ulja. Rafinacija izaziva formiranje konjugovanih diena i triena pa povećanje vrednosti K_{232} , K_{268} i K_{270} ukazuje na prisustvo rafinisanih ulja (SRPS EN ISO 3656:2013).

Peroksidi (hidroperoksidi) kao primarni oksidacioni proizvodi su jako nestabilni i podležu razgradnji čija brzina zavisi od uslova sredine. Nastali sekundarni proizvodi (isparljiva, neisparljiva i polimerna jedinjenja) predstavljaju indikatore kasnijih faza oksidacije ulja koji se mogu pratiti preko niza metoda i tehnika.

Anisidinski broj. Razlaganjem hidroperoksida nastaju karbonilna jedinjenja kao sekundarni proizvodi oksidacije (2-enali i 2,4-dienali) koja su nosioci užeglog mirisa ulja. Ova jedinjenja u kiseloj sredini lako reaguju sa *p*-anisidinom gradeći žuto obojene Schiff-ove baze koje apsorbuju u UV oblasti sa maksimumom na 350 nm. Povećanje apsorpcije od strane uzorka ulja rastvorenog u heksanu ili izooktanu, nakon reakcije sa *p*-anisidinom, merilo je sadržaja karbonilnih jedinjenja u uzorku. Ova metoda određivanja sekundarnih proizvoda oksidacije je osetljivija na prisustvo

nezasićenih aldehida koji u odnosu na zasićene grade obojena jedinjenja sa jačom apsorpcijom na primenjenoj talasnoj dužini. Anisidinski broj je pouzdan pokazatelj stepena oksidacije ulja koji ostvaruje jaku korelaciju sa peroksidnim brojem i senzornom ocenom ispitivanog ulja (Shahidi i Zhong, 2005). Iako zakonski ne postoji propisan maksimum Abr kao parametra kvaliteta, pod kvalitetnim rafinisanim uljem smatra se ono koje ima Abr manji od 10, dok je za HPU maksimalna vrednost 5 (Shahidi i Zhong, 2005; Rabrenović, 2017). Abr ukazuje na „oksidativnu prošlost ulja“ pa se zajedno sa peroksidnim brojem, koji predstavlja trenutno oksidativno stanje, koristi za prikazivanje **oksidativne vrednosti (OV)**. OV ili TOTOX broj se odnosi na sadržaj primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije i izračunava se prema jednačini:

$$OV = 2 \times Pbr + Abr$$

TBA (TBARS) test ili test tiobarbiturne kiseline. Za određivanje sadržaja malonilaldehida kao sekundarnog proizvoda oksidacije, primenjuje se test tiobarbiturne kiseline koji se bazira na merenju apsorpcije kompleksa TBA-malonilaldehid na talasnim dužinama 532 – 535 nm. Rezultat se izražava u mg malonilaldehida po kg uzorka (mg MDA/kg). Malonilaldehid nastaje kao proizvod oksidacije polinezasićenih MK, uglavnom oksidacijom linoleinske kiseline, tako da je u uljima sa dominantnim mononezasićenim kiselinama prisutan u zanemarljivim količinama. Reakcija nije strogo specifična jer tiobarbiturna kiselina reaguje i sa drugim prisutnim jedinjenjima dajući proizvode koji su takođe roze obojeni pa test, koji se ranije odnosio na određivanje malonilaldehida danas podrazumeva određivanje svih jedinjenja koja reaguju sa ovom kiselinom – TBARS (eng. *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) (Wąsowicz i sar., 2004; Shahidi i Zhong, 2005). Na formiranje boje utiču i reakcioni uslovi kao što je temperatura, vreme inkubacije, pH vrednost, prisustvo metala i antioksidanasa (Barriuso i sar., 2013). Bez obzira na ograničenja, ova metoda je često u primeni budući da je brza i jednostavna.

Određivanje sadržaja isparljivih jedinjenja. Pored malonilaldehida, kao sekundarni proizvod oksidacije javlja se čitav niz isparljivih jedinjenja koja pripadaju aldehidima, ketonima, alkoholima, niže masne kiseline i ugljovodonici. Ova jedinjenja predstavljaju glavne nosioce neprijatnog ukusa i mirisa ulja kao i hrane koja ga sadrži. Kolorimetrijsko određivanje sadržaja ukupnih karbonilnih jedinjenja zasniva se na merenju apsorpcije derivata karbonilnih jedinjenja. Međutim, neki autori navode da reakcioni uslovi mogu dovesti do razgradnje prisutnih hidroperoksida i na taj način uticati na dobijanje lažnih rezultata (Shahidi i Zhong, 2005). Pored ukupnih karbonilnih jedinjenja, i sadržaj pojedinačnih sekundarnih proizvoda se neretko koristi za procenu oksidativnog statusa ulja. Pojedine isparljive komponente su specifične za određene grupe PUFA, pa je tako propanal indikator oksidacije ω -3 MK, dok su pentanal i heksanal sekundarni proizvodi oksidacije ω -6 MK (Barriuso i sar., 2013). Određivanje sadržaja heksanala, kao jednog od najzastupljenijih sekundarnih proizvoda, moguće je primenom gasne hromatografije (statičke i dinamičke „headspace“ tehnike) (Shahidi i Zhong, 2005).

2.4. Opšte karakteristike ispitivanih biljnih vrsta

2.4.1. Rtanjski čaj (*Satureja montana* L.)

Rtanjski čaj (*planinski čubar, vrijesak*) je višegodišnja biljka iz familije usnatica (Lamiaceae). Pretpostavlja se da naziv roda potiče od latinske reči „satureia“ što se može prevesti kao „trava satira“ jer je nekada korišćen kao afrodizijak (Kišgeci i sar., 2009). Stanište ove biljne vrste su livade i pašnjaci mediteranskog i submediteranskog područja, ali se gaji u celom svetu zbog nezahtevne kultivacije i široke primene u industriji. U upotrebi su herba (*Saturejae herba*) i etarsko ulje (*Saturejae aetheroleum*) (Bezbradica i sar., 2005). Etarsko ulje je bogato fenolnim komponentama kao što su karvakrol i timol. Iako rod *Satureja* i vrsta *S. montana* pokazuju veliku varijabilnost u pogledu hemijskog sastava, ova jedinjenja su zaslužna za karakterističnu aromu

rtanjskog čaja (Dunkić i sar., 2012). Pored navedenih jedinjenja, u sastavu etarskog ulja i ekstrakata sa većim udelom javljaju se i *p*-cimen, γ -terpinen, flavonoidi i triterpeni čiji udeo zavisi od geografskog porekla, ekoloških uslova i vremena sakupljanja (Vidić i sar., 2009; Lakušić i sar., 2011). Analizom hemijskog sastava ekstrakata rtanjskog čaja Četković i sar. (2007) su kao najzastupljenija fenolna jedinjenja naveli katehin, epikatehin i siringinsku kiselinu, dok su Čavar Zeljković i sar. (2015) naveli kao najzastupljenije fenolne kiseline vanilinsku, siriginsku, ferulnu i kafeinsku kiselinu. Ruzmarinska kiselina je pronađena kao najzastupljenija u etanolno-vodenom rastvoru rtanjskog čaja (Vladimir-Knežević i sar., 2014; Generalić Mekinić i sar., 2019), dok su galnu i kafeinsku kiselinu kao dominantnu komponentu fenolnog sastava naveli Silva i sar. (2009). Još u antičko doba je bila poznata lekovitost rtanjskog čaja koji je korišćen kao začim i u obliku čaja za lečenje brojnih oboljenja respiratornog sistema, organa za varenje i urinarnog trakta (Dunkić i sar., 2012).

Rtanjski čaj ima primenu u narodnoj medicini, farmaceutskoj i prehrambenoj industriji, gde se koristi kao začim i prirodni konzervans (Serrano i sar., 2011; Bukvički i sar., 2014; Šojić i sar., 2019a; 2019b). U Tabeli 2.10. dat je spisak literaturnih podataka o biološkoj aktivnosti etarskog ulja i ekstrakata rtanjskog čaja.

Tabela 2.10. Biološka dejstva etarskog ulja i ekstrakata rtanjskog čaja.

Biološko dejstvo	Referenca
Antioksidativno	Kulišić i sar. (2005) ^a ; Četković i sar. (2007) ^b , Čavar i sar. (2008 ^a ; 2013 ^a ; 2015 ^b); Mariutti i sar. (2008) ^b ; Chropová i sar. (2010) ^b ; Serrano i sar. (2011) ^b ; Marin i sar. (2012) ^a ; de Oliveira i sar. (2012) ^a ; Fathi i sar. (2013) ^a ; Miladi i sar. (2013) ^a ; Bukvički i sar. (2014) ^a ; Dawidowicz i Olszowy, (2014) ^a ; Hassanein i sar. (2014) ^b ; Mihajilov-Krstev i sar. (2014) ^a ; Vidović i sar. (2014) ^b ; Vladimir-Knežević i sar. (2014) ^b ; Vradić i sar. (2014) ^b ; Jianu i sar. (2015) ^a ; Kremer i sar. (2015) ^b ; Trifan i sar. (2015) ^a ; Čavar Zeljković i sar. (2015) ^b ; Jokić i sar. (2016) ^a ; Elgndi i sar. (2017) ^{ab} ; Moisa i sar. (2017) ^a ; Aćimović i sar. (2019) ^a ; Gopčević i sar. (2019) ^a ; Šojić i sar. (2019a ^{ab} ; 2019b ^b); Generalić Mekinić i sar. (2019) ^b ; Soldo i sar. (2019) ^b ; Salaj i sar. (2020) ^b ; Stojićević i sar. (2020) ^{ab} ; Stojićević i sar. (2021) ^b
Antimikrobno	Četković i sar. (2007) ^b ; Carramiñana i sar. (2008) ^a ; Čavar i sar. (2008) ^a ; Silva i sar. (2009) ^b ; Damjanović-Vratnica i sar. (2011 ^a ; 2016 ^a); Djenane i sar. (2011a ^a ; 2011b ^a ; 2012 ^a); Nedorostova i sar. (2009 ^a ; 2011 ^a); Oliveira i sar. (2011) ^a ; Serrano i sar. (2011) ^b ; Marin i sar. (2012) ^a ; Miladi i sar. (2013 ^a ; 2016 ^a); Bukvički i sar. (2014) ^a ; Nikolić i sar. (2014); Mihajilov-Krstev i sar. (2014) ^a ; Kremer i sar. (2015) ^b ; Rus i sar. (2015) ^a ; Babaei i sar. (2018) ^a ; Aćimović i sar. (2019) ^a ; Generalić Mekinić i sar. (2019) ^b ; Gopčević i sar. (2019) ^a ; Fratini i sar. (2019) ^a ; Vasiljević i sar. (2019) ^a ; Vitanza i sar. (2019) ^a ; Bulut i sar. (2020) ^a ; Stojićević i sar. (2021) ^b
Antikancerogeno/citotoksično	Miladi i sar. (2013) ^a ; Nikolić i sar. (2014) ^a ; Elgndi i sar. (2017) ^{ab} ; Stojićević i sar. (2021) ^b
Antineurodegenerativno	Silva i sar. (2009) ^b ; Mihajilov-Krstev i sar. (2014) ^a ; Vidović i sar. (2014) ^b ; Vladimir-Knežević i sar. (2014) ^b
Antidijareično	Skočibušić i Bezić, (2003) ^a
Biopesticidno, alelopatsko, repelentno	Rusin i sar. (2016) ^b ; Matković i sar. (2018) ^a ; Ibáñez i Blázquez (2019) ^a ; Navarro-Rocha i sar. (2019) ^a

^aetarsko ulje

^bekstrakt

2.4.2. Bosiljak (*Ocimum basilicum* L.)

Bosiljak (*bosio*, *bosilje*) je jednogodišnja biljka iz porodice Lamiaceae. Pripada rodu *Ocimum* koji obuhvata oko 150 vrsta među kojima je *O. basilicum* jedna od najznačajnijih. U okviru vrste *O. basilicum* postoji veći broj varijeteta koji se međusobno razlikuju po morfološkim

karakteristikama, kao i po sadržaju i kompoziciji etarskog ulja. Vodi poreklo iz Indije i smatra se da su ga na teritoriju Evrope doneli monasi u XII veku gde se ubrzo odomaćio i našao upotrebu kao lekovita, začinska, ukrasna i obredna biljka (Jelačić i sar., 2011). Od bosiljka se koriste nadzemni deo biljke u cvetu (*Basilici herba*) i etarsko ulje (*Basilici aetheroleum*). Sadržaj etarskog ulja u herbi varira između 0,2 – 2 % i u zavisnosti od varijeteta kao glavne komponente se izdvajaju linalol, metil havikol (estragol), metil cinamat, kamfor, geraniol i eugenol (Carović-Stanko i sar., 2010, Pushpangadan i George, 2012). Glavne komponente čine i do 85 % sastava etarskog ulja (Chouhan i sar., 2017). Najzastupljenija jedinjenja i njihov relativni odnos zaslužni su za snažnu biološku aktivnost ali se ne može umanjiti uticaj minornih komponentata prisutnih u etarskom ulju (Carović-Stanko i sar., 2010). Hemijski sastav i biološka aktivnost bosiljka je dobro proučena. Pregled literaturnih navoda o biološkim dejstvima etarskog ulja i ekstrakata bosiljka je dat u Tabeli 2.11. Biološka aktivnost ekstrakata herbe bosiljka potiče od neisparljivih komponenti, u prvom redu od flavonoida (rutin, epikatehin, kvercetin) i fenolnih kiselina od kojih su u najvećoj obilnosti prisutne galna, vanilinska, ruzmarinska, hlorogenska i kafeinska kiselina (Benedec i sar., 2015; Güez i sar., 2017; Zarlaha i sar., 2017; Generalić Mekinić i sar., 2019; Rezzoug i sar., 2019).

Iako se nekada gajio kao ukrasna biljka, potvrđivanjem brojnih bioloških dejstava bosiljak je našao široku primenu u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. Prijatna aroma koja potiče od linalola je cenjena u industriji parfema. Sastojak je mnogih čajnih mešavina a ima primenu i u tradicionalnoj medicini i homeopatiji kao karminativ, spazmolitik, sedativ, laktagog i tonik (Beatović, 2013).

Tabela 2.11. Biološka dejstva etarskog ulja i ekstrakata bosiljka.

Biološko dejstvo	Referenca
Antioksidativno	Anwar i sar. (2006) ^b ; Politeo i sar. (2006) ^a ; Máriássyová (2006) ^b ; Shan i sar. (2007) ^b ; Hussain i sar. (2008) ^a ; Mariutti i sar. (2008) ^b ; Chrpová i sar. (2010) ^b ; Benedec i sar. (2012) ^b ; Veronezi i sar. (2014) ^b ; Vidović i sar. (2012) ^b ; Cardoso-Ugarte i sar. (2013) ^a ; Teixeira i sar. (2013) ^a ; Ben-Ali i sar. (2014) ^b ; Dawidowicz i Olszowy, (2014) ^a ; Vlase i sar. (2014) ^b ; Benedec i sar. (2015) ^b ; Tewari i sar. (2015) ^b ; Carocho i sar. (2016) ^b ; Filip i sar. (2016) ^{ab} ; (2017) ^b ; Fitsiou i sar. (2016) ^a ; Elgndi i sar. (2017) ^{ab} ; Stanojević i sar. (2017) ^a ; Coelho i sar. (2018) ^{ab} ; Antić i sar., (2018) ^a ; Rezzoug i sar. (2019) ^{ab} ; Güez i sar. (2017) ^b ; Warsi i Sholichah (2017) ^b ; Arawande, (2018) ^b ; Duletić-Laušević i sar. (2019); Generalić Mekinić i sar. (2019) ^b ; Stojićević i sar. (2020) ^{ab}
Antimikrobno	Adigüzel i sar. (2005) ^b ; Shan i sar. (2007) ^b ; Hussain i sar. (2008) ^a ; Duman i sar. (2010) ^a ; Soković i sar. (2010) ^a ; Dimić i sar. (2012b) ^b ; Stefan i sar. (2013) ^a ; Teixeira i sar. (2013) ^a ; Araújo i sar. (2014) ^b ; Vlase i sar. (2014) ^b ; Benedec i sar. (2015) ^b ; Silva i sar. (2015) ^a ; Carocho i sar. (2016) ^b ; Fitsiou i sar. (2016) ^a ; Chouhan i sar. (2017) ^a ; Sakkas i Papadopoulou, (2017) ^a ; Stanojević i sar. (2017) ^a ; Baldim i sar. (2018) ^a ; Generalić Mekinić i sar. (2019) ^b ; Rezzoug i sar. (2019) ^{ab} ; Bulut i sar. (2020) ^a
Antiinflamatorno	Bayala i sar. (2014) ^a ; Güez i sar. (2017) ^b
Antikancerogeno/citotoksično	Bayala i sar. (2014) ^a ; Zarlaha i sar. (2014) ^{ab} ; Carocho i sar. (2016) ^b ; Fitsiou i sar. (2016) ^a ; Güez i sar. (2017) ^b ; Elgndi i sar. (2017) ^{ab} ; Rezzoug i sar. (2019) ^{ab}
Antineurodegenerativno	Coelho i sar. (2018) ^{ab} ; Duletić-Laušević i sar. (2019)
Radioprotektivno	Farag (2013) ^b
Hepatoprotektivno	Carocho i sar. (2016) ^b
Sedativno / antidepresivno	Tewari i sar. (2015) ^b ; Hirai i Ito (2018) ^a
Larvicidno, repelentno	Murugan i sar. (2007) ^b ; Wasfy i sar. (2018) ^a
Antigerminativno	De Almeida i sar. (2010) ^a

^aetarsko ulje

^bekstrakt

2.4.3. Korijander (*Coriandrum sativum* L.)

Korijander (*kišnec*, *poprič*) je jednogodišnja začinska, medonosna i lekovita biljka iz porodice Apiaceae (Iqbal i sar., 2018). Upotrebu nalaze svi delovi biljke (plod, stabljika, list i koren) koji se znatno razlikuju po aromi. Plod korijandera (*Coriandri fructus*) i etarsko ulje (*Coriandri aetheroleum*) nalaze najveću primenu. Veličina ploda zavisi od sorte i uslova gajenja, pa se tako razlikuju krupnozrni ili marokanski (*C. sativum* L. var. *vulgare*) i sitnozrni korijander (*C. sativum* L. var. *microcarpum* D.C.) koji se gaji u većini zemalja i sadrži više etarskog ulja od krupnozrnog. Sadržaj etarskog ulja kod krupnozrnih sorti korijandera se kreće između 0,1 i 0,5 %, dok sitnozrne sorte sadrže 0,8 – 2,1 % (Wei i sar., 2019). Etarsko ulje je bezbojna do svetložuta tečnost aromatičnog i ljutog ukusa. Miris etarskog ulja je uslovljen hemijskim sastavom, pa kod nezrelih delova gde dominiraju alifatični aldehidi *trans*-2-decenal, *trans*-2-dodecenal i *trans*-2-decenol, etarsko ulje ima miris na stenice (Aćimović, 2014). Glavna komponenta etarskog ulja izolovanog iz zrelih plodova korijandera je monoterpeni alkohol linalol (koriandrol) koji može biti zastupljen u širokom opsegu (19,8 – 82 %) (Iqbal i sar., 2018). Sadržaj linalola kao i drugih bioaktivnih komponentata etarskog ulja može znatno varirati u zavisnosti od uslova gajenja, metoda ekstrakcije i stepena zrelosti ploda. Msaada i sar. (2007) su uočili da se sazrevanjem ploda povećava udeo linalola, a istovremeno smanjuje sadržaj geranil-acetata koji je najzastupljeniji u nezrelim plodovima. U hemijskom sastavu etarskog ulja mogu se naći i γ -terpinen, *p*-cimen, limonen, α -pinen i kamfor. Pored etarskog ulja, plod korijandera sadrži 12 – 25 % lipida u čijem sastavu dominira petroselinska kiselina (Aćimović, 2014). Barros i sar. (2012) navode derivate cimetne kiseline (hlorogensku, kafeinsku, *p*-kumarnu i feruličnu kiselinu) kao jedine fenolne komponente ploda korijandera. Hemijskom analizom etanolnog ekstrakta ploda korijandera Rajeshwari i sar. (2012) su pored hlorogenske i kafeinske kiseline detektovali i rutin koji je bio i najzastupljeniji.

Tabela 2.12. Biološka dejstva etarskog ulja i ekstrakata korijandera.

Biološko dejstvo	Referenca
Antioksidativno	Políteo i sar. (2006) ^a ; Mariutti i sar. (2008) ^b ; Samojlik i sar. (2010) ^a ; Darughe i sar. (2012) ^a ; Pandey i sar. (2012) ^b ; Christova-Bagdassarian i sar. (2013a ^b ; 2013b ^b ; 2014 ^b); Gupta (2013) ^b ; Przygodzka i sar. (2014) ^b ; Dima i sar. (2014) ^a ; Bag i Chattopadhyay, (2015) ^a ; Farah i sar. (2015) ^b ; Duarte i sar. (2016) ^a ; Martins i sar. (2016) ^b ; Zeković i sar. (2015 ^{ab} ; 2016 ^{b*}); Petrović (2016) ^b ; Elgndi i sar. (2017) ^{ab} ; Ilić i sar. (2017) ^a ; Msaada i sar. (2017) ^b ; Saleem i sar. (2017) ^b ; Sghaier i sar. (2017) ^a ; Kavitha i Krithika, (2018) ^b ; Ksouda i sar. (2018) ^b ; Šojić i sar. (2019c) ^a ; Kačániová i sar. (2020) ^a
Antimikrobno	Klaus i sar. (2009) ^a ; Duman i sar. (2010) ^a ; Cao i sar. (2012) ^b ; Teixeira i sar. (2013) ^a ; Dima i sar. (2014) ^a ; Bag i Chattopadhyay, (2015) ^a ; Bazargani i Rohloff, (2015) ^{ab} ; Farah i sar. (2015) ^b ; Duarte i sar. (2016) ^a ; Petrović (2016) ^b ; Khalil i sar. (2018) ^a ; Kačániová i sar. (2020) ^a ; Kavitha i sar. (2020) ^b
Antikancerogeno/citotoksično	Bag i Chattopadhyay, (2015) ^a ; Elgndi i sar. (2017) ^{ab}
Antineurodegenerativno	Yeom i sar. (2012) ^a
Hepatoprotektivno	Samojlik i sar. (2010) ^a
Insekticidno / Larvicidno	Yeom i sar. (2012) ^a

^aetarsko ulje

^bekstrakt

Mleveni plod korijandera se često nalazi u sastavu začinskih mešavina i ima široku primenu u kulinarstvu. U narodnoj medicini se koristi za lečenje organa za varenje u cilju sprečavanja grčeva, nadimanja i za stimulisanje lučenja digestivnih enzima (Aćimović i sar., 2014). Etarsko ulje nosi oznaku GRAS pa se smatra potpuno sigurnim za primenu u prehrambenoj industriji (Burdock i Carabin, 2009). Kao začim, konzervans ili aduvant ima primenu u proizvodnji jakih alkoholnih pića, marinada, umaka, turšija, žvakaćih guma kao i u pekarskoj, mesnoj i industriji konditorskih proizvoda. U neprehrambene svrhe se koristi u aromaterapiji, parfemskoj, farmaceutskoj i

duvanskoj industriji (Aćimović i sar., 2014). Pregled literaturnih navoda koji se odnose na ispitivanje biološke aktivnosti korijandera je dat u Tabeli 2.12.

2.4.4. Anis (*Pimpinella anisum* L.)

Anis (*anison*, *anason*) je jednogodišnja biljka iz familije Apiaceae koja vodi poreklo iz Male Azije, Egipta i Grčke (Orav i sar., 2008). U upotrebi su plod (*Anisi fructus*) i etarsko ulje anisa (*Anisi aetheroleum*). U hemijskom sastavu ploda anisa nalazi se 1,5 – 6 % etarskog ulja i 8 – 11 % lipida u kojima dominira oleinska kiselina. Najzastupljenija komponenta etarskog ulja je *trans*-anetol čija je tačka topljenja 22,5 °C, zbog čega etarsko ulje anisa očvrzne već na 15 do 20 °C (Aćimović, 2015). U hemijskom sastavu etarskog ulja mogu se naći i estragol, γ -himahalen, *p*-anisaldehid i *cis*-anetol.

Tabela 2.13. Biološka dejstva etarskog ulja i ekstrakata anisa.

Biološko dejstvo	Referenca
Antioksidativno	Gülçin i sar. (2003) ^b ; Tepe i sar. (2006); Singh i sar. (2008) ^{ab} ; Amany i sar. (2012) ^a ; Przygodzka i sar. (2014) ^b ; Christova-Bagdassarian i sar. (2013a) ^b ; 2013b ^b ; 2014 ^b); Fitsiou i sar. (2016) ^a ; Martins i sar. (2016) ^b ; Petrović (2016) ^b ; Ilić i sar. (2017) ^a ; Bettaieb Rebey i sar. (2018) ^a ; Ksouda i sar. (2018) ^b ; Rebey i sar. (2019) ^b ; Stojićević i sar. (2020) ^{ab}
Antimikrobno	Gülçin i sar. (2003) ^b ; Tepe i sar. (2006); Klaus i sar. (2009) ^a ; Amany i sar. (2012) ^a ; Christova-Bagdassarian i sar. (2013a) ^b ; Islam i sar. (2016) ^b ; Fitsiou i sar. (2016) ^a ; Foroughi i sar. (2016) ^b ; Petrović (2016) ^b ; Radaelli i sar. (2016) ^a ; Khalil i sar. (2018) ^a ; Mahdavi i sar. (2018) ^a ; Alrasheid i sar. (2018) ^b ; Khanjari i sar. (2019) ^a ; Ghazy i sar. (2021) ^b
Antikancerogeno/citotoksično	Fitsiou i sar. (2016) ^a
Biopesticidno, alelopatsko, repellentno	Benelli i sar. (2017) ^a ; Ibáñez i Blázquez, (2019) ^a ; Hashemi (2018) ^a
Antigerminativno	De Almeida i sar. (2010) ^a

^aetarsko ulje

^bekstrakt

Najzastupljenije fenolne komponente u hemijskom sastavu ekstrakta anisa su derivati cimetine kiseline (hlorogenska i neohlorogenska kiselina) i derivati flavona (apigenina i luteolina) (Martins i sar., 2016). Bettaieb Rebey i sar. (2018) su u svojim istraživanjima kao najzastupljenije fenolne komponente etanolnog ekstrakta anisa naveli ruzmarinsku kiselinu, larcitrin, cirsmartin, kvercetin i rutin. Prema istim istraživačima, naringin je bio najzastupljeniji flavonoid u ekstraktu potpuno zrelog ploda anisa poreklom iz Srbije (Rebey i sar., 2019). U istom istraživanju je navedeno da sa sazrevanjem ploda anisa raste i koncentracija kumarina. Anis nalazi primenu u medicini, parfemskoj i prehrambenoj industriji. U narodnoj medicini se koristi za lečenje stomačnih, respiratornih i reproduktivnih bolesti kao karminativ, ekspektorans, stomahik, spazmolitik, afrodisijak, laktagog i emenagog (Mišan, 2013). U nekim zemljama se tradicionalno koristi za lečenje neuroloških bolesti a istraživanjima je dokazano sedativno, antiepileptično i analgetičko dejstvo etarskog ulja anisa (Samojlik i sar., 2012). U prehrambenoj industriji se primenjuje u proizvodnji alkoholnih i bezalkoholnih pića, bombona i sladoleda kao korigens mirisa i ukusa i kao začim. Pregled literaturnih navoda koji se odnose na ispitivanje biološke aktivnosti anisa dat je u Tabeli 2.13.

2.4.5. Kim (*Carum carvi* L.)

Kim (*divlji kumin*, *kimin*) je dvogodišnja biljka iz familije Apiaceae. U prirodi se javlja na planinskim livadama i visoravnima. Kim sakupljen iz spontane flore zaostaje po kvalitetu za kultivisanim i količinski ne zadovoljava potrebe industrije. Od kima su u upotrebi plod (*Carum fructus*) i etarsko ulje (*Carvi aetheroleum*). Plod kima ima jak aromatičan miris i ukus zbog čega je jako cenjen u pekarskoj i konditorskoj industriji. Sadrži 3 – 7 % etarskog ulja koje je bezbojno do

bledožute boje, prijatnog i aromatičnog mirisa. Karakterističan miris etarskog ulja potiče od karvona koji je zastupljen sa 50 – 65 %. U hemijskom sastavu etarskog ulja sa većim udelom je zastupljen i limonen (30 – 45 %) dok su β -mircen, dihidrokarvon i karveol prisutni ali u znatno manjem procentu (Raal i sar., 2012).

Tabela 2.14. Biološka dejstva etarskog ulja i ekstrakata kima.

Biološko dejstvo	Referenca
Antioksidativno	Bamdad i sar. (2006) ^b ; Shan i sar. (2007) ^b ; Wojdyło i sar. (2007) ^b ; Mariutti i sar. (2008) ^b ; Fatemi i sar. (2011) ^a ; Samojlik i sar. (2010) ^a ; Pandey i sar. (2012) ^b ; Christova-Bagdassarian i sar. (2013a ^b ; 2013b ^b ; 2014 ^b); Krkić i sar. (2013) ^a ; Vallverdú-Queralt i sar. (2015) ^b ; Assami i sar. (2016) ^b ; Trifan i sar. (2016) ^a ; Ilić i sar. (2017) ^a ; Saleem i sar. (2017) ^b ; Sghaier i sar. (2017) ^a ; Stojićević i sar. (2020) ^{ab}
Antimikrobno	Shan i sar. (2007) ^b ; Simić i sar. (2008) ^a ; Klaus i sar. (2009) ^a ; Šarić i sar. (2009) ^b ; Razzaghi-Abyaneh i sar. (2009) ^a ; Dimić i sar. (2012b) ^b ; Seidler-Łożykowska i sar. (2013) ^a ; Kwiatkowski i sar. (2015;2017) ^a ; Khalil i sar. (2018) ^a
Antikancerogeno/citotoksično	Johri, (2010) ^{ab}
Antidijabetično	Saleem i sar. (2017) ^b
Antineurodegenerativno	Yeom i sar. (2012) ^a
Hepatoprotektivno/ hepatotoksično	Samojlik i sar. (2010) ^a
Insekticidno / Larvicidno, repelentno	Lopez i sar. (2008) ^a ; Yeom i sar. (2012) ^a ; Wasfy i sar. (2018) ^a ; Synowiec i sar. (2019) ^a
Antigerminativno	De Almeida i sar. (2010) ^a

^aetarsko ulje

^bekstrakt

Osim etarskog ulja, plod kima sadrži i 10 – 16 % lipida u čijem sastavu dominiraju oleinska, linolna i petroselininska kiselina (Mahboubi, 2019). Hemijskom analizom ploda kima, Wojdyło i sar. (2007) su kao glavne fenolne kiseline identifikovali kafeinsku, neohlorogensku i feruličnu kiselinu a iz klase flavonoida izoramnetin. Vallverdú-Queralt i sar. (2015) su kao najzastupljenije fenolne komponente ekstrakta ploda kima identifikovali hlorogensku, kafeinsku, *p*-kumarnu kiselinu i u manjim koncentracijama katehin i feruličnu kiselinu.

Kim i etarsko ulje kima se koriste u različitim granama prehrambene industrije kao začini, konzervansi i korigens. Etarsko ulje i ekstrakti nalaze primenu i u farmaceutskoj, kozmetičkoj i parfemskoj industriji kao i u medicini (Mahboubi, 2019). Deluju kao karminativ, holagog, stomahik, spazmolitik i diuretik. Nije zanemarljiva upotreba kima i u oblasti poljoprivrede gde je našao primenu kao stočna hrana u vidu zelene mase (Kišgeci i sar., 2009). Etarsko ulje i njegove glavne komponente imaju potvrđeno antigerminativno i fungistatičko dejstvo (De Almeida i sar., 2010) dok novija istraživanja ukazuju i na mogućnost njihove primene u biološkoj borbi protiv korova i štetočina (Synowiec i sar., 2019). Spisak literaturnih podataka o aktivnosti etarskih ulja i ekstrakata kima dat je u Tabeli 2.14.

2.5. Primena lekovitih i začinskih biljaka u prehrambenoj industriji

Primena lekovitih i začinskih biljaka u cilju odlaganja oksidativnih promena u hrani je posebno dobila na značaju otkako postoji opravdana potreba za smanjenjem unosa ili potpunom eliminacijom sintetičkih antioksidanasa. Mnogobrojne studije su pokazale da etarska ulja i ekstrakti biljaka porodice Lamiaceae i Apiaceae, mogu imati obećavajuću primenu kao antioksidativni i antimikrobni agensi u prehrambenoj industriji. Kada su u pitanju jestiva biljna ulja, predmet ispitivanja velikog broja studija bila su rafinisana ulja s obzirom da ovaj tip ulja ima širu primenu i veći obim potrošnje. Međutim, kako je poslednjih decenija zabeležen porast potrošnje HPU,

istraživanja su usmerena ka oksidativnoj stabilizaciji ovog tipa ulja i povećanju održivosti uz dodatak etarskih ulja i ekstrakata dobijenih primenom različitih metoda, rastvarača i uslova ekstrakcije. Ispitivanja se sprovode u različitim uslovima skladištenja ulja uz variranje parametra kao što su: vreme i temperatura skladištenja, prisustvo kiseonika i svetlosti, tip ambalaže, a uz dodatak etarskih ulja i ekstrakata u različitim koncentracijama. Pored toga što u većoj ili manjoj meri inhibiraju proces oksidacije, ovi prirodni antioksidansi utiču i na senzorni kvalitet na ovaj način aromatizovanog ulja. Stoga je od posebne važnosti da ispitivanje efekta stabilizacije uključuje i senzornu ocenu tako dobijenog proizvoda.

2.5.1. Primena odabranih lekovitih i začinskih biljaka u cilju stabilizacije jestivih biljnih ulja i masti

Hashemi i sar. (2012) su ispitivali uticaj različitih koncentracija etarskog ulja *Satureja khuzestanica* na oksidativnu stabilnost rafinisanog suncokretovog ulja u toku 11 dana zagrevanja ulja na 60 °C. U poređenju sa sintetičkim antioksidansom BHA, koji je dodat u propisanim koncentracijama, pokazalo se da sve primenjene koncentracije etarskog ulja imaju bolji antioksidativni efekat. Etarsko ulje *S. hortensis* se pokazalo kao efikasan inhibitor oksidativnih promena u ulju šafranike u uslovima ubrzanog starenja (Fathi i sar., 2013). Praćenje količine nastalih primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije u toku 12 dana pokazalo je da etarsko ulje usporava proces oksidacije u svim primenjenim koncentracijama. Uticaj etarskog ulja *S. hortensis* su ispitivali i Dolati i sar. (2016). Ovi autori su pratili kako etarska ulja dodata rafinisanom sojinom ulju pri različitim koncentracijama, temperaturi i vremenu skladištenja utiču na indukcioni period određen Rancimat testom, peroksidni i kiselinski broj i na izmene senzornih karakteristika ulja. Etarsko ulje se pokazalo kao efikasni inhibitor oksidativnih promena, a koncentracija od 0,4 % kao najefikasnija kada je u pitanju indukcioni period, kiselinski broj i kao najprihvatljivija sa stanovišta senzorne analize. Primenom Rancimat testa, Kulišić i sar. (2005) su ispitivali uticaj etarskih ulja pet biljnih vrsta porodice Lamiaceae (uključujući i vrste *S. montana* i *S. cuneifolia*), kao i njihovih frakcija na oksidativnu stabilnost svinjske masti. U odnosu na kontrolni uzorak masti bez antioksidanasa, etarsko ulje i sve frakcije etarskog ulja vrste *S. montana* ostvarili su blag porast indukcionog perioda dok su etarsko ulje i ugljenohidratna frakcija vrste *S. cuneifolia* ostvarili prooksidativni efekat. U poređenju sa uzorcima masti kojima su dodati BHT, BHA, askorbinska kiselina i α -tokoferol, svi uzorci sa etarskim uljima i njihovim frakcijama su imali značajno kraći indukcioni period. Timol i karvakrol, glavne komponente biljnih vrsta koje su ostvarile najizraženiji antioksidativni efekat (*Origanum* sp., *Thymus* sp. i *S. montana*), imali su blag uticaj na produženje indukcionog perioda masti što je objašnjeno visokom isparljivošću ovih komponenata na primenjenoj temperaturi. Uticaj dodatka herbe *S. kitaibelii* na održivost rafinisanog suncokretovog i maslinovog ulja u uslovima različite temperature čuvanja, ispitivali su Salaj i sar. (2020) i došli do zaključka da ova biljka, kao bogat izvor fenolnih jedinjenja, predstavlja moćan inhibitor lipidne oksidacije pogotovo kada su uzorci ulja izloženi visokim temperaturama. Kamkar i sar. (2014) su primenili metanolni i etanolni ekstrakt *S. hortensis* u cilju stabilizacije sojinog ulja u uslovima ubrzanog starenja. Formiranje primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije je bilo najmanjeg intenziteta u slučaju uzorka ulja sa metanolnim ekstraktom ove biljke pri koncentraciji od 400 ppm čiji je efekat uporediv sa BHT. Etanolni ekstrakt takođe je inhibirao proces oksidacije ali ne efikasno kao što je to slučaj sa metanolnim. Stabilnost suncokretovog ulja sa dodatkom etanolnih ekstrakata *Ocimum basilicum* i *S. hortensis* na temperaturi od 100 °C ispitivale su Marinova i Yanishlieva (1997). Ekstrakt *S. hortensis* se pokazao kao efikasan u suzbijanju oksidativnih promena dok ekstrakt bosiljka nije imao stabilizujući efekat. Antioksidativni kapacitet vodenih ekstrakata lekovitog i začinskog bilja iz porodica Lamiaceae, Apiaceae i Teaceae, kao i njihov uticaj na redukciju oksidativnih promena u svinjskoj masti ispitivali su Chrpová i sar. (2010). Ekstrakti su pokazali različit antioksidativni efekat u zavisnosti od primenjene metode praćenja procesa oksidacije s obzirom da su u pitanju različite reakcione sredine i tip reakcija. Kao najefikasniji inhibitor procesa oksidacije svinjske masti pokazali su se ekstrakt žalfije (*Salvia officinalis*), majorana (*Origanum majorana*) i grčkog origana (*Origanum heracleoticum*). Ekstrakt rtanjskog

čaja (*S. montana*) je pokazao umeren inhibitorski efekat dok je učinak ekstrakta ispitivanog varijeteta bosiljka (*O. basilicum* var. *compacto*) bio zanemarljiv u poređenju sa drugim biljkama.

Ben-Ali i sar. (2014) su ispitali oksidativnu stabilnost rafinisanog suncokretovog ulja kome je dodat metanolni ekstrakt bosiljka (*O. basilicum*) u odnosu na BHT. Nakupljanje primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije ulja uspešno su inhibirale više koncentracije ekstrakta a autori su naveli da ekstrakt bosiljka u koncentraciji od 200 do 500 ppm ima isti efekat kao primenjeni sintetički antioksidansi. Stabilizujući efekat ekstrakta bosiljka potvrdili su i Veronezi i sar. (2014). Ova grupa autora je ispitala uticaj etanolnog ekstrakta bosiljka, TBHQ i njihove smeše na oksidativnu stabilnost sojinog ulja na temperaturi od 180 °C. U toku 20 h izlaganja visokoj temperaturi, uzorak ulja kome je dodat ekstrakt bosiljka bio je najstabilniji prema termooksidativnim promenama, imao je najmanji gubitak α -tokoferola i najniže vrednosti ukupnih polarnih komponenata. Sinergistički efekat ekstrakta bosiljka i TBHQ u ovim uslovima nije zapažen. Uticaj etanolnog ekstrakta bosiljka na oksidativnu stabilnost suncokretovog i sojinog ulja bio je deo istraživanja koje je sprovedla Máriássyová (2006). Ekstrakt bosiljka je pokazao najviše vrednosti zaštitnog faktora pri koncentraciji od 2 mg/kg ulja za oba testirana ulja, dok su više koncentracije vodile smanjenu ovog pokazatelja, pa čak ispoljile i proooksidativni efekat. Postupkom maceracije herbe odabranih tunižanskih začina, dobijeno je aromatizovano ekstra devičansko maslinovo ulje koje je podvrgnuto zagrevanju na 60 i 130 °C u cilju ispitivanja efekta upotrebljenih začina na oksidativnu stabilnost (Ayadi i sar., 2009). Stepennastalih oksidativnih promena bio je najizraženiji u slučaju uzorka sa bosiljkom iako je ovaj uzorak inicijalno imao najviši sadržaj fenolnih komponenata. Uzorak aromatizovan ruzmarinom je pokazao najjaču otpornost prema oksidativnim promenama i najmanji gubitak hlorofila, karotenoida i fenola u toku perioda ispitivanja.

Aćimović i sar. (2017) su ispitali uticaj etarskog ulja kima, anisa i korijandera na oksidativnu stabilnost HPU semenki bundeve izloženih temperaturi od 70 °C u toku 20 dana. Rezultati ove studije su pokazali da je etarsko ulje kima najefikasnije u stabilizaciji. Etarska ulja anisa i korijandera u nižim koncentracijama su imala slab antioksidativni efekat dok su se pri višim koncentracijama ponašala kao proooksidansi. Odsustvo antioksidativnog efekta etarskog ulja korijandera potvrđeno je i od strane Sghaier i sar. (2017) koji su ispitali uticaj dodatka ovog etarskog ulja na termooksidativne promene u rafinisanom ulju repice u uslovima višekratnog zagrevanja ulja na 180 °C. Sa druge strane, pozitivan efekat dodatka etarskog ulja anisa rafinisanom suncokretovom ulju primenom Rancimat testa na 100 °C, izvestili su Amany i sar. (2012). Ovde se mora naglasiti da su glavne komponente hemijskog sastava etarskog ulja bile linalol, eugenol i 1,8-cineol, po čemu se testirani uzorak etarskog ulja razlikovao od standardnog u kom se kao glavna komponenta izdvaja *trans*-anetol. Stabilizaciju HPSU dodatkom etanolnog ekstrakta ploda korijandera ispitali su Farah i sar. (2015). Dobijeni rezultati ukazuju da se postignuti antioksidativni efekat statistički značajno ne razlikuje od efekta BHT i da prema svim praćenim parametrima (peroksidni, anisidinski i tiobarbiturni broj) ulje sa ekstraktom korijandera ima znatno niže vrednosti ovih pokazatelja u odnosu na ulje bez ikakvog aditiva. Sa druge strane, Cordeiro i sar. (2013) su utvrdili da etanolni ekstrakt korijandera dodat HPU soje nema stabilizujući efekat. Uticaj etarskog ulja korijandera na oksidativnu stabilnost rafinisanog suncokretovog ulja u uslovima ubrzanog starenja na temperaturi od 65 °C u toku 24 dana, pratili su Wang i sar. (2018). Ovi autori su došli do zaključka da etarsko ulje korijandera, pored toga što u najvišoj primenjenoj koncentraciji (1200 ppm) povećava održivost ulja, takođe ispoljava i sinergističko dejstvo sa TBHQ. U cilju aromatizacije devičanskog maslinovog ulja plodom kima, Assami i sar. (2016) su primenili klasičnu maceraciju uljem i maceraciju pomoću ultrazvuka. Ispitivana je i kinetika ekstrakcije glavnih komponenata ploda kima (karvona i limonena) koji su nosioci antioksidativnog dejstva i pokazalo se da je ekstrakcija ovih komponenata daleko brža i potpunija u slučaju primene ultrazvuka. Ovo je takođe rezultovalo i dužim indukcionim periodom određenim Rancimat metodom na 120 °C (6,39 h) u odnosu na kontrolni uzorak (3,45 h) i uzorak aromatizovan

klasičnom maceracijom (4,53 h). Uticaj dodatka metanolnog ekstrakta i usitnjenog ploda anisa na stabilnost HPU soje ispitivana je od strane Womeni i sar. (2013). U uslovima ubrzanog starenja uzoraka, samo usitnjen plod je značajnije inhibirao formiranje primarnih proizvoda oksidacije i uticao na smanjenje jednog broja.

2.5.2. Primena odabranih lekovitih i začinskih biljaka u drugim granama prehrambene industrije

Etarsko ulje rtanjskog čaja i ekstrakti dobijeni superkričnom ekstrakcijom upotrebljeni su u cilju ispitivanja antioksidativne i antimikrobne stabilnosti svežih svinjskih kobasica i barenih kotleta (Šojić i sar., 2019a; Jokanović i sar., 2020). Antioksidativno i antimikrobno dejstvo su ispoljili i etarsko ulje i ekstrakti, ali su se sa stanovišta senzornog ispitivanja, kao prihvatljiviji uzorci, pokazali oni kojima su dodati ekstrakti s obzirom da aroma rtanjskog čaja nije u toj meri intenzivna kao u slučaju uzoraka kojima je dodato etarsko ulje. Ispitujući mogućnost primene etarskog ulja rtanjskog čaja u cilju inhibicije lipidne oksidacije i promene boje u toku skladištenja kobasica tipa mortadela, de Oliveira i sar. (2012) su potvrdili antioksidativnu aktivnost rtanjskog čaja, ali i došli do zaključka da etarsko ulje dodato u višim koncentracijama, čak i u prisustvu nitrita, negativno utiče na boju. Girova i sar. (2010) su testirali uticaj etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka na izolovane psihrotrofne bakterije pokvarenog mesa. Najveće zone inhibicije disk dilucionom metodom i najniže vrednosti za minimalnu inhibitornu i baktericidnu koncentraciju pokazala su etarska ulja biljaka familije Lamiaceae – origano, majčina dušica i rtanjski čaj. U cilju sprečavanja rasta bakterije *Clostridium perfringens* tip A u kobasicama tipa mortadele, de Oliveira i sar. (2011) su upotrebili etarsko ulje rtanjskog čaja samostalno ili u kombinaciji sa natrijum-nitritom. Ova studija je pokazala da etarsko ulje rtanjskog čaja ostvaruje sinergističko dejstvo sa nitritima i uspešno suzbija rast testirane bakterije, ali da etarsko ulje samostalno nije dovoljno efikasno u suzbijanju ovog patogena. Antilisterijski efekat etarskog ulja rtanjskog čaja i vrste *S. horvatii* je potvrđen u svežem mlevenom svinjskom i junećem mesu kao i junetini mariniranoj u crvenom vinu (Djenane i sar., 2011a; Bukvički i sar., 2014; Vasiljević i sar., 2019). Testirana etarska ulja su ostvarila zapažen antimikrobni efekat i u kombinaciji sa drugim etarskim uljima sinergističko dejstvo. Kada je u pitanju senzorna analiza, prema Vasiljević i sar. (2019), uzorci sa višim koncentracijama etarskog ulja rtanjskog čaja (0,125 % i 0,25 %) su obeleženi kao neprihvatljivi ili na granici prihvatljivosti zbog veoma izraženog mirisa i ukusa, dok Djenane i sar. (2011a) navode da je dodatak etarskog ulja u količini od 0,06 % pozitivno uticao na održanje svežeg mirisa i boje mesa. Antimikrobni efekat etarskog ulja izolovanog iz rtanjskog čaja i vrste *S. hortensis* prema patogenima kao što su *Campylobacter jejuni* CECT 7572, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* O157:H7 potvrđen je u slučaju svežeg pilećeg i junećeg mesa i to u koncentracijama koje su se pokazale kao prihvatljive sa aspekta sensorike (Djenane i sar., 2011b, Djenane i sar., 2012).

Uticaj etanolnog ekstrakta bosiljka (*O. basilicum*) i maginje (*Arbutus unedo*) na nutritivne karakteristike i mogućnost primene kao prirodnog konzervansa u proizvodnji hleba, ispitivali su Takwa i sar. (2018). Hleb sa dodatkom prirodnih antioksidanasa, a pogotovo hleb kome je dodat ekstrakt bosiljka, imao je viši antioksidativni kapacitet u odnosu na onaj kome su dodati askorbinska kiselina i natrijum-sorbat. Carocho i sar. (2016) su ispitivali uticaj dodatka dekokta i suvog usitnjenog lista bosiljka na nutritivne pokazatelje kvaliteta, boju i očuvanje nezasićenih MK i proteina portugalskog ovčjeg sira „Serra da Estrela“. Biološka aktivnost bosiljka je takođe ispitana, a antimikrobni i antioksidativni potencijal su potvrđeni praćenjem promena u toku šest meseci. Dekokt bosiljka je inhibirao lipidnu oksidaciju, ali i uticao na dehidrataciju sira u toku šest meseci. Sa druge strane, dodatak suvih listova bosiljka je očekivano efektivnije uticao na boju proizvoda. Dodatak etanolnog ekstrakta bosiljka pululanskom filmu sa ciljem produženja roka skladištenja jabuka u uslovima snižene temperature, bio je predmet ispitivanja koje su sprovedli Synowiec i sar. (2014). Ova formulacija površinske zaštite je pokazala dobro antifungalno dejstvo prema *Rhizopus arrhizus*, pozitivan uticaj na smanjenje kala i promene boje jabuka u toku skladištenja, ali slabo

antibakterijsko dejstvo prema testiranim mezofilnim bakterijama. Kerimoğlu i sar. (2020) su ispitali mogućnost primene etarskog ulja bosiljka i lovora (*Laurus nobilis*) u cilju inhibicije oksidativnih promena fileta brancina. Oba etarska ulja su pokazala pozitivan uticaj na oksidativnu stabilnost fileta posebno u prvom periodu skladištenja. Dodatak etarskog ulja bosiljka je imao slabiji uticaj na promenu boje u odnosu na etarsko ulje lovora. Etarsko ulje limunskog bosiljka (*O. africanum*) upotrebjeno je kao prirodni konzervans u cilju produženja roka trajanja tofua skladištenjem na sobnoj temperaturi pri čemu se pokazalo da samo najviša upotrebjena koncentracija etarskog ulja ima značajniji konzervišući efekat (Hamad i sar., 2020).

Konzervišuće dejstvo etarskog ulja anisa u mlevenoj govedini ispitali su Khanjari i sar. (2019). Analizirano je antimikrobno dejstvo prema patogenim bakterijama od kojih se kao najosetljiva izdvojila *Listeria monocytogenes*, a kao najotpornije *Salmonella Typhimurium* i *Vibrio parahaemolyticus*. Na osnovu hemijskih pokazatelja oksidativnih i proteolitičkih promena utvrđeno je da su više doze etarskog ulja delotvornije, a senzorna analiza da je dodatak etarskog ulja imao značajnijeg efekta na stvaranje neželjenih mirisa naknadno, dok su uzorci u prvim danima ispitivanja lošije ocenjeni. Amany i sar. (2012) su ispitali uticaj etarskog ulja i fenolnih komponenti anisa na održivost keksa praćenjem vrednosti peroksidnog broja i senzornom analizom. Pri svim primenjenim koncentracijama etarsko ulje anisa je imalo niže vrednosti peroksidnog broja što ukazuje na visok stepen inhibicije oksidativnih promena i mogućnost primene anisa u cilju produženja roka trajanja keksa. Upotreba aromatičnog bilja (anisa, komorača, piskavice i timijana) kao antioksidativnog, antimikrobnog i aromatizujućeg agensa uz zamenu dela masnoća jogurtom, bila je predmet ispitivanja Hussein i sar. (2014). Dodatak usitnjenih aromatičnih biljaka je pozitivno uticao na izmenu nutritivnog sastava pite i smanjenje kalorijske vrednosti uz nepromenjene reološke i pecive osobine testa. Etarsko ulje korijandera, dodato u standardnu recepturu za proizvodnju kolača u cilju inhibicije oksidativnih promena i razvoja plesni, pokazalo je značajnu antioksidativnu i antifungalnu aktivnost dok sa stanovišta senzorne analize razlike između kontrolnog uzorka i uzorka sa različitim koncentracijama etarskog ulja nije bilo (Darughe i sar., 2012).

Primenu hitozanskog filma sa dodatkom etarskog ulja anisa u cilju povećanja održivosti pilećih burgera skladištenih na nižim temperaturama ispitali su Mahdavi i sar. (2018). Dodatak etarskog ulja u svim primenjenim koncentracijama uticao je na poboljšanje fizičkih karakteristika filma. Najjači antioksidativni i antimikrobni efekat ostvarile su više koncentracije (1,5 % i 2 %) ali je najbolje senzorno ocenjen uzorak sa 1,5 %, pa su autori predložili ovu koncentraciju kao optimalnu. Hitozanski film sa dodatkom etarskog ulja kima samostalno ili u kombinaciji sa pčelinjim voskom primenjen je u cilju povećanja održivosti petrovačke kobasice (Krkić i sar., 2013; Hromiš i sar., 2017). Rezultati ispitivanja ukazali su da je hitozanski film uticao na očuvanje vlage i arome uzorka kobasice i da je uspešno inhibirao oksidativne procese. Prisustvo pčelinjeg voska negativno je uticalo na mehaničke karakteristike filma dok je dodatak etarskog ulja kima pospešio antioksidativni kapacitet hitozana. Šojić i sar. (2019c) su ispitali uticaj etarskog ulja korijandera na pH vrednost, boju, lipidnu oksidaciju, koncentraciju nitrita i mikrobiološku ispravnost barene svinjske kobasice u cilju iznalaženja optimalne kombinacije parametara proizvodnje i vremena skladištenja. Koncentracija etarskog ulja korijandera od 0,12 $\mu\text{L/g}$ bila je dovoljna da, uz smanjenu koncentraciju natrijum-nitrita (60 mg/kg), obezbedi zadovoljavajuću boju, antioksidativnu i antimikrobnu stabilnost.

U cilju dobijanja novih likera sa funkcionalnim svojstvima, Petrović i sar. (2019) su između ostalih lekovitih i začinskih biljaka, upotrebili anis i korijander. Ove dve začinske biljke predstavljaju nezaobilazne komponente brojnih kompozicija alkoholnih i bezalkoholnih napitaka u kojima se takođe može naći *Satureja sp.* (Tonutti i Liddle, 2010).

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Upotreba lekovitih i začinskih biljaka u cilju stabilizacije jestivog ulja bila je predmet istraživanja brojnih studija. Jedan od povoda sprovođenja ovakvih ispitivanja jeste potreba za smanjenjem ili potpunom eliminacijom sintetičkih antioksidanasa iz upotrebe, koji imaju potvrđeno štetno dejstvo na zdravlje ljudi. Sa druge strane, lekovite i začinske biljke odnosno biljni izolati u koje se ubrajaju i ekstrakti i etarska ulja, predstavljaju obećavajuću prirodnu alternativu sintetičkim antioksidansima budući da u *in vitro* testovima pokazuju značajno antioksidativno dejstvo. Neretko se pokazalo da u odnosu na najčešće primenjene sintetičke antioksidanse, ekstrakti i etarska ulja dodati jestivim uljima imaju uporediv ili jači efekat u zaštiti ulja od nepoželjnih oksidativnih promena i to pri različitim eksperimentalnim uslovima. Prema dostupnoj literaturi, osim par navoda o upotrebi ekstrakata u cilju oksidativne stabilizacije HPSU, mogućnost primene odabranih biljnih vrsta nije detaljnije analizirana.

Prema tome, osnovni cilj ove doktorske disertacije bilo je utvrđivanje uticaja dodatka etarskih ulja i ekstrakata odabranih lekovitih i začinskih biljaka na oksidativnu stabilnost HPSU. U okviru ovog cilja, postavljeno je nekoliko posebnih:

- ispitivanje hemijskog sastava etarskih ulja i sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja i flavonoida u etanolnim ekstraktima;
- određivanje antioksidativnog i antibakterijskog kapaciteta izolovanih etarskih ulja i pripremljenih ekstrakata;
- karakterizacija HPSU u smislu nutritivne vrednosti i oksidativnog statusa;
- ispitivanje oksidativne stabilnosti uzoraka ulja sa dodatkom odabranih ekstrakata i etarskih ulja pri povišenoj temperaturi primenom više različitih testova;
- ispitivanje oksidativne stabilnosti uzoraka skladištenih duži vremenski period u realnim uslovima skladištenja (sobna temperatura i bez prisustva svetlosti);
- instrumentalno određivanje boje uzoraka po dodatku ekstrakata i etarskih ulja, kao i u toku skladištenja u trajanju od 6 meseci;
- ispitivanje senzornih karakteristika uzoraka ulja čija su senzorna svojstva ovim vidom stabilizacije izmenjena.

Na osnovu preliminarnih ispitivanja hemijskog sastava i pokazane antioksidativne i antibakterijske aktivnosti, deo pripremljenih ekstrakata je izdvojen za dalja ispitivanja zajedno sa etarskim uljima. Odabrani ekstrakti i etarska ulja su dodati HPSU u više koncentracija i tako pripremljeni uzorci su čuvani u staklenim bocama na sobnoj temperaturi bez prisustva svetlosti. Na istovetan način je tretiran uzorak ulja sa dodatim BHT, kao i kontrolni uzorak (HPSU) bez ikakvih dodataka. Kako bi se dobila kompletna slika o oksidativnoj stabilnosti uzoraka i uticaj dodataka na održivost HPSU, oksidativna stabilnost je analizirana primenom više testova - Schaal oven, Rancimat i DSC testa. U toku skladištenja uzoraka na sobnoj temperaturi u periodu od 6 meseci praćeni su parametri oksidativnog statusa ulja koji ukazuju na sadržaj primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije (peroksidni i anisidinski broj, oksidativna vrednost, sadržaj konjugovanih diena i konjugovanih triena). Takođe, praćena je i promena vrednosti parametara boje instrumentalnom CVS tehnikom. Na osnovu praćenih parametara boje, izračunate su vrednosti ukupne promene boje uzoraka, indeksa žute boje i indeksa posmeđivanja koje ukazuju na stepen promene boje ulja nastao dodatkom ekstrakata i etarskih ulja, ali i u toku višemesečnog skladištenja. Potpun uvid u učinak dodataka je kompletiran ocenom senzornih svojstava uzoraka od strane grupe panelista.

Kao krajnji ishod ovog istraživanja očekuje se da dodati ekstrakti i etarska ulja odabranih vrsta lekovitih i začinskih biljaka pozitivno utiču na održivost HPSU u zadatim eksperimentalnim uslovima i da je njihova efikasnost u suzbijanju oksidativnih promena jednaka ili uporediva sa primenjenim sintetičkim antioksidansom. Pored toga što odlažu nepoželjne promene u ulju, očekuje se i da pozitivno utiču na senzorna svojstva ulja što bi ispitivanom ulju dalo posebnu vrednost na tržištu.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Polazni materijal

Hladno presovano suncokretovo ulje (HPSU). Za potrebe eksperimentalnog dela ovog istraživanja korišćeno je HPSU koje je za ove svrhe doniralo preduzeće Uvita D.O.O. iz Debeljače. Pokazatelji nutritivne vrednosti ulja (sadržaj i sastav MK, sadržaj izomera tokoferola i pigmenata) kao i oksidativnog statusa i hemijske karakteristike (kiselinski, peroksidni i anisidinski broj, sadržaj slobodnih MK, konjugovanih diena i konjugovanih triena) su odmah analizirani. Do postavljanja daljih eksperimenata, ulje je čuvano na hladnom i tamnom mestu.

Biljni materijal. Biljni materijal korišćen u eksperimentalnom radu, čije su karakteristike prikazane u Tabeli 4.1. predstavlja komercijalni proizvod Instituta za proučavanje lekovitog bilja “Dr Josif Pančić” (Pančevo, Srbija) nabavljen 2016. godine. Biljni materijal je neposredno pre izolacije etarskog ulja i pripreme ekstrakata usitnjen u laboratorijskom mlinu i prosejan kako bi se u daljem radu koristio materijal istog stepena usitnjenosti.

Tabela 4.1. Korišćeni biljni materijal.

Biljna vrsta	Familija	Korišćeni deo biljke	Serijski broj
Rtanjski čaj (<i>Satureja montana</i> L.)	Lamiaceae	nadzemni deo	02810216
Bosiljak (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	Lamiaceae	nadzemni deo	02740216
Korijander (<i>Coriandrum sativum</i> L.)	Apiaceae	plod	04920216
Anis (<i>Pimpinella anisum</i> L.)	Apiaceae	plod	02730216
Kim (<i>Carum carvi</i> L.)	Apiaceae	plod	10370415

Hemikalije. U radu su korišćene hemikalije nabavljene od sledećih proizvođača: *Zorka Pharma-Hemija (Srbija)*: metanol, etanol, glacijalna sirćetna kiselina, hlorovodonična kiselina, hloroform; *Centrohema d.o.o. (Srbija)*: dietil etar, skrob; *Betahem (Srbija)*: kalijum-jodid, natrijum-tiosulfat heptahidrat; *Sigma Aldrich (SAD)*: galna kiselina, kvercetin, 2(3)-tert-butil-4-hidroksianizol (BHA), 3,5-di-tert-butil-4-hidroksitoluen (BHT), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ), kalijum-acetat, dimetil sulfoksid, bezvodni natrijum-karbonat, aluminijum-nitrat nonahidrat, natrijum-acetat, bezvodni natrijum-sulfat, gvožđe(III)-hlorid, gvožđe(II)-sulfat heptahidrat, β -karoten, Folin-Ciocalteu reagens, *p*-anisidin, resazurin; *Merck Darmstadt (Nemačka)*: Clark&Lubs pufer, kalijum-hlorid, natrijum-hidroksid, vodonik-peroksid, borna kiselina, pirogolol, kalijum-hidroksid, metanol, n-heksan, etanol, fenolftalein; *Acros Organics (Belgija)*: Tween 40 i linolna kiselina; *Messer Tehnogas (Srbija)*: sintetički vazduh sastava 22 % O₂ i 78 % N₂; *HiMedia Laboratories (Indija)*: tripton soja bujon/agar, Müller Hinton bujon/agar. Standardi za hromatografska ispitivanja su nabavljeni od Sigma Co, Supelco (SAD).

4.2. Ispitivanje nutritivne vrednosti HPSU

4.2.1. Određivanje sadržaja i sastava MK

U cilju određivanja masnokiselinskog sastava, MK ulja su najpre prevedene u isparljive metilestre MK transesterifikacijom prema standardnoj metodi (SRPS EN ISO 12966-2:2017). Za razdvajanje i detekciju metilestara je korišćen gasni hromatograf (model 6890, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) opremljen split-splitles injektorom, plameno-jonizujućim

detektorom (FID) i kapilarnom kolonom SP-2560 (100 m × 0,25 cm × 0,20 μm; Supelco, Bellefonte, PA, SAD). Kao mobilna faza korišćen je helijum protoka 5 L/min. Temperature injektora i detektora bile su 250 °C i 260 °C, respektivno. U uređaj je injektovana zapremina od 1 μL rastvora, a odnos raspodele injektora je podešen na 20:1. Temperatura kolone je sa početnih 50 °C, koja je održavana 5 min, rasla linearno 4 °C/min do temperature od 240 °C koja je održavana 20 min. Identifikacija MK u uzorku izvršena je upoređivanjem hromatografskih pikova sa relativnim retencionim vremenima metilestara MK iz uzorka sa standardnom mešavinom metilestara (Supelco 37 Component FAME mix standard). Sadržaj MK je izračunat u mg/g ulja i izražen, u relativnoj količini, kao maseni procenat od ukupnih MK.

4.2.2. Određivanje sadržaja izomera tokoferola

Analiza tokoferola je izvršena primenom visoko efikasne tečne hromatografije (HPLC) na način koji je opisan u literaturi (Rabrenović, 2011). Procedura pripreme uzorka je bila sledeća: odmerenoj zapremini ulja (0,5 mL) dodato je 20 mL 96 % etanola, 0,12 g pirogalola i 3 mL rastvora KOH (8,9 mol/L). Nakon toga, rastvor uzorka je zagrejan na 60 °C u toku 30 minuta sa refluksom i mešanjem. Po završetku saponifikacije, rastvor je ohlađen i prenet u normalni sud zapremine 50 mL koji je dopunjen do crte 96 % etanolom. Alikvotu od 5 mL, koji je prenet u epruvetu sa šlifovanim zapašaćem, je dodato po 5 mL heksana i dejonizovane vode i sadržaj je mešan na vorteksu 3 minuta. Nakon razdvajanja faza, od heksanskog sloja je odvojeno 4 mL i osušeno u struji azota a suvi ostatak je zatim rastvoren u 4 mL metanola. Rekonstituisani uzorak je filtriran kroz membranski špic-filter (Cronus Syringe Filter Nylon 25 mm, 0,45 μm, Cronus, Velika Britanija) i 10 μL filtrata je injektovano u HPLC sistem. Korišćen je HPLC uređaj (Waters, model M600E, SAD) sa izokraskim eluiranjem, injektorom Rheodyne 7125 i reverzno-faznom kolonom C18 Nucleosil 50-5. Kao mobilna faza je korišćen 95 % metanol sa protokom od 1 mL/min. Detekcija analita je izvedena na fluorescentnom detektoru RF/535 (Shimadzu, Japan) na talasnim dužinama 295 nm za ekscitaciju i 330 nm za emisiju. Na isti način pripremljeni su i radni rastvori standardnih supstanci tokoferola (Sigma Co, Supelco, SAD). Sadržaj tokoferola je određen metodom standardne krive, nakon validacije serijom standardnih rastvora od 0,01 do 5,0 mg/mL. Rezultati sadržaja tokoferola izraženi su u mg/100g ulja pri čemu su izomeri β- i γ- tokoferola prikazani zbirno što predstavlja jedan od nedostataka primenjene reverzno-fazne HPLC tehnike (Górnaš, 2015).

4.2.3. Sadržaj ukupnih karotenoida

Sadržaj ukupnih karotenoida određen je spektrofotometrijskom metodom po Górnaš i sar. (2016). Uzorak ulja (0,2 – 1 g) je rastvoren u 10 mL heksana i izmešan na vorteksu. Apsorbancija ovako pripremljenog rastvora je merena na 450 nm talasne dužine u odnosu na heksan na spektrofotometru Shimadzu UV/VIS-1650PC. Sadržaj ukupnih karotenoida (izražen u mg po kilogramu ulja) određen je pomoću molarnog ekstinkcionog koeficijenta za *trans*-β-karoten ($\epsilon = 139049 \text{ l} \times \text{cm/mol}$) primenom formula 5 i 6:

$$c = \frac{A}{\epsilon} \times l \quad (5)$$

$$m = c \times M \times V \quad (6)$$

gde je:

A- očitana vrednost apsorbancije rastvora ulja u heksanu na talasnoj dužini od 450 nm

ϵ - molarni ekstinkcioni koeficijent ($\text{L} \times \text{cm/mol}$)

l- širina kivete (cm)

m- masa ukupnih karotenoida u ispitivanoj količini uzorka (g)

M- molarna masa (536,87 g/mol)

V- zapremina rastvora (L)

4.2.4. Sadržaj ukupnih hlorofila

Sadržaj ukupnih hlorofila određen je prema metodi koju su priložili Pokorný i sar. (1995). Apsorbancije uzorka ulja su merene na 630, 670 i 710 nm na uređaju Shimadzu UV/VIS-1650PC. Sadržaj ukupnih hlorofila, izražen u mg feofitina *a* po kg ulja, izračunat je preko sledeće formule:

$$\text{Sadržaj ukupnih hlorofila } \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}}\right) = 345,3 \times \frac{A_{670} - (A_{630} + A_{710}) \times 0,5}{l} \quad (7)$$

gde je:

A- očitana vrednost apsorbancije ulja na odgovarajućoj talasnoj dužini

l- širina kivete, u mm

4.2.5. Određivanje nutritivnih pokazatelja

U cilju određivanja nutritivne vrednosti HPSU upotrebljenog u eksperimentima, računskim putem se došlo do aterogenog, trombogenog i hipoholesterolski/ hiperholesterolskog indeksa koji su računati prema jednačinama 1, 2 odnosno 3, a koje su date u pregledu literature.

4.3. Ispitivanje oksidativnog statusa i hemijskih karakteristika HPSU

4.3.1. Određivanje kiselinskog broja i sadržaja slobodnih MK

Određivanje stepena hidrolitičkog kvarenja ulja izvedeno je primenom standardne alkalimetrijske metode titracije (SRPS EN ISO 660: 2015) i izraženo preko kiselinskog broja i procenta oleinske kiseline. U ovu svrhu odmerena količina ulja (5 g) je rastvorena u sveže pripremljenoj i neutralisanoj smeši dietil etra i etanola u odnosu 1:1. Sadržaj erlenmajera je, uz dodatak nekoliko kapi fenolftaleina, titrisan rastvorom 0,1 mol/L natrijum-hidroksida do pojave ružičaste boje koja se ne gubi u toku 10 sekundi. Utrošak rastvora baze direktno je proporcionalan količini slobodnih masnih kiselina u uzorku.

Kiselinski broj (Kbr), koji predstavlja broj miligrama upotrebljene baze potreban za neutralizaciju slobodnih MK u jednom gramu ulja, izračunat je prema jednačini 8:

$$\text{Kbr } \left(\frac{\text{mg KOH}}{\text{g}}\right) = \frac{V \times 5,61}{m} \quad (8)$$

gde je:

V- zapremina utrošenog standardnog rastvora NaOH, u mL

m- masa odmerenog uzorka za ispitivanje, u g

Sadržaj slobodnih masnih kiselina (SMK) koji predstavlja maseni procenat SMK u ulju, izračunat je u odnosu na molarnu masu (g/mol) „karakteristične“ MK. Za većinu biljnih ulja i masti se koristi molarna masa oleinske MK (282 g/mol) i sadržaj SMK izražava kao procenat oleinske kiseline (% oleinske kiseline) i računa prema jednačini 9:

$$\% \text{ oleinske kiseline} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m} \quad (9)$$

gde je:

V- zapremina utrošenog standardnog rastvora natrijum-hidroksida, u mL

c- koncentracija upotrebljenog standardnog rastvora natrijum-hidroksida, u mol/L

M- molarna masa oleinske kiseline, 282 g/mol

m- masa odmerenog uzorka za ispitivanje, u g

4.3.2. Peroksidni broj

Peroksidni broj (Pbr) ukazuje na primarni kvalitet biljnih ulja i masti, odnosno stepen oksidativnih promena i sadržaj primarnih proizvoda oksidacije, peroksida i hidroperoksida (Rabrenović, 2017). Pbr se definiše kao količina aktivnog kiseonika, u milimolovima, koja je jednaka količini joda koji se izdvoji iz kalijum-jodida u prisustvu glacijalne sirćetne kiseline, a proporcionalan je količini peroksida i hidroperoksida u 1 kg biljne masti (mmolO_2/kg). Količina izdvojenog joda se određuje titracijom 0,01 mol/L rastvorom natrijum-tiosulfata u prisustvu skroba kao indikatora.

Određivanje Pbr je izvedeno standardnom jodometrijskom metodom (SRPS EN ISO 3960:2017) uz minimalne izmene. U erlenmajer sa odmerenih 2 g uzorka dodato je 30 mL smeše hloroform:glacijalna sirćetna kiselina (3:2) i 0,5 mL zasićenog rastvora kalijum-jodida uz mešanje na magnetnoj mešalici (ARE 230V/50-60 Hz, Velp Scientifica, Italija). Nakon 1 minuta dodato je 60 mL destilovane vode i 0,5 mL 0,5 % rastvora skroba. Sadržaj u erlenmajeru je titrisan 0,01 mol/L rastvorom natrijum-tiosulfata do obezbojenja. Paralelno sa uzorkom tretirana je i slepa proba. Peroksidni broj, izražen u milimolovima po kilogramu (mmol/kg), izračunat je po jednačini 10:

$$\text{Pbr} \left(\frac{\text{mmol}}{\text{kg}} \right) = \frac{(V_1 - V_0) \times c}{m} \times 500 \quad (10)$$

gde je:

V_1 - zapremina rastvora natrijum-tiosulfata utrošenog za titraciju uzorka, u mL

V_0 - zapremina rastvora natrijum-tiosulfata utrošenog za titraciju slepe probe, u mL

c - koncentracija upotrebljenog rastvora natrijum-tiosulfata, u mol/L

m - odmerena masa uzorka za analizu, u g

4.3.3. Anisidinski broj

Sadržaj neisparljivih karbonilnih jedinjenja nastalih razgradnjom primarnih proizvoda oksidacije je određen preko anisidinskog broja (Abr) standardnom spektrofotometrijskom metodom (SRPS EN ISO 6885:2017) sa određenim modifikacijama. Abr predstavlja 100 puta uvećanu vrednost apsorbanije rastvora ulja u reakciji sa *p*-anisidinom, mereno na talasnoj dužini od 350 nm na uređaju Shimadzu UV/VIS-1650PC.

Za pripremu *p*-anisidinskog reagensa odmereno je 0,125 g *p*-anisidina i rastvoreno u 50 mL glacijalne sirćetne kiseline. Reagens je pripremljen neposredno pre analize uz prethodnu proveru budući da apsorbanija reagensa ne sme biti veća od 0,2. Rastvori uzoraka ulja u heksanu pripremljeni su tako da apsorbanija rastvora uzorka sa *p*-anisidinom (A_1) bude u intervalu 0,2 – 0,8. Za određivanje A_1 , u ependorf tubu sa rastvorom uzorka (800 μL) je dodato 160 μL anisidinskog reagensa i nakon mešanja na vorteksu (RS-VA10 Phoenix Instrument, Nemačka) i stajanja na tamnom u trajanju od 10 minuta, određena je apsorbanija na 350 nm talasne dužine u odnosu na heksan. U slučaju rastvora uzorka bez *p*-anisidina (A_0), u ependorf tubu sa 800 μL rastvora uzorka preneto je 160 μL glacijalne sirćetne kiseline, izmešano na vorteksu, i nakon 10 minuta stajanja na tamnom izmerena je apsorbanija na 350 nm. Kao slepa proba (A_2) korišćen je heksan (800 μL) kome je dodato 160 μL anisidinskog reagensa. Abr predstavlja bezdimenzionalnu vrednost koja se računa prema jednačini 11:

$$\text{Abr}(100_{350\text{nm}}^{1\%}) = V \times \frac{[1,2 \times (A_1 - A_2 - A_0)]}{m} \quad (11)$$

gde je:

A_0 - apsorbanija rastvora uzorka bez *p*-anisidina, u odnosu na heksan

A_1 - apsorbanija rastvora uzorka sa *p*-anisidinom, u odnosu na heksan

A_2 - apsorbanija slepe probe, u odnosu na heksan

m - masa uzorka za ispitivanje, u g

1,2 je faktor razblaženja ispitivanog uzorka usled dodatka glacijalne sirćetne kiseline
V- zapremina heksana koja je upotrebljena za rastvaranje uzorka ulja, u mL

4.3.4. Oksidativna vrednost

Oksidativna vrednost (OV) ulja predstavlja dobar pokazatelj kvaliteta i održivosti ulja s obzirom da preko peroksidnog broja objedinjuje aktuelno oksidativno stanje ulja sa oksidativnom prošlošću, koju predstavlja anisidinski broj. Određuje se računskim putem prema jednačini 12:

$$OV = 2 \times Pbr + Abr \quad (12)$$

4.3.5. Određivanje konjugovanih diena i konjugovanih triena

U cilju određivanja specifičnih ekstinkcija na talasnim dužinama od 232 nm i 270 nm odnosno konjugovanih diena (K_{232}) i konjugovanih triena (K_{270}), odmerena je odgovarajuća količina uzorka i rastvorena u heksanu (SRPS EN ISO 3656:2013). Količina ispitivanog uzorka je podešena tako da se očitana vrednost apsorbancije nađe u opsegu 0,2 – 0,8. Merenja su izvršena na spektrofotometru Shimadzu UV/VIS-1650PC. Očitane vrednosti apsorbancije su izražene za koncentraciju uzorka ulja od 1 g na 100 mL. Specifična ekstinkcija je apsorbancija 1 g uzorka, rastvorenog u 100 mL heksana, izmerena u kiveti od 1 cm na specifičnim talasnim dužinama od 232 nm i 270 nm. K_λ se izračunava prema jednačini 13:

$$K_\lambda = \frac{E_\lambda}{c \times s} \quad (13)$$

gde je:

E_λ – ekstinkcija merena na talasnoj dužini λ

c – koncentracija rastvora, u gramima na 100 mL

s – optička dužina kivete, u cm

4.4. Ispitivanje odabranih vrsta lekovitih i začinskih biljaka

4.4.1. Izolacija etarskog ulja

Etarsko ulje je izolovano metodom hidrodestilacije prema proceduri IV Jugoslovenske farmakopeje (Pharmacopoeia Y, 1984). Odmerena količina (20 g) prethodno usitnjenog i prosejanog biljnog materijala je prenetu u balon sa ravnim dnom od 1000 mL i prelivena sa 400 mL destilovane vode. Balon je spojen sa aparaturom po Clevenger-u i zagrevan preko azbestne mrežice u toku 2 h. Po završenoj destilaciji, očitana je zapremina izdvojenog etarskog ulja (mL) i izračunat prinos ulja (%) prema sledećoj jednačini:

$$\text{prinos etarskog ulja (\%)} = \frac{a}{b} \times 100 \quad (14)$$

gde je:

a- količina izolovanog etarskog ulja, u mL

b- količina biljnog materijala upotrebljenog za izolovanje etarskog ulja, u g

Izolovano etarsko ulje je nakon toga osušeno preko bezvodnog Na_2SO_4 i čuvano na temperaturi od 4 °C u tamnim vialama.

4.4.1.1. Analiza sastava etarskog ulja

Kvalitativna i kvantitativna analiza etarskog ulja je izvršena pomoću gasne hromatografije (GC-FID) i gasne hromatografije – masene spektrometrije (GC-MS). Za GC-MS analizu korišćen je gasni hromatograf Agilent 7890N sa HP5-MS kapilarnom kolonom (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm). Primenjeni temperaturni opseg je bio: 60 °C tokom 0 minuta, zatim 3 °C/min do 280 °C uz 20 minuta izotermnog režima. Kao noseći gas korišćen je helijum sa protokom od 1 mL/min. Gasni hromatograf je bio spojen sa masenim detektorom (Hewlett-Packard 5972) sa energijom jonizujućih elektrona 70 eV u opsegu skeniranja m/z 40 – 550. Identifikacija komponenata koje su formirale najizraženije pikove je izvršena poređenjem njihovih retencionih indeksa (izračunatih u odnosu na homologi niz *n*-alkana) sa raspoloživim literaturnim podacima (Adams, 2007; Babushok i sar., 2011), kao i poređenjem masenih spektara sa bazom podataka masenih spektara (NIST/EPA/NIH biblioteka masenih spektara NIST2000; Wiley/NBS registar podataka, 7. elektronska verzija).

Identični analitički uslovi su primenjeni za GC-FID analizu s tim da je korišćen gasni hromatograf Agilent 4890A sa HP5-MS kapilarnom kolonom (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) uz isti temperaturni program kao i za GC-MS analizu i vodonik kao noseći gas sa protokom od 1 mL/min. Za detekciju komponenti je korišćen plameno-jonizujući detektor (flame ionisation detector – FID), na 300 °C.

4.4.2. Priprema ekstrakata

Prethodno usitnjen i prosejan biljni materijal je ekstrahovan primenom dve paralelne procedure:

1. maceracija pomoću ultrazvuka
2. ekstrakcija po Soksletu.

U oba slučaja je primenjen isti odnos usitnjenog biljnog materijala i rastvarača (1:10 w/v) i etanol različitih koncentracija (70 % i 96 % rastvor etanola u vodi).

Maceracija pomoću ultrazvuka (UZM). U erlenmajer je prenet odmerena količina usitnjenog materijala (10 g) i dodato 100 mL etanola odgovarajuće koncentracije. Mešanje magnetnom mešalicom (IKA RCT basic) obezbedilo je stalni kontakt biljnog materijala i rastvarača i sprečilo raslojavanje. Biljni materijal je ekstrahovan u toku 24 h na sobnoj temperaturi, zaštićen od uticaja svetlosti, s tim da je prvog i poslednjeg sata bio izložen dejstvu ultrazvuka kako bi se povećala efikasnost ekstrakcije (Alimpić i sar., 2015). U ultrazvučnom kupatilu (model PS-08A, 70W, Jeken, Kina) temperatura nije prelazila 30 °C.

Ekstrakcija po Soksletu (SE). Odmerena količina biljnog materijala je prenet u celuloznu čauru za ekstrakciju i zatvorena komadićem vate. Nakon postavljanja čaure u ekstraktor aparature po Soksletu, u balon je dodat etanol odgovarajuće koncentracije. Zagrevanje sadržaja u balonu je vršeno na električnom rešou preko azbestne mrežice. Proces ekstrakcije je trajao 7 h.

Nezavisno od primenjene procedure, nakon završetka ekstrakcije biljni materijal je filtriran preko filter papira (Whatman No.1). Rastvarač je iz filtrata uklonjen primenom rotacionog vakuum uparivača na temperaturi od 50 °C a suvi ekstrakti su preneti u tamne viala i čuvani na 4 °C do daljih eksperimenata. Nakon uparavanja, izmerena je masa suvog ekstrakta i izračunat prinos ekstrakcije prema jednačini 15:

$$\text{prinos ekstrakta (\%)} = \frac{(m_1 - m_0)}{m} \times 100 \quad (15)$$

gde je:

m_1 - masa viala sa ekstraktom, u g

m_0 - masa prazne viala, u g

m - masa biljnog materijala korišćenog za ekstrakciju, u g

Za određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja i flavonoida u ekstraktima, kao i za spektrofotometrijsko ispitivanje antioksidativnog dejstva, suvi ekstrakti su rastvoreni u etanolu čija je koncentracija odgovarala koncentraciji etanola upotrebljenog za dobijanje ekstrakta. Etarska ulja su za potrebe ispitivanja antioksidativne aktivnosti rastvorena u 96 % etanolu. Očitavanje apsorbancija je vršeno pomoću PerkinElmer LAMBDA BIO UV/VIS spektrofotometra. Sva merenja su izvršena u tri ponavljanja i vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

4.4.2.1. Određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja

Za određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja korišćena je procedura po Singleton i Rossi (1965). U epruvete je odmereno po 100 μ L rastvora ekstrakta koncentracije 1 mg/mL nakon čega je dodato 500 μ L 10 % (v/v) rastvora Folin-Ciocalteu reagensa. Nakon 6 minuta, u epruvetu je dodato 400 μ L rastvora Na_2CO_3 (75 g/L). Istovremeno je pripremljena i slepa proba koja je sadržala destilovanu vodu umesto rastvora ekstrakta. Za konstruisanje kalibracione krive korišćena je galna kiselina rastvorena u destilovanoj vodi (raspon koncentracija 0,01 – 0,1 mg/mL). Nakon inkubacije reakcione smeše u trajanju od 2 h na sobnoj temperaturi očitana je apsorbancija na 740 nm. Ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja u ekstraktima je izračunat iz jednačine prave kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline ($y = 10,219x + 0,0059$; $R^2 = 0,9994$) i izražen je u ekvivalentima galne kiseline po gramu suvog ekstrakta (mg GAE/g).

4.4.2.2. Određivanje sadržaja flavonoida

Za određivanje sadržaja flavonoida je korišćena procedura po Park i sar. (1997). U epruvete je odmereno po 125 μ L uzorka koncentracije 1 mg/mL, zatim je dodato 512,5 μ L 80 % etanola, 12,5 μ L 10 % $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$ i 12,5 μ L 1 mol/L rastvora CH_3COOK . Istovremeno je pripremljena i slepa proba koja je sadržala 96 % etanol umesto rastvora ekstrakta. Nakon 40 minuta inkubacije očitana je apsorbancija na 415 nm. Za konstruisanje kalibracione krive korišćen je rastvor kvercetina u 96 % etanolu u rasponu koncentracija od 0,01 do 0,1 mg/mL. Sadržaj flavonoida je izračunat iz jednačine kalibracione krive za kvercetin ($y = 10,731x + 0,0043$, $R^2 = 0,9996$) i izražen u ekvivalentima kvercetina po gramu suvog ekstrakta (mg QE/g).

4.4.3. Određivanje antioksidativne aktivnosti etarskih ulja i ekstrakata

Antioksidativni kapacitet etarskih ulja i ekstrakata je određen pomoću četiri metode. Osnovni razlog za upotrebu više metoda za određivanje antioksidativne aktivnosti jeste selektivnost pojedinih reagenasa prema različitim antioksidansima i potpunije sagledavanje antioksidativnog kapaciteta ispitivanih biljaka.

Metode primenjene za ispitivanje antioksidativnog kapaciteta su:

- DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metoda
- FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) metoda
- β -CB, β -karoten/linolna kiselina (β -Carotene Bleaching) metoda
- HPMC (HydroxoPerhydroxoMercury(II) Complex) metoda

4.4.3.1. DPPH metoda

Za ispitivanje antioksidativnog dejstva ovim testom korišćena je metoda po Blois (1958) sa određenim modifikacijama. Metanolni rastvor DPPH (40 mmol/L) je pripremljen neposredno pre ispitivanja. U 100 μ L uzorka (rastvori etarskih ulja u koncentraciji od 5 mg/mL i ekstrakata u koncentraciji 0,1 mg/mL) je dodato 900 μ L metanolnog rastvora DPPH. Kao slepa proba je korišćen metanol a kao pozitivna kontrola BHT i BHA u koncentraciji od 0,1 mg/mL. Nakon inkubacije u trajanju od 30 minuta na sobnoj temperaturi i na tamnom merena je apsorbancija na 517 nm.

Inhibicija DPPH radikala u prisustvu uzorka je izračunata po formuli 16 i izražena u procentima (%):

$$I(\%) = \frac{A_{sp} - A_{uz}}{A_{sp}} \times 100 \quad (16)$$

gde je:

I- procenat inhibicije DPPH radikala

A_{sp} - apsorbancija slepe probe (kontrola)

A_{uz} - apsorbancija probe sa uzorkom

4.4.3.2. FRAP metoda

FRAP metoda je izvedena po standardnoj proceduri (Benzie i Strain, 1996) sa neznatnim modifikacijama. FRAP reagens je pripremljen neposredno pre eksperimenta tako da sadrži TPTZ u 40 mmol/L HCl (10 mmol/L), $FeCl_3 \times 6H_2O$ (20 mmol/L) i natrijum acetatni pufer (300 mmol/L, pH = 3,6) u zapreminskom odnosu 1 : 1 : 10 i pre upotrebe je zagrejan do 37 °C. U 900 μ L radnog FRAP rastvora dodato je 30 μ L uzorka (rastvora etarskih ulja koncentracije 5 mg/mL i ekstrakata koncentracije 0,1 mg/mL) i nakon 4 minuta je merena apsorbancija na 593 nm. Kao slepa proba je korišćen etanol koncentracije koja je odgovarala onoj u kojoj je uzorak rastvoren. Standardi BHA i BHT u koncentraciji od 0,1 mg/mL su korišćeni kao pozitivna kontrola.

Za izradu kalibracione krive pripremljena je serija razblaženja (200 – 1600 μ mol/L) vodenog rastvora $FeSO_4 \times 7H_2O$. Sa standardne krive za Fe(II) ($y = 0,803x + 0,003$, $R^2 = 0,999$) su izračunate FRAP vrednosti uzoraka i izražene kao μ mol Fe(II)/g ulja odnosno suvog ekstrakta.

4.4.3.3. β -CB metoda

Ova metoda se zasniva na spektrofotometrijskom praćenju obezbojenja rastvora β -karotena u prisustvu proizvoda oksidacije linolne kiseline i izvedena je po izmenjenoj proceduri (Dapkevicius i sar., 1998).

Emulzija je pripremljena rastvaranjem 5 mg β -karotena, 12,5 μ L linolne kiseline i 100 mg Tween 40 u 1 mL hloroforma. Hloroform je iz emulzije uparen na rotacionom vakuum uparivaču na temperaturi od 40 °C, a suvi ostatak je rastvoren u 50 mL destilovane vode. U 70 μ L uzorka (rastvori etarskih ulja i ekstrakata koncentracije 0,1 mg/mL) dodato je 500 μ L pripremljene emulzije. Apsorbancije su merene na 490 nm neposredno nakon dodatka emulzije ($t = 0$ min) i nakon 2 h inkubacije ($t = 120$ min). Kao slepa proba korišćena je destilovana voda a kao pozitivna kontrola standardi BHA i BHT koncentracije 0,1 mg/mL.

Antioksidativna aktivnost uzoraka je određena praćenjem inhibicije obezbojenja rastvora β -karotena a procenat inhibicije je izračunat korišćenjem jednačine 17:

$$\% I = \frac{A_{120} - C_{120}}{C_0 - C_{120}} \times 100 \quad (17)$$

gde je:

A_{120} - apsorbancija merena u $t = 120$ minuta za uzorak

C_{120} - apsorbancija merene u $t = 120$ minuta za kontrolu

C_0 - apsorbancija kontrole u $t = 0$ minuta

4.4.3.4. HPMC metoda

Antioksidativni kapacitet etarskih ulja i ekstrakata određen je i polarografskom HPMC metodom, koja je zasnovana na klasičnoj polarografiji jednosmerne struje sa kapljućom živinom elektrodom (KŽE) (Sužnjević i sar., 2011; Gorjanović i sar., 2013). S obzirom da se ovom metodom može odrediti antioksidativni kapacitet supstanci rastvorljivih u vodi, za potrebe ovog rada metoda

je modifikovana tako da je primenljiva i na uzorke slabo rastvorljive u vodi kao što su etarska ulja (Stojićević i sar., 2020).

Za polarografska merenja korišćen je uređaj PAR (Princeton Applied Research) 174A povezan sa X-Y pisačem (Houston Instruments, Omnigraph 2000) za automatsko beleženje polarografskih i-E krivih. Zasićena kalomelova elektroda (ZKE) je korišćena kao referentna dok je kao pomoćna korišćena platinska elektroda. Početni potencijal je bio 0,1 V vs SCE dok je brzina promene polarizujućeg napona iznosila 10 mV/s. Clark & Lubs (CL) pufer (pH = 9,8) je pripremljen mešanjem 0,2 mmol/L H₃BO₃ (25 mL), 0,2 mmol/L KCl (25 mL) i 0,2 mol/L NaOH (40,8 mL). Osnovni rastvor je pripremljen dodatkom 100 µL 1 mol/L rastvora H₂O₂ u 19,9 mL radnog rastvora (mešavina 96 % etanola i CL pufera u odnosu 1 : 1). Jednake količine uzorka (200 µL rastvora etarskih ulja koncentracije 10 mg/mL odnosno 100 µL rastvora ekstrakata koncentracije 1 mg/mL) su postepeno dodavane osnovnom rastvoru koji sadrži 5 mmol/L H₂O₂. Naposredno pre svakog snimanja i-E krive, kroz rastvor je provođena struja čistog azota koji je služio za održavanje inertne atmosfere u toku snimanja. Nakon svakog dodatka rastvora uzorka, i-E kriva je snimana. Procenat pada anodne granične struje i_1 , koji nastaje nakon svakog dodatka, je izračunat i predstavljen u odnosu na zapreminu uzorka. Nagib linearnog dela krive zavisnosti procenta smanjenja anodne struje kompleksa od zapremine dodatog uzorka (%/mL) je iskorišćen za proračun i izražavanje antioksidativnog kapaciteta u odnosu na mg suve materije ekstrakta odn. mg etarskog ulja (%/mg).

4.4.4. Ispitivanje antibakterijske aktivnosti etarskih ulja i ekstrakata

Za ispitivanje antibakterijske aktivnosti etarskih ulja i etanolnih ekstrakata odabranih biljnih vrsta, korišćeni su mikroorganizmi koji pripadaju sojevima patogenih bakterija poreklom iz hrane iz kolekcije ATCC (*American Type of Culture Collection*), iz laboratorije za tehnološku mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. Korišćene su:

Gram - pozitivne bakterije:

- *Listeria monocytogenes* ATCC 1911
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Gram - negativne bakterije:

- *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028
- *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ispitivani sojevi bakterija su zasejani na odgovarajućem agaru i inkubirani na 37 °C u toku 24 h. Sa čvrste hranljive podloge je pomoću eze izdvojena jedna kolonija i prebačena u 5 mL odgovarajućeg bujona. *L. monocytogenes* je gajena na tripton soja bujonu, dok su ostale bakterije gajene na Müeller Hinton bujonu. Bujoni zasejani bakterijama su dalje inkubirani 18 – 24 h na 37 °C. Koncentracija mikroorganizama od 10⁵ – 10⁶ CFU/mL je korišćena za sva ispitivanja, a postignuta je serijskim razređivanjem prekonocne kulture.

Za određivanje minimalne inhibitorne (MIC) i minimalne baktericidne koncentracije (MBC) etarskih ulja i ekstrakata upotrebljena je mikrodiluciona metoda (Klančnik i sar., 2010; Duvnjak i sar., 2016; Matijašević i sar., 2016). Etarska ulja i upareni ekstrakti su rastvoreni u 10 % vodenom rastvoru dimetil-sulfoksida (DMSO). Testirane koncentracije u opsegu 0,0024 – 5,00 mg/mL za etarska ulja, i u opsegu 0,0390 – 40 mg/mL za ekstrakte, dobijene su dvostrukim razređenjima uzoraka u mikrotitar pločama sa 96 bunarića (Sartorius, Nemačka).

Kao indikator rasta bakterijskih ćelija upotrebljen je natrijum-resazurin (Sarker i sar., 2007; Klančnik i sar., 2010). Rastvor boje je dodat direktno u bakterijsku suspenziju pripremljenu u odgovarajućem bujonu. Na ovaj način pripremljena suspenzija je dodata u svaki od bunarića sa odgovarajućom ispitivanom koncentracijom uzorka, tako da je konačna zapremina u svakom bunariću iznosila 100 µL. Kao pozitivna kontrola u bunariću je dodata samo suspenzija bakterija a

kao negativna kontrola 10 % vodeni rastvor DMSO. Nakon zasejavanja, mikrotitar ploče su inkubirane na 37 °C u trajanju od 18 – 24 h.

Minimalna inhibitorna koncentracija je definisana kao najmanja koncentracija uzorka (mg/mL) kod koje nije bilo uočljivog bakterijskog rasta, tako da je boja indikatora resazurina ostala nepromenjena (Duvnjak i sar., 2016). Naime, resazurin je netoksična plava boja koja podleže redukciji do resofurina (roze boje) odnosno bezbojnog hidroresofurina pod dejstvom oksidoreduktaza živih ćelija mikroorganizama (Shakeri i sar., 2014). Da bi se utvrdila minimalna baktericidna koncentracija (MBC), uzorci za koje je utvrđeno da inhibiraju rast bakterija su presejani na petri ploče sa odgovarajućom podlogom koje su potom inkubirane na 37 °C u toku 18 – 24 h. U slučaju izostajanja bakterijskog rasta na površini podloge, testirana koncentracija se smatra minimalnom baktericidnom koncentracijom (MBC) (Nowacka i sar., 2014).

4.5. Ispitivanje oksidativne stabilnosti HPSU sa dodatkom etarskih ulja i ekstrakata

U cilju ispitivanja uticaja odabranih lekovitih i začinskih biljaka na oksidativnu stabilnost HPSU, nakon preliminarnih analiza, za dalje ispitivanje izdvojeni su ekstrakti dobijeni pomoću 70 % etanola i etarska ulja. Suvi ekstrakti i etarska ulja su odmereni i rastvoreni u minimalnoj količini 96 % etanola potrebnoj za potpuno rastvaranje (1 mL), dobro izmešani na vorteksu i dodati HPSU kako bi finalne koncentracije ekstrakta odnosno etarskog ulja u HPSU bile 250 ppm, 500 ppm i 1000 ppm. Paralelno sa ovim, postavljene su pozitivna i negativna proba. Kao pozitivna proba korišćen je BHT, rastvoren takođe u etanolu i dodat HPSU kako bi krajnja koncentracija bila 200 ppm, dok je negativnu probu predstavljalo HPSU bez ikakvih dodataka. Radi bolje homogenizacije, uzorci su potom izmešani na magnetnoj mešalici (RT 5 power IKAMAG, IKA, Nemačka). Za potrebe određenih testova, deo uzorka je odmah odvojen. Svi uzorci su čuvani u staklenim flašama zatvorenim twist off čepom na sobnoj temperaturi i na tamnom uz periodično otvaranje radi uzimanja dela uzorka za potrebe eksperimenata.

4.5.1. Rancimat test

Otpornost ulja prema oksidaciji izražena kao inducioni period (IP) u časovima (h), određena je na Rancimat aparatu (model 743, Methrom, Herisau, Švajcarska). Određivanje oksidativne stabilnosti ulja po principima Rancimat testa je standardizovano kao metoda od strane Američkog udruženja za ulje (AOCS Cd-12b:1992). Za analizu je odmereno 2,5 g uzorka ulja u kivetu za testiranje. Protok vazduha kroz uzorke je bio 20 L/h tokom zagrevanja na temperaturi od 100 °C.

4.5.2. Schaal-oven test

Za potrebe ovog testa, u staklene petri šolje je odmereno po 50 ± 2 g uzorka HPSU sa dodatkom etarskih ulja ili ekstrakata i postavljeno u sušnicu koja je prethodno zagrejana na 63 ± 2 °C. Narednih dvanaest dana uzorci su u otvorenim petri šoljama bili u kontaktu sa vazduhom na konstantnoj temperaturi i bez prisustva svetlosti. Nakon četiri, osam i dvanaest dana, petri šolje sa uzorcima su izvađene iz sušnice kako bi se odmerio deo uzorka za predviđene analize i odmah su bile vraćene nazad. Praćeni parametri su: Pbr, Abr, OV, K_{232} i K_{270} .

4.5.3. DSC metoda

S obzirom na to da je oksidacija lipida egzotermna reakcija, otpornost ulja na oksidaciju određena je na osnovu utvrđene početne tačke egzoternog DSC signala (onset point) koji je dobijen u toku kontrolisanog linearnog zagrevanja uzorka. Merenja su vršena na diferencijalnom skenirajućem kalorimetru kuplovanom sa termovagom (DSC/TG111, Setaram, Francuska), pod atmosferskim pritiskom (Ulkowski i sar., 2005). Aparat je kalibrisan indijumom visoke čistoće.

Setsoft softver (Setaram) je korišćen za prikupljanje podataka i precizno određivanje temperature sa DSC krivih. Eksperimenti su izvedeni u atmosferi sintetičkog vazduha sa protokom od 30 mL/min korišćenjem 10 ± 2 mg uzorka. Uzorci su grejani u temperaturnom opsegu od 25 do 250 °C, linearnom brzinom od 10 °C/min u otvorenom nosaču uzorka od kvarca. Referentni materijal je predstavljao prazni kvarcni nosač uzorka. Početna temperatura oksidacije određena je u uzorcima HPSU koji sadrže etarska ulja odnosno ekstrakte u koncentraciji od 1000 ppm i za HPSU bez dodataka.

4.5.4. Ispitivanje oksidativne stabilnosti ulja u toku šest meseci skladištenja

U cilju praćenja uticaja dodatih etarskih ulja i ekstrakta na stabilnost HPSU, postavljen je i eksperiment u trajanju od šest meseci. Uzorci ulja su čuvani u dobro zatvorenim staklenim flašicama zapremine 200 mL, na sobnoj temperaturi i bez prisutva svetlosti. Flašice sa uzorkom su na mesečnom nivou otvarane radi uzimanja dela uzorka za analizu. Parametri koji su praćeni na mesečnom nivou su: Pbr, Abr, OV, K_{232} i K_{270} . Takođe, praćena je i promena boje uzoraka instrumentalnom tehnikom koja je izvršena neposredno nakon dodatka etarskih ulja i ekstrakata, nakon tri i nakon šest meseci.

4.6. Senzorna ocena kvaliteta

Senzorni kvalitet HPSU sa dodatkom EU i ekstrakata odabranih biljaka definisan je i ocenjivan na osnovu tri grupe senzornih svojstava: boje, mirisa i ukusa. Ispitivanje senzornog kvaliteta uzoraka je izvršeno od strane komisije sačinjene od obučanih stručnih senzoričara-panelista, primenom ISO standarda (1993). Pri karakterizaciji uzoraka, svaki panelista je za navedene parametre kvaliteta dao ocenu u rasponu od 0 (neprihvatljiv kvalitet) do 5 (optimalan kvalitet) sa mogućnošću davanja polu bodova. Za svaki uzorak je izračunata prosečna ocena svakog ispitivanog senzornog svojstva. Takođe, sabiranjem dodeljenih ocena za posmatrana senzorna svojstva dobija se ukupan broj bodova koji predstavlja vrednosnu senzornu ocenu uzorka. Prema Dimić i Turkulov (2000) sa odgovarajućim modifikacijama, u Tabeli 4.2. je prikazan način kategorisanja uzoraka prema ukupnom broju dodeljenih bodova.

Tabela 4.2. Kategorije kvaliteta prema ukupnom broju bodova.

Kategorija kvaliteta	Raspon bodova *
Odlična	14,5 – 15
Dobra	12,5 – 14,4
Osrednja	10,5 – 12,4
Još uvek prihvatljiva	8,5 – 10,4
Neprihvatljiva	< 8,5

* maksimalan broj bodova je 15

Kao senzorna karakteristika boja je pozitivno ocenjena ukoliko je uzorak bez zamućenja i taloga, i ukoliko je boja ujednačena i karakteristična za HPSU. Sa dodatkom ekstrakata odabranih lekovitih i začinskih biljaka boja je mogla biti promenjena ka braon ili zelenoj nijansi.

4.7. Instrumentalno određivanje boje uzoraka pomoću kompjuterskog vizuelnog sistema

Boja, aroma i tekstura predstavljaju ključne faktore u prihvatanju određenog proizvoda od strane potrošača (Sikorska i sar., 2007). Boja proizvoda ukazuje na njegov kvalitet, pa tako promena

boja ulja pogotovo u toku skladištenja i upotrebe, može ukazivati na pogoršanje kvaliteta ali i smanjenu upotrebljivost. Merenje boje ulja je jedna od analiza ulja koja prati standardne metode ispitivanja kvaliteta ulja kao i uticaj pojedinih predtretmana sirovine, uslove skladištenja i upotrebe ulja kao medijuma za pripremu hrane. Pored vizuelnog ocenjivanja, u literaturi se mogu naći podaci o merenju boje instrumentalnim putem pomoću kolorimetara, spektrofotometara kao i CVS (*Computer Vision System*) tehnike koja je upotrebljena za instrumentalno određivanje boje uzoraka u ovom radu.

U tu svrhu korišćena je Sony Alpha DSLR-A200 digitalna kamera (10,2 megapiksela, CCD senzor). Kamera je u odnosu na uzorak postavljena na udaljenosti od 30 cm u vertikalnom položaju. Parametri kamere su podešeni na sledeći način: brzina zatvarača 1/6 s, manuelno podešavanje, blenda Av F/11.0, ISO brzina 100, isključen blic, žižne daljine 30 mm, objektiv: DT-S18-70 mm f = 3,5 – 5,6. Za osvetljenje su korišćene četiri fluorescentne lampe dužine 60 cm (Master Graphica TDL 965) sa temperaturom boje 6500 K, opremljenje difuzerom svetla. U cilju dobijanja uniformnog osvetljenja uzorka, lampe su postavljene pod uglom od 45 stepeni i na visini od 50 cm u odnosu na uzorak. Kamera, kao i lampe su fiksirane na gornjem delu drvene kutije (dimenzija 80 × 80 cm) koja ima dva otvora sa strane, za unošenje uzorka i sa vrha, koja služi za kontrolu pre i posle snimanja. Unutrašnji zidovi kutije su presvučeni crnim fotografskim platnom kako bi se smanjilo rasipanje i difuzija svetlosti. Nakon što su kamera i monitor kalibrisani, na način kako su to opisali Tomašević i sar. (2019), za analizu fotografija je korišćen Adobe Photoshop CC (64 bit) softver. Karakteristike boje RGB fotografija dobijene su na osnovu digitalne fotografije uzorka pomoću Photoshop Average Color Sampler alatke (analizirana površina: 11 × 11 piksela).

Za potrebe merenja uzorci su najpre homogenizovani i nasuti u plastične čaše. Merenja su vršena neposredno nakon dodatka ekstrakata i etarskih ulja HPSU, nakon tri i šest meseci skladištenja. Parametri boje uzoraka ulja izraženi su u CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) $L^*a^*b^*$ sistemu koji je zasnovan na tri koordinate kojima se definiše boja uzorka: L^* predstavlja svetloću boje, a^* udeo crvene ($+a^*$) i zelene boje ($-a^*$) dok vrednosti za b^* predstavljaju udeo žute odnosno plave boje ($+b^*$ odn. $-b^*$). Na osnovu ovih vrednosti izračunate su ΔL^* , Δa^* i Δb^* koje predstavljaju razliku između vrednosti posmatranog uzorka i kontrolnog uzorka bez ikakvih dodataka. Ukupna promena boje uzoraka koja je nastala dodatkom ekstrakata i etarskog ulja suncokretovom ulju, kao i u toku procesa skladištenja u odnosu na kontrolni uzorak ulja, izražena je kao TCD (*Total Colour Difference*) (Maskan, 2003):

$$TCD = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (18)$$

gde je:

TDC- ukupna promena boje uzorka u odnosu na kontrolu

ΔL^* - razlika u svetloći između posmatranog uzorka i kontrole (+, svetliji; -, tamniji)

Δa^* - razlika u udelu crvene i zelene boje između posmatranog uzorka i kontrole (+, jače izražena crvena boja; -, jače izražena zelena boja)

Δb^* - razlika u udelu žute i plave boje između posmatranog uzorka i kontrole (+, jače izražena žuta boja; -, jače izražena plava boja)

Pored promene boje uzoraka, određen je i indeks žute boje (YI) i posmeđivanje uzoraka odnosno indeks braon boje (BI) (Maskan, 2001; Hirschler, 2012):

$$YI = 142,86 \times \frac{b^*}{L^*} \quad (19)$$

$$BI = \frac{100 \times (x - 0,31)}{0,17} \quad (20)$$

$$x = \frac{a^* + 1,75 \times L^*}{5,645 \times L^* + a^* - 3,012 \times b^*} \quad (21)$$

4.8. Statistička analiza

Za statističku analizu podataka prikazanih u radu kao srednja vrednost \pm standardna devijacija primenjen je softverski paket SPSS Statistics 24 (IBM, SAD). Primenjena je jednofaktorska analiza varijanse (one-way ANOVA) i *post hoc* poređenje Tukey-evim HSD testom. Kod podataka koji su ponavljani u vremenu primenjena je two-way repeated measures ANOVA. Statistički značajne razlike između srednjih vrednosti određene su na nivou značajnosti $p < 0,05$.

5. REZULTATI I DISKUSIJA

5.1. Sastav i karakteristike HPSU

5.1.1. Nutritivna vrednost

Kvalitet HPSU u najvećoj meri je definisan sastavom i sadržajem MK. Kako predstavljaju reaktivni deo molekula triacilglicerola, MK određuju fizičke i hemijske karakteristika ulja i na osnovu zastupljenosti pojedinih MK može se predvideti održivost ulja. Pored toga, kvantitativni sastav MK određuje i nutritivne karakteristike ulja.

Sastav i sadržaj MK prikazan je u Tabeli 5.1. U sastavu HPSU linolna kiselina je bila zastupljena sa 75,8 % što ispitivano ulje svrstava u standardni linolni tip suncokretovog ulja. Druga po zastupljenosti bila je oleinska kiselina sa 16,4 %, dok su palmitinska i stearinska, zastupljene sa 3,0 % odnosno 1,9 %. Ostale MK su imale udeo manji od 1 %. Odnos PUFA i SFA je iznosio 14,07. ω -3 MK su zastupljene gotovo u tragovima, dok je udeo ω -6 MK visok (77,1 %).

Tabela 5.1. Sastav i sadržaj MK i nutritivni pokazatelji ispitivanog HPSU.

Uobičajeni naziv MK	Broj C atoma i dvostrukih veza	% (mas.)
Palmitinska	C16:0	3,0
Palmitooleinska (ω -7)	C16:1	0,1
<i>cis</i> -10-heptadekanska (ω -7)	C17:1	0,3
Stearinska	C18:0	1,9
Oleinska (ω -9)	C18:1	16,4
Elaidinska (ω -9)	C18:1	0,8
Linolna (ω -6)	C18:2	75,8
Linolelaidinska (ω -6)	C18:2	0,8
γ -linolenska (GLA) (ω -6)	C18:3	0,1
α -linolenska (ALA) (ω -3)	C18:3	0,2
Dihomo- γ -linolna (DGLA) (ω -6)	C20:3	0,4
Eikosapentaenska (EPA) (ω -3)	C20:5	0,1
Trikozilna	C23:0	0,5
Lignocerinska	C24:0	0,1
	SFA	5,50
	MUFA	17,60
	PUFA	77,40
	$\Sigma\omega$-3	0,30
	$\Sigma\omega$-6	77,10
	AI	0,03
	TI	0,10
	HH	31,10

U Tabeli 5.1. su takođe prikazani i **nutritivni pokazatelji kvaliteta**- aterogeni (AI), trombogeni (TI) i hipoholesterolski/hiperholesterolski indeks (HH). Niže vrednosti AI i TI i više vrednosti HH ukazuju na visok kvalitet ulja. Vrednost AI je iznosila 0,03 što ukazuje na visok antiaterogeni efekat. Ulbricht i Southgate (1991), kao i Kalogeropoulos i sar. (2013) su naveli za suncokretovo ulje vrednost AI od 0,07, dok je najvišu vrednost ovog indeksa imala kokosova mast (13,63). Niske vrednosti AI navedene su za ulje divljeg kima i koštice kajsije (0,05), koprive (0,04)

i oleinski tip ulja šafranike (0,04) (Ratusz i sar., 2018; Ying i sar., 2018; Longoria-Sanchez i sar., 2019; Petkova i sar., 2020).

TI vrednost ispitivanog ulja je iznosila 0,10. Prema različitim autorima, suncokretovo ulje je imalo TI vrednosti od 0,19 do 0,28 (Ulbricht i Southgate, 1991; Kalogeropoulos i sar., 2013; Hashempour-Baltork i sar., 2018; Đurović i sar., 2021). Kao i za vrednosti AI, kokosova mast ima najvišu vrednost TI (6,18), dok ulje lana, oraha, divljeg lana i koštice kajsije imaju izuzetno niske vrednosti ovog nutritivnog pokazatelja (0,04, 0,10, 0,10 i 0,11) (Ulbricht i Southgate, 1991; Kalogeropoulos i sar., 2013; Hashempour-Baltork i sar., 2018; Ying i sar., 2018). Benkhoud i sar. (2021) su za AI odnosno TI za ekstra devičansko maslinovo ulje (EDMU) naveli vrednosti 0,16 i 0,30 koje su nakon 12 meseci skladištenja na sobnoj temperaturi iznosile 0,21, odnosno 0,43.

Pored AI i TI, određen je HH indeks koji predstavlja odnos udela MK sa hipoholesterolskim i MK sa hiperholesterolskim efektom. Vrednost HH indeksa ispitivanog ulja iznosi 31,10. Ova vrednost je značajno viša od vrednosti koje se mogu naći u literaturi. Visoke vrednosti ovog indeksa ima ulje koprive (24,99), koštice kajsije (21,49) i divljeg lana (15,00) (Ratusz i sar., 2018; Ying i sar., 2018; Petkova i sar., 2020). Prema Đurović i sar. (2021) mešano rafinisano ulje Omegol, koje predstavlja mešavinu rafinisanih ulja uljane repice, suncokreta i kukuruznih klica i jedino komercijalno dostupno ulje sa povoljnim odnosom ω -6 i ω -3 MK na domaćem tržištu, imalo je vrednosti 0,04, 0,09 i 23,26 za AI, TI i HH indeks.

Tabela 5.2. Parametri kvaliteta i oksidativnog statusa ispitivanog HPSU.

Nutritivna vrednost				
Sadržaj tokoferola (mg/100 g)	α -tokoferol	$\beta + \gamma$ -tokoferol	δ -tokoferol	Σ
	21,47	0,57	-	22,05
Sadržaj karotenoida (mg/kg)		3,51 \pm 0,16		
Sadržaj hlorofila (mg feofitina <i>a</i> /kg)		0,55 \pm 0,03		
Hemijske karakteristike				
Kbr (mg KOH/g)		3,07 \pm 0,06		
% oleinske kiseline		1,55 \pm 0,15		
Oksidativni status				
Pbr (mmol O ₂ /kg)		0,81 \pm 0,05		
Abr		0,23 \pm 0,01		
OV		1,86 \pm 0,11		
K ₂₃₂		2,31 \pm 0,02		
K ₂₇₀		0,15 \pm 0,01		

Sadržaj izomera tokoferola u ispitivanom HPSU je prikazan u Tabeli 5.2. Ukupni sadržaj tokoferola iznosio je 22,05 mg/100g ulja pri čemu je udeo α -tokoferola bio 21,47 mg/100g, odnosno 97,40 % od ukupno detektovanih tokoferola. Za suncokretovo ulje je karakterističan sastav tokoferola sa dominantnim α -tokoferolom što ga čini najbogatijim izvorom vitamina E među svim komercijalno dostupnim uljima (Velasco i Ruiz-Méndez, 2015). Visok udeo α -tokoferola u odnosu na druge tokole može se koristiti i kao indikator čistoće suncokretovog ulja (Kostadinović Veličkowska i sar., 2015). α -tokoferol prisutan u većim koncentracijama čini ulje otpornijim na fotooksidaciju, ali i manje stabilnim pri visokim temperaturama u odnosu na ona ulja u kojima su β - i γ -tokoferol dominantni (Garces i sar., 2009; Foster i sar., 2009; Rauf i sar., 2017). Izomeri β - i γ -tokoferola su prikazani zbirno što je posledica nedostataka primenjene tehnike određivanja (Górnaš i sar., 2015). Sadržaj ove frakcije u analiziranom ulju bio je 0,57 mg/100g. Kako je udeo β -tokoferola u suncokretovom ulju uglavnom neznatan, u frakciji $\beta + \gamma$ -tokoferol dominira γ -izomer. δ -tokoferol, čije prisustvo nije tipično za standardni tip suncokretovog ulja, u analiziranom HPSU nije detektovan.

Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa navodima Žilić i sar. (2010) koji su saopštili sadržaj ukupnih tokoferola u semenu (20,07 – 22,00 mg/100g) odnosno jezgru suncokreta (25,66 – 26,75

mg/100g). Međutim, vrednost ukupnih tokoferola je znatno niža od onih propisanih Pravilnikom, kao i onih koje se mogu sresti u literaturi za HPSU. Sadržaj tokoferola za nerafinisano (sirovo) suncokretovo ulje koji propisuje Pravilnik kreće se u rasponu od 440 do 1520 mg/kg (Pravilnik, 2013). Kostadinović Veličkova i sar. (2015;2018) su naveli nešto više vrednosti (28,5 odnosno 30,3 mg/100g), dok su De Leonardis i sar. (2003), Franke i sar. (2010) i Nadeem i sar. (2015) naveli značajno više vrednosti za ukupne tokoferole (100,9 mg/100g, 75,5 mg/100g odnosno 78,38 mg/100g). Za razliku od ostalih navedenih rezultata, HPSU koje su analizirali Nadeem i sar. (2015) sadržalo je visok udeo δ -tokoferola (21,0 mg/100g).

Razlog za ovako nizak sadržaj tokoferola može se tražiti u načinu i dužini skladištenja sirovine, kao i načinu pripreme sirovine za izdvajanje ulja. Posmatrajući sadržaj i sastav tokoferola sa stanovišta oksidativne stabilnosti ulja, može se zaključiti da tokoferoli prisutni u ovako malom udelu ne mogu ostvariti značajniji efekat na održivost ulja iako predstavljaju glavne komponente ulja koje ostvaruju antioksidativno dejstvo.

U ispitivanom ulju spektrofotometrijskim putem je određen i sadržaj najzastupljenijih pigmenta biljnih ulja - karotenoida i hlorofila (Tabela 5.2.). **Sadržaj karotenoida** u ispitivanom ulju je bio $3,51 \pm 0,16$ mg/kg što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (Romanić, 2015; Konuskan i sar., 2019). Dobijene vrednosti su niže od onih koje su naveli Premović i sar. (2010), Symoniuk i sar. (2018) i Tauferova i sar. (2021) (4,29 – 11,31 mg/kg, 5,67 mg/kg, odnosno 11,67 mg/kg). Niže vrednosti za sadržaj karotenoida saopštili su Rade i sar. (2004), Tuberoso i sar. (2007), Topkafa i sar. (2013), Górnas i sar. (2014), Redondo-Cuevas i sar. (2018) i Nezirević-Nizić i sar. (2019), dok Rafałowski i sar. (2008) nisu detektovali β -karoten u ispitivanom uzorku HPSU.

Sadržaj hlorofila je iznosio $0,55 \pm 0,03$ mg/kg izraženo preko feofitina *a*, što je u saglasnosti sa saopštenim rezultatima iz literature (Premović i sar., 2010; Topkafa i sar., 2013; Romanić, 2015). Viši sadržaj ukupnih hlorofila su saopštili Tuberoso i sar. (2007), Górnas i sar. (2014), Dordević i sar. (2020) i Tauferova i sar. (2021) (2,3 mg/kg, 1,19 mg/kg, 2,78 mg/kg, odnosno 2,53 mg/kg), dok su Redondo-Cuevas i sar. (2018) i Symoniuk i sar. (2018) naveli niže vrednosti (0,22 mg/kg odnosno 0,11 mg/kg). Rade i sar. (2004) su pokazali da postoji razlika u sadržaju hlorofila u HPSU koje je dobijeno u industrijskim (0,36 mg/kg) i laboratorijskim uslovima (0,02 mg/kg), dok su Nezirević-Nizić i sar. (2019) ukazali da se sadržaj hlorofila značajno razlikovao u zavisnosti od sezone (3,24 za prvu sezonu odnosno 0,45 mg/kg drugu).

5.1.2. Hemijske karakteristike i oksidativni status

Stepen hidrolitičke razgradnje. Vrednosti Kbr i % oleinske kiseline bile su $3,07 \pm 0,06$ mg KOH/g odnosno $1,55 \pm 0,15$ (Tabela 5.2.), što su za sveže izdvojeno HPU visoke vrednosti. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima koje su saopštili Rade i sar. (2004), Bendini i sar. (2011) i Tasan i sar. (2011). Maksimalna vrednost Kbr za HPU propisana Pravilnikom je 4 mg KOH/g (Pravilnik, 2013). Iako je ovaj parametar kvaliteta u zakonski propisanim granicama, ovako visoke vrednosti značajno umanjuju kvalitet ulja. Takođe, veći sadržaj slobodnih MK negativno utiče na oksidativnu stabilnost ulja s obzirom na to da pokazuju prooksidativno dejstvo (Morales i Przybylski, 2013). Kako su analize vršene neposredno nakon presovanja, može se pretpostaviti da su ovako visoke vrednosti posledica hidrolitičkih procesa u samom semenu suncokreta odnosno da je suncokret pre prerade skladišten duži vremenski period. Visok sadržaj slobodnih MK u ulju nakon presovanja jasno ukazuje na hidrolitičku dekompoziciju TAG usled oštećenja u toku skladištenja (Raß i sar., 2008; Bendini i sar., 2011). Takođe, prema navodima Dimić i sar. (2012a), prisustvo ljuske i nečistoća u materijalu za presovanje znatno može uticati na kiselost izdvojenog ulja. Prema ovim autorima, HPSU je imalo najniže vrednosti za Kbr kada je presovano jezgro suncokreta bez ljuske i nečistoća, dok je najvišu vrednost imao uzorak ulja dobijen presovanjem jezgra suncokreta sa 10 % nečistoća i 16 % ljuske (0,21 mg KOH/g odnosno 0,74 mg KOH/g). Prisustvo ljuske znatno manje utiče na kiselost ulja u odnosu od prisustva nečistoća čija je kiselost nečistoća izuzetno visoka (38,75 mg KOH/g). Niske vrednosti za Kbr naveli su Bialek i sar. (2017),

Symoniuk i sar. (2018), Mazaheri i sar. (2019), Dordevič i sar. (2020) i Tauferova i sar. (2021) (0,42 mg KOH/g, 0,59 mg KOH/g, 0,04 mg KOH/g, 0,07 mg KOH/g odnosno 0,43 mg KOH/g). Niske vrednosti za procenat oleinske kiseline naveli su De Leonardis i sar. (2003) i Nezirević-Nizić i sar. (2019) (0,2 % i 0,11 %, odnosno 0,12 % u zavisnosti od sezone).

U cilju određivanja stepena nastalih oksidativnih promena, u HPSU korišćenom u eksperimentalnom radu ispitivan je sadržaj primarnih i sekundarnih proizvoda preko Pbr, Abr, K_{232} i K_{270} , a računskim putem je određena i OV. Vrednosti ispitivanih parametara su prikazane u Tabeli 5.2.

Peroksidni broj. Pbr ispitivanog ulja određen neposredno nakon izdvajanja je iznosio $0,81 \pm 0,05$ mmol/kg ulja. Uzimajući u obzir da je zakonski maksimalno propisana vrednost za HPU 7,5 mmol/kg, reč je o kvalitetnom ulju koje nije podleglo oksidativnim promenama. Dobijeni rezultati su uporedivi sa onim koje su saopštili Nadeem i sar. (2015) i Tauferova i sar. (2021) koji su rezultate prikazali u miliekvivalentima kiseonika po kilogramu (1,42 i 1,30 meq O_2 /kg). Mazaheri i sar. (2019) su naveli izuzetno niske vrednosti Pbr (0,24 meq O_2 /kg), dok se nešto više vrednosti naveli Dimić (2000) (0,42 i 0,51 mmol/kg) i Romanić i sar. (2009) (0,20 i 0,29 mmol/kg). U literaturi se uglavnom mogu naći više vrednosti Pbr (De Leonardis i sar., 2003; Poiana i sar., 2009; Tasan i sar., 2011; Dimić i sar., 2012a; Górnas i sar., 2014, Kostadinović Veličkova i sar., 2015; Bialek i sar., 2017; Wroniak i sar., 2016b; Romanić i Kravić, 2017; Konuskan i sar., 2019; Multari i sar., 2019; Sadeghi i sar., 2019; Begić i sar., 2020; Dordevič i sar., 2020). Lužaić i sar. (2021) su saopštili vrednosti Pbr u granicama 0,36 – 6,93 mmol/kg. Vrednosti Pbr koje su u granicama maksimalne vrednosti propisane Pravilnikom naveli su Bendini i sar. (2011) i to za uzorke organskog HPSU (14,19 i 15,98 meq O_2 /kg). Kao i u slučaju sadržaja hlorofila, Rade i sar. (2004) su saopštili da laboratorijski izdvojeno HPSU ima niže vrednosti i za Pbr u odnosu na ulje dobijeno u industrijskim uslovima (1,28, odnosno 4,28 mmol/kg).

Anisidinski broj. Vrednost ovog pokazatelja oksidativnog statusa za ispitivano HPSU iznosila je $0,23 \pm 0,01$ što predstavlja nižu vrednost od onih navedenih u literaturi za HPSU (Dimić, 2000; Romanić i sar., 2009; Nadeem i sar., 2015; Wroniak i sar., 2016b; Symoniuk i sar., 2018; Multari i sar., 2019; Sadeghi i sar., 2019). Vrednosti Abr bliske ili jednake nuli ukazuju da je HPSU izdvojeno iz kvalitetne sirovine, jer oksidativni procesi još uvek nisu nastupili i nema nagomilanih sekundarnih proizvoda oksidacije. Mazaheri i sar. (2019) su za sveže HPSU saopštili vrednosti Abr jednake nuli. Dimić i sar. (2012a) su pokazali da sadržaj ljske i nečistoća u materijalu za presovanje ima uticaja i na vrednost Abr koja je u slučaju najvišeg procenta nečistoća iznosila 1,55. Isti uzorak je imao i najviše vrednosti za Kbr i Pbr, dok se vrednost Abr za ostale uzorke kretala od 0 do 0,27. Lužaić i sar. (2021) su saopštili vrednosti Abr koje su se kretale u granicama od 0,05 do 1,52.

Na osnovu vrednosti za Abr može se proceniti i održivost ulja i masti: viša vrednost Abr nagoveštava slabiju održivost ulja i masti i ukazuje na to da je polazno ulje, koje se koristilo za dobijanje biljne masti, bilo slabijeg kvaliteta (Rabrenović, 2017).

Oksidativna vrednost. OV je određena računskim putem na osnovu vrednosti Pbr i Abr i za ispitivano ulje je iznosila $1,86 \pm 0,11$. Izračunata OV je u saglasnosti sa navodima Lužaić i sar. (2021) koji su saopštili vrednosti u opsegu 1,3 – 15,13, dok su Dimić (2000) i Romanić i Kravić (2017) za HPSU linolnog tipa saopštili više vrednosti od onih dobijenih u ovom istraživanju (2,07 – 7,00, odnosno 7,34).

Konjugovani dieni i konjugovani trieni. S obzirom na to da konjugovani sistemi nastaju oksidacijom PUFA, među kojima u ispitivanom ulju dominira linolna kiselina sa 97,93 %, može se reći da promena apsorbanije na 232 nm potiče od hidroperoksida linolne kiseline i K_{232} koji nastaju njihovom razgradnjom. Promene apsorbanije na 270 nm izazivaju K_{270} kao sekundarni proizvodi. K_{232} i K_{270} u svežem ulju iznosili su $2,31 \pm 0,02$ i $0,15 \pm 0,01$, što je u saglasnosti sa rezultatima

koje su naveli Dimić i sar. (2015), Kostadinović Veličkova i sar. (2015) i Romanić (2015) za HPSU linolnog tipa. Lužaić i sar. (2021) su saopštili da se za 24 uzorka HPSU sadržaj K_{232} kretao u opsegu 1,44 – 8,81, dok je sadržaj K_{270} bio u 0,13 – 0,68. Više vrednosti za K_{232} i K_{270} naveli su Nadeem i sar. (2015) i Sadeghi i sar. (2019) (3,06 i 0,63, odnosno 3,85 i 0,80). Kako su Dimić i Turkulov (2000) naveli, kvalitetno ulje suncokreta ne bi smelo imati K_{270} veći od 0,5. Može se očekivati da K_{270} ima više vrednosti ukoliko je udeo PUFA koje sadrže tri i više dvostrukih veza u masnokiselinskom sastavu ulja veći (Poiana i sar., 2012) što za testirano HPSU nije bio slučaj.

5.2. Hemijski sastav etarskih ulja odabranih biljnih vrsta lekovitih i začinskih biljaka

Lekovite i začinske biljke odabrane za ispitivanje u ovom radu spadaju u izrazito aromatične što je posledica prisustva etarskih ulja (EU) koja predstavljaju kompleksne smeše isparljivih jedinjenja. EU proučavanih biljnih vrsta izolovana su metodom hidrodestilacije. Prinos EU prikazan je u Tabeli 5.3.

Tabela 5.3. Prinos EU ispitivanih biljnih vrsta izražen u %/g suvog biljnog materijala.

Biljna vrsta	Prinos (%)
Rtanjski čaj	0,45 ± 0,09 ^{b*}
Bosiljak	0,41 ± 0,03 ^b
Korijander	1,13 ± 0,12 ^b
Anis	4,31 ± 0,13 ^a
Kim	5,53 ± 1,05 ^a

*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p < 0,05$)

Rtanjski čaj. Prinos EU izolovanog iz herbe rtanjskog čaja bio je 0,45 ± 0,09 % (Tabela 5.3.). U sastavu EU je detektovano 39 komponenti koje čine 93,57 % ukupnog ulja (Tabela 5.4.). Monoterpeni su klasa jedinjenja sa najvećim udelom (84,19 %) od kojih oksidovani monoterpeni čine 68,50 %. Seskviterpeni su zastupljeni sa 7,76 %, od toga seskviterpenski ugljovodonici sa 5,84 %. Kao glavne komponente hemijskog sastava izdvojili su se karvakrol (37,26 %), timol (15,63 %), *p*-cimen (9,09 %), izotimol metil-etar (4,59 %) i γ -terpinen (3,15 %). Dobijeni rezultati hemijskog sastava EU su u saglasnosti sa rezultatima navedenim u literaturi (Skočibušić i sar., 2003; Djenane i sar., 2011a; 2012; Dunkić i sar., 2012; Nikolić i sar., 2014; Damjanović-Vratnica i sar., 2016; Moisa i sar., 2017; Ibáñez i Blázquez, 2018; Aćimović i sar., 2019; Fratini i sar., 2019; Vitanza i sar., 2019; Taoudiat i sar., 2020).

Iako je za EU rtanjskog čaja karakterističan visok sadržaj monoterpenskih fenola, karvakrola i timola, sastav EU može znatno varirati u zavisnosti od brojnih faktora (Ćavar i sar., 2008; Elgndi i sar., 2017). Odsustvo timola ili prisustvo u neznatnim količinama naveli su Bezić i sar. (2009), Nedorostova i sar. (2011), Marin i sar. (2012), Miladi i sar. (2013), Jianu i sar. (2015), Rus i sar. (2015), Trifan i sar. (2015), Babaei i sar. (2018), Šojić i sar. (2019a) i Bulut i sar. (2020). de Oliveira i sar. (2012) i Mihajilov-Krstev i sar. (2014) su naveli linalol kao jednu od glavnih komponenata EU rtanjskog čaja. U sastavu EU pojedini autori su naveli i geraniol, kariofilen, terpinen-4-ol i borneol kao komponentu sa većim udelom (Ćavar i sar., 2008; Nedorostova i sar., 2011; de Oliveira i sar., 2012; Marin i sar., 2012; Ćavar i sar., 2013; Taoudiat i sar., 2020).

Pored toga što je jako cenjen kao začim, rtanjski čaj poseduje brojna farmakološka dejstva najviše zahvaljujući sastavu EU u kome dominiraju monoterpenski fenoli- timol i karvakrol (Šojić i sar., 2019a). Navedene komponente su izomeri koji se razlikuju po položaju hidroksi grupe na fenolnom prstenu (Elgndi i sar., 2017). Antioksidativno i antimikrobno dejstvo rtanjskog čaja je u najvećoj meri posledica njihovog prisustva, ali nije zanemarljiv ni uticaj komponenata koje su zastupljene u manjim količinama (Dawidowicz i Olszowy, 2014).

Tabela 5.4. Hemijski sastav EU nadzemnog dela rtanjskog čaja.

Komponenta	RI ^{a*}	RI ^{b**}	%
α -tujen	930	932	0,01
α -pinen	939	943	0,38
kamfen	954	957	0,55
1-okten-3-ol	978	979	0,85
β -pinen	980	982	0,42
β -mircen	991	992	0,40
α -felandren	1005	1004	0,06
3-karen	1012	1014	0,03
4-karen	1018	1019	0,79
<i>p</i> -cimen	1026	1024	9,09
β -felandren	1030	1030	0,07
eukaliptol (1,8-cineol)	1034	1033	0,21
<i>cis</i> - β -ocimen	1039	1043	0,54
γ -terpinen	1060	1064	3,15
α -terpinen	1090	1091	0,20
linalol	1099	1103	1,91
β -terpineol	1149	1150	2,47
borneol	1165	1163	2,58
terpinen-4-ol	1179	1177	1,72
α -terpineol	1190	1189	0,28
estragol	1196	1194	0,19
izotimol metil-etar	1215	1216	4,59
timol metil-etar	1235	1233	0,22
karvon	1242	1245	0,81
geraniol	1258	1254	0,82
<i>trans</i> -anetol	1283	1284	0,58
karvakrol	1298	1299	37,26
timol	1302	1300	15,63
β -burbonene	1385	1384	0,17
kariofilen	1399	1402	2,11
aromandren	1427	1430	0,49
α -humulen	1456	1460	0,14
D-germakren	1480	1483	0,33
γ -kadinen	1493	1494	0,29
biciklogermakren	1495	1495	0,75
δ -kadinen	1503	1502	0,38
β -bisabolen	1507	1509	1,18
kariofilen oksid	1561	1563	0,92
spatulenol	1577	1580	1,00
Broj identifikovanih komponenti			39
Monoterpenski ugljovodonici			15,69
Oksidovani monoterpeni			68,50
Ukupni monoterpeni			84,19
Seskviterpenski ugljovodonici			5,84
Oksidovani seskviterpeni			1,92
Ukupni seskviterpeni			7,76
Fenilpropanoidi			0,77
Ostalo			0,85
1-okten-3-ol			0,85
Ukupno identifikovanih komponenti			93,57

^aRI^a – Relativni retencioni indeksi na koloni sa dimetil-silikonom kao stacionarnom fazom sa 5 % fenil grupa identifikovani poređenjem sa literaturnim podacima, kao i poređenjem masenih spektara sa bazom podataka masenih spektara (Adams, 2007; Babushok i sar., 2011; NIST baza podataka).

^bRI^b – Relativni retencioni indeksi eksperimentalno utvrđeni i izračunati u odnosu na homologe n-alkana (C8 – C32) na HP-5MS koloni.

Bosiljak. EU bosiljka je imalo najniži prinos od svih ispitivanih biljnih vrsta ($0,41 \pm 0,03$ %) (Tabela 5.3.). Prema literaturnim navodima, prinos EU bosiljka iz različitih delova biljke se kretao od 0,2 do 1,9 % gde su se kao glavne komponente izdvajali linalol, metil-havikol (estragol), eugenol i metil-cinamat sa nešto manjim udelom 1,8-cineola, metil-eugenola, geraniola, geraniala i α -bergamotena (Marotti i sar., 1996; Labra i sar., 2004; Sakkas i Papadopoulou, 2017).

U izolovanom EU identifikovano je 40 komponenti koje su predstavljale 90,63 % ukupnog ulja (Tabela 5.5.). Klase jedinjenja sa najvećom zastupljenošću su monoterpeni i seskviterpeni (53,57 % odnosno 26,16 %). Monoterpeni su bili najviše zastupljeni u oksidovanom obliku (52,23 %), dok su najveći deo seskviterpena predstavljali seskviterpenski ugljovodonici (24,05 %). Fenilpropanoidi su bili zastupljeni sa 10,77 %.

Tabela 5.5. Hemijski sastav EU nadzemnog dela bosiljka.

Komponenta	RI ^{a*}	RI ^{b**}	%
α -pinen	939	943	0,07
kamfen	954	957	0,45
benzaldehyd	961	963	0,02
β -pinen	980	982	0,45
2-karen	1001	1005	0,06
<i>p</i> -cimen	1026	1024	0,02
eukaliptol (1,8-cineol)	1034	1033	2,12
<i>cis</i> - β -ocimen	1039	1043	0,23
<i>trans</i> - β -ocimen	1050	1051	0,02
γ -terpinen	1060	1064	0,04
<i>trans</i> -linalol-oksidi	1083	1085	0,99
linalol	1099	1103	40,97
kamfor	1144	1147	0,53
izomenton	1164	1161	0,16
borneol	1165	1163	0,28
mentol	1169	1170	0,15
α -terpineol	1190	1189	0,48
estragol	1196	1194	7,92
D-karvon	1242	1245	0,89
geraniol	1258	1254	4,80
geranial	1270	1268	0,13
<i>trans</i> -anetol	1283	1284	1,54
timol	1302	1300	0,16
eugenol	1357	1352	0,62
geranil acetat	1383	1385	0,57
β -elemen	1391	1390	2,63
metil eugenol	1404	1405	0,69
α -bergamoten	1433	1430	1,95
α -humulen	1456	1460	0,78
germakren-D	1480	1483	3,42
(+)-epi-bicikloseskvifelandren	1488	1450	8,70
α -selinen	1494	1492	0,72
biciklogermakren	1495	1495	0,86
α -murolen	1497	1498	3,41
bulnezen	1505	1502	1,58
spatulenol	1577	1580	0,68
α -kadinol	1632	1637	0,87
β -eudezmol	1648	1649	0,43
heksahidrofarnesil aceton	1836	1833	0,13
fitol	2122	2120	0,11
Broj identifikovanih komponenti			40
Monoterpenski ugljovodonici			1,34

Oksidovani monoterpeni	52,23
Ukupni monoterpeni	53,57
Seskviterpenski ugljovodonici	24,05
Oksidovani seskviterpeni	2,11
Ukupni seskviterpeni	26,16
Fenilpropanoidi	10,77
Diterpeni	0,11
Ostalo	0,02
benzaldehyd	0,02
Ukupno identifikovanih komponenti	90,63

^aRI^a – Relativni retencioni indeksi na koloni sa dimetil-silikonom kao stacionarnom fazom sa 5 % fenil grupa identifikovani poređenjem sa literaturnim podacima, kao i poređenjem masenih spektara sa bazom podataka masenih spektara (Adams, 2007; Babushok i sar., 2011; NIST baza podataka).

^bRI^b – Relativni retencioni indeksi eksperimentalno utvrđeni i izračunati u odnosu na homologi niz n-alkana (C8 – C32) na HP-5MS koloni.

Kao glavne komponente EU su se izdvojile linalol (40,97 %), (+)-epi-bicikloeskivifelandren (8,70 %), metil-havikol (7,92 %), geraniol (4,80 %) i germakren-D (3,42 %). Varga i sar. (2017) su u studiji koja je obuhvatila analizu 85 uzorka različitih populacija bosiljka, na osnovu zastupljenosti sedam glavnih komponenata EU predložili podelu na pet hemotipova: (A) linalol, (B) linalol/*trans*- α -bergamoten, (C) linalol/metil-havikol, (D) linalol/*trans*-metil-cinamat i (E) metil-havikol. A i C se smatraju evropskim hemotipom kome pripada i uzorak bosiljka ispitivan u ovom radu. Visok udeo linalola je u saglasnosti sa literaturnim navodima (Hussain i sar., 2008; Duman i sar., 2010; Soković i sar., 2010; Jelačić i sar., 2011; Beatović i sar., 2015; Silva i sar., 2015; Filip i sar., 2016; Elgndi i sar., 2017; Rezzoug i sar., 2019). Prisustvo (+)-epi-bicikloeskivifelandrena kao dominantne komponente u hemijskom sastavu EU bosiljka, prema dostupnoj literaturi saopšten je samo od strane Benedec i sar. (2009).

Korijander. Najniži prinos EU među ispitivanim biljnim vrstama iz familije Apiaceae imao je plod korijandera ($1,13 \pm 0,12$ %) (Tabela 5.3.). Prema navodima Coşkuner i Karababa (2007), prinos EU je bio 0,03 – 2,6 %, dok se prinos EU korijandera gajenog na teritoriji Srbije kretao u nešto užim granicama (0,60 – 0,94 %) (Aćimović, 2014; Pavlić i sar., 2015).

Hemijski sastav EU ploda korijandera prikazan je u Tabeli 5.6. U ispitivanom EU ukupno je identifikovana 21 komponenta čiji je udeo činio 98,31 % ulja. Monoterpeni, sa oksidovanim monoterpenima (80,18 %) i monoterpenskim ugljovodonicima (17,19 %), činili su najzastupljeniju klasu jedinjenja sa 97,37 %. Udeo seskviterpena i fenilpropanoida je bio neznan (0,12 % odnosno 0,82 %). Kao glavne komponente EU su se izdvojili linalol (64,28 %), kamfor (5,28 %), α -pinen (4,67 %), geranil acetat (4,40 %) i γ -terpinen (4,33 %). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa literaturnim navodima (Anwar i sar., 2011; Dima i sar., 2014; Aćimović i sar., 2017; Micić i sar., 2019). Elgndi i sar. (2017) su kao glavne komponente EU korijandera naveli linalol, kamfor i α -terpineol, dok su Pavlić i sar. (2015) naveli linalol, kamfor, γ -terpinen, geraniol i limonen sa zanemarljivim količinama α -pinena. U oba istraživanja geranil acetat nije detektovan, dok su Wang i sar. (2018) ovaj oksidovani monoterpen detektovali u količini gotovo jednakoj kao linalol. Prema navodima Msaada i sar. (2007), koji su ispitivali uticaj zrelosti ploda na hemijski sastav EU, visok udeo geranil acetata je karakterističan za nezrele plodove korijandera čiji udeo sa 46,27 % u nezrelim plodovima opada na svega 0,83 % u zrelim.

Iako je za EU korijandera karakterističan visok udeo linalola, u literaturi se mogu naći navodi koji ukazuju na hemijski sastav EU koje znatno odstupa od pomenutog. Nurzyńska-Wierdak (2013) je za EU ploda korijandera poreklom iz Poljske navela sadržaj linalola od 0,3 do 1 % pri čemu su dekanol, E-2-dodekanol i E-2-decenol navedeni kao komponente sa najvećim udelom. Teixeira i sar. (2013) su kao glavne komponente EU korijandera poreklom iz Austrije naveli Δ^3 -karen i γ -terpinen, dok linalol nije detektovan. U plodu korijandera poreklom iz Irana, linalol takođe nije bio detektovan, a kao glavna komponenta se izdvojio kamfor (Darughe i sar., 2012). Ovo ukazuje da sastav EU, kao i prinos može znatno varirati u zavisnosti od brojnih faktora kao što su genotip, geografsko poreklo, klimatski uslovi, stepen zrelosti, način izolovanja

ulja i uslovi skladištenja (Msaada i sar., 2007; Bakali i sar., 2008; Nurzyńska-Wierdak, 2013; Wei i sar., 2019).

Tabela 5.6. Hemijski sastav EU ploda korijandera.

Komponenta	RI ^{a*}	RI ^{b**}	%
α -pinen	939	943	4,67
kamfen	954	957	0,72
sabinen	975	978	0,23
β -pinen	980	982	0,50
β -mircen	991	992	0,77
<i>p</i> -cimen	1026	1024	2,90
D-limonen	1031	1034	2,48
γ -terpinen	1060	1064	4,33
α -terpinen	1090	1091	0,59
linalol	1099	1103	64,28
kamfor	1144	1147	5,28
borneol	1165	1163	0,57
terpinen-4-ol	1179	1177	0,19
α -terpineol	1190	1189	0,50
citronelol	1208	1208	0,15
D-karvon	1242	1245	1,80
geraniol	1258	1254	2,87
<i>trans</i> -anetol	1283	1284	0,82
mirtenil acetat	1306	1306	0,14
geranil acetat	1383	1385	4,40
kariofilen	1399	1402	0,12
Broj identifikovanih komponenti			21
Monoterpenski ugljovodonici			17,19
Oksidovani monoterpeni			80,18
Ukupni monoterpeni			97,37
Seskviterpenski ugljovodonici			0,12
Ukupni seskviterpeni			0,12
Fenilpropanoidi			0,80
Ukupno identifikovanih komponenti			98,31

^aRI^a – Relativni retencioni indeksi na koloni sa dimetil-silikonom kao stacionarnom fazom sa 5 % fenil grupa identifikovani poređenjem sa literaturnim podacima, kao i poređenjem masenih spektara sa bazom podataka masenih spektara (Adams, 2007; Babushok i sar., 2011; NIST baza podataka).

^bRI^b – Relativni retencioni indeksi eksperimentalno utvrđeni i izračunati u odnosu na homologi niz n-alkana (C8 – C32) na HP-5MS koloni.

Anis. Prinos EU anisa je bio $4,31 \pm 0,13$ % (Tabela 5.3.). Ullah i Honermeier (2013) su naveli da EU ploda anisa ima prinos u granicama od 1 do 5 % sa čime je u saglasnosti rezultat dobijen u ovom istraživanju. Identifikovano je pet komponenti koje su zbirno predstavljale 96,41 % ukupnog ulja (Tabela 5.7.). Najzastupljenija klasa jedinjenja su bili fenilpropanoidi sa udelom od 92,24 % od čega je najveći deo činio *trans*-anetol sa 90,46 %. Monoterpeni i seskviterpeni su bili zastupljeni u znatno manjim količinama (0,24 % odnosno 3,93 %). Pored *trans*-anetola, koji je karakterističan za EU ploda anisa, jedine komponente sa udelom većim od 1 % bile su γ -himahalen (3,60 %) i metil-havikol (1,78 %). Dobijeni rezultati sastava EU anisa su u saglasnosti literaturnim navodima (Aćimović i sar., 2017; Benelli i sar., 2017; Anastasopoulou i sar., 2019; Rebey i sar., 2019).

Nešto drugačije podatke o hemijskom sastavu EU ploda anisa saopštili su Amany i sar. (2012) gde su kao glavne komponente navedeni linalol, eugenol i 1,8-cineol. U određenom broju studija, sa većim udelom u ukupnom EU detektovani su i *trans*-pseudoizoeugenol 2-metilbutirat i epoksi-pseudoizoeugenol 2-metilbutirat koji predstavljaju fitohemijske markere karakteristične za rod *Pimpinella* sp. (anis) (Orav i sar., 2008; Fitsiou i sar., 2016; Benelli i sar., 2017; Anastasopoulou i sar., 2019), potom *p*-anisaldehid (Orav i sar., 2008), β -kariofilen, felandren i 3-karen (Hussein i sar., 2014), piperitenon oksid (Khanjari i sar., 2019), fenhon (Singh i sar., 2008), šafranol (Radaelli i sar., 2016) i timol i γ -terpinen (Mahdavi i sar., 2018).

Tabela 5.7. Hemijski sastav EU ploda anisa.

Komponenta	RI ^{a*}	RI ^{b**}	%
linalol	1099	1103	0,24
metil-havikol	1196	1194	1,78
<i>trans</i> -anetol	1283	1284	90,46
β -bisabolen	1507	1509	0,33
γ -himahalen	1515	1517	3,60
Broj identifikovanih komponenti			5
Oksidovani monoterpeni			0,24
Ukupni monoterpeni			0,24
Seskviterpenski ugljovodonici			3,93
Ukupni seskviterpeni			3,93
Fenilpropanoidi			92,24
Ukupno identifikovanih komponenti			96,41

^aRI^a – Relativni retencioni indeksi na koloni sa dimetil-silikonom kao stacionarnom fazom sa 5 % fenil grupa identifikovani poređenjem sa literaturnim podacima, kao i poređenjem masenih spektara sa bazom podataka masenih spektara (Adams, 2007; Babushok i sar., 2011; NIST baza podataka).

^bRI^b – Relativni retencioni indeksi eksperimentalno utvrđeni i izračunati u odnosu na homologe niz n-alkana (C8 – C32) na HP-5MS koloni.

Kim. Prinos EU ploda kima je bio najviši u odnosu na sve proučavane biljne vrste ($5,53 \pm 1,05$ %) ali se statistički nije značajno razlikovao od prinosa EU anisa (Tabela 5.3.). Kako su naveli Sedláková i sar. (2003), plod kima može sadržati 1 – 6 % EU, sa čime je u saglasnosti prinos EU kima dobijen u ovom istraživanju. Bosko i sar. (2016) saopštili prinos od čak 7,3 %.

Tabela 5.8. Hemijski sastav EU ploda kima.

Komponenta	RI ^{a*}	RI ^{b**}	%
α -pinen	939	943	0,04
sabinen	975	978	0,09
β -mircen	991	992	0,35
<i>trans-p</i> -menta-2,8-dienol	1118	1120	0,10
<i>trans</i> -limonen oksid	1125	1125	0,12
D-limonen	1031	1034	39,91
<i>cis</i> - β -ocimen	1039	1043	0,05
γ -terpinen	1060	1064	0,01
linalol	1099	1103	0,09
<i>trans</i> -dihidrokarvon	1195	1197	0,24
D-karvon	1242	1245	57,43
geranial	1270	1268	0,06
perila-aldehid	1271	1273	0,26
metil-geranilat	1322	1323	0,04
<i>cis</i> -karvil acetat	1339	1340	0,04
kariofilen	1399	1402	0,17
kariofilen oksid	1561	1563	0,02
Broj identifikovanih komponenti			17
Monoterpenski ugljovodonici			40,45
Oksidovani monoterpeni			58,38
Ukupni monoterpeni			98,83
Seskviterpenski ugljovodonici			0,17
Oksidovani seskviterpeni			0,02
Ukupni seskviterpeni			0,19
Ukupno identifikovanih komponenti			99,02

^aRI^a – Relativni retencioni indeksi na koloni sa dimetil-silikonom kao stacionarnom fazom sa 5 % fenil grupa identifikovani poređenjem sa literaturnim podacima, kao i poređenjem masenih spektara sa bazom podataka masenih spektara (Adams, 2007; Babushok i sar., 2011; NIST baza podataka).

^bRI^b – Relativni retencioni indeksi eksperimentalno utvrđeni i izračunati u odnosu na homologe niz n-alkana (C8 – C32) na HP-5MS koloni.

U ispitivanom EU ukupno je identifikovano 17 komponenti čiji je udeo zbirno činio 99,02 % ulja (Tabela 5.8.). Dominantna klasa jedinjenja su bili monoterpeni sa 98,83 % od čega su monoterpeni ugljovodonici činili 40,45 % a oksidovani monoterpeni 58,38 %. Seskviterpeni su bili zastupljeni u minimalnoj količini (0,19 %). Kao glavne komponente EU izdvojili su se D-karvon (57,43 %) i limonen (39,91 %), dok udeo preostalih identifikovanih komponenti nije prelazio 0,5 %. Veći udeo karvona u odnosu na limonen naveden je od strane više autora (Simić i sar., 2008; Laribi i sar., 2009; 2013; de Almeida i sar., 2010; Samojlik i sar., 2010; Seidler-Łożykowska i sar., 2013; Assami i sar., 2016; Trifan i sar., 2016). Aćimović i sar. (2014) i Solberg i sar. (2016) su naveli limonen kao komponentu sa udelom preko 70 %. Laribi i sar. (2009) su pokazali da stresni uslovi za biljku, kao što je nedostatak vode, utiču na povećanje udela limonena u EU a samim tim i smanjenje sadržaja karvona. Razzaghi-Abyaneh i sar. (2009) i Fatemi i sar. (2011) su naveli kuminaldehid, γ -terpinen, γ -terpinen-7-ol i *p*-cimen kao glavne komponente EU kima poreklom iz Irana, dok su u EU ekotipova iz Kine i Egipta, pored karvona i limonena kao glavnih komponenti, detektovani u većem udelu apiol odnosno β -mircen i α -selinen (Laribi i sar., 2013; Jiang i sar., 2014). Veći udeo karvona u sastavu EU, kao i niže vrednosti odnosa udela limonena i karvona tj. veći udeo karvona u hemijskom sastavu, odlika su kvalitetnog kima (Mahboubi, 2019). Postojanje negativne korelacije između prinosa EU i sadržaja limonena tj. da se sa porastom prinosa ulja smanjuje udeo limonena a sa druge strane raste sadržaj karvona, utvrdili su Bosko i sar. (2016).

5.3. Uticaj rastvarača i metode ekstrakcije na prinos ekstrakata

Ekstrakti odabranih biljaka pripremljeni su pomoću dve paralelne metode - maceracijom pomoću ultrazvuka (UZM) i Soksletovom ekstrakcijom (SE). Kao rastvarač je korišćen rastvor etanola koncentracije 70 % i 96 %. Prinosi ekstrakcije su bili u širokim granicama (7,95 – 38,01 %) (Tabela 5.9.).

Bez obzira na biljnu vrstu i primenjeni metod ekstrakcije, veći prinosi su dobijeni primenom 70 % rastvora etanola. Dobijeni rezultati potvrđuju da su binarni sistemi, kao što je smeša etanola i vode, efektivniji kao rastvarači za razliku od monokomponentnih (čist etanol ili destilovana voda), što je u saglasnosti sa literaturnim navodima (Spigno i sar., 2007; Bucić-Kojić i sar., 2009; Čujić i sar., 2016; Jovanović i sar., 2017). Najveći prinos dobijen primenom 70 % rastvora etanola imao je ekstrakt anisa (38,01 %) dok je najveći prinos 96 % etanolom imao plod kima (24,78 %) pri čemu su oba ekstrakta dobijena SE metodom.

Takođe, razlike u prinosu se javljaju i u zavisnosti od primenjene ekstrakcione metode. Za svaku ispitivanu biljnu vrstu, pokazalo se da je SE metod dao veće prinose. Najviši prinosi dobijeni su SE upotrebom 70 % etanola, dok su najniži prinosi dobijeni UZM sa 96 % etanolom pri čemu su u slučaju ekstrakata rtanjskog čaja, bosiljka i korijandera bili ispod 10 % (8,37 %, 7,95 % odnosno 8,64 %). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa literaturnim navodima gde se sa porastom polarnosti rastvarača povećava i prinos ekstrakcije (Martinez-Correa i sar., 2011; Farahmandfar i sar., 2019a). Pored toga, veći prinosi dobijeni SE mogu se objasniti uticajem povišene temperature. Sa porastom temperature smanjuje se viskozitet rastvarača čime je olakšano njegovo prodiranje u biljni matriks što rezultuje bržom ekstrakcijom i višim prinosima (Miron i sar., 2011). Sa druge strane, sa porastom temperature opada selektivnost rastvarača pa prinosi mogu biti veći, ali se kao posledica javlja ekstrakcija komponenti koje nisu od interesa, a može doći i do gubitka etanola usled isparavanja (Mustafa i Turner, 2011). Visoki prinosi ekstrakcije dobijeni kombinovanjem metode po Soksletu i 70 % rastvora etanola ukazuju da se najefikasnijom pokazala primena visoke temperature ekstrakcije i smeše rastvarača različitih polarnosti.

Tabela 5.9. Prinosi ekstrakata ispitivanih biljnih vrsta.

Biljna vrsta	Tip ekstrakta*	prinos (%)
Rtanjski čaj	SE ₇₀	25,39
	SE ₉₆	23,72
	UZM ₇₀	12,06
	UZM ₉₆	8,37
Bosiljak	SE ₇₀	23,74
	SE ₉₆	18,75
	UZM ₇₀	11,18
	UZM ₉₆	7,95
Korijander	SE ₇₀	18,76
	SE ₉₆	16,58
	UZM ₇₀	10,06
	UZM ₉₆	8,64
Anis	SE ₇₀	38,01
	SE ₉₆	24,15
	UZM ₇₀	19,04
	UZM ₉₆	17,55
Kim	SE ₇₀	32,90
	SE ₉₆	24,78
	UZM ₇₀	17,46
	UZM ₉₆	16,00

*SE₇₀ – ekstrakt dobijen Soksletovom ekstrakcijom pomoću 70 % rastvora etanola
 SE₉₆ – ekstrakt dobijen Soksletovom ekstrakcijom pomoću 96 % rastvora etanola
 UZM₇₀ – ekstrakt dobijen ultrazvučnom maceracijom pomoću 70 % rastvora etanola
 UZM₉₆ – ekstrakt dobijen ultrazvučnom maceracijom pomoću 96 % rastvora etanola

5.4. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima ispitivanih biljnih vrsta

Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja (TPC) i flavonoida (TFC) je prikazan u Tabeli 5.10. Odabrane biljne vrste familije Lamiaceae su se pokazale kao znatno bogatije fenolnim komponentama u odnosu na predstavnike familije Apiaceae.

Ekstrakti rtanjskog čaja su pokazali najviše vrednosti TPC ($172,43 \pm 1,65$ mg GAE/g do $189,53 \pm 1,70$ mg GAE/g, koliko je dobijeno za SE₉₆ odnosno SE₇₀ ekstrakt). Među ekstraktima bosiljka, najveći sadržaj ukupnih fenola imao je SE₇₀ ekstrakt, dok je UZM₉₆ ekstrakt imao značajno niži sadržaj od ostalih ($146,66 \pm 1,67$ mg GAE/g odnosno $52,33 \pm 1,54$ mg GAE/g). Najviše vrednosti TPC među biljnim vrstama familije Apiaceae imali su ekstrakti kima (od $60,68 \pm 1,37$ mg GAE/g do $88,77 \pm 0,79$ mg GAE/g, za SE₉₆ odnosno SE₇₀), a najniže ekstrakti korijandera (od $25,32 \pm 0,64$ mg GAE/g, koliko je bilo sadržano u UZM₉₆ do $44,34 \pm 1,84$ mg GAE/g u SE₇₀ ekstraktu).

SE se pokazala kao efikasnija metoda ekstrakcije fenolnih komponenti za sve ispitivane biljne vrste. Kao rastvarač, 70 % rastvor etanola je bio efikasniji rastvarač u poređenju sa 96 % etanolom, što potvrđuje literaturne navode da u binarnim sistemima, kao što je smeša etanola i vode, jedan rastvarač može povećati rastvorljivost fenola dok drugi može povećati desorpciju i da su upravo ovakve smeše najpogodnije za potpuniju ekstrakciju fenolnih komponenti (Thoo i sar., 2010; Mustafa i Tuner, 2011). Isti autori su pokazali da se sa porastom temperature smanjuje polarnost rastvarača i površinski napon čime je smeši etanola i vode omogućena ekstrakcija fenola različite polarnosti. Veći prinosi aktivnih komponenti su posledica i olakšanog prenosa mase obzirom da prisustvo vode, kao polarnog rastvarača, omogućava smanjenje viskoziteta (Farahmandfar i sar., 2019a). Evidentno je da TPC ekstrakata zavisi od primenjenog rastvarača tj. njegove polarnosti i rastvorljivosti ovih aktivnih komponenata u rastvaraču ili smeši rastvarača (Dent i sar., 2013).

Tabela 5.10. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima ispitivanih biljnih vrsta.

Biljna vrsta	Tip ekstrakta	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/g)	Sadržaj flavonoida (mg QE/g)
Rtanjski čaj	SE ₇₀	189,53 ± 1,70 ^{a*}	49,42 ± 0,93 ^d
	SE ₉₆	172,43 ± 1,65 ^c	56,16 ± 2,03 ^c
	UZM ₇₀	181,50 ± 1,10 ^b	47,19 ± 0,48 ^d
	UZM ₉₆	175,53 ± 1,70 ^c	64,21 ± 0,98 ^b
Bosiljak	SE ₇₀	146,66 ± 1,67 ^d	38,99 ± 1,49 ^f
	SE ₉₆	101,75 ± 0,93 ^f	67,44 ± 1,72 ^a
	UZM ₇₀	111,73 ± 0,64 ^e	32,59 ± 0,56 ^h
	UZM ₉₆	52,33 ± 1,54 ^k	42,68 ± 0,57 ^c
Korijander	SE ₇₀	44,34 ± 1,84 ^l	4,60 ± 0,30 ^k
	SE ₉₆	34,29 ± 0,20 ⁿ	2,33 ± 0,28 ^{kl}
	UZM ₇₀	38,01 ± 0,30 ^{mn}	3,70 ± 0,19 ^{kl}
	UZM ₉₆	25,32 ± 0,64 ^o	0,90 ± 0,19 ^l
Anis	SE ₇₀	61,30 ± 1,03 ^j	14,20 ± 1,27 ^j
	SE ₉₆	53,83 ± 1,76 ^k	13,58 ± 0,27 ^j
	UZM ₇₀	51,12 ± 1,43 ^k	13,36 ± 0,39 ^j
	UZM ₉₆	38,37 ± 1,81 ^m	1,77 ± 0,43 ^l
Kim	SE ₇₀	88,77 ± 0,79 ^g	35,60 ± 0,74 ^g
	SE ₉₆	60,68 ± 1,37 ^j	24,48 ± 0,88 ⁱ
	UZM ₇₀	69,19 ± 1,13 ⁱ	29,85 ± 0,96 ^h
	UZM ₉₆	83,03 ± 0,74 ^h	25,57 ± 0,39 ⁱ

*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p < 0,05$)

Kada je u pitanju TFC, pokazalo se da je u slučaju biljnih vrsta porodice Lamiaceae, bez obzira na ekstrakcionu metodu, 96 % rastvor etanola pogodniji rastvarač što je u saglasnosti sa literaturnim navodima (Thoo i sar., 2011; Benedec i sar., 2012; Dent i sar., 2013; Filip i sar., 2017; Farahmandfar i sar., 2019a). Međutim, kod biljnih vrsta porodice Apiaceae više vrednosti TFC zabeležene su za ekstrakte dobijene primenom SE i 70 % etanola kao rastvarača. Kod ekstrakta anisa, kima i korijandera može se uočiti trend većeg TFC u slučaju više temperature ekstrakcije (SE) i niže koncentracije etanola što je u saglasnosti sa rezultatima koje su naveli Przygodzka i sar. (2014). Od svih ispitivanih biljnih vrsta, najviše vrednosti TFC imali su ekstrakti rtanjskog čaja (od 47,19 ± 0,48 do 64,21 ± 0,98 mg QE/g, za UZM₇₀ i UZM₉₆, redom) i ekstrakti bosiljka (od 32,59 ± 0,56 do 67,44 ± 1,72 mg QE/g, za UZM₇₀ odnosno SE₉₆). Pokazalo se da ekstrakti korijandera, kao i u slučaju TPC, imaju i najniži TFC (od 0,90 ± 0,19 mg QE/g koliko je određeno u UZM₉₆ ekstraktu, do 4,60 ± 0,30 mg QE/g, koliko je utvrđeno za ekstrakt SE₇₀).

Vidović i sar. (2012) su naveli da se sa porastom temperature i koncentracije etanola povećava TFC u ekstraktima, ali do određenih granica, tj. do 65 °C i u rasponu koncentracije etanola 20 – 60 %, nakon čega njihov sadržaj opada. Isti autori su optimizacijom procesa ekstrakcije fenola i flavonoida iz herbe bosiljka zaključili da je optimalna temperatura ekstrakcije ukupnih fenola 52,79 °C i koncentracija etanola od 82,41 %, dok su optimalni uslovi ekstrakcije flavonoida 63,07 °C i 60,35 %. Pojedini autori navode čist etanol kao najefikasniji rastvarač za ekstrakciju fenolnih jedinjenja uz minimalan prinos flavonoida (Coelho i sar., 2018) ili kao rastvarač koji je podjednako efikasan za ekstrakciju TPC i TFC (Do i sar., 2014).

U odnosu na druge primenjene metode, najviše vrednosti TPC i TFC dobijene SE su potvrdili Kalia i sar. (2008), Pavlič i sar. (2015) i Palmieri i sar. (2020), dok su Veličković i sar. (2017) primenom ove metode dobili najniže prinose ekstrakata, kao i najniže vrednosti TPC i TFC. Veće prinose ovih bioaktivnih komponenti primenom maceracije u odnosu na druge metode ekstrakcije naveli su Babakhani i sar. (2016) i Čujić i sar. (2016). Babakhani i sar. (2016) su niže sadržaje fenola i flavonoida u SE ekstraktima nane u odnosu na one dobijene maceracijom obrazložili njihovom dekompozicijom usled preduge izloženosti visokim temperaturama. Jovanović

i sar. (2017) su pokazali da je ekstrakt majčine dušice sa najvećim prinosom TPC i TFC dobijen ultrazvučnom ekstrakcijom, dok su prinosi u slučaju ekstrakata dobijenih maceracijom i ekstrakcijom na povišenoj temperaturi bili niži.

Optimizacijom postupka ekstrakcije u smislu nalaženja najpogodnijeg rastvarača, metode ekstrakcije, kao i uslova pod kojima se ekstrakcija izvodi (odnos biljnog materijala i rastvarača, temperatura, dužina trajanja ekstrakcije, pritisak i slično), mogu se dobiti biljni ekstrakti sa maksimalnim sadržajem ukupnih fenola i flavonoida. Literaturni navodi ukazuju da se često uslovi ekstrakcije fenolnih jedinjenja razlikuju od optimalnih uslova za ekstrakciju flavonoida, pa je optimizacija usmerena na dobijanje maksimalnih prinosa onih aktivnih komponenata koje obezbeđuju maksimalnu biološku aktivnost (Martinez-Correa i sar., 2011; Vidović i sar., 2012; Zeković i sar., 2015,2016; Šibul i sar., 2016; Filip i sar., 2017; Farahmandfar i sar., 2019a). Takođe, od velikog značaja je i uticaj biljnog materijala koji se ekstrahuje budući da sastav aktivnih jedinjenja određuje poreklo određene biljne vrste pa samim tim i karakteristike pripremljenih ekstrakata (Benedec i sar., 2012; Msaada i sar., 2017; Coelho i sar., 2018).

5.5. Antioksidativna aktivnost etarskih ulja i ekstrakata

Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti izolovanih EU i pripremljenih ekstrakata, kao i komercijalnih antioksidanasa koji su u širokoj upotrebi (BHT i BHA), su prikazani u Tabelama 5.11. i 5.12.

Tabela 5.11. Antioksidativna aktivnost EU odabranih biljnih vrsta.

Biljna vrsta / antioksidans	DPPH ^A (% inhibicije)	FRAP ^B (μ mol Fe(II)/g)	β -CB ^C (% inhibicije)	HPMC (%/mg s.m.)
Rtanjski čaj	79,83 \pm 0,76 ^{a*}	1808,22 \pm 4,71 ^a	29,19 \pm 1,14 ^b	1,74 \pm 0,16 ^{ab}
Bosiljak	66,70 \pm 3,33 ^b	713,16 \pm 34,16 ^b	10,22 \pm 0,06 ^c	1,98 \pm 0,07 ^a
Korijander	2,37 \pm 0,48 ^f	30,72 \pm 1,44 ^e	2,46 \pm 0,58 ^e	0,68 \pm 0,04 ^c
Anis	12,41 \pm 1,93 ^e	137,82 \pm 5,62 ^e	6,53 \pm 0,06 ^d	1,24 \pm 0,06 ^{bc}
Kim	5,13 \pm 1,19 ^f	104,19 \pm 5,62 ^f	5,45 \pm 0,35 ^e	1,16 \pm 0,50 ^{bc}
BHT	34,31 \pm 0,43 ^{C:d}	413,03 \pm 3,13 ^{C:c}	56,29 \pm 1,44 ^{C:a}	-
BHA	43,33 \pm 0,87 ^{C:c}	572,85 \pm 5,71 ^{C:d}	57,70 \pm 1,91 ^{C:a}	-

^A10 mg/mL; ^B5 mg/mL; ^C0,1 mg/mL;

*Vrednosti u istim kolonama obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p < 0,05)

Rezultati DPPH metode. Antioksidativna aktivnost EU određena DPPH testom izražena je u % inhibicije DPPH radikala i prikazana u Tabeli 5.11. EU su ispoljila % inhibicije u opsegu 2,37 – 79,83 %. Uzimajući u obzir razlike u testiranim koncentracijama EU sa jedne i sintetičkih antioksidanasa sa druge strane, može se uočiti da je aktivnost EU bila znatno slabija u odnosu na BHT i BHA (34,31 \pm 0,43 odnosno 43,33 \pm 0,87 % inhibicije).

Značajniju antioksidativnu aktivnost ovim testom su pokazala EU rtanjskog čaja i bosiljka čija je aktivnost bila oko 30 puta veća od antioksidativne aktivnosti koju je pokazalo EU korijandera. Pomenuta EU su ispoljila preko 50 % inhibicije DPPH radikala na testiranoj koncentraciji, što se smatra slabom aktivnošću imajući u vidu da je BHA dostigao gotovo 50 % inhibicije na 100 puta nižoj koncentraciji. Među biljnim vrstama familije Apiaceae kao najaktivniji se izdvojio anis sa 12,41 \pm 1,93 % inhibicije, dok između antioksidativne aktivnosti EU korijandera i kima nije bilo statistički značajne razlike (2,37 \pm 0,48 % odnosno 5,13 \pm 1,19 %, p < 0,05).

Redosled na osnovu stepena inhibicije DPPH radikala u prisustvu ekstrakata odabranih biljaka bio je sledeći: rtanjski čaj > bosiljak > kim > anis > korijander (Tabela 5.12.). Upoređujući dobijene rezultate za rtanjski čaj i bosiljak, može se zaključiti da su veći procenat inhibicije ostvarili ekstrakti dobijeni 70 % rastvorom etanola i SE metodom. U slučaju korijandera i kima nije bilo

statistički značajne razlike između primenjenih rastvarača u okviru jedne metode ekstrakcije. Takođe, SE ekstrakti rtanjskog čaja, bosiljka, anisa i korijandera su ostvarili veći % inhibicije za razliku od ekstrakata kima gde su UZM ekstrakti bili efikasniji.

Tabela 5.12. Antioksidativna aktivnost ekstrakata odabranih biljnih vrsta.

Biljna vrsta / antioksidans	Tip ekstrakta	DPPH ^a (% inhibicije)	FRAP ^a (μmol Fe(II)/g)	β-CB ^a (% inhibicije)	HPMC (%/mg s.m.)
Rtanjski čaj	SE ₇₀	56,55 ± 1,73 ^{a*}	394,77 ± 11,23 ^c	67,05 ± 1,79 ^{bcd}	32,80 ± 1,24 ^b
	SE ₉₆	34,31 ± 1,86 ^c	300,12 ± 9,88 ^e	65,44 ± 2,24 ^{bcde}	20,30 ± 0,17 ^{ef}
	UZM ₇₀	51,50 ± 1,00 ^b	332,50 ± 3,13 ^d	63,21 ± 1,40 ^{cdefg}	35,27 ± 2,67 ^{ab}
	UZM ₉₆	30,35 ± 0,42 ^f	220,01 ± 3,13 ^g	61,37 ± 2,27 ^{defgh}	22,85 ± 0,52 ^{de}
Bosiljak	SE ₇₀	37,32 ± 0,46 ^d	255,71 ± 2,49 ^f	67,97 ± 2,04 ^{bc}	35,90 ± 1,78 ^{ab}
	SE ₉₆	18,19 ± 0,65 ^h	139,06 ± 4,00 ^h	75,55 ± 1,90 ^a	27,20 ± 1,79 ^c
	UZM ₇₀	24,09 ± 0,58 ^g	153,59 ± 6,47 ^h	71,12 ± 2,04 ^{ab}	38,39 ± 2,62 ^a
	UZM ₉₆	8,99 ± 0,55 ^k	45,66 ± 8,75 ^l	45,94 ± 2,23 ^{lmn}	25,74 ± 0,89 ^{cd}
Korijander	SE ₇₀	4,10 ± 0,55 ^{lm}	56,87 ± 1,44 ^{ijkl}	50,97 ± 1,82 ^{ijkl}	13,42 ± 0,53 ^{gh}
	SE ₉₆	1,71 ± 0,50 ^{lm}	23,66 ± 2,16 ^{mn}	45,27 ± 1,83 ^{lmn}	8,35 ± 0,27 ^j
	UZM ₇₀	4,20 ± 0,21 ^l	61,44 ± 3,29 ^{jk}	49,63 ± 2,67 ^{klm}	12,76 ± 0,29 ^{ghi}
	UZM ₉₆	1,85 ± 0,06 ^{lm}	27,81 ± 1,90 ^m	42,58 ± 2,12 ⁿ	10,74 ± 0,08 ^{hij}
Anis	SE ₇₀	9,09 ± 0,77 ^{jk}	48,98 ± 2,16 ^{kl}	65,28 ± 0,52 ^{bcd}	19,34 ± 0,50 ^e
	SE ₉₆	7,48 ± 0,90 ^k	53,55 ± 2,49 ^{ijkl}	57,87 ± 2,16 ^{ghi}	9,24 ± 0,36 ^{ij}
	UZM ₇₀	8,32 ± 0,21 ^k	59,36 ± 1,90 ^{kl}	59,32 ± 1,27 ^{efghi}	13,71 ± 0,77 ^{gh}
	UZM ₉₆	1,68 ± 0,15 ^m	12,04 ± 1,90 ⁿ	43,52 ± 1,57 ^{mn}	12,83 ± 0,70 ^{ghi}
Kim	SE ₇₀	8,90 ± 0,17 ^k	59,78 ± 1,90 ^{kl}	58,91 ± 2,28 ^{fghi}	18,56 ± 1,21 ^f
	SE ₉₆	9,90 ± 0,72 ^{jk}	57,70 ± 4,00 ^{ijkl}	66,60 ± 2,91 ^{bcd}	11,44 ± 0,41 ^{ghij}
	UZM ₇₀	11,57 ± 0,51 ^j	77,21 ± 5,62 ^l	53,57 ± 2,20 ^{ijk}	19,98 ± 0,91 ^{ef}
	UZM ₉₆	14,37 ± 1,10 ⁱ	65,59 ± 1,44 ^{ij}	58,70 ± 2,97 ^{ghi}	14,55 ± 0,85 ^g
BHT	-	34,31 ± 0,43 ^e	413,03 ± 3,13 ^a	56,29 ± 1,44 ^{ghi}	-
BHA	-	43,33 ± 0,87 ^c	572,85 ± 5,71 ^b	57,70 ± 1,91 ^{hij}	-

^atestirana koncentracija 0,1 mg/mL

*vrednosti u istim kolonama obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p < 0,05)

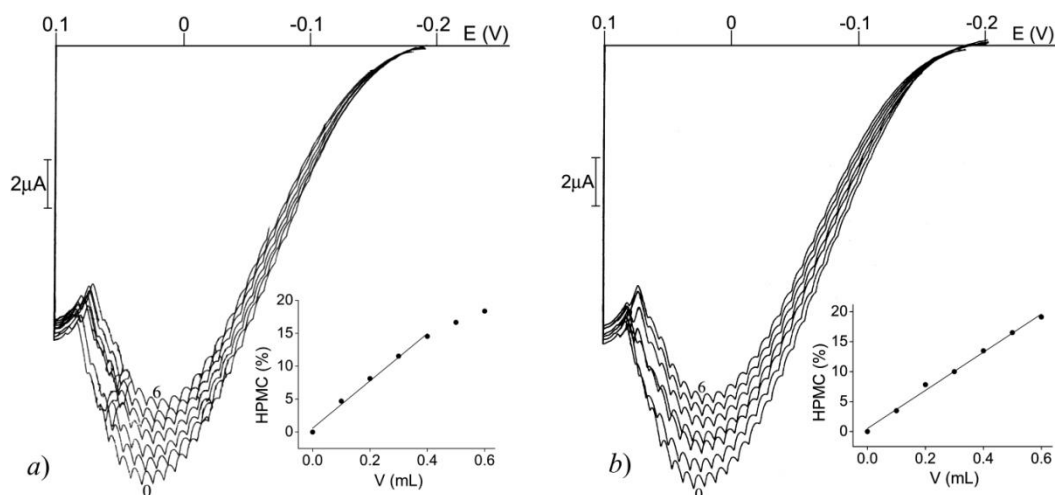
Rezultati FRAP metode. Rezultati ove spektrofotometrijske metode su očitani sa standardne krive za Fe(II) i izraženi u μmol Fe(II)/g suvog ekstrakta ili EU. Antioksidativna aktivnost EU ispitivanih vrsta se kretala od 30,72 μmol Fe(II)/g, koliko je iznosila za EU korijandera, do 1808,22 μmol Fe(II)/g koliko je ovim testom određeno za EU rtanjskog čaja (Tabela 5.11.). Kao i u slučaju DPPH metode, biljne vrste porodice Lamiaceae su pokazale snažnije antioksidativno dejstvo koje se značajno razlikovalo (p < 0,05) od aktivnosti BHT i BHA (413,03 ± 3,13 odnosno 572,85 ± 5,71 μmol Fe(II)/g). Međutim, rezultati dobijeni primenom FRAP metode pokazuju da EU imaju znatno manji antioksidativni kapacitet u odnosu na BHA i BHT, jer su testirani na 50 puta višoj koncentraciji, pa stoga rezultati ne mogu biti direktno upoređeni. Redosled aktivnosti testiranih EU je bio sledeći (od najjače do najslabije): rtanjski čaj > bosiljak > korijander ≈ anis > kim.

Antioksidativna aktivnost ekstrakata se kretala u granicama od 12,04 do 394,77 μmol Fe(II)/g koliko su bile vrednosti za UZM₉₆ ekstrakt anisa odnosno SE₇₀ ekstrakt rtanjskog čaja. Redosled aktivnosti testiranih biljnih vrsta je bio sličan kao i kod DPPH testa (rtanjski čaj > bosiljak > kim > anis ≈ korijander). Značajniju aktivnost, koja je uporediva sa aktivnošću BHT, pokazali su SE ekstrakti rtanjskog čaja. Kako su ekstrakti testirani u istoj koncentraciji kao i antioksidansi (0,1 mg/mL), može se zaključiti da ekstrakti testiranih biljaka porodice Lamiaceae imaju obećavajuću primenu kao zamena ovim sintetičkim antioksidansima. U slučaju ekstrakata rtanjskog čaja, bosiljka i korijandera može se uočiti da su oni dobijeni 70 % rastvorom etanola ostvarili veću antioksidativnu aktivnost, što kod ekstrakata anisa i kima nije bio slučaj. Između SE₉₆ i UZM₇₀ ekstrakata anisa nije bilo statistički značajne razlike. Sa druge strane, UZM ekstrakti kima su pokazali snažnije antioksidativno dejstvo u odnosu na SE ekstrakte.

Rezultati β -CB metode. Antioksidativna aktivnost određena β -CB metodom je izražena kao % inhibicije obezbojavanja β -karotena u sistemu β -karoten/linolna kiselina. Poređenjem rezultata dobijenih ovom metodom, kao EU sa najsnažnijim AO dejstvom izdvojio se rtanjski čaj ($29,19 \pm 1,14$ % inhibicije) koji je tri puta bio efikasniji od EU bosiljka ($10,22 \pm 0,06$ %). Antioksidativno dejstvo biljaka familije Apiaceae je opadalo u redosledu anis>kim>korijander ($6,53 \pm 0,06$ %, $5,45 \pm 0,35$ % i $2,46 \pm 0,58$ %, respektivno) pri čemu nije bilo značajne razlike između % inhibicije koji su ostvarila EU korijandera i kima u odnosu na sintetičke antioksidanse testirane na istoj koncentraciji.

Ekstrakti su ostvarili % inhibicije u intervalu $42,58 - 75,55$ %. Za razliku od ostalih spektrofotometrijskih metoda, rezultati β -CB ukazuju da su pojedini ekstrakti bosiljka ispoljili snažniju antioksidativnu aktivnost u odnosu na ostale ispitivane biljke, i to SE₉₆ i UZM₇₀ sa $75,55$ odnosno $71,12$ % inhibicije. Većina ekstrakata je pokazala jaču aktivnost u odnosu na BHT i BHA ($56,29 \pm 1,44$ %, $57,70 \pm 1,91$ %, redom) izuzev ekstrakata korijandera čija se aktivnost kretala od $42,58$ do $50,97$ %. Takođe, UZM₉₆ ekstrakti bosiljka i anisa su imali niže vrednosti inhibicije ($45,94 \pm 2,23$ % i $43,52 \pm 1,57$ %), kao što se pokazalo i u ostalim testovima. Ovakav rezultat može biti objašnjen značajno nižim sadržajem fenolnih jedinjenja u UZM₉₆ ekstraktima bosiljka i anisa u odnosu na ostale ekstrakte u okviru date biljne vrste, budući da je antioksidativno dejstvo ekstrakta najčešće u bliskoj vezi sa sadržajem ukupnih fenola.

Rezultati HPMC metode. Prema rezultatima dobijenim ovom metodom, EU bosiljka je pokazalo najsnažniju antioksidativnu aktivnost ($1,98 \pm 0,07$ %/mg s.m.), potom slede rtanjski čaj, anis i kim ($1,74 \pm 0,16$, $1,24 \pm 0,06$ i $1,16 \pm 0,50$ %/mg s.m.), dok je najslabiju aktivnost ispoljio korijander ($0,68 \pm 0,04$ %/mg s.m.).



Slika 5.1. Smanjenje anodne struje HPMC kompleksa pre (0) i posle dodatka šest jednakih zapremina uzorka od po $100 \mu\text{L}$ SE₇₀ ekstrakata bosiljka (a) i rtanjskog čaja (b).

Antioksidativna aktivnost ekstrakata merena ovom metodom se kretala u granicama od $8,35 \pm 0,27$ do $38,39$ %/mg s.m.. Kao i u prethodnim testovima, ekstrakti biljaka familije Lamiaceae su pokazali superiornost u odnosu na biljke familije Apiaceae. Ekstrakti dobijeni pomoću 70 % rastvora etanola su pokazali snažniju antioksidativnu aktivnost u odnosu na 96 % ekstrakte bez obzira na primenjenu metodu ekstrakcije i biljnu vrstu. Na Slici 5.1. su prikazani uticaji SE₇₀ ekstrakata bosiljka i rtanjskog čaja na početnu anodnu struju kompleksa. Sa nagiba zavisnosti anodne struje kompleksa od zapremine dodatih ekstrakata koji su prikazani u uglu oba polarograma, može se uočiti da je smanjenje anodne struje HPMC kompleksa sa dodatkom zapremine ekstrakata linearno.

Svi testovi za ispitivanje antioksidativne aktivnosti su pokazali jaku korelaciju sa TPC ($r = 0,681 - 0,982$), dok je korelacija sa TFC bila umeren do jaka ($r = 0,651 - 0,856$). Na osnovu

koeficijenata korelacije prikazanih u Tabeli 5.13. može se uočiti da je antioksidativna aktivnost, nezavisno od primenjenog testa, bila jače korelisana sa TPC u odnosu na TFC. Među njima, DPPH test je najjače korelirao kako sa sadržajem fenola tako i flavonoida. Rezultati β -CB testa su bili najslabije korelisani sa TPC i TFC, ali i sa drugim testovima za ispitivanje antioksidativnog dejstva. Istovremeno, DPPH i FRAP su pokazali jaku međusobnu korelaciju ($r = 0,993$).

Tabela 5.13. Koeficijenti korelacije između TPC, TFC i testova korišćenih za ispitivanje antioksidativne aktivnosti.

	DPPH	FRAP	β -CB	HPMC	TPC	TFC
DPPH	1*	0,993	0,639	0,781	0,982	0,856
FRAP		1	0,576	0,731	0,965	0,817
β -CB			1	0,603	0,681	0,651
HPMC				1	0,740	0,685
TPC					1	0,924
TFC						1

*boldirane vrednosti se razlikuju od 0 na nivou značajnosti $\alpha = 0,05$.

Kada je u pitanju antioksidativna aktivnost EU, može se zaključiti da su pokazala znatno slabiju aktivnost u odnosu na odgovarajuće ekstrakte. EU rtanjskog čaja i bosiljka su u svim primenjenim testovima pokazala veći antioksidativni kapacitet u odnosu na vrste familije Apiaceae. Takođe, EU rtanjskog čaja se pokazalo kao efikasnije od EU bosiljka u većini primenjenih testova.

Jača antioksidativna aktivnost EU rtanjskog čaja u odnosu na druge ispitivane biljke je očekivana imajući u vidu da su dominantne komponente EU ove biljke, karvakrol i timol, fenolni monoterpeni čije je prisustvo zaslužno za jako antioksidativno dejstvo velikog broja biljnih vrsta familije Lamiaceae (Yanishlieva i sar., 2006; Dawidowicz i Olszowy, 2014; Mimica-Dukić i sar., 2016). Pored pomenutih fenolnih jedinjenja, u hemijskom sastavu EU rtanjskog čaja prisutni su i p -cimen i γ -terpinen čije je snažno antioksidativno dejstvo takođe potvrđeno (Ruberto i Baratta, 2000). Važno je napomenuti da aktivnost EU nije uvek određena prisustvom jedne komponente u većoj koncentraciji već njena aktivnost može biti posledica prisustva i komponentata zastupljenih u manjem udelu (Dawidowicz i Olszowy, 2014). Kako su naveli Mimica-Dukić i sar. (2016), antioksidativna aktivnost EU predstavlja rezultat interakcije svih prisutnih komponenti koje mogu ostvariti i sinergistički i antagonistički efekat.

Uticaj minornih komponenti na ukupnu antioksidativnu aktivnost EU najbolje se može uočiti na primeru EU bosiljka i korijandera kod kojih u hemijskom sastavu dominira linalol, a ispoljena antioksidativna aktivnost ova dva uzorka EU se značajno razlikuju. Pored linalola, u sastavu EU bosiljka sa većim udelom bili su prisutni geraniol i metil-havikol, sa potvrđenim antioksidativnim dejstvom, dok za antioksidativni efekat epi-bicikloseskvifelandrena, zastupljenog u EU bosiljka sa oko 8 % nema dostupnih literaturnih podataka (Politeo i sar., 2006;). Za razliku od navedenog, u hemijskom sastavu EU korijandera su u većem procentu zastupljene komponente čija je antioksidativna aktivnost zanemarljiva čak i pri višim koncentracijama (kamfor, α -pinen), dok je γ -terpinen jedina komponenta sa jačim antioksidativnim dejstvom (Ruberto i Baratta, 2000; Kaur i sar., 2019). Uzrok razlike koja je nastala u aktivnosti ova dva EU može biti i koncentracija linalola. Naime, u EU korijandera udeo linalola je znatno veći (za više od 50 %). Iako su Sacchetti i sar. (2005) i Aazza i sar. (2011) su ukazali na jaku antioksidativnu aktivnost linalola, određeni literaturni navodi ukazuju da linalol, kada se nalazi u smeši različitih komponenti ostvaruje snažnije antioksidativno dejstvo nego individualno pod istim uslovima (Hussain i sar., 2008; Aprotosoae i sar., 2014). Sa druge strane, za ovaj monoterpenski alkohol se mogu naći i literaturni navodi o prooksidativnom dejstvu (Ruberto i Baratta, 2000; Samojlik i sar., 2010; Stobiecka i sar., 2014; Aćimović i sar., 2017) što može biti pripisano eksperimentalnim uslovima i primenjenim dozama.

Umerena antioksidativna aktivnost EU anisa je u saglasnosti sa literaturnim navodima (Fitsiou i sar., 2016; Rebey i sar., 2019), dok su Aćimović i sar. (2017) naveli da su više koncentracije EU anisa pokazale i prooksidativno dejstvo. Prema Tepe i sar. (2006) visok udeo *trans*-anetola i metil-havikola je zaslužan za antioksidativnu aktivnost biljaka koje ih sadrže u EU. Dodatno, EU kima je takođe pokazalo umerenu antioksidativnu aktivnost koja je, u zavisnosti od primenjenog testa ispitivanja, bila niža ili jednaka aktivnosti EU anisa. Glavne komponente ovog EU su bili limonen i karvon, koji pripadaju hemijskim klasama monoterpenskih ugljovodonika, odnosno ketona, koji se individualno odlikuju umerenom antioksidativnom aktivnošću (Ruberto i Baratta, 2000; Aazza i sar., 2011), dok su ostale komponente zastupljene u zanemarljivoj količini da bi imale uticaja na ukupni antioksidativni efekat EU. Prisustvo karvona u većoj koncentraciji u odnosu na limonen imalo je pozitivan efekat na antioksidativno dejstvo EU nane i mirođije (Kaur i sar., 2019). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa literaturnim navodima da EU sa dominantnim monoterpenskim ugljovodonicima pokazuju slabo AO dejstvo (Ruberto i Baratta, 2000; Sacchetti i sar., 2005).

Značajan antioksidativni kapacitet etanolnih ekstrakata rtanjskog čaja i bosiljka potvrdili su u svojim istraživanjima Vladimir-Knežević i sar. (2014), Vladić i sar. (2014), Kremer i sar. (2015), Coelho i sar. (2018), Rezzoug i sar. (2019) i Salaj i sar. (2020), dok su Hassanein i sar. (2014), Vlase i sar. (2014), Warsi i Sholichah (2017), Generalić Mekinić i sar. (2019) okarakterisali etanolni ekstrakt bosiljka kao slabiji antioksidans u odnosu na ekstrakte dobijene pomoću drugih rastvarača ili u odnosu na druge biljne vrste i testirane standarde. Za razliku od pomenutih literaturnih navoda, u kojima je antioksidativno dejstvo bilo jako korelisano sa sadržajem ukupnih fenolnih jedinjenja, Benedec i sar. (2012) su u svom ispitivanju pokazali da etanolni ekstrakti različitih uzoraka bosiljka imaju osrednju antioksidativnu aktivnost čak i slučaju visokog sadržaja ovih fenolnih komponenti. Stoga su Soldo i sar. (2019) da sadržaj fenolnih jedinjenja može poslužiti samo kao okvirna mera antioksidativnog kapaciteta biljnih ekstrakata, kao i da prisustvo pojedinih komponenti u fenolnom sastavu ima znatno veći uticaj.

Rezultati dobijeni DPPH metodom su u saglasnosti sa navodima Mariutti i sar. (2008) koji su utvrdili isti redosled antioksidativnog kapaciteta biljnih vrsta testiranih u ovom radu sa izuzetkom ekstrakta anisa (rtanjski čaj > bosiljak > kim > korijander). Prethodne studije su takođe pokazale da etanolni (Gülçin i sar., 2003; Przygodzka i sar., 2014; Petrović, 2016) i metanolni ekstrakti anisa i korijandera (Christova-Bagdassarian i sar., 2013a; 2013b; Gupta, 2013; Martins i sar., 2016; Saleem i sar., 2017; Ksouda i sar., 2018) imaju slabiju antioksidativnu aktivnost koja se pripisuje niskom sadržaju fenolnih jedinjenja. Sa druge strane, Pandey i sar. (2012) su među ispitivanim metanolnim ekstraktima biljaka familije Apiaceae poreklom iz Indije kao najdelotvornije naveli korijander i kim, čija je snažna antioksidativna aktivnost u korelaciji sa visokim sadržajem rutina i hlorogenske kiseline. Slično tome, prema istraživanju Vallverdú-Queralt i sar. (2015), etanolni ekstrakt kima je pokazao najveći antioksidativni kapacitet zahvaljujući visokom sadržaju fenolnih komponenti u prvom redu hlorogenske i *p*-kumarne kiseline, a potom kafeinske kiseline i katehina.

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da antioksidativna aktivnost ispitivanih biljaka varira u zavisnosti od porekla biljnog materijala, primenjene ekstrakcione metode, rastvarača kao i primenjene metode za ispitivanje antioksidativnog dejstva. Kako hemijski sastav lekovitih i začinskih biljaka varira u zavisnosti od geografskog porekla i dela biljke koji se analizira, očekivano je i da će izolovano EU i pripremljeni ekstrakti pokazati različit stepen antioksidativne aktivnosti. Dalje, odabir rastvarača odgovarajuće polarnosti predstavlja primaran korak u dobijanju biljnih ekstrakata koji će imati visok antioksidativni potencijal (Farahmandfar i sar., 2019a). Kako su naveli Martinez-Correa i sar. (2011), etanolni ekstrakti su bez obzira na test primenjen za ispitivanje antioksidativnog dejstva, pokazali najjaču antioksidativnu aktivnost. Ekstrakti dobijeni upotrebom rastvora etanola različitih koncentracija su se razlikovali, ne samo po prinosu, već i po sastavu ekstrahovanih fenolnih komponenti (Spigno i sar., 2007). Veći prinosi postignuti primenom

70 % rastvora etanola potvrđuju i navode da je u dvokomponentnim rastvaračima jedna komponenta smeše pospešuje rastvaranje dok druga komponenta pospešuje desorpciju aktivnih principa (Mustafa i Turner, 2011). Takođe, može se primetiti da su rtanjski čaj i bosiljak, bez obzira na primenjeni test, pokazali znatno više aktivnosti u odnosu na anis, kim i korijander, kao i da je aktivnost ekstrakata znatno jača u odnosu na aktivnost EU iste biljne vrste.

5.6. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja i ekstrakata

Antibakterijska aktivnost EU i ekstrakata proučavanih biljaka protiv odabranih sojeva Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija ispitana je mikrodilucionom metodom. Rezultati antibakterijske aktivnosti prikazani su kao minimalna inhibitorna koncentracija (MIC), tj. najmanja koncentracija EU i ekstrakta kod koje nije bilo uočljivog rasta bakterija, i kao minimalna baktericidna koncentracija (MBC) odnosno kao koncentracija koja je pokazala baktericidno dejstvo, tj. delovala letalno na testirane bakterije (Tabela 5.14.).

Ekstrakti odabranih biljnih vrsta su inhibirali rast bakterija pri čemu su se sojevi Gram-pozitivnih pokazali kao osetljiviji. Vrednosti MIC za Gram-pozitivne bakterije su se kretale od 0,078 mg/mL za *S. aureus* do 20 mg/mL za *L. monocytogenes*, dok je interval MBC bio od 0,156 mg/mL do 20 mg/mL, za *S. aureus* odnosno *L. monocytogenes*. U slučaju Gram-negativnih bakterija, MIC i MBC su imale isti interval (od 1,25 mg/mL za *S. Typhimurium* do > 40 mg/mL u slučaju oba testirana soja Gram-negativnih bakterija). Kao najosetljivija bakterija na dejstvo primenjenih ekstrakata se pokazala *S. aureus*, dok je najrezistentnija bila *E. coli*. Najjaču moć inhibicije prema svim testiranim bakterijama su pokazali ekstrakti rtanjskog čaja, sa MIC vrednostima od 0,078 mg/mL za *S. aureus* do 10 mg/mL za *E. coli*, dok su vrednosti MBC bile od 0,156 mg/mL za *S. aureus* i *L. monocytogenes* do 20 mg/mL za *E. coli*. Među njima, UZM₉₆ ekstrakt se pokazao kao najmanje efikasan odnosno imao je najviše vrednosti MIC i MBC. SE₇₀ ekstrakt rtanjskog čaja je ispoljio inhibitorni i baktericidni efekat prema soju *S. Typhimurium* pri koncentraciji od 1,25 mg/mL. Ovo su zapravo bile i najniže vrednosti za MIC i MBC u slučaju ovog bakterijskog soja za sve testirane ekstrakte i EU. Uopšteno gledano, najslabiju antibakterijsku aktivnost su pokazali ekstrakti korijandera među kojima SE₇₀ ekstrakt nije ispoljio ni inhibitorno ni mikrobicidno dejstvo prema Gram-negativnim bakterijama. U odnosu na ekstrakte korijandera, jedino su SE₉₆ i UZM₇₀ ekstrakti bosiljka ostvarili slabiji antilisterijski efekat.

Kada je reč o antibakterijskom dejstvu EU, na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su se pokazala kao znatno efikasniji antibakterijski agensi u odnosu na ekstrakte. I u ovom slučaju, sojevi Gram-pozitivnih bakterija su bili osetljiviji. Gram-negativne bakterije su bile u toj meri rezistentne da su EU ispoljila mikrobicidno dejstvo pri najvećoj primenjenoj koncentraciji (5 mg/mL) ili je letalni efekat potpuno izostao. Izuzetak su predstavljala EU rtanjskog čaja i anisa, koja su pri koncentraciji od 2,5 mg/mL ispoljila inhibitorni efekat prema oba testirana Gram-negativna soja, odnosno samo prema *E. coli*, kako se pokazalo u slučaju EU anisa. Najjači inhibitorni efekat je pokazalo EU kima prema bakterijskom soju *S. aureus* (MIC = 0,0024 mg/mL) koja je bila najosetljivija bakterija od svih testiranih. Vrednosti MIC ostalih EU u slučaju ovog soja su se kretale od 0,0049 mg/mL, koliko se pokazalo u slučaju anisa, do 0,078 mg/mL, u slučaju bosiljka. Prema *L. monocytogenes* najjače inhibitorno dejstvo su pokazala EU rtanjskog čaja i anisa (MIC = 0,039 mg/mL), dok su najslabije dejstvo ostvarila EU sa linalolom kao glavnom komponentom - bosiljak i korijander (MIC = 0,313 mg/mL).

Veća osetljivost Gram-pozitivnih bakterija u odnosu na Gram-negativne na dejstvo EU je dobro opisana u literaturi. Rezistentnost Gram-negativnih bakterija je objašnjena građom ćelijske membrane tj. prisustvom spoljašnje membrane koja onemogućava difuziju lipofilnih komponenti kroz fosfolipidni sloj (Burt i sar., 2004; van Zyl i sar., 2006). Odsustvo ovog sloja kod Gram-

pozitivnih bakterija omogućava direktni kontakt hidrofobnih komponenti EU sa dvostrukim fosfolipidnim slojem ćelijske membrane čime se narušava njen integritet (Djenane i sar., 2011a).

Podaci o antibakterijskoj aktivnosti EU prema bakterijama testiranim u ovom radu publikovana je od strane brojnih autora. Aćimović i sar. (2019) su kao inhibitornu i baktericidnu u slučaju *S. aureus* naveli koncentraciju EU od 3,55 $\mu\text{L/mL}$. Vrednosti za MIC i MBC koje su naveli Vitanza i sar. (2019) za *S. aureus* su bile više u odnosu na rezultate dobijene u ovom radu (1,78 mg/mL), dok se *E. coli* pokazala kao osetljivija (MIC = MBC = 1,56 mg/mL). *S. Typhimurium* se takođe pokazala kao osetljivija na dejstvo EU (MIC = 0,78 mg/mL) (Miladi i sar., 2013). Antilisterijski efekat EU je u saglasnosti sa literaturnim navodima (Carramiñana i sar., 2008; Nedorostova i sar., 2009; Djenane i sar., 2011a; Miladi i sar., 2013; Fratini i sar., 2019; Vasilijević i sar., 2019; Vitanza i sar., 2019).

Izraženu antimikrobnu aktivnost rtanjskog čaja, kako ekstrakta tako i EU, potvrđuju brojne studije (Damjanović-Vratnica i sar., 2011; 2016; Marin i sar., 2012; Babaei i sar., 2018; Gopčević i sar., 2019). Serrano i sar. (2011) su utvrdili da za razliku od vodenog, etanolni ekstrakt rtanjskog čaja pokazuje inhibitorno dejstvo prema bakterijskim sojevima *L. monocytogenes*, *E. coli* i *S. Typhimurium* (MIC vrednosti su bile 3,0 mg/mL, 15,1 mg/mL, odnosno 30,3 mg/mL). Veća efikasnost etanolnih u odnosu na vodene ekstrakte ukazivala je na manju polarnost antimikrobnih komponenti. Međutim, navedene vrednosti za MIC su više od dobijenih u ovom radu za ekstrakte pripremljene 96 % etanolom što može biti posledica primenjene metode ekstrakcije. Izostanak antimikrobne aktivnosti vodenog ekstrakta *S. thymbra* utvrdili su Tsimogiannis i sar. (2016) koji su takođe za EU naveli da je pokazalo najjači inhibitorni efekat prema svim testiranim mikroorganizmima, dok su etanolni i acetonski ekstrakt ostatka nakon destilacije pokazali inhibitorno dejstvo samo prema bakterijama.

Brojne studije ukazuju da je jaka antimikrobna aktivnost EU rtanjskog čaja, ali i drugih biljnih vrsta familije Lamiaceae (origano, timijan) posledica prisustva monoterpenkih fenola (timola i karvakrola) u hemijskom sastavu. Slavkowska i sar. (2001) su naveli da pored pomenutih fenola, njihovi prekursori- γ -terpinen i *p*-cimen, takođe predstavljaju antimikrobne agense. Isti efekat pripisan je i monoterpenoidima kao što su linalol, terpinen-4-ol, borneol i α -terpineol koji se takođe mogu naći u hemijskom sastavu EU u većem procentu (Ćavar i sar., 2008; Damjanović-Vratnica i sar., 2011). Sa druge strane, određene studije koje su zasnovane na ispitivanju čistih komponenti ukazuju da, za razliku od karvakrola i timola, njihovi prekursori pokazuju neznatnu aktivnost (van Zyl i sar., 2006). Generalno, antimikrobno dejstvo nekog jedinjenja raste sa porastom broja OH⁻ grupa u molekulu, pa otuda i jača aktivnost pomenutih komponenti u odnosu na njihove prekursore (Ćavar i sar., 2008). Visok stepen inhibicije Gram-negativnih bakterija od strane rtanjskog čaja u saglasnosti je sa rezultatima studije koju su sprovedli Helander i sar. (1998). Naime, u pomenutoj studiji, ispitivana je aktivnost timola, karvakrola, karvona i *trans*-cinamaldehida prema *E. coli* O157:H7 i *S. Typhimurium* pri čemu su se MIC vrednosti kretale od 1 do 10 mM a redosled aktivnosti koju su ispoljila navedena jedinjenja je bio: karvakrol \approx timol > *trans*-cinamaldehyd > karvon.

Tabela 5.14. Antibakterijska aktivnost EU i ekstrakata ispitivanih biljaka prikazana kao minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) i minimalna baktericidna koncentracija (MBC), izražena u mg/mL.

Biljna vrsta	tip ekstrakta/ EU	G (+) bakterije				G (-) bakterije			
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 1911		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Salmonella enterica</i> ser. Typhimurium ATCC 14028	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Rtanjski čaj	SE ₇₀	0,078*	0,156	0,156	0,313	5,0	5,0	1,25	1,25
	SE ₉₆	0,078	0,156	0,156	0,313	5,0	5,0	2,5	5,0
	UZM ₇₀	0,078	0,156	0,156	0,156	5,0	5,0	2,5	5,0
	UZM ₉₆	0,156	0,313	0,313	0,313	10,0	20,0	2,5	5,0
	EU	0,0098	0,313	0,039	0,156	2,5	5,0	2,5	5,0
Bosiljak	SE ₇₀	0,156	0,156	5,0	5,0	10,0	10,0	5,0	10,0
	SE ₉₆	0,313	0,313	10,0	10,0	20,0	20,0	20,0	40,0
	UZM ₇₀	0,313	0,625	20,0	20,0	20,0	40,0	10,0	40,0
	UZM ₉₆	0,313	1,25	0,313	0,313	10,0	10,0	10,0	10,0
	EU	0,078	0,313	0,313	1,25	5,0	nd**	5,0	5,0
Korijander	SE ₇₀	2,5	2,5	2,5	5,0	nd	nd	nd	nd
	SE ₉₆	5,0	10,0	5,0	5,0	40,0	40,0	40,0	40,0
	UZM ₇₀	2,5	5,0	5,0	5,0	20,0	nd	20,0	nd
	UZM ₉₆	1,25	5,0	2,5	2,5	20,0	40,0	10,0	20,0
	EU	0,0098	0,039	0,313	0,313	5,0	nd	5,0	nd
Anis	SE ₇₀	0,625	1,25	1,25	1,25	20,0	40,0	20,0	nd
	SE ₉₆	0,625	1,25	0,625	1,25	40,0	40,0	20,0	40,0
	UZM ₇₀	0,625	1,25	2,5	2,5	nd	nd	40,0	nd
	UZM ₉₆	0,313	2,5	0,625	1,25	20,0	20,0	20,0	20,0
	EU	0,0049	0,019	0,039	0,078	2,5	5,0	5,0	5,0
Kim	SE ₇₀	1,25	2,5	1,25	1,25	20,0	40,0	20,0	40,0
	SE ₉₆	0,625	1,25	2,5	2,5	40,0	40,0	40,0	40,0
	UZM ₇₀	0,625	1,25	2,5	5,0	nd	nd	40,0	40,0
	UZM ₉₆	0,313	0,625	0,625	1,25	20,0	20,0	40,0	40,0
	EU	0,0024	0,0391	0,156	0,156	5,0	5,0	5,0	5,0

*Srednje vrednosti nisu prikazane pošto su rezultati tri merenja bili identični; **nd - MIC/MBC nisu detektovane u opsegu testiranih koncentracija (> 40 mg/mL);

U Tabeli 5.15. prikazani su koeficijenti korelacije između MIC i MBC vrednosti u odnosu na TPC i TFC. Dobijeni koeficijenti korelacije su imali negativan predznak imajući u vidu da je u slučaju TPC i TFC veća vrednost označavala i veći sadržaj, dok je u slučaju MIC i MBC veća vrednost odražavala slabiju antibakterijsku aktivnost. Uočljivo je da su MIC i MBC vrednosti Gram-negativnih bakterija bile jače korelisane sa TPC u odnosu na Gram-pozitivne pri čemu je sama korelacija bila umerena do jaka. Najslabiju korelaciju kako sa TPC tako i sa TFC imale su vrednosti MIC i MBC za *L. monocytogenes*.

Tabela 5.15. Koeficijenti korelacije između MIC i MBC vrednosti, TPC i TFC.

Testirane bakterije		TPC	TFC
<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC	-0,489	-0,528
	MBC	-0,620	-0,679
<i>Listeria monocytogenes</i>	MIC	-0,051	0,044
	MBC	-0,065	0,026
<i>Escherichia coli</i>	MIC	-0,728	-0,639
	MBC	-0,676	-0,607
<i>Salmonella Typhimurium</i>	MIC	-0,664	-0,524
	MBC	-0,627	-0,416

*boldirane vrednosti se razlikuju od 0 na nivou značajnosti $\alpha = 0,05$.

Antibakterijska aktivnost etanolnih ekstrakata bosiljka ispitivana je od strane većeg broja autora koji su dobili veoma heterogene rezultate (Adigüzel i sar., 2005; Araújo i sar., 2014; Vlase i sar., 2014; Benedec i sar., 2015; Generalić Mekinić i sar., 2019), ocenjujući aktivnost bosiljka od slabe preko umerene do jake. Kao najosetljivija bakterija se pokazala *S. aureus* dok su *L. monocytogenes*, *E. coli* i *S. Typhimurium* bile otpornije sa čime su rezultati dobijeni u ovom radu u saglasnosti. Kao komponente hemijskog sastava ekstrakta odgovorne za ostvarenu antibakterijsku aktivnost autori su naveli flavonoide i diterpenski alkohol fitol kao jednu od glavnih komponenti isparljive faze onih ekstrakata koji su pokazali značajniju aktivnost.

Stefan i sar. (2013) su ispitivali antibakterijsku aktivnost EU izolovana iz tri vrste bosiljka prema *S. aureus* i *E. coli* i dokazali da antibakterijska aktivnost nije zavisila od udela linalola u hemijskom sastavu. U odnosu na *O. gratissimum* koji je imao najveći udeo linalola, kao jači inhibitori su se pokazali *O. tenuiflorum* i *O. basilicum* var. *genovese* u čijem su sastavu pored linalola u većem udelu bili zastupljeni eugenol i τ -kadinol. Soković i sar. (2010) su ukazali da određena komponenta EU koja ima visok udeo ne mora nužno biti i nosilac antibakterijske aktivnosti. Razlike u aktivnosti koje su se javile kod testiranih EU i njihovih glavnih komponenta, uključujući i EU bosiljka i linalol, autori su objasnili sinergističkim efektom komponenti prisutnih u manjem procentu. Prethodne navode potvrdili su i Baldim i sar. (2018) koji su došli do zaključka da je antibakterijska aktivnost EU bosiljka sa većim udelom linalola u jakoj korelaciji sa udelom minornih komponenti kao što su fenhol, β -eudezmozol, terpinen-4-ol, 1,10-di-epi-cubenol, β -elemen, murola-4(14),5-dien i eugenol. Slaba moć inhibicije *L. monocytogenes* od strane EU i etanolnih ekstrakata bosiljka publikovana od strane Shan i sar. (2007), Dimić i sar. (2012b), Vlase i sar. (2014), Benedec i sar. (2015), Teixeira i sar. (2013) i Bulut i sar. (2020), potvrđena je i u ovom radu. Izostanak snažnije antibakterijske aktivnosti može se tumačiti i visokim sadržajem epibicikloeskvalandrena u hemijskom sastavu. Naime, lekovite i začinske biljke familija Lamiaceae i Asteraceae, u čijem je hemijskom sastavu veći udeo ovog seskviterpena, ispoljavaju slabiju antimikrobnu aktivnost (Inouye i sar., 2006; Erdogan i sar., 2014).

Među monoterpenima, monoterpenski ugljovodonici se smatraju slabijim antibakterijskim agensima u odnosu na oksidovane monoterpe (alkohole, aldehide i ketone). Kao jedan od najaktivnijih monoterpenskih alkohola izdvaja se linalol koji je u ovom radu bio najzastupljenija komponenta u hemijskom sastavu bosiljka i korijandera. Određeni broj literaturnih navoda antimikrobnu aktivnost ovih biljnih vrsta povezuje upravo sa udelom linalola (Hussain i sar., 2008;

Silva i sar., 2015; Fitsiou i sar., 2016) što međutim, nije uvek slučaj. Ispitujući EU bogata linalolom- sitnozrni i krupnozrni korijander i bosiljak, Duman i sar. (2010) su saopštili da je EU bosiljka imalo jaču moć inhibicije prema svim testiranim mikroorganizmima za razliku od oba analizirana tipa korijandera iako je u njihovom hemijskom sastavu linalol bio zastupljenija komponenta (54,5 %, 78,8 % i 90,6 % kod bosiljka, krupnozrnog i sitnozrnog korijandera, redom). Ovo ukazuje na značaj manje zastupljenih komponenti hemijskog sastava EU bosiljka (eugenol i metil-eugenol) koja deluju aditivno ili sinergistički u ispoljavanju antimikrobne aktivnosti.

Kao što je već navedeno, ekstrakti korijandera su ostvarili znatno slabiju antibakterijsku aktivnost u odnosu na ekstrakte ostalih biljnih vrsta. Bez obzira na primenjenu koncentraciju etanola, ekstrakti dobijeni pomoću UZM su se pokazali kao efikasniji inhibitori testiranih bakterija u odnosu na ekstrakte dobijene SE. Među njima je UZM₉₆ ekstrakt imao najniže vrednosti MIC. Ekstrakti dobijeni SE metodom pomoću 70 % etanola su se pokazali kao efikasniji prema Gram-pozitivnim bakterijama u odnosu na one dobijene 96 % etanolom, dok je u slučaju Gram-negativnih efekat koncentracije etanola kao rastvarača potpuno izostao. Slaba antibakterijska aktivnost etanolnih ekstrakata korijandera je u saglasnosti sa literaturnim navodima (Cao i sar., 2012; Farah i sar., 2015; Kavitha i sar., 2020). U studiji koju je sproveda Petrović (2016), etanolni ekstrakt korijandera je pokazao jaču antibakterijsku aktivnost u odnosu na ekstrakte korijandera u ovom radu. Vrednosti MIC za *S. aureus*, *L. monocytogenes* i *S. Typhimurium* su iznosile 0,12 mg/mL, 1,87 mg/mL i 3,75 mg/mL, redom. Prema navodima Shan i sar. (2007), inhibitorski efekat metanolog ekstrakta korijandera je potpuno izostao u slučaju svih testiranih bakterijskih sojeva (*B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* i *S. anatum*).

EU korijandera je pokazalo jače inhibitorno dejstvo u odnosu na ekstrakte, što je u saglasnosti sa literaturnim navodima (Klaus i sar., 2009; Teixeira i sar., 2013; Bag i Chattopadhyay, 2015; Bazargani i Rohloff, 2016; Duarte i sar., 2016; Khalil i sar., 2018; Kačanić i sar., 2020).

Kada su u pitanju ekstrakti anisa, iz prikazanih rezultata se može zaključiti da je ostvareni stepen inhibicije gotovo jednak onom koji su ostvarili ekstrakti kima. Izuzetak predstavljaju ekstrakti SE₉₆ i UZM₉₆ u slučaju *L. monocytogenes* i *S. Typhimurium*, kao i ekstrakt SE₇₀ u slučaju *S. aureus*, gde su vrednosti MIC ekstrakata anisa bile niže. Aktivnost etanolnih ekstrakata anisa potvrđena je i od strane drugih autora (Gülçin i sar., 2003; Alrasheid i sar., 2018; Ghazy i sar., 2021). Foroughi i sar. (2016) su ukazali na antibakterijsku aktivnost ekstrakta anisa dobijenog pomoću 70 % rastvora etanola prema *S. aureus* i *E. coli* s tim da su vrednosti MIC bile više (31 mg/mL) u odnosu na vrednosti dobijene u ovom istraživanju. Christova-Bagdassarian i sar. (2013a) su naveli da metanolni ekstrakti anisa, kima i korijandera nisu pokazali antimikrobnu aktivnost ni prema jednom testiranom mikroorganizmu, dok su Islam i sar. (2016) pokazali da je metanolni ekstrakt anisa efikasniji inhibitor od etanolnog i vodenog.

Umerena do jaka antimikrobna aktivnost EU anisa već je opisana u literaturi (Tepe i sar., 2006; Fitsiou i sar. 2016; Mahdavi i sar., 2018; Khanjari i sar., 2019). Veća otpornost *E. coli* prema dejstvu EU anisa u odnosu na *S. aureus* je u saglasnosti sa navodima Bazargani i Rohloff (2015) i Mahdavi i sar. (2018), dok je antilisterijski efekat EU i ekstrakata potvrđen od strane Khanjari i sar. (2019) i Ghazy i sar. (2021). U poređenju sa navodima Klaus i sar. (2009), gde je EU anisa pokazalo bakteriostatsko dejstvo sa značajno manjim zonama inhibicije u odnosu na EU kima i korijandera, u ovom radu se EU anisa pokazalo kao efikasniji inhibitor ovog izazivača trovanja hranom. Mnogi autori navode da je prisustvo *trans*-anetola zaslužno za antimikrobnu aktivnost anisa. U istraživanju koje je sproveda Aćimović (2015), *trans*-anetol je bio zastupljen do 98,72 % ukupnog sastava EU. Pored ovog fenilpropanoide, u EU koja su pokazala značajnije antimikrobno dejstvo, identifikovani su *cis*-anetol, metil-havikol, γ -himahalen, pseudoizoeugenol-2-metil-butirat, karvon i piperitenon oksid, dok su u etanolnom ekstraktu Ghazy i sar. (2021) pored *trans*-anetola naveli naringenin i taksifolin.

Ekstrakti ploda kima su pokazali značajnu antibakterijsku aktivnost. Kao najefikasniji inhibitor Gram-pozitivnih bakterija pokazao se UZM₉₆ ekstrakt sa najnižim vrednostima MIC

(0,313 i 0,625 mg/mL za *S. aureus*, odnosno *L. monocytogenes*). Umerenu aktivnost prema Gram-negativnim bakterijama, pored UZM₉₆ ekstrakta, pokazao je i SE₇₀ ekstrakt. Prema navodima Šarić i sar. (2009), etanolni ekstrakt kima nije ostvario antibakterijsko dejstvo prema *S. aureus* i *E. coli*, dok su Shan i sar. (2007) i Dimić i sar. (2012b) saopštili da ekstrakti kima nisu ostvarili čak ni mikrobistatičko dejstvo prema *L. monocytogenes*. U odnosu na dostupne literaturne podatke, rezultati ovog istraživanja ukazuju da ekstrakti kima imaju visok potencijal kao antibakterijski agensi. EU kima se pokazalo kao najjači inhibitor bakterije *S. aureus* u odnosu na ostala testirana EU (MIC = 0,0024 mg/mL).

Slaba otpornost ove Gram-pozitivne bakterije na dejstvo EU kima kao i njegovih glavnih komponenti, karvona i limonena, dobro je opisana u literaturi (Rančić i sar., 2003; Simić i sar., 2008; Kwiatkowski i sar., 2015; 2017; Khalil i sar., 2018). Seidler-Łożykowska i sar. (2013) su, ispitujući sastav EU i antibakterijsko dejstvo 20 različitih genotipova kima, ukazali na umerenu aktivnost EU kima prema *S. aureus* (MIC = 0,2 – 1,8 mg/mL) i pritom naveli da postoji jaka negativna korelacija između antibakterijske aktivnosti i sadržaja karvona. Sinergističko dejstvo glavnih komponenti EU kima potvrđeno je u istraživanju Chrysargyris i sar. (2017) prema *L. monocytogenes*, *E. coli* i *S. aureus*.

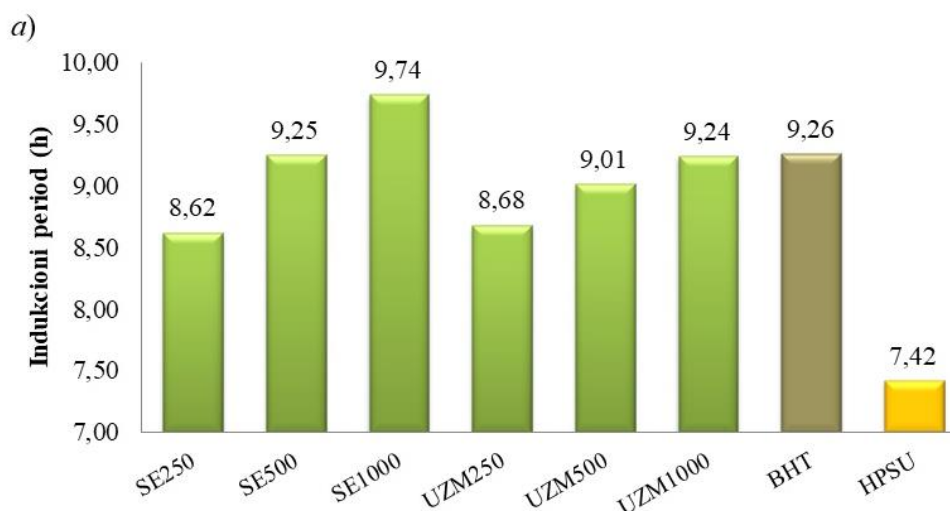
Kada se posmatra antibakterijska aktivnost glavnih komponenti EU kima, karvona i limonena, u literaturi se mogu naći oprečni rezultati čak i kada su u pitanju isti bakterijski sojevi. Aggarwal i sar. (2002) su potvrdili jaku antibakterijsku aktivnost svih izomera karvona i limonena prema *S. aureus* i *S. Typhimurium* navodeći da ovi monoterpeni imaju uporedivu biološku aktivnost kao i da su nosioci aktivnosti onih EU u kojima su zastupljeni u većem procentu. U pomenutoj studiji, optički izomeri karvona nisu pokazali aktivnost prema *E. coli* za razliku od izomera limonena. Sa druge strane, Lopez-Romero i sar. (2015) su naveli da karvon nije ostvario inhibitoryni efekat ni pri najvećoj primenjenoj koncentraciji (3 mg/mL) prema *S. aureus*, dok je prema *E. coli* pokazao umerenu aktivnost (MIC = 0,2 mg/mL).

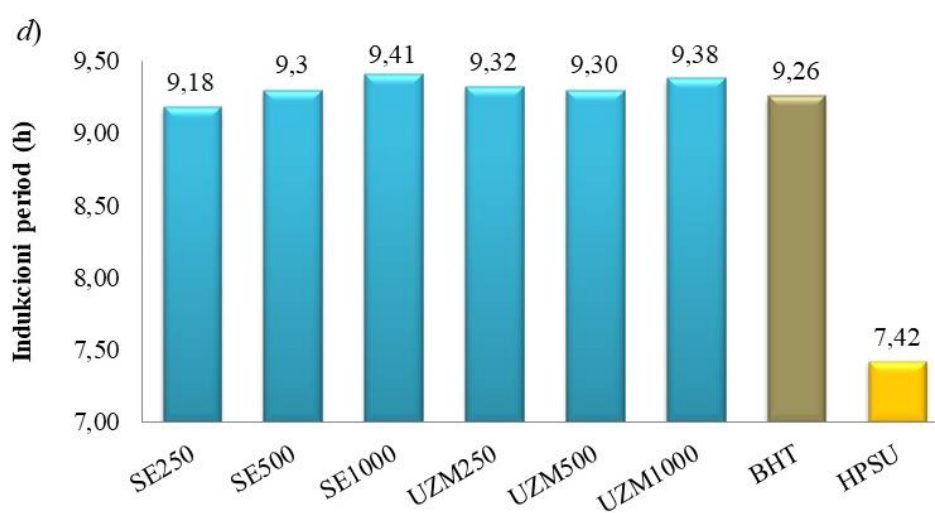
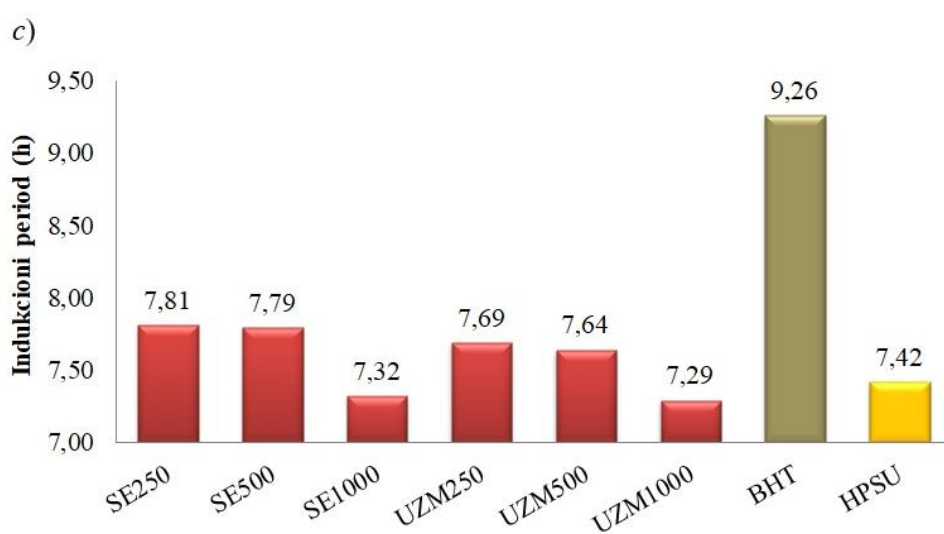
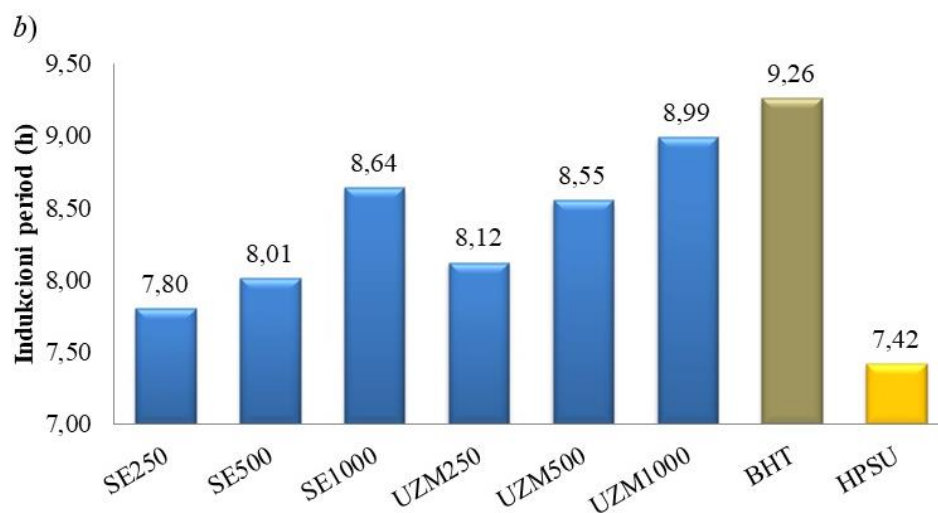
5.7. Oksidativna stabilnost HPSU sa dodatkom etarskih ulja i ekstrakata

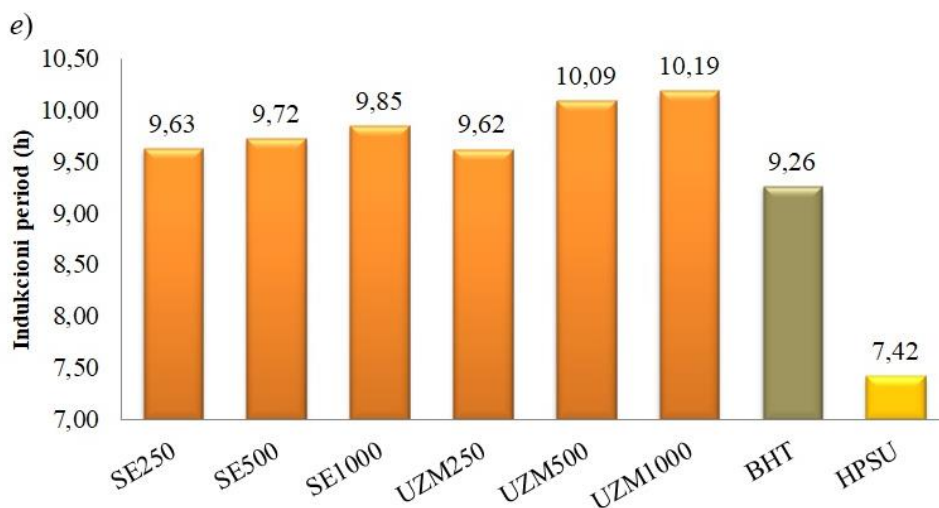
Radi potpunijeg sagledavanja uticaja EU i ekstrakata odabranih biljnih vrsta na kvalitet ispitivanog HPSU, oksidativna stabilnost pripremljenih uzoraka analizirana je pomoću više testova – Rancimat testom, Schaal-oven testom kao i DSC metodom.

5.7.1. Rezultati Rancimat testa

Rezultati određivanja oksidativne stabilnosti Rancimat testom na temperaturi od 100 °C i protoku vazduha kroz uzorke od 20 L/h, prikazani su na Slikama 5.2. i 5.3.





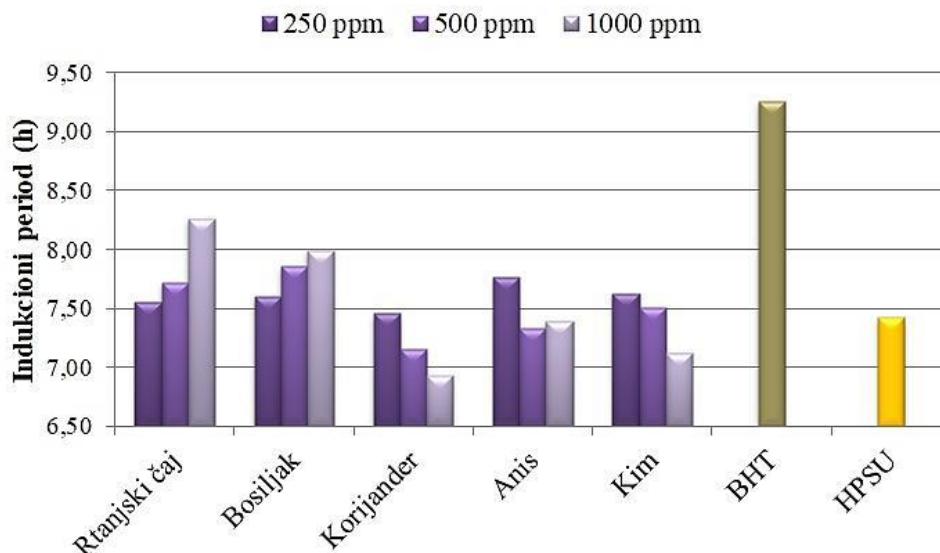


Slika 5.2. Indukcioni period (h) uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata rtanjskog čaja (a), bosiljka (b), korijandera (c), anisa (d) i kima (e) u odnosu na kontrolne uzorke određen Rancimat testom na temperaturi od 100 °C.

Indukcioni period (IP) kontrolnog uzorka bez dodataka (HPSU) bio je 7,42 h, dok je održivost uzorka kome je dodat BHT iznosila je 9,26 h. IP za uzorke sa dodatkom ekstrakata kretao se u intervalu 7,29 do 10,19 h, koliko su iznosile vrednosti IP uzoraka sa dodatkom UZM₁₀₀₀ ekstrakta korijandera odnosno kima. Među uzorcima ulja sa dodatkom ekstrakata, vrednosti IP niže od uzorka bez dodataka imali su SE₁₀₀₀ i UZM₁₀₀₀ ekstrakti korijandera.

Kada su u pitanju uzorci sa dodatkom EU, najbolju održivost je pokazao uzorak sa dodatkom EU rtanjskog čaja u najvećoj koncentraciji (IP = 8,26 h). Uzorci sa dodatkom EU biljaka familije Apiaceae, dodatim u količini od 1000 ppm, imali su vrednosti IP niže od uzorka bez dodataka, što ukazuje na prooksidativno dejstvo pri višim koncentracijama i zadatim uslovima određivanja. IP za EU₁₀₀₀ korijandera, anisa i kima iznosili su 6,93 h, 7,39 h, odnosno 7,12 h. Pored toga, EU korijandera i anisa, dodata i u koncentraciji od 500 ppm, takođe su ostvarila blago prooksidativno dejstvo (7,16 h za uzorak sa EU korijandera odnosno 7,33 h za EU anisa).

Uzorci sa dodatkom ekstrakata su imali u proseku duži IP (8,74 h), za razliku od uzoraka kojima su dodata EU (7,59 h). Kao jedan od osnovnih uzroka nastale razlike u oksidativnoj stabilnosti uzoraka sa dodatkom EU i ekstrakata može se navesti hemijski sastav ekstrakata ali i činjenica da su EU i njihove komponente lako isparljive supstance čija koncentracija na povišenoj temperaturi može biti smanjena usled isparavanja. Dostupni rezultati ispitivanja oksidativne stabilnosti HPSU ovim testom su veoma heterogeni budući da više faktora ima uticaja na utvrđene vrednosti IP. Kao glavni faktor koji utiče na oksidativnu stabilnost ulja, pa samim tim i rezultate primenjenih testova, izdvaja se masnokiselinski sastav ulja, tačnije udeo PUFA, potom sadržaj i sastav tokoferola i ostalih aktivnih komponenti ulja, kvalitet sirovine, način proizvodnje i uslovi skladištenja ulja (Tinello i sar., 2018). Dalje, variranje eksperimentalnih uslova otežava poređenje prikupljenih rezultata. Ovo se najpre odnosi na temperaturu ispitivanja koja se, u zavisnosti od stepena zasićenosti uzorka, kreće od 80 do 130 °C (Márquez-Ruiz i sar., 2008).



Slika 5.3. Vrednost indukcionog perioda (h) uzoraka ulja u zavisnosti od koncentracije dodatog EU odabranih biljnih vrsta u odnosu na kontrolne uzorke određen Rancimat testom na temperaturi od 100 °C.

Dimić (2000) je na temperaturi od 100 °C za četiri uzorka HPSU dobila vrednosti IP u intervalu 7,73 – 19,85 h, što su više vrednosti od vrednosti utvrđenih za uzorak bez dodataka. Značajna razlika u održivosti ispitivanih uzoraka je posledica različitog udela linolne kiseline koja je u slučaju uzorka sa najdužim IP bila zastupljena sa samo 7,29 %. Pri istim uslovima ispitivanja, Symoniuk i sar. (2018) su potvrdili uticaj masnokiselinskog sastava na održivost. Naime, uzorak visokooleinskog HPSU (86,52 % oleinske i 5,49 % linolne kiseline) je imao vrednost IP 19,87 h, dok je linolni tip HPSU (18,52 % oleinske i 66,02 % linolne kiseline) imao vrednost IP od 6,42 h. HPSU korišćeno u ovom radu je pri istim uslovima, iako sa većim sadržajem linolne kiseline (75,8 %), imalo duži IP. Márquez-Ruiz i sar. (2008) su ispitivali oksidativnu stabilnost različitih tipova suncokretovog ulja na 100 °C i pritom dobili vrednosti za IP: 6,3 h (za linolni tip), 20,0 h (visokooleinski tip) dok je za njihovu mešavinu, u odnosu 1 : 1, vrednost IP iznosila 10,3 h. U istoj studiji, pri različitim temperaturama za EDMU, dobijene su vrednosti IP: 42,6 h (100 °C), 18,8 h (110 °C) i 8,0 h (120 °C). Vrednost IP ulja upotrebljenog za ispitivanja u ovom radu je viša u odnosu na pomenute navode za linolni tip (Márquez-Ruiz i sar., 2008), kao i u odnosu na onu koju su naveli Mazaheri i sar. (2018) pri istim uslovima određivanja (IP = 6,78 h). Sa druge strane, dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima koje su saopštili Rade i sar. (2004). U zavisnosti od udela ljuske i nečistoća, IP HPSU linolnog tipa pri 110 °C koji su odredili Dimić i sar. (2012a), kretao se u intervalu 3,63 – 4,63 h. Uzorci HPSU linolnog tipa poreklom iz Severne Makedonije imali su IP 5,6 h i 2,6 h pri temperaturama od 110 °C odnosno 120 °C (Kostadinović Veličkovska i sar., 2015; 2018). Istu vrednost IP na 120 °C utvrdili su i Wroniak i sar. (2016b), dok su Redondo-Cuevas i sar. (2018) saopštili vrednosti IP od svega 1,23 h. Donev i sar. (2020) su za HPSU izdvojeno iz 12 novih hibrida suncokreta pri temperaturi od 120 °C i protoku vazduha 10 L/h utvrdili IP u intervalu 1,8 – 8,68 h za prvu vegetacionu sezonu, odnosno 2,68 – 10,16 h za drugu. Oksidativnu stabilnost novih hibrida ispitivali su i Lužaić i sar. (2021). Ovi autori su na temperaturi od 110 °C za 24 hibrida suncokreta dobili vrednosti IP u intervalu 3,32 – 9,55 h.

Praćenje učinka dodatka lekovitih i začinskih biljaka na oksidativnu stabilnost HPU Rancimat testom bila je predmet proučavanja u brojnim studijama. Uticaj vodenih ekstrakata biljaka familije Lamiaceae (origana, matičnjaka, lavande i ruzmarina) na održivost HPU lana, konoplje, susama i suncokreta, ispitivali su Soldo i sar. (2019). Dobijene vrednosti IP pri 120 °C za kontrolne uzorke su se kretale od 0,42 h do 3,28 h, koliko su iznosile za konopljino odnosno susamovo ulje, što je bilo u saglasnosti sa masnokiselinskim sastavom. U slučaju HPSU se pokazalo da je dodatak

ekstrakata matičnjaka i origana imao pozitivan efekat na stabilnost, dok su isti ekstrakti imali prooksidativno dejstvo kada su dodati HPU sa visokim udelom linolenske kiseline – konopljinom i lanenom. Šimat i sar. (2017) su ispitivali uticaj dodatka etanolnih ekstrakata biljaka familije Lamiaceae (bosiljka, majčine dušice i origana) ribljem ulju. Pri temperaturama od 80 °C, 100 °C i 120 °C, dobijeni rezultati su ukazali da svi ekstrakti omogućavaju produžetak IP s tim da se ekstrakt majčine dušice pokazao kao najmanje efikasan. Dodatak zapremine ekstrakata bosiljka veće od 50 µL nije imao uticaja na produženje IP pri 120 °C (IP_{25µL} = 0,30 h; IP_{50µL} = 0,36 h; IP_{100µL} = 0,33 h) što ukazuje na eventualno prisustvo aktivnih komponenti koje u većim koncentracijama zapravo imaju prooksidativno dejstvo. Izostanak porasta vrednosti IP rafinisanog suncokretovog ulja sa povećanjem koncentracije etanolnih ekstrakata, zabeležen je u studiji koju su sproveli Gramza-Michalowska i sar. (2011). Rezultati Rancimat testa na 110 °C su pokazali da efekat dodatka biljnih ekstrakata zavisi od testiranog lipidnog sistema. Naime, u slučaju svinjske masti, vrednost IP se povećala sa porastom koncentracije dodatih ekstrakata dok na IP suncokretovog ulja porast koncentracije nije imao uticaja. Učinak dodatka različitih koncentracija etanolnog ekstrakta bosiljka rafinisanom suncokretovom i repičinom ulju pri temperaturi od 100 °C, ispitivala je Máriássyová (2006). U slučaju oba testirana ulja, ekstrakt bosiljka pri koncentraciji od 2 mg/kg imao je najviše vrednosti, dok je sa porastom koncentracije dodatog ekstrakta vrednost IP odnosno zaštitnog faktora opadala. Uticaj etanolnog ekstrakta bosiljka ispitivali su i Veronezi i sar. (2014) u sistemu rafinisanog sojinog ulja. Oksidativna stabilnost ulja kome je dodat ekstrakt bosiljka u količini od 3000 mg/kg testirana je pri 100 °C neposredno nakon dodavanja, kao i posle 10 i 20 h zagrevanja na 180 °C. Na isti način su testirani i uzorci ulja sa TBHQ (50 mg/kg), TBHQ (50 mg/kg) i 3000 mg/kg ekstrakta bosiljka. Pokazalo se da je nakon 20 h zagrevanja uzorak sa ekstraktom bosiljka ostao stabilan da bi nakon ovog perioda najveću vrednost IP imao uzorak kome su dodati TBHQ i ekstrakt bosiljka. Sa druge strane, jak stabilizujući efekat metanolnog ekstrakta bosiljka u uslovima identičnim kao u ovom radu, utvrdili su Ben-Ali i sar. (2014) na primeru rafinisanog suncokretovog ulja. Ekstrakti dodati u koncentraciji 500 i 1000 ppm produžili su IP ulja sa 1,98 h na 8,23 h odnosno 11,63 h, dok je za uzorak sa BHT IP imao vrednost od 4,65 h. Cordeiro i sar. (2013) su za uzorak rafinisanog sojinog ulja sa dodatkom etanolnog ekstrakta korijandera dobili vrednost IP koja je bila niža od uzorka ulja bez dodataka (5,0 h u odnosu na 5,2 h). Nasuprot rezultatima dobijenim u ovom radu, Politeo i sar. (2006) su naveli da EU korijandera ima potencijal kao prirodni antioksidans, ali samo u višim koncentracijama. U istoj studiji su dobijene vrednosti za EU bosiljka sa kojima su rezultati ovog rada u saglasnosti.

Oksidativna stabilnost maslinovog ulja sa dodatkom lekovitih biljaka bila je predmet ispitivanja znatno većeg broja istraživanja pri čemu su kao metod aromatizacije, primenjene ekstrakcija biljnog materijala u ulju putem klasične maceracije (Ayadi i sar., 2009; Khemakhem i sar., 2015; Sousa i sar., 2015), ultrazvučne maceracije (Veillet i sar., 2010; Assami i sar., 2016; Soares i sar., 2020; Moustakime i sar., 2021) i ekstrakcije mikrotalasima (Benmoussa i sar., 2016). U studiji koju su sproveli Sousa i sar. (2015) vrednost IP na 120 °C uzorka ulja sa dodatkom origana nakon tri meseca skladištenja bila je 10,4 h, za razliku od kontrolnog uzorka koji je imao IP 9,4 h. Pri istim uslovima, IP koji su utvrdili Assami i sar. (2016) za uzorak ulja koji je aromatizovan EU kima metodom ultrazvučne maceracije bila je veća u odnosu na IP uzorka dobijen klasičnom maceracijom i kontrolu (6,39 h, 4,53 h i 3,45 h, redom). Na prednost ove tehnike aromatizacije su ukazali i Soares i sar. (2020). Ultrazvučna maceracija maslinovog ulja sa bosiljkom u trajanju od 10 min imala je više vrednosti za IP i sadržaj ukupnih fenolnih komponenti pri nižim vrednostima za ostale parametre kvaliteta (% slobodnih masnih kiselina, Pbr, K₂₃₂ i K₂₇₀) u odnosu na klasičnu maceraciju izvedenu u toku 7 i 15 dana.

Uticaj izolata biljnih vrsta familije Lamiaceae i Apiaceae na oksidativnu stabilnost rafinisanog ulja suncokreta (Anwar i sar., 2006; Máriássyová, 2006; Gramza-Michalowska i sar., 2011; Mousavi i sar., 2013; Tinello i sar., 2018), soje (Anwar i sar., 2006; Cordeiro i sar., 2013; Dolati i sar., 2016), uljane repice (Bandonienè i sar., 2002; Máriássyová, 2006; Turan, 2014), kukuruza (Karoui i sar., 2011; Farahmandfar i sar., 2019b) i svinjske masti (Kulišić i sar., 2005; Politeo i sar., 2006) takođe je ispitana Rancimat testom.

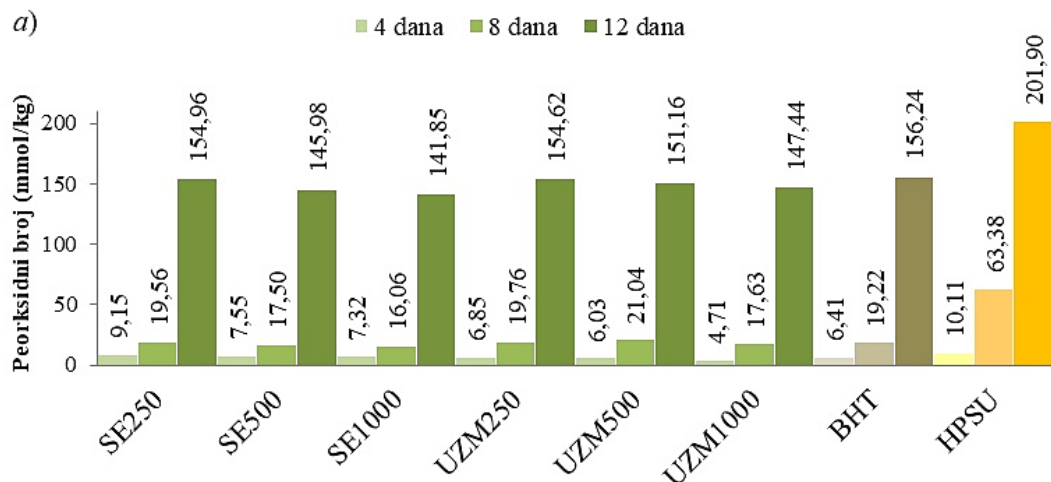
Prema dostupnoj literaturi i rezultatima ispitivanja oksidativne stabilnosti Rancimat testom, generalno može se zaključiti da biljke familija Lamiaceae i Apiaceae imaju potencijal kao zamena sintetičkim antioksidansima s obzirom da pojedine među njima pokazuju podjednak ili jači učinak u odlaganju oksidativnih promena u lipidnim sistemima. Konkretni efekat u velikoj meri zavisi od načina ekstrakcije aktivnih komponenti pa, kada su u pitanju ekstrakti, osim primenjene metode ekstrakcije odabir rastvarača ima poseban značaj. U odnosu na etanolne, metanolni ekstrakti imaju više vrednosti IP bez obzira na testirani tip ulja i uslove određivanja. Iako se uklanjanje rastvarača podrazumeva, upotreba etanola i etanolno-vodene smeše za izolaciju aktivnih komponenti iz lekovitih i začinskih biljaka je prihvatljivija budući da se etanol nalazi na GRAS listi i kao rastvarač se smatra bezbednim po zdravlje ljudi i životnu sredinu (Chemat i sar., 2012; Jovanović i sar., 2017). Kada je u pitanju učinak EU, značajna razlika u vrednostima IP u odnosu na odgovarajuće ekstrakte može se pripisati isparljivosti tj. da na temperaturama koje se primenjuju u okviru Rancimat testa, dolazi do smanjenja koncentracije, pa realni efekat može izostati. Takođe, ova metoda podrazumeva i konstantan kontakt sa kiseonikom iz vazduha pa nezasićene komponente EU mogu biti oksidovane uz nastanak slobodnih radikala. Iz ovih razloga je oksidativna stabilnost ulja sa dodacima analizirana u različitim temperaturnim režimima kako bi se stekla potpunija slika o efikasnosti dodatih EU i ekstrakata.

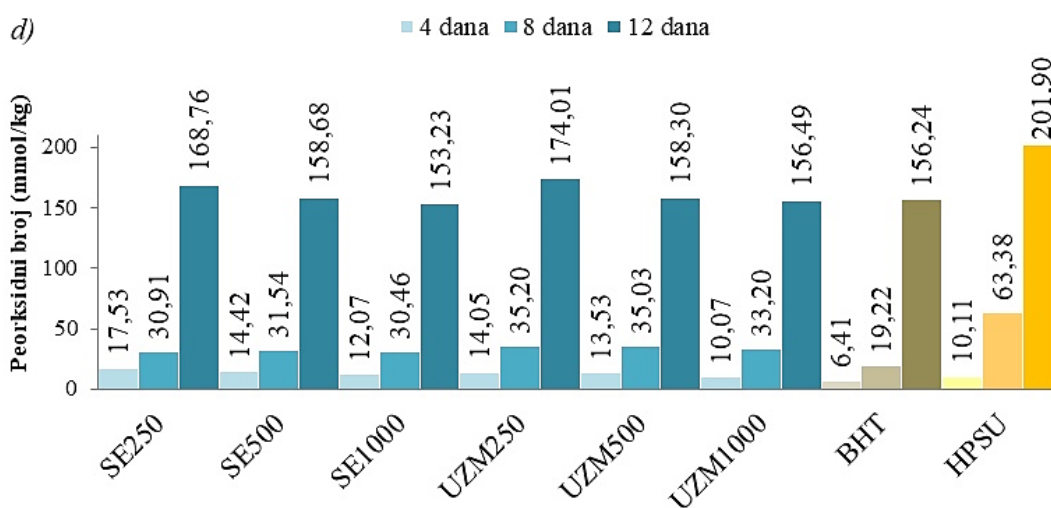
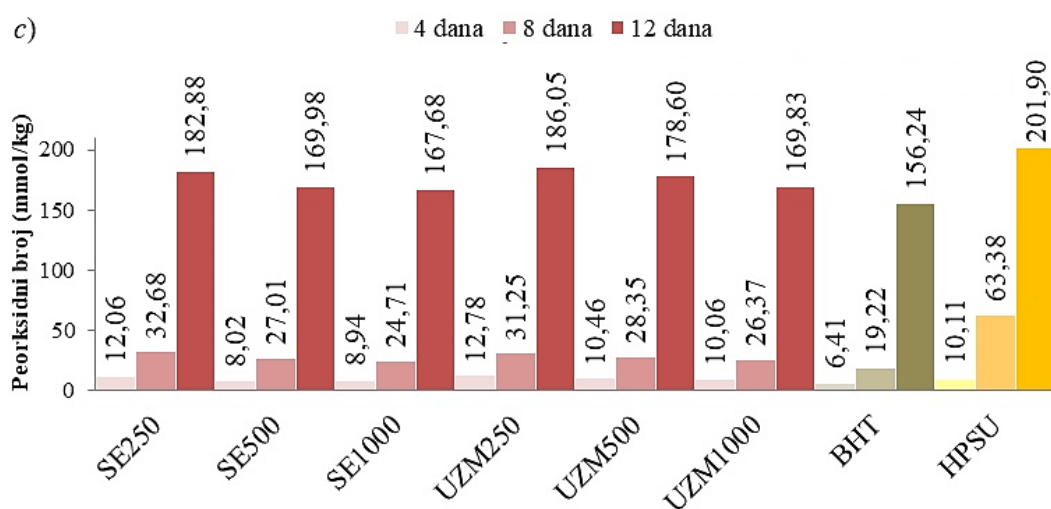
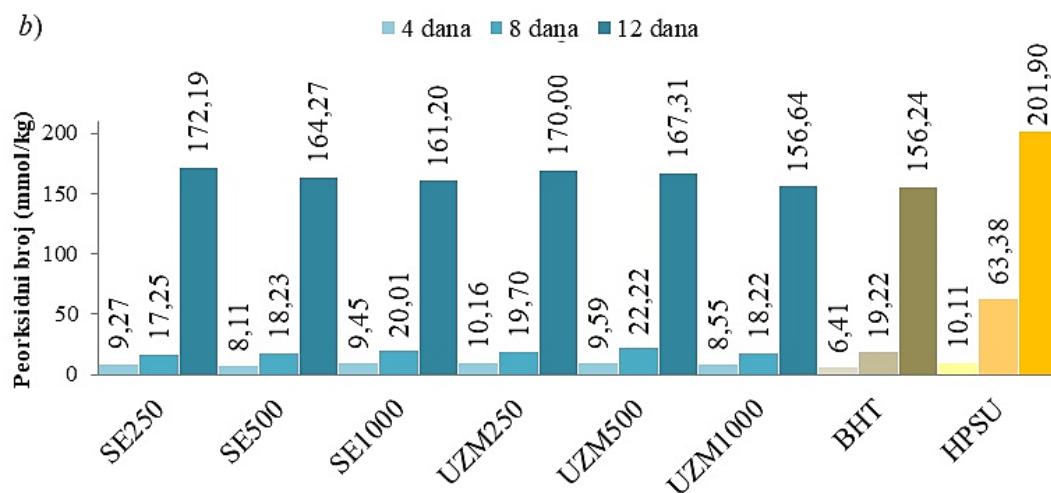
5.7.2. Rezultati Schaal oven testa

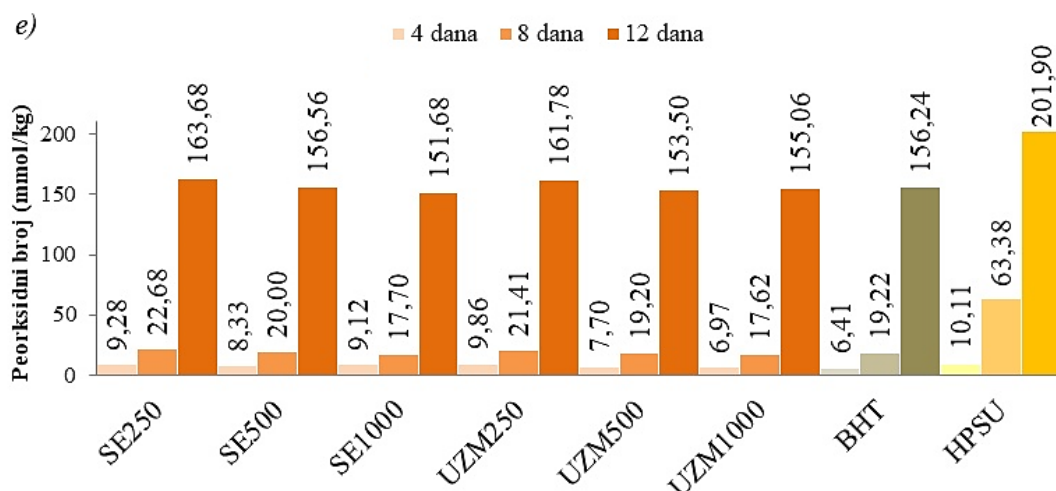
Pri uslovima koji su ranije navedeni, Schaal oven testom ispitana je oksidativna stabilnost uzoraka uz praćenje parametara koju ukazuju na sadržaj primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije - Pbr, Abr, OV, K_{232} i K_{270} .

5.7.2.1. Promene peroksidnog broja

Uzorak HPSU bez dodataka je u datim uslovima bio najpodložniji oksidaciji. Pbr je od polaznih 0,81 mmol/kg nakon četiri dana dostigao vrednost od 10,11 mmol/kg što je viša vrednost od propisane Pravilnikom za HPU (7,5 mmol/kg) (Pravilnik, 2013). Sa druge strane, u odnosu na rezultate iz dostupne literature za HPSU, vrednost Pbr dobijena u ovom radu bila je niža (Dimić i sar., 2012a; Wroniak i sar., 2016b; Lužaić i sar., 2021). Nakon dvanaest dana vrednost Pbr bila je 201,90 mmol/kg, što je uvećanje od približno 250 puta. Vrednost Pbr na kraju ovog testa je znatno viša u odnosu na literaturno dostupne podatke što je posledica masnokiselinskog sastava odnosno visokog udela oksidabilne linolne kiseline. Takođe, kao razlog može se navesti i visoka polazna vrednost Kbr ($3,07 \pm 0,06$ mg KOH/g). Naime, veći sadržaj slobodnih MK utiče na oksidativnu stabilnost budući da se slobodne MK ponašaju prooksidativno (Morales i Przybylski, 2013). Vrednost Pbr uzorka sa BHT je nakon četiri dana ostala u zakonskim okvirima (6,41 mmol/kg), ali je nakon dvanaest dana određena vrednost 156,24 mmol/kg (uvećanje od 193 puta u odnosu na polaznu vrednost).



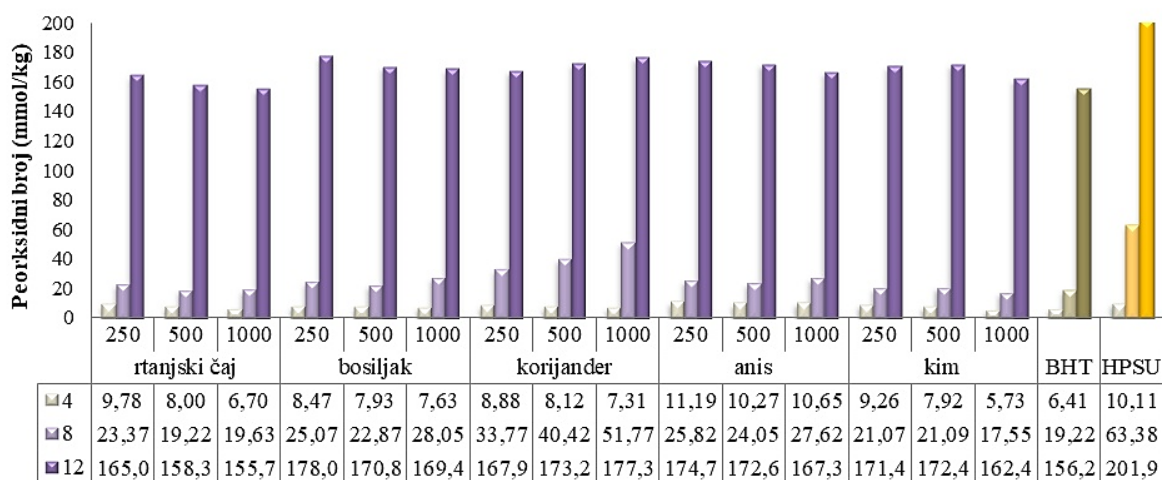




Slika 5.4. Vrednosti peroksidnog broja uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata rtanjskog čaja (a), bosiljka (b), korijandera (c), anisa (d) i kima (e) u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana Schaal oven testa.

Na Slici 5.4. su predstavljene vrednosti Pbr određene četvrtog, osmog i dvanaestog dana Schaal oven testa za uzorke ulja kojima su dodati biljni ekstrakti u odnosu na kontrolne uzorke. Vrednosti Pbr uzoraka sa dodatim ekstraktima su nakon četiri dana bile u intervalu 4,71 – 17,53 mmol/kg, nakon osmog dana 16,06 – 35,20 mmol/kg, da bi na kraju testa bile 141,85 – 186,05 mmol/kg. Niže vrednosti Pbr na kraju testa, u odnosu na uzorak kome je dodat BHT, imali su uzorcima kojima su dodati ekstrakti rtanjskog čaja u svim koncentracijama, UZM₁₀₀₀ ekstrakt bosiljka, oba tipa ekstrakta kima u koncentracijama 500 i 1000 ppm, kao i ekstrakti anisa u najvišoj koncentraciji (SE₁₀₀₀ i UZM₁₀₀₀). Najmanje efikasni u sprečavanju nastanka primarnih oksidativnih proizvoda ulja bili su ekstrakti korijandera.

Intervali vrednosti Pbr za uzorke sa dodatkom EU nakon četvrtog, osmog i dvanaestog dana testa bili su 5,73 – 11,19 mmol/kg, 17,55 – 51,77 mmol/kg i 155,72 – 178,02 mmol/kg, redom (Slika 5.5.). Na kraju testa najniže vrednosti su imali uzorci sa dodatkom EU rtanjskog čaja. Može se uočiti da je dodatak EU, u odnosu na odgovarajuće ekstrakte, generalno imao slabiji efekat u sprečavanju nakupljanja primarnih oksidacionih proizvoda.



Slika 5.5. Vrednosti peroksidnog broja uzoraka ulja sa dodatkom EU odabranih biljnih vrsta u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana Schaal oven testa.

Efikasnost EU i ekstrakata rtanjskog čaja i drugih vrsta iz roda *Satureja* sp. Schaal oven testom potvrđena je u literaturi (Bandonienè i sar., 2002; Chrpová i sar., 2010; Hashemi i sar., 2012;

Fathi i sar., 2013; Kamkar i sar., 2014; Jokić i sar., 2016; Tsimogiannis i sar., 2016). Özcan i Özcan (2017) su Schaal oven testom u toku 28 dana utvrdili da su SE ekstrakti vrste *Satureja thymbra* efikasniji u oksidativnoj stabilizaciji EDMU u odnosu na ekstrakte dobijene pomoću ultrazvuka sa čime su rezultati ovog rada u saglasnosti. Takođe, ovi autori su naveli da, kada je u pitanju Pbr, nema značajne razlike u efikasnosti među primenjenim koncentracijama (600 i 1200 ppm) što su rezultati ovog rada i potvrdili. Jokić i sar. (2016) su utvrdili značajan efekat EU rtanjskog čaja pri oksidativnoj stabilizaciji HPU lešnika u uslovima Schaal oven testa, za razliku od EU origana i posebno žalfije čije je EU ispoljilo prooksidativni efekat. Za razliku od navedenog, Saavedra i sar. (2015) i Taoudiat i sar. (2020) su utvrdili da dodatak EU bogatih timolom i karvakrolom (rtanjski čaj i *Thymbra capitata*) maslinovom ulju nije sprečio nagomilavanje primarnih proizvoda oksidacije izraženih preko Pbr. Zapravo, kako su autori naveli, aromatizovano maslinovo ulje je u toku ispitivanja imalo više vrednosti Pbr od nearomatizovanog uzorka odnosno ispoljilo je prooksidativni efekat u toku 90 dana na 25 °C odnosno 140 dana praćenja parametara na temperaturi od 60 °C. Izostanak antioksidativnog dejstva ekstrakata bosiljka pri ispitivanju oksidativne stabilizacije ulja i masti primenom Schaal oven testa utvrđena je od strane Ayadi i sar. (2009) i Chrpová i sar. (2010). Suprotno navedenom, Ben-Ali i sar. (2014) su utvrdili da ekstrakti bosiljka imaju jak stabilizujući efekat u slučaju rafinisanog suncokretovog ulja. Ovde je važno naglasiti da je reč o herbi bosiljka u kojoj su eugenol i karvakrol navedene kao dominantne komponente, a koje imaju potvrđenu efikasnost u suzbijanju nastanka kako primarnih tako i sekundarnih proizvoda oksidacije (Ruberto i Baratta, 2000; Yildiz i sar., 2021).

Literaturni podaci primene EU i ekstrakata odabranih biljaka familije Apiaceae su znatno oskudniji kada je u pitanju ispitivanje oksidativne stabilnosti ovim testom. Farah i sar. (2015) su ispitivali mogućnost primene etanolnog ekstrakta korijandera u cilju stabilizacije HPSU i utvrdili da je efikasnost ekstrakta korijandera u sprečavanju nastanka primarnih proizvoda oksidacije značajna i gotovo jednaka onoj koju je ostvario uzorak kome je dodat BHT. Kako su još autori naveli, dokazana antioksidativna aktivnost testiranih ekstrakata i efikasnost u stabilizaciji HPSU, u jakoj su korelaciji sa sadržajem fenolnih komponenti (72 mg GAE/g), koji je značajno viši u odnosu a sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima korijandera testiranih u ovom radu (25,32 do 44,34 mg GAE/g). Rezultati dobijeni u ovom radu za EU korijandera, gde se pokazalo da sa porastom koncentracije dodatog EU rastu i vrednosti Pbr, razlikuju se od onih koje su dobili Wang i sar. (2018). Naime, autori su pokazali na primeru rafinisanog suncokretovog ulja da je najviša primenjena koncentracija EU (1200 ppm) zapravo i najefikasnija. Moustakime i sar. (2021) su dokazali da je u uslovima Schaal oven testa dodatak EU anisa devičanskom maslinovom ulju efikasniji način stabilizacije i aromatizacije u odnosu na klasičnu i ultrazvučnu maceraciju. Efikasnost etanolnog ekstrakta anisa u odlaganju oksidativnih promena u sojinom i kukuruznom ulju, kao i u biljnoj i animalnoj masnoći, potvrđena je na osnovu vrednosti Pbr primenom Schaal oven testa od strane Qasem i Al-Ismael (2004). Rezultati aktivnosti ekstrakta kima dobijeni u ovom radu u saglasnosti su sa navodima Bamdad i sar. (2006).

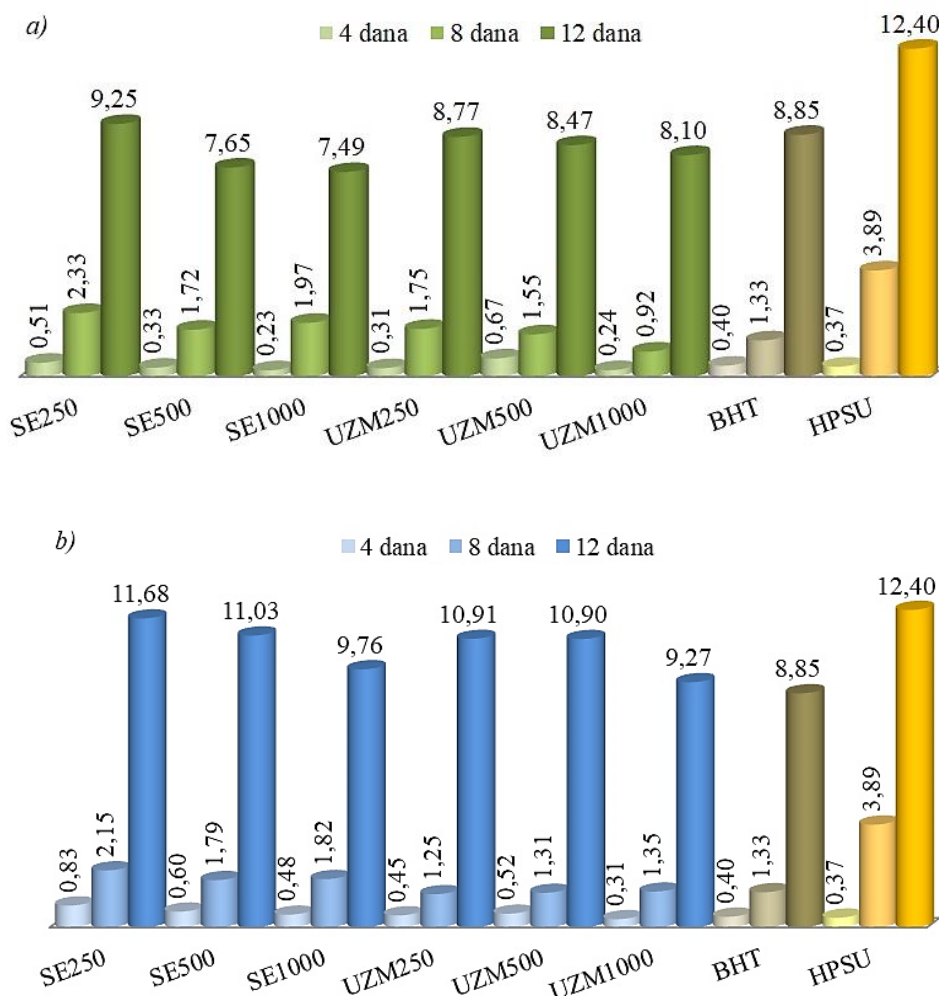
Iako se dodatak ekstrakata pokazao kao efikasniji način prevencije nastanka primarnih oksidacionih proizvoda u odnosu na odgovarajuća EU, može se uočiti da je kod svih uzoraka nagli porast Pbr uočljiv između osmog i dvanaestog dana. Ovo ukazuje da je u prvom delu ispitivanja, nastanak i razgradnja peroksida i hidroperoksida bila gotovo podjednaka, a da je u drugom delu tj. nakon osmog dana, formiranje i akumulacija bila intenzivnija nego razgradnja. Ovakvo ponašanje uzoraka pri nižim temperaturama u odnosu na one koje podrazumeva Rancimat test, potvrđeno je u literaturi (Ayadi i sar., 2009; Moczowska i sar., 2020). Takođe, na osnovu preliminarnih ispitivanja antioksidativne aktivnosti ekstrakata gde su ekstrakti bosiljka, a posebno rtanjskog čaja ispoljili superiornost u odnosu na ekstrakte anisa, kima i korijandera, u datim uslovima ispitivanja značajniji antioksidativni efekat je ipak izostao. Kada je u pitanju Pbr, obrazloženje za više vrednosti Pbr od očekivanih može biti i sadržaj hlorofila u uzorcima ulja koji sadrže ekstrakte. Ovaj pigment podleže oksidaciji formirajući hidroperokside i hidroksi proizvode male molekulske mase

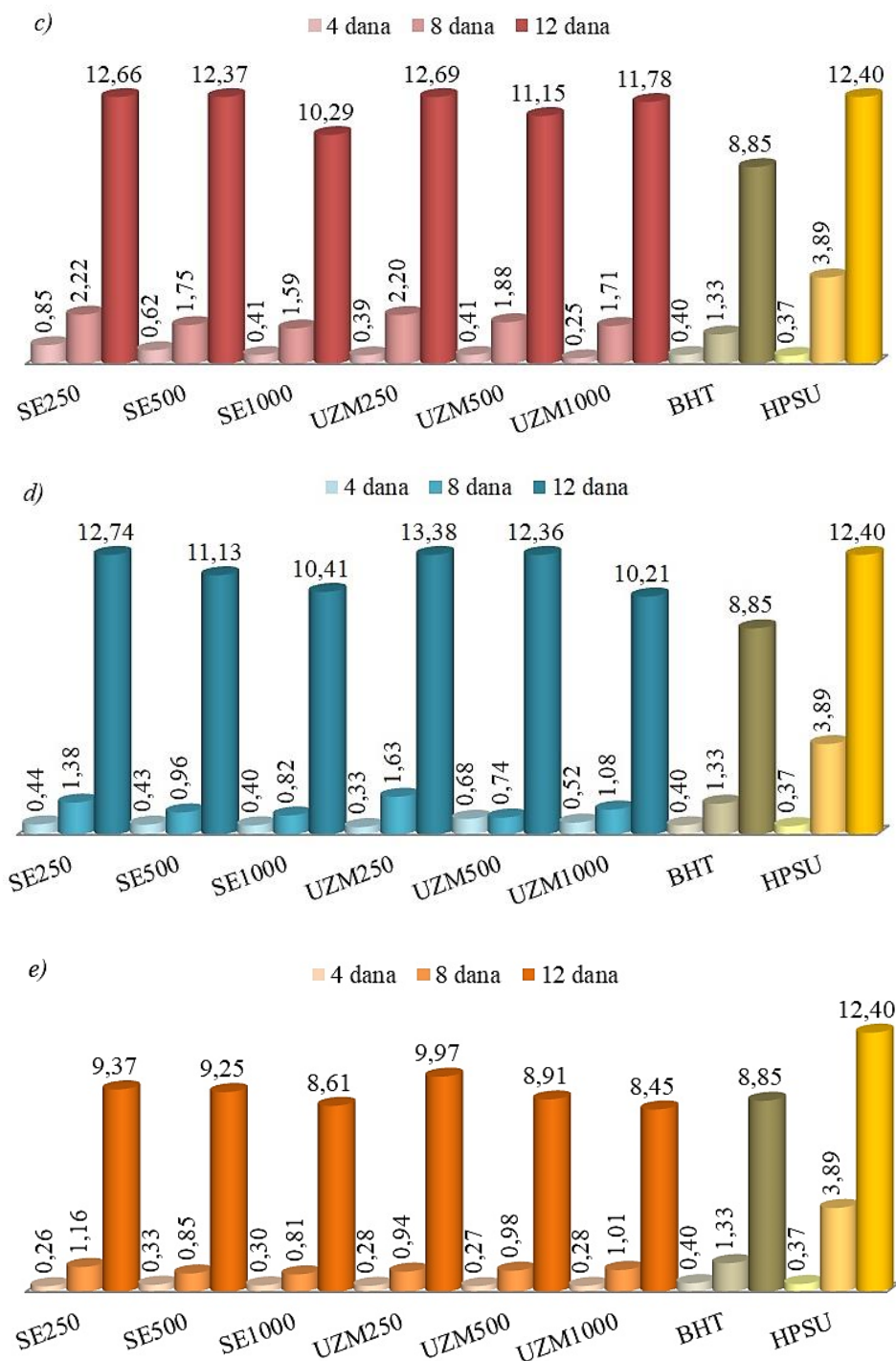
koji dalje mogu uticati na promenu boje ulja, ali i tok oksidacije, s obzirom na to da formiraju slobodne radikale koji mogu reagovati sa drugim komponentama (Morales i Przybylski, 2013).

5.7.2.2. Promene anisidinskog broja

Na Slikama 5.6. i 5.7. su prikazane vrednosti Abr uzoraka ulja sa dodatkom EU i ekstrakata u odnosu na kontrolne uzorke. U toku izvođenja testa, svi uzorci su pokazali tendenciju nakupljanja sekundarnih proizvoda oksidacije. Rezultati dobijeni nakon četvrtog i osmog dana ukazuju na blag porast Abr, ali se u poslednjoj fazi testa javlja nagli rast za sve uzorke.

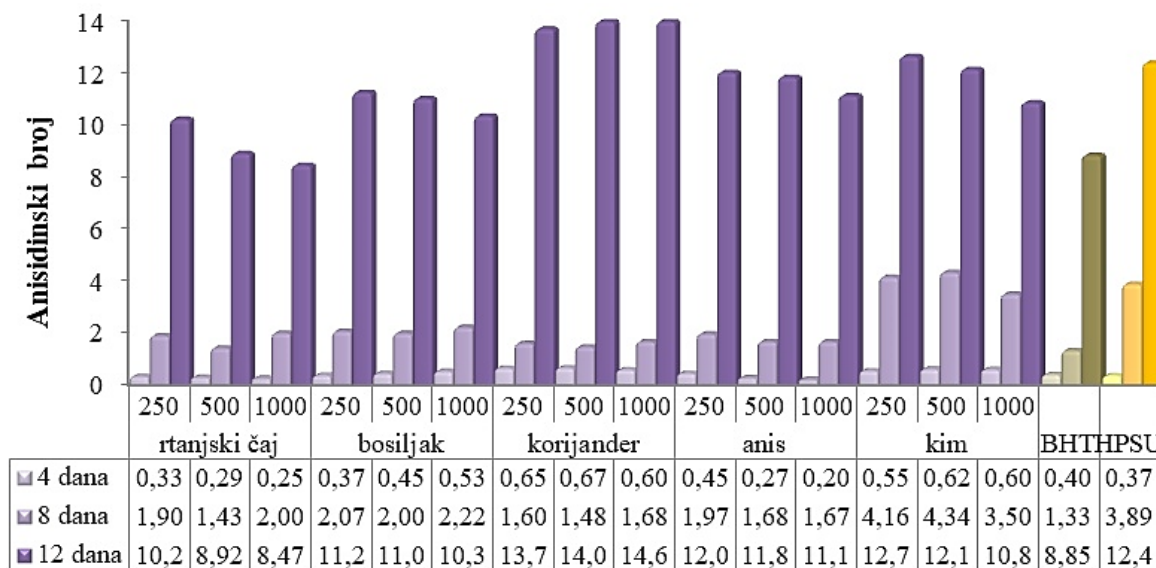
Vrednost Abr uzorka ulja bez dodataka je od polaznih 0,23 nakon četiri dana dostigla vrednost od 0,37, da bi nakon dvanaest dana vrednost bila 12,40, što je uvećanje od ~54 puta. Za razliku od uzorka bez dodataka, uzorak sa BHT je na kraju testiranja imao vrednost od 8,85 što je uvećanje od 38 puta. Romanić i Kravić (2017) su za Abr nakon 14 dana testa za HPSU visokooleinskog tipa od polaznih 0,00 dobili 1,67, dok je vrednost u slučaju HPSU linolnog tipa bila 8,3 puta viša. Vrednosti Abr dobijene nakon četvrtog odnosno osmog dana testa su u saglasnosti sa navodima Lužaić i sar. (2021) koji su za Abr naveli vrednosti 0,07 – 4,02 odnosno 0,46 – 7,79. Sa druge strane, promene Abr utvrđene u ovom radu za HPSU su izraženije od onih koje su saopštili Wroniak i sar. (2016b) i Mazaheri i sar. (2019).





Slika 5.6. Vrednosti anisidinskog broja uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata rtanjskog čaja (a), bosiljka (b), korijandera (c), anisa (d) i kima (e) u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana Schaal oven testa.

Nakon četiri dana, vrednosti Abr za uzorke sa dodatim ekstraktima su se kretale u granicama od 0,23 do 0,85, nakon osam dana od 0,74 do 2,33, da bi na kraju testa bile u opsegu 7,49 – 13,38. Kada su u pitanju uzorci ulja sa EU, intervali Abr su imali slične vrednosti: 0,20 – 0,67 nakon četiri dana, 1,43 – 4,34 nakon osam dana i nakon dvanaestog dana 8,48 – 14,68.



Slika 5.7. Vrednosti anisidinskog broja uzoraka ulja sa dodatkom EU odabranih biljnih vrsta u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana Schaal oven testa.

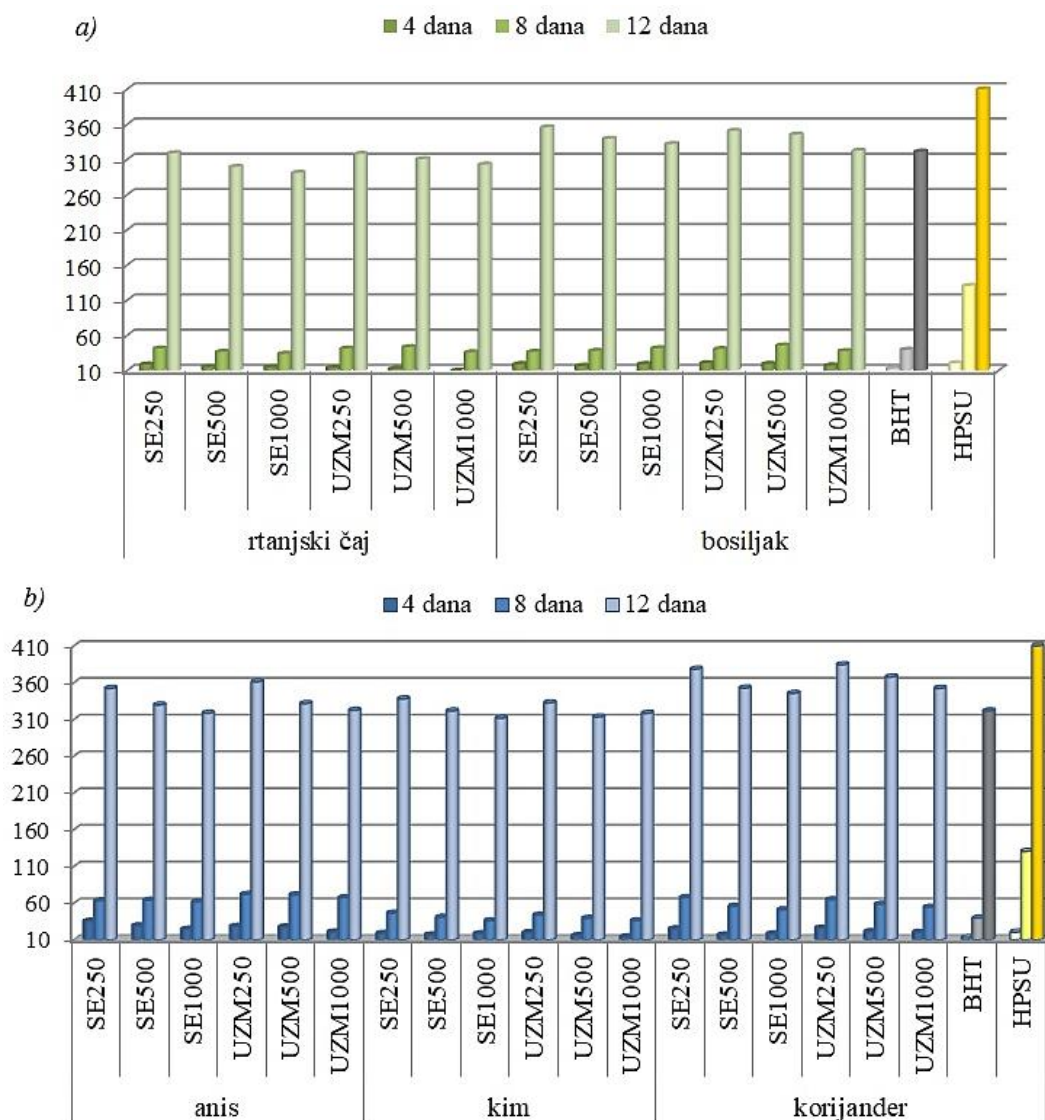
Može se zaključiti da su svi uzorci do osmog dana testiranja ostali u granicama prihvatljivosti s obzirom na to da su vrednosti Abr bile niže od 5. U periodu između osmog i dvanaestog dana je usledio nagli porast Abr što ukazuje na značajnije nakupljanje sekundarnih proizvoda oksidacije. Kao najefikasniji u stabilizaciji HPSU na osnovu vrednosti Abr određene u toku Schaal oven testa izdvojio se rtanjski čaj. Uzorci ulja sa dodatkom ekstrakata rtanjskog čaja, izuzev uzorka sa SE₂₅₀ ekstraktom, na kraju testa su imali niže vrednosti Abr u odnosu na uzorak sa BHT. Najniže vrednosti imali su uzorci sa dodatim ekstraktima dobijenim SE metodom - 7,65 i 7,48, za SE₅₀₀ odnosno SE₁₀₀₀. Rtanjski čaj je bio najefikasniji i kada je dodat u obliku EU. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa literaturnim navodima (Hashemi i sar., 2012; Tsimogiannis i sar., 2016). Među uzorcima sa dodatkom ekstrakata, niže vrednosti od uzorka sa BHT imali su još samo uzorci sa ekstraktom kima, i to u najvišim koncentracijama (8,61 i 8,45, za SE₁₀₀₀ i UZM₁₀₀₀, redom). Ekstrakti anisa i korijandera dodati ulju u najnižim koncentracijama su ispoljili prooksidativno dejstvo. Prooksidativno dejstvo je ispoljilo i EU korijandera u svim primenjenim koncentracijama. Pored toga što koncentracija EU korijandera od 1200 ppm efikasno suzbija formiranje primarnih proizvoda oksidacije, Wang i sar. (2018) koji su na osnovu vrednosti Abr zaključili da efikasno suzbija i formiranje sekundarnih proizvoda i to u jačoj meri nego BHT. Farah i sar. (2015) su za etanolne ekstrakte korijandera utvrdili vrednosti Abr niže u odnosu na kontrolu, ali je efekat stabilizacije bio manji u odnosu na BHT.

5.7.2.3. Promene oksidativne vrednosti

OV je od polaznih 1,86 nakon četiri dana dostigla vrednosti u rasponu od 9,66 do 35,51, koliko su iznosile vrednosti za uzorke ulja sa dodatkom UZM₁₀₀₀ ekstrakta rtanjskog čaja i SE₂₅₀ ekstrakta anisa. Nakon osam dana vrednosti su se kretale od 34,08 do 130,5, da bi na kraju testa bile u opsegu 291,19 – 416,20. Najviše vrednosti ovog pokazatelja nakon četvrtog i osmog dana imao je uzorak bez dodataka. Vrednosti za uzorak kome je dodat BHT su bile 13,21, 39,76 i 321,32 nakon četvrtog, osmog i dvanaestog dana eksperimenta.

Ranije prikazane razlike u sadržaju primarnih i neisparljivih sekundarnih proizvoda oksidacije, tj. razlike u vrednostima Pbr i Abr, odražavaju se i na OV. Shodno tome, najnižu OV na kraju Schaal oven testa imao je uzorak kome je dodat SE₁₀₀₀ ekstrakt rtanjskog čaja. Na Slikama 5.8. i 5.9. su predstavljene OV uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata odabranih biljaka familija

Lamiaceae (a) i Apiaceae (b) i OV uzoraka ulja sa dodatkom EU svih ispitivanih biljnih vrsta u odnosu na kontrolne uzorke.

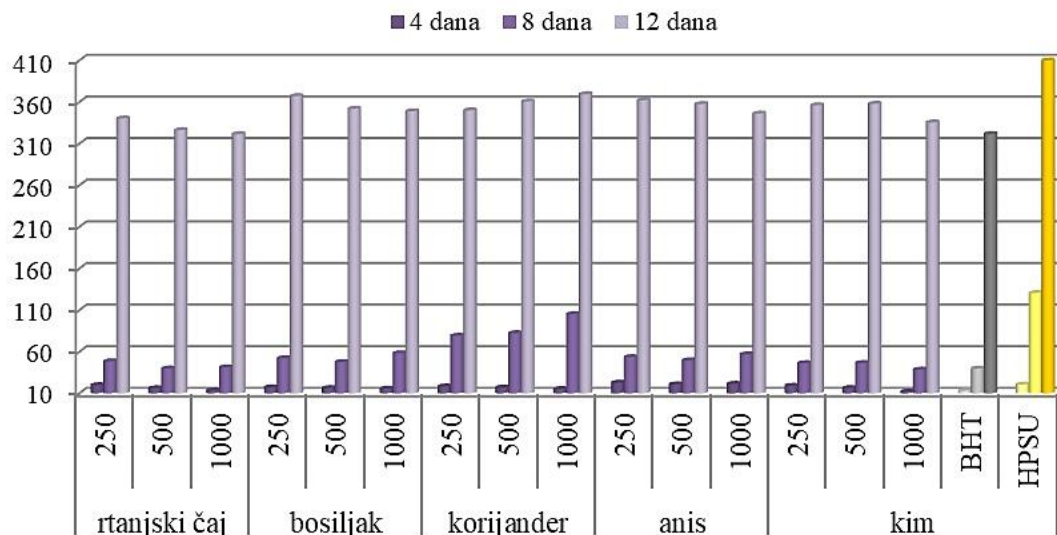


Slika 5.8. Oksidativna vrednost uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakta rtanjnskog čaja i bosiljka (a) i anisa, kima i korijandera (b) u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana Schaal oven testa.

Rtanjski čaj je imao najnižu OV i u slučaju uzoraka sa dodatim EU (319,90 za EU dodato u koncentraciji od 1000 ppm). Ostali uzorci su imali OV između vrednosti dobijene za uzorak sa BHT i uzorak bez dodataka, pri čemu su najviše vrednosti imali uzorci sa EU korijandera pri maksimalnoj koncentraciji (369,27) i EU bosiljka u minimalnoj koncentraciji (367,30). U slučaju EU korijandera uočljiva je tendencija porasta OV sa porastom koncentracije dodatog EU, dok je OV vrednost uzoraka ulja sa EU bosiljka opadala sa porastom koncentracije.

Prema literaturnim navodima, za HPSU u uslovima Schaal oven testa dobijene OV su u najvećoj meri zavisile od masnokiselinog sastava. Romanić i Kravić (2017) su naveli da je OV za HPSU linolnog tipa nakon 14 dana od polaznih 7,34 dostigla vrednost od 288,92, dok je u slučaju visokooleinskog tipa promena bila od 3,97 do svega 58,68. Izraženo povećanje OV u slučaju linolnog tipa ulja direktna je posledica udela linolne kiseline koja je znatno podložnija oksidaciji u odnosu na mononezasićenu oleinsku. Sadržaj linolne kiseline u ulju testiranom u ovom radu iznosi 75,8 %, dok su Romanić i Kravić (2017) naveli 14,26 % i 62,73 % za visokooleinsko odnosno ulje linolnog tipa. Kako je indukcion period oleinske kiseline na temperaturi od 60 °C 700 h, a linolne kiseline svega 24 h, ovo može opravdati i ekstremni porast OV u ovom radu (>200 puta). Linolna

kiselina ubrzava oksidaciju prisutne stabilnije oleinske kiseline s tim da je njen prooksidativni efekat izražen tek kada je prisutna u koncentraciji većoj od 25 % (Pićurić-Jovanović i Milovanović, 2005). Lužaić i sar. (2021) su za HPSU 24 hidrida suncokreta u identičnim uslovima Schaal oven testa naveli polazne OV u rasponu od 1,30 – 15,13, da bi vrednost nakon osam dana bile od 10,36 – 267,35. Wroniak i sar. (2016b) su za uzorak HPSU naveli promenu OV od 11,31 do 76,77 nakon dvanaest dana s tim da je vrednost Pbr izražena u meq O₂/kg. Efikasnost EU i etanolnog ekstrakta rtanjskog čaja u sprečavanju nastanka značajnijih oksidativnih promena na primeru rafinisanog suncokretovog ulja i 30 % emulzije palminog ulja u vodi, potvrdili su Hashemi i sar. (2012) i Tsimogiannis i sar. (2016).



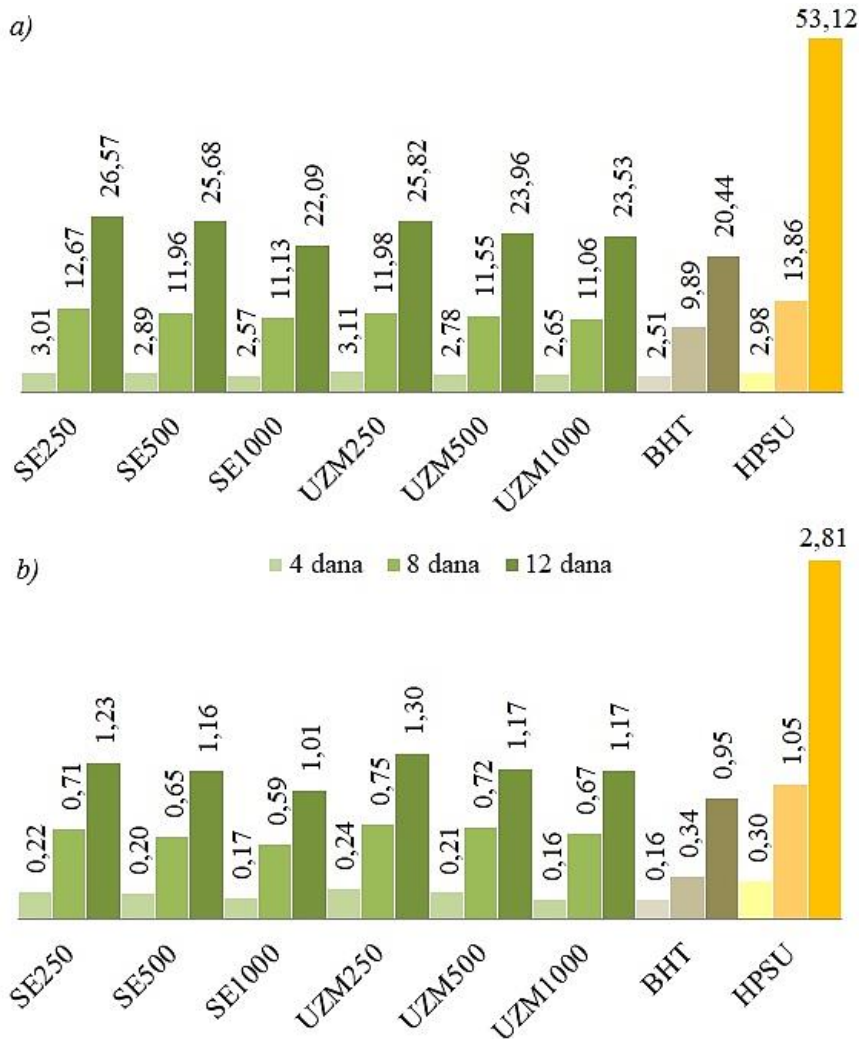
Slika 5.9. Oksidativna vrednost uzoraka ulja sa dodatkom EU u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana Schaal oven testa.

5.7.2.4. Promene sadržaja konjugovanih diena i konjugovanih triena

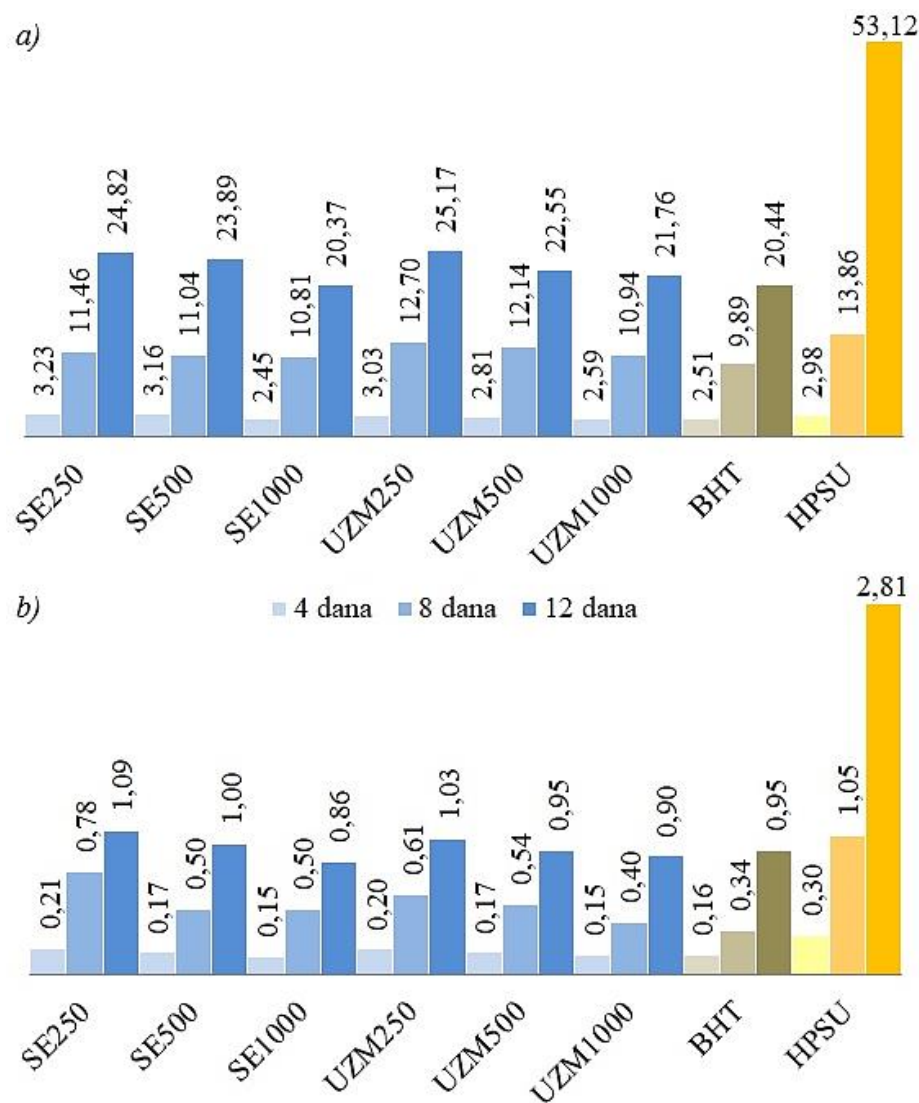
Polazne vrednosti K_{232} i K_{270} za iznosile su 2,31 i 0,15. Promene K_{232} u toku Schaal oven testa za uzorak bez dodataka bile su 2,98, 13,86 i 53,12 nakon četiri, osam i dvanaest dana ispitivanja dok su vrednosti K_{270} iznosile 0,30, 1,05 i 2,81. K_{232} i K_{270} za uzorak sa BHT su imali znatno niže vrednosti u svakoj od tačaka određivanja – 2,51/0,16, 9,89/0,34 i 20,44/0,95. Porast vrednosti K_{232} za uzorak bez dodataka do kraja izvođenja testa bio je 2,6 puta veći od porasta K_{232} uzorka sa BHT, dok je za K_{270} utvrđeno da su imali 3 puta veće vrednosti. Formiranje konjugovanih sistema u slučaju uzorka ulja bez dodataka u saglasnosti je sa rezultatima koje su za HPSU saopštili Dimić i sar. (2015) nakon četiri dana (0,98 – 3,03 i 0,14 – 0,48, za K_{232} odnosno K_{270}) i Lužaić i sar. (2021) nakon osam dana testa (2,51 – 20,41 i 0,29 – 1,70, za K_{232} i K_{270} , redom). Romanić i Kravić (2017) su naveli da je nastajanje K_{232} pri istim uslovima u toku 14 dana bilo umereno u slučaju HPSU visokooleinskog tipa dok je veći stepen konjugacije imalo HPSU linolnog tipa. Veća oksidativna stabilnost visokooleinskog u odnosu na linolni tip HPSU je u skladu sa masnokiselinskim sastavom. Takođe, manji sadržaj K_{232} u slučaju visokooleinskog tipa ulja je i posledica prirode nastalih hidroperoksida. Naime, hidroperoksidi koji pokazuju apsorpcioni maksimum na talasnoj dužini od 232 nm vode poreklo od linolne i linolenske kiseline, dok oni koji potiču od oleinske kiseline nemaju efekta na povećanje apsorpcije na ovoj talasnoj dužini (Marmesat i sar., 2009).

Promene K_{232} kod uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata su bile manjeg intenziteta u prvoj fazi ispitivanja pa su se vrednosti nakon četiri dana kretale u intervalu 2,31 – 3,32 (Slike 5.10 – 5.14.). Kod svih uzoraka je između četvrtog i osmog dana testa došlo do porasta vrednosti za 3 – 5 puta, da bi vrednost između osmog i dvanaestog dana ispitivanja uglavnom bila duplirana.

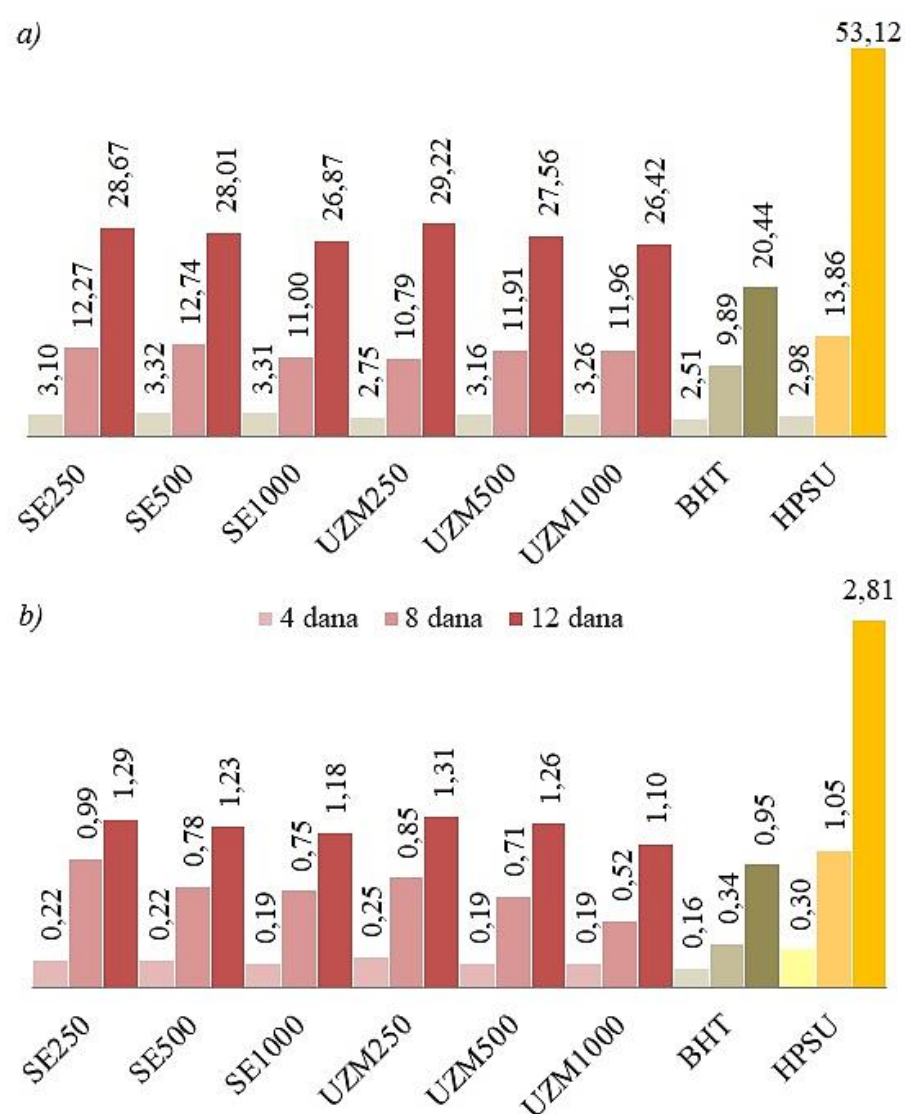
Na kraju eksperimenta, vrednosti su se kretale od 19,68 do 29,22 koliko su iznosile vrednosti K_{232} za uzorak ulja kome je dodat UZM_{1000} ekstrakt anisa odnosno UZM_{250} ekstrakt korijandera. Promene K_{270} su bile slabijeg intenziteta pa su nakon četiri dana bile u rasponu od 0,14 do 0,25, da bi se na kraju ispitivanja imale vrednosti od 0,42 do 1,31. Uzorci ulja sa dodatkom EU su pretrpeli nešto intenzivnije promene tako da je sadržaj K_{232} na kraju ispitivanja bio 24,30 – 41,34 a sadržaj K_{270} u intervalu 1,38 – 2,00.



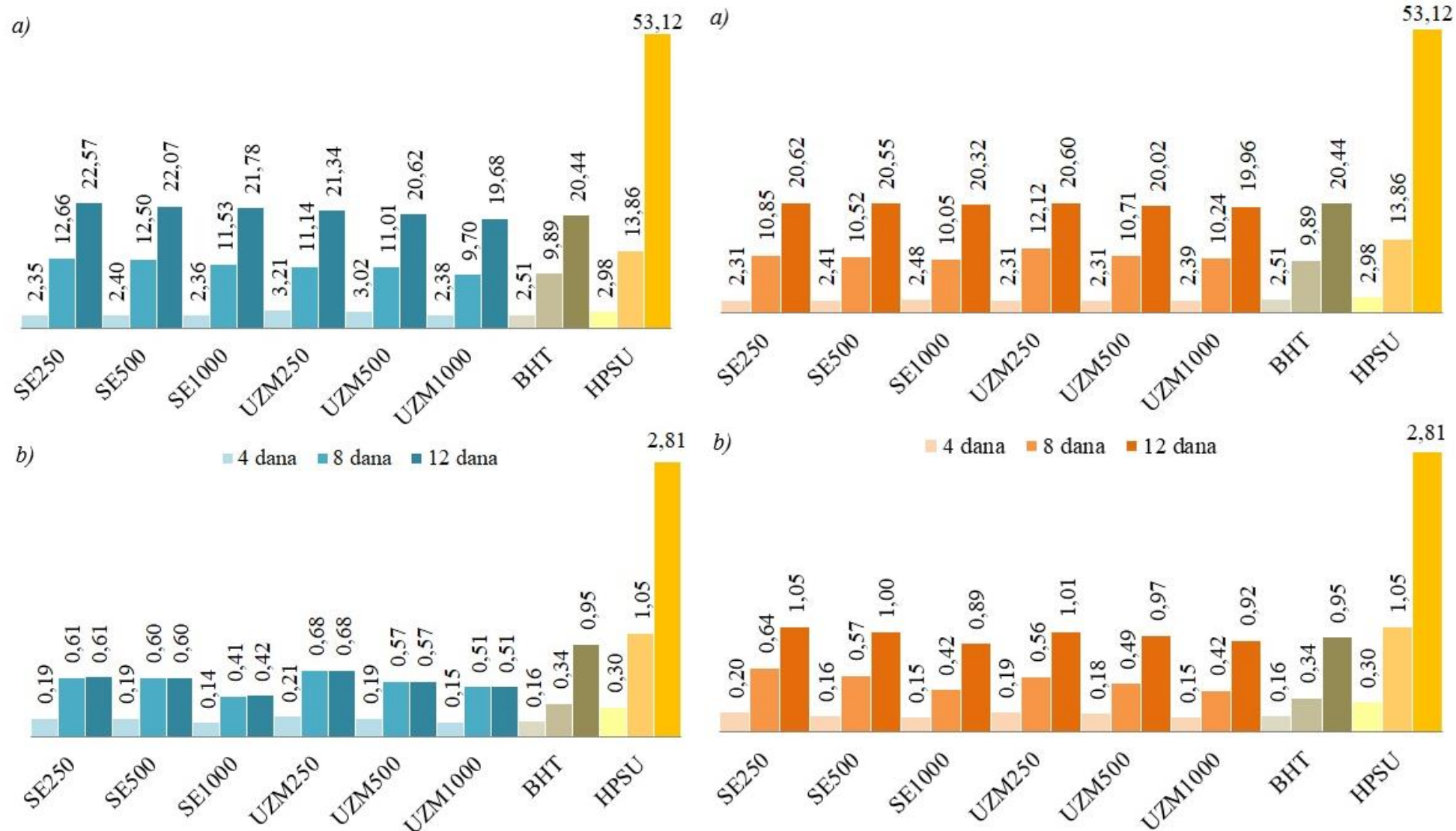
Slika 5.10. Vrednosti konjugovanih diena (a) i konjugovanih triena (b) uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata rtanjskog čaja u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana uzorke Schaal oven testa.



Slika 5.11. Vrednosti konjugovanih dana (a) i konjugovanih triena (b) uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata bosiljka u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana uzorke Schaal oven testa.



Slika 5.12. Vrednosti konjugovanih dana (a) i konjugovanih triena (b) uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata korijandera u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana uzorke Schaal oven testa.

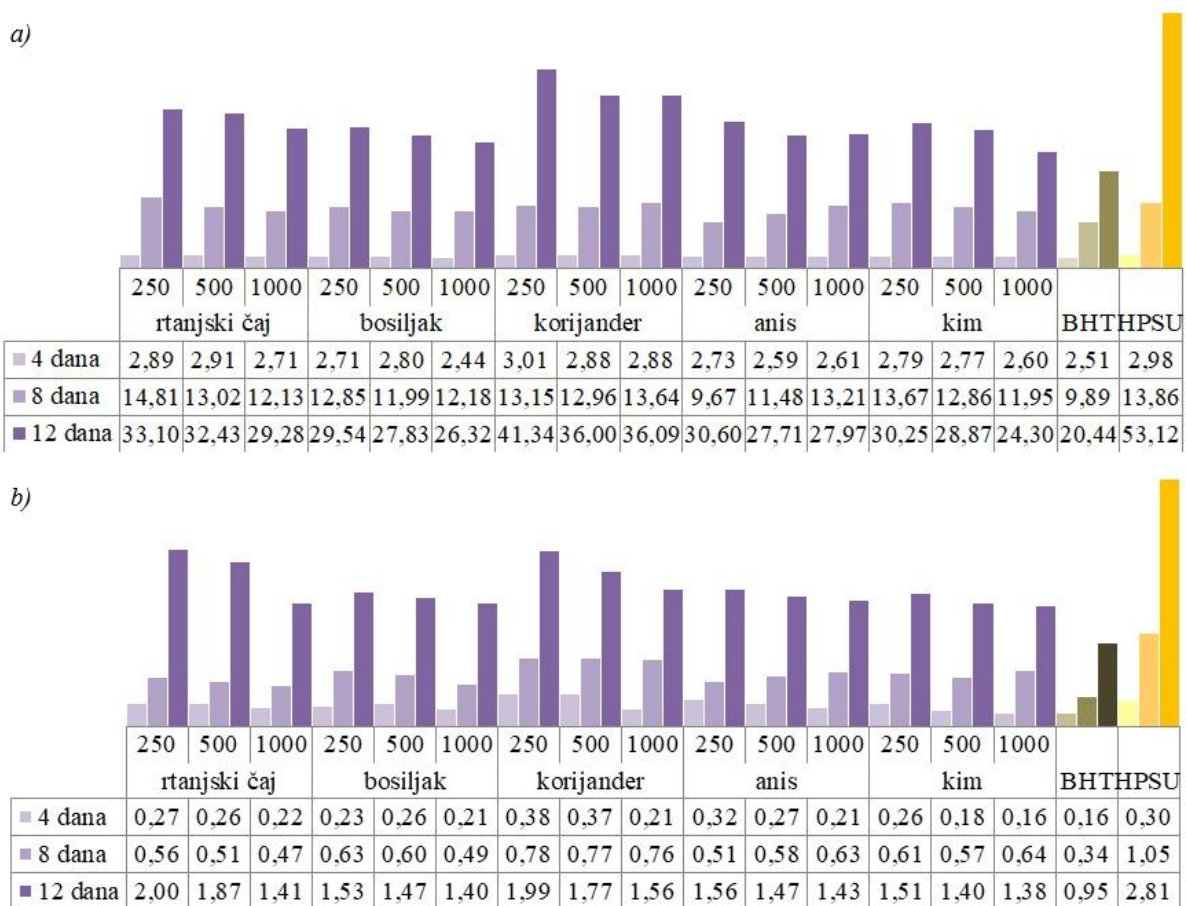


Slika 5.13. Vrednosti konjugovanih diena (a) i konjugovanih triena (b) uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata anisa u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana uzorke Schaal oven testa.

Slika 5.14. Vrednosti konjugovanih diena (a) i konjugovanih triena (b) uzoraka ulja sa dodatkom ekstrakata kima u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana Schaal oven testa.

Na slikama 5.10. – 5.14. grafički su prikazane promene sadržaja K_{232} i K_{270} u toku izvođenja Schaal oven testa. Na kraju ispitivanja svi uzorci ulja sa dodatkom ekstrakata kima su imali približan sadržaj K_{232} kao uzorak sa BHT i UZM₁₀₀₀ ekstraktom anisa za koji je utvrđeno da je imao minimalni sadržaj ovih primarnih proizvoda oksidacije. Vrednosti K_{232} za ekstrakte kima su se kretale u uskom rasponu od 19,96 do 20,62 pri čemu nije bilo značajnije razlike između testiranih koncentracija ekstrakata i metode kojom su dobijeni. U slučaju uzoraka sa ekstraktom anisa sadržaj K_{232} se razlikovao u zavisnosti od primenjene koncentracije. Kao najslabiji u sprečavanju oksidativnih promena i u slučaju K_{232} i K_{270} pokazali su se ekstrakti korijandera koji su potvrdili ranije iznete rezultate o nagomilavanju primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije dobijenih pri ovom testu oksidativne stabilnosti.

Za razliku od dodatka ekstrakata kod kojih su minimalne vrednosti K_{232} bile bliske onoj koja je zabeležena za uzorak sa BHT, dodatak EU je bio manje efikasan u suzbijanju formiranja konjugovanih sistema, pa su vrednosti za K_{232} na kraju ispitivanja bile znatno više (Slika 5.15.). EU kima se pokazalo kao najefikasnije u suzbijanju oksidativnih promena, dok je EU korijandera imalo najveće vrednosti kako K_{232} tako i K_{270} .

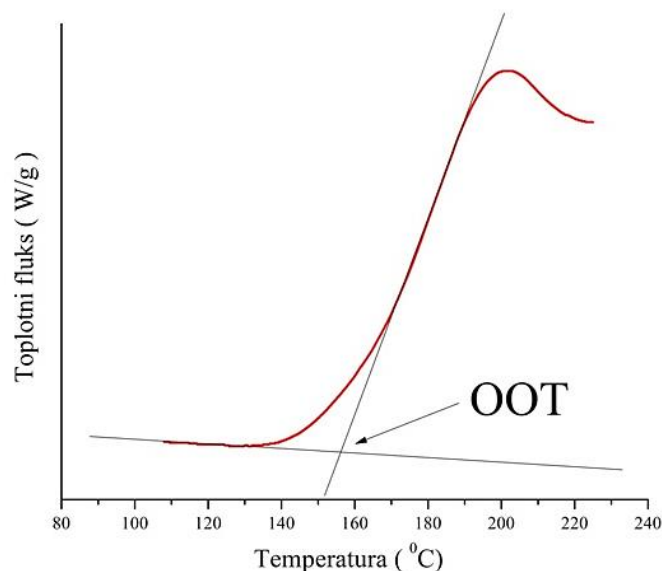


Slika 5.15. Vrednosti konjugovanih diena (a) i konjugovanih triena (b) uzoraka ulja sa dodatkom EU ispitivanih biljnih vrsta u odnosu na kontrolne uzorke nakon 4., 8. i 12. dana Schaal oven testa.

Različiti stepen efikasnosti ekstrakata biljnih vrsta iz roda *Satureja* sp. i *Ocimum* sp. u sprečavanju formiranja konjugovanih sistema potvrđena je u literaturi (Bandonienè i sar., 2002; Ayadi i sar., 2009; Ben-Ali i sar., 2014; Özcan i Özcan, 2017; Salaj i sar., 2020; Taoudiat i sar., 2020).

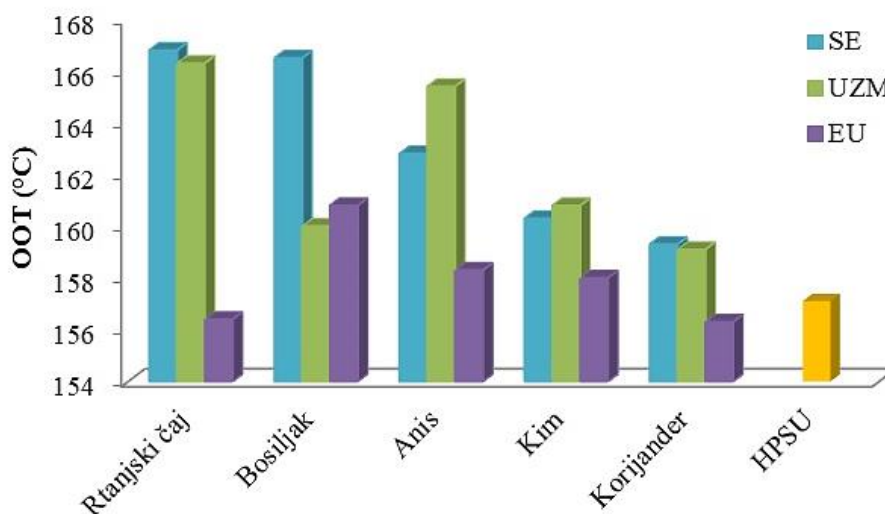
5.7.3. Rezultati DSC metode

Oksidativna stabilnost ulja u ovom radu ispitana je i DSC metodom koja je ujedno i najčešće primenjivana metoda termalne analize. Ovim delom ispitivanja oksidativne stabilnosti obuhvaćeni su uzorci ulja kojima su dodati ekstrakti i EU u najvišoj koncentraciji (1000 ppm) kao i uzorak ulja bez dodataka (HPSU). Primenjen je neizotermni režim sa brzinom zagrevanja od 10 °C/min. Rezultati DSC merenja su prikazani kao početna temperatura oksidacije (OOT, *Oxidation Onset Temperature*) koja je određena ekstrapolacijom sa DSC termograma kako je prikazano na Slici 5.16.



Slika 5.16. Deo DSC termograma koji ukazuje na OOT i pik oksidacije HPSU bez dodataka.

Rezultati DSC merenja za odabrane uzorke su se kretali u intervalu 156,3 – 166,8 °C (Slika 5.17.). OOT kontrolnog uzorka ulja bez dodataka je bila $157,1 \pm 0,1$ °C. Samo dva uzorka su imala OOT neznatno nižu od kontrolnog – uzorak sa dodatkom EU rtanjskog čaja (156,4 °C) i uzorak sa dodatkom EU korijandera (156,3 °C) što ukazuje na slabo prooksidativno dejstvo. Kao što je to bio slučaj sa drugim testovima ispitivanja oksidativne stabilnosti, ekstrakti su se pokazali kao efikasniji u odlaganju oksidativnih promena u odnosu na EU. Kod uzoraka sa dodatim ekstraktima oksidacija je nastupila kasnije odnosno na višoj temperaturi. Najvišu OOT je imao uzorak sa SE ekstraktom rtanjskog čaja (166,8 °C), dok je uzorak sa dodatkom EU bosiljka imao najveću oksidativnu stabilnost među testiranim uzorcima sa dodatkom EU (160,8 °C).



Slika 5.17. Rezultati oksidativne stabilnosti odabranih uzoraka ulja dobijeni DSC metodom.

Jedna od prednosti primene neizotermnog režima DSC metode za ispitivanje oksidativne stabilnosti HPU koji je primenjen u ovom radu je kraće vreme trajanja analize (Micić, 2016). Međutim, prema literaturnim navodima, izotermni režim merenja je češće u primeni (Ciemniewska-Żytkiewicz i sar., 2014; Ratusz i sar., 2016, 2018; Róžańska i sar., 2019). Symoniuk i sar. (2018) su za 27 HPU izotermnim režimom utvrdili IP u intervalu od 14,47 do 102,84 min, koliko su iznosili za uzorak HPU lana, odnosno suncokreta. Takođe, autori su ukazali na jaku pozitivnu korelaciju IP sa sadržajem MUFA, kao i jaku negativnu korelaciju sa sadržajem PUFA. Kako je među PUFA linolenska kiselina pokazala veći uticaj od linolne, otuda i ovako niska vrednost IP za HPU lana (udeo linolenske kiseline >50 %). Jaku zavisnost oksidativne stabilnosti od masnokiselinog sastava uzoraka potvrdili su Qi i sar. (2016) na primeru rafiniranih ulja. Autori su neizotermnim režimom sa brzinom zagrevanja od 10 °C/min izmerili vrednosti OOT u intervalu od 175,0 do 221,5 °C, koliko su iznosile za ulje šafranike odnosno palmino ulje. OOT suncokretovog ulja je bila viša od OOT dobijene u ovom radu pri istim uslovima određivanja (182,5 °C).

Rezultati DSC merenja dobijeni u ovom radu ukazuju na manju oksidativnu stabilnost u odnosu na rezultate koje su saopštili Malvis i sar. (2019) za EDMU (190,0 – 196,9 °C), Belayneh i sar. (2017) za HPU lanika (171 °C) i Micić (2016) za ulje iz koštica maline i kupine (180,16 odnosno 186,37 °C). Sa druge strane, dobijeni rezultati DSC merenja su u saglasnosti sa rezultatima koje su saopštili Qi i sar. (2019) za HPU badema (154,59 – 158,52 °C).

Učinak dodatka antioksidanasa, kako prirodnih tako i sintetičkih, sa ciljem odlaganja oksidativnih promena u ulju uspešno se može odrediti primenom neizotermne DSC (Saldaña i Martínez-Monteağudo, 2013). Prema Cordeiro i sar. (2013), etanolni ekstrakti začinskog bilja nisu pokazali značajniji antioksidativni efekat u stabilizaciji HPU soje koji se mogao očekivati na osnovu preliminarnih ispitivanja antioksidativnosti. Etanolni ekstrakt korijandera je prema rezultatima Rancimat testa pokazao prooksidativno dejstvo dok se prema PDSC merenjima u izotermnom režimu učinak u stabilizaciji bio neznan. Uticaj etanolnih ekstrakata biljaka familije Lamiaceae (origana, marjorana i timijana) na oksidativnu stabilnost rafiniranog suncokretovog i sojinog ulja, ispitivali su Kozłowska i Gruczyńska (2018). U neizotermnom režimu DSC merenja, sa brzinom zagrevanja od 10 °C/min, suncokretovo ulje je imalo vrednost OOT 167,84 °C dok je vrednost sojinog ulja bila nešto viša (170,62 °C). Najveći uticaj na porast vrednosti OOT u slučaju suncokretovog ulja imao je dodatak origana ($OOT_{0,07\%} = 170,53$ °C), dok je u slučaju sojinog ulja to bila kombinacija origana i timijana ($OOT_{0,015\%+0,015\%} = 177,84$ °C). Tohma i Turan (2015) su DSC merenjem u izotermnom režimu na temperaturi od 150 °C dobili značajne razlike u dužini IP za rafinisano ulje lešnika sa dodatkom EU i etanolnog ekstrakta ruzmarina pri koncentraciji od 1000 ppm (30,27, odnosno 45,94), dok su Micić i sar. (2021) takođe pri izotermnim uslovima (140 °C) pokazali da više koncentracije EU ruzmarina mogu imati negativan uticaj na oksidativnu stabilnost rafiniranog suncokretovog ulja.

Tabela 5.16. Koeficijenti korelacije između DSC testa, primenjenih testova za ispitivanje antioksidativne aktivnosti, TPC i TFC.

	DPPH	FRAP	β-CB	HPMC	TPC	TFC
DSC	0,762*	0,741	0,566	0,737	0,715	0,597

*boldirane vrednosti se razlikuju od 0 na nivou značajnosti $\alpha = 0,05$.

Rezultati DSC merenja, primenjenih testova za ispitivanje antioksidativnog dejstva, kao i merenja TPC i TFC pokazali su umerenu do jaku pozitivnu korelaciju (Tabela 5.16.). Dobijeni rezultati ukazuju na jaču korelaciju DSC testa i TPC ($r = 0,715$) u odnosu na TFC ($r = 0,597$). β-CB test, koji je pokazao umerenu korelaciju sa pojedinim testovima za ispitivanje antioksidativne aktivnosti, takođe umereno koreliše sa DSC testom ($r = 0,566$). Kao i kod ostalih testova primenjenih za ispitivanje oksidativne stabilnosti, EU su imala slabiji stabilizujući efekat u odnosu

na odgovarajuće ekstrakte. Ponašanje EU na visokim temperaturama koje su primenjene u ovom testu može se opravdati njihovom termolabilnošću.

U literaturi se mogu naći podaci o ispitivanju termičkih karakteristika EU metodama termalne analize koje uključuju i neizotermni režim DSC (Martins i sar., 2011; Monteiro i sar., 2011; Hădărugă i sar., 2014; Micić i sar., 2019; Chambre i sar., 2020; Micić i sar., 2021). Micić i sar. (2019) su ispitivanjem EU korijandera i žalfije u neizotermnom režimu sa brzinom zagreva od 5 °C/min utvrdili da isparavanje oba EU počinje na sobnoj temperaturi, ali da je već pri temperaturi od 110 °C najveći deo EU korijandera ispario. Isparavanje EU žalfije se nastavlja i pri višim temperaturama i potpuno je završeno na temperaturi ~ 160 °C. Kao uzrok ovome autori navode prisustvo manje isparljivih komponenti kao i kompleksniji sastav EU žalfije u odnosu na EU korijandera koje je sličnog sastava kao i EU ispitivano u ovom radu.

5.8. Šestomesečno praćenje promena parametara oksidativnog statusa uzoraka HPSU sa dodatkom etarskih ulja i ekstrakata

Pored testova koji su zasnovani na ubrzanom starenju ulja, uticaj EU i ekstrakata odabranih biljaka ispitan je i u blažim uslovima skladištenja. Uzorci pripremljeni na istovetan način kao i za testove oksidativne stabilnosti, za ovaj deo ispitivanja su skladišteni na sobnoj temperaturi, bez prisustva svetlosti u toku šest meseci. Uzorci su periodično mešani i otvarani radi uzimanja dela uzorka za analize. Na mesečnom nivou su praćeni parametri oksidativnog statusa (Pbr, Abr, OV, K₂₃₂ i K₂₇₀).

5.8.1. Promene peroksidnog broja

Vrednost Pbr za uzorak ulja bez dodataka je od polaznih 0,81 mmol/kg nakon šest meseci dostigao vrednost od 13,95 mmol/kg, dok je uzorak sa dodatkom BHT na kraju eksperimenta imao značajno nižu vrednost (8,84 mmol/kg). Bez obzira na razliku, oba uzorka su nakon šest meseci imala vrednost veću od zakonski dozvoljene s tim da su je dostigli nakon četiri odnosno pet meseci skladištenja. Dobijena vrednost Pbr za uzorak bez dodataka nakon četiri meseca bila je viša od one koju su utvrdili Poiana i sar. (2009) za HPSU (14,08 meq O₂/kg) i istovremeno niža od vrednosti koju su za HPU suncokreta i repice naveli Wroniak i sar. (2016b) za period nakon šest meseci (42,31 i 36,04 meq O₂/kg). Martín-Polvillo i sar (2004) su u identičnim uslovima ispitivanja za linolni tip suncokretovog ulja, od polaznih 8 meq O₂/kg nakon 175 dana naveli vrednost Pbr od 181 meq O₂/kg, dok je visokooleinski tip ulja bio otporniji na oksidaciju i u istom periodu od polaznih 3 meq O₂/kg dostigao vrednosti od 44 meq O₂/kg. Iako sličnog masnokiselinskog sastava kao ulje korišćeno za ispitivanje u ovom radu, za HPU lana i maka pri istim uslovima skladištenja utvrđena je znatno slabija tendencija rasta Pbr (Prescha i sar., 2014). Sa druge strane, dobijeni rezultati su u saglasnosti sa literaturnim navodima za sirovo suncokretovo ulje skladišteno u toku četiri meseca na temperaturi od 40 °C (Tasan i sar., 2011).

Uzorci sa dodatkom ekstrakata su na kraju eksperimenta imali vrednosti Pbr u granicama od 8,41 do 13,74 mmol/kg koliko su iznosili za uzorke sa dodatkom UZM₁₀₀₀ ekstrakta rtanjskog čaja odnosno SE₂₅₀ ekstrakta korijandera (Tabela 5.17.). Zakonski limit od 7,5 mmol/kg uzorci ulja sa dodatkom ekstrakata su dostigli nakon pet meseci, izuzev uzoraka ulja sa dodatkom UZM ekstrakata korijandera za koje se pokazalo da imaju veću vrednost od dozvoljene već nakon četiri meseca. Kao najefikasniji u suzbijanju nastanka primarnih proizvoda oksidacije pokazali su se ekstrakti rtanjskog čaja i bosiljka što je u saglasnosti sa literaturnim navodima (Dolati i sar., 2016; Arawande, 2018; Salaj i sar., 2020; Odeh i sar., 2021). Uzorci sa dodatkom pomenutih biljaka su na kraju ispitivanja imali vrednost Pbr nižu od uzorka sa BHT (8,42 i 8,49 mmol/kg za uzorak sa ekstraktom UZM₁₀₀₀ rtanjskog čaja odnosno SE₁₀₀₀ bosiljka).

Tabela 5.17. Promene vrednosti peroksidnog broja uzoraka ulja sa dodatkom EU i ekstrakata u odnosu na kontrolne uzorke skladištenih na sobnoj temperaturi u toku 6 meseci.

Tip i koncentracija dodatog ekstrakta/EU	Vreme skladištenja (meseci)					
	1	2	3	4	5	6
Rtanjski čaj						
SE ₂₅₀	1,00	2,23	4,61	7,28	10,94	13,46
SE ₅₀₀	1,19	2,52	3,43	4,03	9,62	12,16
SE ₁₀₀₀	0,58	1,41	3,31	3,37	10,22	10,30
UZM ₂₅₀	0,74	1,75	4,68	6,23	11,89	11,00
UZM ₅₀₀	0,75	1,80	2,83	4,80	8,71	9,84
UZM ₁₀₀₀	0,58	1,36	2,12	4,42	9,58	8,41
EU ₂₅₀	1,24	2,74	4,67	7,55	13,29	10,51
EU ₅₀₀	1,05	1,05	3,54	6,61	11,25	10,05
EU ₁₀₀₀	1,05	1,15	2,59	6,13	11,14	9,26
Bosiljak						
SE ₂₅₀	0,72	2,26	4,88	4,67	9,85	11,53
SE ₅₀₀	0,78	0,87	2,83	5,03	12,22	10,60
SE ₁₀₀₀	0,86	1,13	2,60	2,99	7,63	8,49
UZM ₂₅₀	1,12	3,05	4,54	5,25	10,72	13,70
UZM ₅₀₀	1,32	1,91	4,54	4,37	10,69	10,42
UZM ₁₀₀₀	1,26	1,68	5,07	5,14	10,90	9,41
EU ₂₅₀	1,63	2,75	3,98	7,23	12,15	11,67
EU ₅₀₀	1,62	1,62	4,07	6,70	12,65	10,93
EU ₁₀₀₀	1,31	1,41	4,34	6,60	12,48	10,13
Korijander						
SE ₂₅₀	2,04	2,89	4,44	5,98	12,34	13,74
SE ₅₀₀	1,59	1,69	3,13	7,05	11,48	13,63
SE ₁₀₀₀	1,57	2,63	4,45	6,04	12,73	12,18
UZM ₂₅₀	1,88	3,24	5,47	8,92	13,29	13,05
UZM ₅₀₀	1,66	1,74	6,72	9,98	16,72	13,05
UZM ₁₀₀₀	1,37	3,00	6,33	7,78	13,65	12,69
EU ₂₅₀	0,92	3,25	5,00	7,64	12,93	10,87
EU ₅₀₀	0,93	0,93	6,16	7,27	14,28	10,43
EU ₁₀₀₀	0,98	1,98	5,03	7,36	12,48	10,26
Anis						
SE ₂₅₀	1,42	1,80	4,08	5,83	11,12	13,29
SE ₅₀₀	0,69	1,91	2,71	4,71	9,36	11,45
SE ₁₀₀₀	1,17	1,21	2,85	4,31	10,99	10,40
UZM ₂₅₀	0,81	1,36	3,63	5,32	13,45	10,85
UZM ₅₀₀	1,44	1,63	4,62	4,85	9,71	10,79
UZM ₁₀₀₀	1,14	1,40	5,15	4,88	9,43	10,47
EU ₂₅₀	1,19	2,65	4,39	7,47	15,04	12,40
EU ₅₀₀	1,29	1,29	4,90	5,81	10,24	11,01
EU ₁₀₀₀	1,06	2,10	4,42	6,97	13,05	11,23
Kim						
SE ₂₅₀	1,33	1,84	4,04	5,07	9,15	13,20
SE ₅₀₀	1,45	1,42	3,29	5,66	9,47	12,58
SE ₁₀₀₀	1,22	2,23	2,88	5,05	8,51	12,42
UZM ₂₅₀	1,81	2,49	3,64	5,65	12,03	11,82
UZM ₅₀₀	2,15	1,92	3,75	5,31	9,87	11,75
UZM ₁₀₀₀	1,34	2,24	3,21	5,96	10,01	11,83
EU ₂₅₀	1,65	2,79	4,33	7,88	12,22	11,20
EU ₅₀₀	0,90	0,90	4,27	7,41	10,85	10,78
EU ₁₀₀₀	1,08	2,13	5,24	7,48	12,14	10,02
BHT	0,99	1,27	2,70	4,75	7,66	8,84
HPSU	1,88	2,45	4,49	8,02	11,01	13,95

Interval vrednosti Pbr uzoraka ulja sa dodatkom EU na kraju eksperimenta je bio 9,26 – 12,40 mmol/kg (Tabela 5.17.). Za ove uzorke može se zaključiti da su ostali stabilni do petog meseca ispitivanja s tim da su tri uzorka pri najnižoj koncentraciji dodatog EU nakon četiri meseca imala vrednosti bliske graničnoj (7,55, 7,64 i 7,88 mmol/kg za EU rtanjskog čaja, korijandera odnosno kima). Kao najefikasnije se pokazalo EU rtanjskog čaja, dok je najslabiji efekat na stabilizaciju ulja imalo EU anisa. Uzorak ulja sa EU rtanjskog čaja je pri najvišoj koncentraciji na kraju ispitivanja imao najnižu vrednost Pbr (9,26 mmol/kg), dok je Pbr za uzorke sa EU anisa nakon šest meseci imao vrednosti od 11,01 do 12,40 mmol/kg. Suprotno rezultatima dobijenim za uzorke sa EU anisa u ovom istraživanju, Odeh i sar. (2021) su za HPU lana aromatizovano komoračem, za koji je karakterističan visok sadržaj *trans*-anetola kao i za plod anisa, dobili najniže vrednosti Pbr u toku šest meseci skladištenja na sobnoj temperaturi. Dodatak EU komorača EDMU se podjednako dobro pokazalo u sprečavanju oksidativnih promena u toku dvanaest meseci skladištenja na sobnoj temperaturi kao i EU timijana sa dominantnim karvakrolom u hemijskom sastavu. Za razliku od rezultata dobijenih u ovom eksperimentu, Assami i sar. (2016) su odmah po završenom procesu aromatizacije maslinovog ulja kimom dobili vrednosti Pbr koje su više u odnosu na nearomatizovano ulje.

5.8.2. Promene anisidinskog broja

Povećanje sadržaja sekundarnih proizvoda oksidacije izraženih preko Abr, u toku šest meseci skladištenja na sobnoj temperaturi je prisutno kod svih testiranih uzoraka. Rezultati praćenja promene vrednosti Abr za kontrolne uzorke, kao i uzorke sa dodatim EU i ekstraktima, dati su u Tabeli 5.18. Za testirane uzorke se može uočiti različita dinamika nagomilavanja neisparljivih aldehida. Međutim, ni pri najvećem uvećanju Abr koje je zabeleženo kod uzorka sa UZM₁₀₀₀ ekstraktom anisa, gde je vrednost nakon šest meseci bila 5,35 puta veća od polazne, Abr nije bio van prihvatljivih vrednosti za HPU. Abr uzorka bez dodatka je od polaznih 0,23 dostigao vrednost od 0,69, dok je Abr uzorka sa BHT uvećan 2,35 puta i na kraju šestomesečnog praćenja imao vrednost 0,54. Uvećanje Abr za uzorak bez dodatka je u saglasnosti sa navodima Wroniak i sar. (2016b), dok su Prescha i sar. (2014) i Dedebras i sar. (2020) za šest odnosno dvanaest meseci utvrdili manji porast vrednosti Abr za HPU sličnog masnokiselinosnog sastava. Vrednosti Abr za HPU masline, susama i suncokreta u toku skladištenja od tri meseca kretale su se u intervalima 6 – 7,45, 0,26 – 1,45 i 2,5 – 3,4, redom (Sadeghi i sar., 2019).

Vrednosti Abr uzoraka sa dodatkom ekstrakata su na kraju ispitivanja bile u opsegu od 0,42 do 1,23 dok je za uzorke sa dodatkom EU interval bio nešto uži (0,58 – 1,15). Najniže vrednosti Abr nakon šest meseci, ujedno i bliske onoj koju je imao uzorak sa BHT, imali su uzorci sa dodatkom SE₂₅₀ ekstrakta rtanjskog čaja (0,42), UZM₁₀₀₀ ekstrakta kima (0,54) i EU kima pri maksimalnoj koncentraciji (0,58).

Iako je u slučaju ekstrakta rtanjskog čaja zabeležena najniža vrednost Abr, sa porastom koncentracije dodatog ekstrakta uočen je porast sadržaja sekundarnih proizvoda i to samo u slučaju SE ekstrakata. Abr za uzorke sa dodatkom ekstrakta kima imao je vrednosti u intervalu od 0,54 do 0,86. Vrednosti Abr uzoraka sa dodatkom ekstrakta bosiljka su takođe bile niske i kretale su se u intervalu od 0,66 do 0,81, dok su najviše vrednosti zabeležene za uzorke sa dodatkom ekstrakta anisa. Pored EU kima, koje je primenjeno u najvišoj koncentraciji imalo efekat koji se nije značajno razlikovao od BHT, EU bosiljka se pokazalo kao efikasno u suzbijanju nastanka sekundarnih proizvoda oksidacije. Interval vrednosti Abr u slučaju uzoraka sa dodatkom EU kima bio je 0,58 – 0,88, dok su uzorci sa dodatkom EU bosiljka imali vrednosti Abr u rasponu od 0,68 – 0,86.

Tabela 5.18. Promene vrednosti anisidinskog broja uzoraka ulja sa dodatkom EU i ekstrakata u odnosu na kontrolne uzorke skladištenih na sobnoj temperaturi u toku 6 meseci.

Tip i koncentracija dodatog ekstrakta/EU	Vreme skladištenja (meseci)					
	1	2	3	4	5	6
Rtanjski čaj						
SE ₂₅₀	0,44	0,44	0,30	0,38	0,47	0,42
SE ₅₀₀	0,40	0,38	0,38	0,41	0,56	0,64
SE ₁₀₀₀	0,20	0,15	0,23	0,23	0,71	1,05
UZM ₂₅₀	0,37	0,38	0,31	0,43	0,54	0,84
UZM ₅₀₀	0,31	0,33	0,41	0,48	0,62	0,85
UZM ₁₀₀₀	0,30	0,34	0,28	0,52	0,79	0,79
EU ₂₅₀	0,46	0,51	0,68	0,70	0,88	0,94
EU ₅₀₀	0,60	0,69	0,70	0,73	0,81	0,81
EU ₁₀₀₀	0,71	0,72	0,71	0,75	0,81	0,72
Bosiljak						
SE ₂₅₀	0,29	0,29	0,35	0,50	0,67	0,78
SE ₅₀₀	0,27	0,29	0,31	0,41	0,69	0,82
SE ₁₀₀₀	0,33	0,26	0,27	0,40	0,61	0,80
UZM ₂₅₀	0,30	0,31	0,44	0,61	0,62	0,81
UZM ₅₀₀	0,27	0,29	0,45	0,63	0,81	0,69
UZM ₁₀₀₀	0,23	0,33	0,41	0,64	0,82	0,66
EU ₂₅₀	0,47	0,44	0,36	0,79	0,81	0,86
EU ₅₀₀	0,42	0,45	0,58	0,71	0,79	0,80
EU ₁₀₀₀	0,36	0,48	0,67	0,64	0,76	0,68
Korijander						
SE ₂₅₀	0,42	0,53	0,84	0,88	0,92	1,11
SE ₅₀₀	0,42	0,53	0,90	0,82	0,91	0,99
SE ₁₀₀₀	0,33	0,51	0,90	0,78	0,89	1,02
UZM ₂₅₀	0,18	0,38	0,67	0,74	0,91	0,97
UZM ₅₀₀	0,33	0,41	0,59	0,68	0,90	0,93
UZM ₁₀₀₀	0,30	0,54	0,62	0,65	0,87	0,89
EU ₂₅₀	0,36	0,43	0,67	0,72	0,92	0,99
EU ₅₀₀	0,41	0,49	0,51	0,73	0,89	0,91
EU ₁₀₀₀	0,48	0,51	0,60	0,70	0,77	0,78
Anis						
SE ₂₅₀	0,41	0,41	0,31	0,56	0,73	0,81
SE ₅₀₀	0,43	0,44	0,47	0,59	0,67	0,99
SE ₁₀₀₀	0,39	0,40	0,74	0,79	0,89	1,13
UZM ₂₅₀	0,46	0,48	0,50	0,74	0,81	0,96
UZM ₅₀₀	0,41	0,43	0,56	0,69	0,78	1,01
UZM ₁₀₀₀	0,37	0,38	0,54	0,72	0,98	1,23
EU ₂₅₀	0,55	0,66	0,72	0,82	0,82	1,15
EU ₅₀₀	0,49	0,58	0,72	0,80	0,78	1,03
EU ₁₀₀₀	0,48	0,57	0,71	0,77	0,83	0,99
Kim						
SE ₂₅₀	0,29	0,31	0,29	0,56	0,71	0,86
SE ₅₀₀	0,25	0,31	0,33	0,58	0,69	0,74
SE ₁₀₀₀	0,19	0,28	0,39	0,57	0,61	0,65
UZM ₂₅₀	0,28	0,30	0,32	0,46	0,59	0,79
UZM ₅₀₀	0,31	0,38	0,44	0,49	0,57	0,63
UZM ₁₀₀₀	0,32	0,37	0,42	0,51	0,55	0,54
EU ₂₅₀	0,53	0,61	0,68	0,74	0,85	0,88
EU ₅₀₀	0,51	0,59	0,63	0,67	0,72	0,76
EU ₁₀₀₀	0,42	0,57	0,58	0,66	0,68	0,58
BHT	0,44	0,46	0,55	0,88	0,51	0,54
HPSU	0,60	0,60	0,49	0,44	0,68	0,69

Iz prikazanih rezultata je uočljiv izostanak jačeg stabilizujućeg dejstva rtanjskog čaja koji se u testovima oksidativne stabilnosti ulja pokazao kao najdelotvorniji. Posmatrajući vrednosti Pbr i Abr u toku šestomesečnog praćenja, rtanjski čaj se pokazao kao efikasniji u suzbijanju nastanka primarnih nego sekundarnih proizvoda oksidacije što je u saglasnosti sa navodima Ruberto i Baratta (2000). Izraženije antioksidativno dejstvo bosiljka u uslovima niže temperature je u saglasnosti sa navodima Ayadi i sar. (2009). Može se zaključiti da efikasnost određenog antioksidansa ne zavisi samo od načina izolovanja aktivnih komponenti, njihovog sadržaja, strukture i polarnosti već i karakteristika lipidnog sistema odabranog za ispitivanje i uslova kojima su uzorci izloženi (Anwar i sar., 2006; Gramza-Michalowska i sar., 2011; Soldo i sar., 2019; Salaj i sar., 2020).

5.8.3. Promene oksidativne vrednosti

U Tabeli 5.19. su prikazane promene OV uzoraka ulja skladištenih na sobnoj temperaturi u toku šest meseci. S obzirom na to da se na OV direktno odražava sadržaj primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije, oni uzorci koji su značajnije podlegli oksidacionim promenama imaju i više vrednosti za OV i obrnuto. Uzorak ulja bez dodatka je od polaznih 1,86 nakon mesec dana imao uvećanje OV od 2,34 puta (4,36) da bi na kraju ispitivanja imao vrednost 28,58 (uvećanje od 15,36 puta). Uzorak sa dodatim BHT je nakon mesec dana skladištenja imao OV 2,42, dok je nakon šest meseci vrednost iznosila 18,22 što je predstavljalo uvećanje od 1,3 odnosno 9,79 puta u odnosu na polaznu OV. Kako navode Król i sar. (2021), kod svežeg i kvalitetnog ulja OV je niža od 10. Uzorak bez dodatka je ovu vrednost dostigao između trećeg i četvrtog meseca, dok je uzorak sa BHT nakon pet meseci imao OV tek nešto višu od granične (10,38). Nakon trećeg meseca skladištenja, 33 uzorka od ukupno 45 su i dalje imala nižu vrednost od 10. Međutim, nakon četvrtog meseca samo je sedam uzoraka imalo vrednost manju od granične, i to su bili uzorci sa dodatkom ekstrakata u višim koncentracijama.

Interval OV za uzorke sa dodatkom ekstrakata nakon šest meseci je bio 17,61 – 28,58 dok je za uzorke sa dodatkom EU iznosio 19,25 – 25,95. Uzorak ulja sa dodatkom SE₂₅₀ ekstrakta korijandera je na kraju ispitivanja imao OV vrednost identičnu uzorku bez dodatka dok su ostali uzorci imali vrednosti između OV vrednosti uzorka bez dodatka i uzorka sa BHT (18,22 – 28,58). Vrednost nižu od one koju je dobijena za uzorak sa BHT nakon šest meseci imali su samo uzorci sa dodatkom UZM₁₀₀₀ ekstrakta rtanjskog čaja i SE₁₀₀₀ ekstrakta bosiljka. Ispitujući oksidativni status HPSU i HPU repice, Wroniak i sar. (2016b) su od polaznih vrednosti 11,31 i 4,06 utvrdili OV u visini od 87,72 odnosno 76,59 s tim da su u pitanju rezultati bazirani na Pbr izraženom u meq O₂/kg. Za uzorke koji su skladišteni u atmosferi azota nakon istog vremenskog perioda utvrđeni nivoi OV bili su znatno niži (32,31 i 31,24 za HPU suncokreta i repice, redom). HPU lešnika više ispitivanih kultivara se pokazalo veoma stabilno pa su se dobijene OV nakon devet meseci skladištenja kretale u opsegu od 0,00 do 6,92 pri čemu je Pbr bio izražen u meq O₂/kg (Król i sar., 2021). Zaborowska i sar. (2012) su na primeru rafinisanog suncokretovog ulja pokazali da uticaj prirodnih antioksidanasa zavisi od temperaturnog režima i vremena izlaganja visokoj temperaturi. Tako su za uzorak ulja sa dodatkom ekstrakta timijana, pri temperaturi od 18 °C uočili značajniji porast OV nakon 22 dana skladištenja, dok je pri temperaturi od 37 °C intenzivan porast zapažen petnaestog dana ispitivanja. Sa druge strane, skladištenjem uzoraka pri temperaturi od 4 °C promene OV su bile bez statističkog značaja. Suprotno ovim navodima, Hashemi i sar. (2011) su naveli da se sa dodatkom EU biljke *Zataria multiflora* Boiss. u čijem hemijskom sastavu dominiraju karvakrol, timol i *p*-cimen, OV suncokretovog ulja pri temperaturi od 37 °C i 47 °C intenzivno menja, ali da uzorak sa dodatkom EU u koncentraciji od 0,075 % pokazuje najveću oksidativnu stabilnost u odnosu na sve testirane uzorke uključujući i onaj sa BHT.

Tabela 5.19. Promene oksidativne vrednosti uzoraka ulja sa dodatkom EU i ekstrakata u odnosu na kontrolne uzorke skladištenih na sobnoj temperaturi u toku 6 meseci.

Tip i koncentracija dodatog ekstrakta/EU	Vreme skladištenja (meseci)					
	1	2	3	4	5	6
Rtanjski čaj						
SE ₂₅₀	2,44	4,89	9,51	14,94	22,36	27,34
SE ₅₀₀	2,78	5,41	7,24	8,47	19,80	24,96
SE ₁₀₀₀	1,35	2,97	6,84	6,96	21,16	21,65
UZM ₂₅₀	1,86	3,87	9,67	12,89	24,31	22,84
UZM ₅₀₀	1,81	3,94	6,07	10,08	18,04	20,53
UZM ₁₀₀₀	1,46	3,06	4,51	9,36	19,95	17,61
EU ₂₅₀	2,94	5,99	10,03	15,80	27,46	21,97
EU ₅₀₀	2,70	2,79	7,78	13,96	23,31	20,91
EU ₁₀₀₀	2,81	3,03	5,90	13,02	23,10	19,25
Bosiljak						
SE ₂₅₀	1,73	4,81	10,10	9,84	20,36	23,84
SE ₅₀₀	1,84	2,02	5,97	10,46	25,13	22,02
SE ₁₀₀₀	2,04	2,53	5,47	6,37	15,87	17,77
UZM ₂₅₀	2,55	6,41	9,51	11,11	22,06	28,22
UZM ₅₀₀	2,90	4,11	9,53	9,38	22,20	21,53
UZM ₁₀₀₀	2,75	3,69	10,55	10,91	22,62	19,48
EU ₂₅₀	3,72	5,93	8,32	15,26	25,12	24,20
EU ₅₀₀	3,66	3,69	8,73	14,11	26,09	22,66
EU ₁₀₀₀	2,99	3,30	9,34	13,84	25,72	20,94
Korijander						
SE ₂₅₀	4,50	6,32	9,71	12,84	25,60	28,58
SE ₅₀₀	3,60	3,92	7,16	14,92	23,88	28,24
SE ₁₀₀₀	3,47	5,77	9,81	12,85	26,35	25,38
UZM ₂₅₀	3,94	6,86	11,61	18,57	27,49	27,06
UZM ₅₀₀	3,64	3,89	14,03	20,65	34,34	27,03
UZM ₁₀₀₀	3,03	6,55	13,28	16,21	28,16	26,28
EU ₂₅₀	2,20	6,93	10,67	16,01	26,78	22,72
EU ₅₀₀	2,27	2,35	12,83	15,27	29,44	21,77
EU ₁₀₀₀	2,44	4,47	10,67	15,43	25,72	21,30
Anis						
SE ₂₅₀	3,24	4,01	8,47	12,22	22,96	27,38
SE ₅₀₀	1,81	4,26	5,89	10,02	19,39	23,89
SE ₁₀₀₀	2,74	2,83	6,43	9,41	22,86	21,93
UZM ₂₅₀	2,09	3,20	7,76	11,38	27,71	22,66
UZM ₅₀₀	3,29	3,69	9,81	10,39	20,20	22,59
UZM ₁₀₀₀	2,65	3,19	10,84	10,47	19,85	22,18
EU ₂₅₀	2,92	5,96	9,50	15,76	30,89	25,95
EU ₅₀₀	3,06	3,15	10,52	12,41	21,27	23,05
EU ₁₀₀₀	2,60	4,76	9,56	14,71	26,93	23,45
Kim						
SE ₂₅₀	2,95	4,00	8,37	10,71	19,00	27,25
SE ₅₀₀	3,15	3,15	6,91	11,90	19,63	25,89
SE ₁₀₀₀	2,64	4,74	6,16	10,67	17,63	25,49
UZM ₂₅₀	3,91	5,28	7,59	11,76	24,65	24,43
UZM ₅₀₀	4,62	4,23	7,95	11,10	20,30	24,13
UZM ₁₀₀₀	3,00	4,85	6,85	12,43	20,56	24,20
EU ₂₅₀	3,83	6,20	9,34	16,49	25,30	23,28
EU ₅₀₀	2,30	2,38	9,18	15,48	22,42	22,32
EU ₁₀₀₀	2,58	4,82	11,05	15,63	24,96	20,62
BHT	2,42	2,99	5,95	10,38	15,83	18,22
HPSU	4,36	5,51	9,47	16,48	22,70	28,58

5.8.4. Promene konjugovanih diena i konjugovanih triena

Do nakupljanja primarnih i sekundarnih proizvoda izraženih preko K_{232} i K_{270} došlo je i u toku šestomesečnog skladištenja uzoraka na sobnoj temperaturi pri čemu je porast apsorpcije pri 270 nm talasne dužine bilo manjeg intenziteta. Uzorak ulja bez dodataka je već nakon mesec dana imao vrednost od 3,54 za K_{232} da bi na kraju ispitivanja bila skoro 5 puta veća od polazne vrednosti (11,16). Dinamika promene K_{270} je bila sporija, pa je vrednost od polaznih 0,15 na kraju ispitivanja iznosila 0,94. Za uzorak sa dodatkom BHT nakon šest meseci vrednosti K_{232} i K_{270} su iznosile 7,58 i 0,73. Dobijene vrednosti za K_{232} i K_{270} su značajno niže u odnosu na one koje su naveli Sadeghi i sar. (2019) za HPSU skladišteno u toku tri meseca. Istovremeno, dobijeni rezultati za K_{270} su viši u odnosu na rezultate koje su saopštili Martín-Polvillo i sar. (2004) za suncokretovo ulje linolnog i oleinskog tipa. Porast K_{270} za HPU linolnog tipa nakon 175 dana ispitivanja bio je sa polaznih 0,495 na 0,575 i sa 0,419 na 0,454 u slučaju linolnog odnosno oleinskog tipa. Rabadán i sar. (2018) su potvrdili da su promene K_{232} i K_{270} na sobnoj temperaturi intenzivnije u odnosu na promene pri nižim temperaturama. Međutim, promene koje su nastale nakon 16 meseci skladištenja HPU badema, oraha i pistača su daleko slabijeg intenziteta nego što je to slučaj u ovom radu za čisto HPSU. U slučaju HPU lana i maka sličnog masnokiselinosastava kao ulje testirano u ovom radu (> 70 % linolne MK), za period od šest meseci utvrđen je manji porast kako K_{232} tako i K_{270} , pa su za ulje lana utvrđene vrednosti 2,53 i 0,4, dok su za ulje maka bile nešto više (4,26 i 0,67 za K_{232} odnosno K_{270}) (Prescha i sar., 2014).

Dodatak kako EU tako i ekstrakti nije imao značajnijeg uticaja na smanjenje formiranja K_{232} ulja u odnosu na uzorak bez dodataka. Vrednosti K_{232} nakon šest meseci za uzorke sa dodatkom ekstrakata kretale su se od 7,91 do 12,07 a za uzorke sa EU od 9,84 do 12,05 pri čemu je jedan deo uzoraka imao višu vrednost od uzorka bez dodataka. Za razliku od K_{232} , vrednosti K_{270} za uzorke sa dodatkom ekstrakata su uglavnom bile niže od uzorka sa BHT i kretale se u intervalu 0,42 – 0,76. Vrednosti K_{270} uzoraka sa dodatkom EU su se kretale od 0,55 do 1,38 pri čemu su uzorci sa EU anisa i korijandera u svim primenjenim koncentracijama imali vrednost veću od uzorka bez dodataka.

Nastale promene K_{232} i K_{270} uzoraka skladištenih na sobnoj temperaturi u toku šest meseci prikazane su u Tabeli 5.20.

Tabela 5.20. Promene konjugovanih diena i konjugovanih triena uzoraka ulja sa dodatkom EU i ekstrakata u odnosu na kontrolne uzorke skladištenih na sobnoj temperaturi u toku 6 meseci.

Tip i koncentracija dodatog ekstrakta/EU	Vreme skladištenja (meseci)											
	Konjugovani dieni (K_{232})						Konjugovani trieni (K_{270})					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Rtanjski čaj												
SE ₂₅₀	3,85	4,85	6,03	6,39	7,87	10,11	0,45	0,45	0,48	0,51	0,54	0,54
SE ₅₀₀	3,57	4,57	5,78	5,89	7,62	9,41	0,53	0,44	0,45	0,50	0,55	0,61
SE ₁₀₀₀	3,35	4,35	5,37	5,43	6,68	8,47	0,42	0,43	0,44	0,49	0,57	0,63
UZM ₂₅₀	3,40	4,40	6,52	7,00	8,82	10,97	0,46	0,47	0,50	0,51	0,54	0,57
UZM ₅₀₀	3,16	4,16	5,28	6,31	7,96	9,38	0,47	0,46	0,48	0,46	0,51	0,56
UZM ₁₀₀₀	2,90	3,90	5,13	5,52	7,02	8,71	0,47	0,46	0,48	0,43	0,46	0,45
EU ₂₅₀	3,51	4,51	5,91	6,54	7,46	10,20	0,32	0,36	0,43	0,51	0,57	0,61
EU ₅₀₀	3,39	4,39	5,89	6,32	7,32	9,99	0,49	0,45	0,42	0,57	0,64	0,77
EU ₁₀₀₀	3,40	4,40	5,85	6,04	7,25	9,84	0,51	0,53	0,59	0,66	0,78	0,88
Bosiljak												
SE ₂₅₀	3,85	4,85	6,11	6,49	8,09	9,94	0,24	0,28	0,32	0,38	0,51	0,57
SE ₅₀₀	3,54	4,54	5,76	6,14	7,74	8,56	0,39	0,28	0,32	0,37	0,47	0,51
SE ₁₀₀₀	2,93	3,93	5,20	5,37	7,20	7,91	0,23	0,26	0,31	0,35	0,44	0,46
UZM ₂₅₀	2,66	3,66	6,04	7,32	8,67	10,54	0,44	0,45	0,39	0,54	0,61	0,75
UZM ₅₀₀	2,87	3,87	5,99	7,23	8,54	10,01	0,52	0,43	0,46	0,52	0,63	0,71
UZM ₁₀₀₀	3,46	4,46	5,92	6,89	8,42	9,69	0,39	0,43	0,52	0,68	0,71	0,73

EU ₂₅₀	4,11	5,11	6,72	7,78	8,36	10,02	0,44	0,47	0,53	0,61	0,67	0,68
EU ₅₀₀	4,23	5,23	6,68	7,48	8,17	9,93	0,33	0,36	0,46	0,55	0,58	0,58
EU ₁₀₀₀	4,57	5,57	6,96	7,15	7,76	9,85	0,24	0,29	0,36	0,42	0,52	0,55
Korijander												
SE ₂₅₀	3,61	4,61	6,55	8,04	9,15	11,89	0,49	0,5	0,52	0,52	0,56	0,54
SE ₅₀₀	3,50	4,50	6,21	8,01	9,11	11,58	0,47	0,47	0,45	0,51	0,52	0,55
SE ₁₀₀₀	3,52	4,52	6,00	7,50	9,00	11,34	0,26	0,31	0,36	0,49	0,61	0,63
UZM ₂₅₀	4,06	5,06	6,77	7,28	9,41	12,07	0,49	0,5	0,58	0,42	0,44	0,42
UZM ₅₀₀	3,69	4,69	6,60	7,63	9,24	11,98	0,44	0,49	0,51	0,53	0,57	0,51
UZM ₁₀₀₀	3,27	4,27	6,41	7,65	8,98	11,42	0,39	0,41	0,47	0,54	0,61	0,63
EU ₂₅₀	4,47	5,47	6,83	7,88	9,43	12,05	0,88	0,83	0,57	0,91	0,95	0,99
EU ₅₀₀	3,88	4,88	6,81	7,74	9,36	11,32	0,75	0,74	0,57	0,93	0,95	1,04
EU ₁₀₀₀	3,33	4,33	6,98	7,47	9,21	10,66	0,58	0,6	0,63	0,93	1,06	1,16
Anis												
SE ₂₅₀	3,00	4,00	5,86	7,10	8,51	10,43	0,37	0,36	0,39	0,43	0,57	0,76
SE ₅₀₀	2,81	3,81	5,65	7,00	8,11	10,22	0,37	0,38	0,43	0,53	0,55	0,70
SE ₁₀₀₀	2,76	3,76	5,49	6,97	7,83	10,04	0,35	0,43	0,52	0,56	0,64	0,68
UZM ₂₅₀	2,95	3,95	5,87	6,38	7,85	11,86	0,37	0,36	0,38	0,54	0,60	0,67
UZM ₅₀₀	3,00	4,00	5,78	6,54	7,73	11,14	0,40	0,41	0,41	0,51	0,58	0,65
UZM ₁₀₀₀	3,19	4,19	6,24	6,72	7,62	10,18	0,51	0,47	0,43	0,49	0,53	0,65
EU ₂₅₀	3,81	4,81	6,35	7,28	9,14	11,21	0,70	0,76	0,83	0,88	0,92	0,99
EU ₅₀₀	3,73	4,73	6,49	7,40	9,02	11,04	0,99	0,97	0,89	0,98	0,99	1,01
EU ₁₀₀₀	3,43	4,43	6,54	7,57	8,89	12,02	1,15	1,18	1,23	1,31	1,36	1,38
Kim												
SE ₂₅₀	3,35	4,35	6,31	7,28	8,01	11,11	0,40	0,41	0,45	0,51	0,42	0,44
SE ₅₀₀	2,99	3,99	6,01	6,87	7,65	10,57	0,36	0,39	0,43	0,48	0,44	0,44
SE ₁₀₀₀	2,85	3,85	5,63	6,12	7,00	9,13	0,34	0,34	0,35	0,40	0,45	0,45
UZM ₂₅₀	3,55	4,55	6,84	7,24	8,54	9,91	0,48	0,43	0,40	0,52	0,55	0,58
UZM ₅₀₀	3,13	4,13	6,32	6,95	7,30	9,05	0,42	0,42	0,42	0,52	0,51	0,59
UZM ₁₀₀₀	2,90	3,90	5,69	6,52	6,99	8,50	0,36	0,37	0,42	0,53	0,58	0,60
EU ₂₅₀	3,50	4,50	6,68	7,46	9,33	11,65	0,56	0,58	0,53	0,65	0,71	0,76
EU ₅₀₀	4,01	5,01	7,00	7,32	9,10	11,60	0,63	0,56	0,55	0,62	0,68	0,73
EU ₁₀₀₀	4,33	5,33	7,23	7,28	8,88	11,54	0,56	0,56	0,58	0,60	0,62	0,61
BHT	2,01	3,01	3,86	5,78	6,89	7,58	0,49	0,37	0,52	0,63	0,50	0,73
HPSU	3,54	4,54	5,98	7,86	10,13	11,16	0,62	0,46	0,67	0,71	0,66	0,94

U studiji koja je bazirana na ispitivanju roka trajanja EDMU na osnovu praćenja različitih parametara oksidativnog stanja i hemijskih pokazatelja kvaliteta polaznog ulja u toku skladištenja uzoraka na temperaturama u rasponu od 25 – 60 °C, Conte i sar. (2020) su došli do zaključka da je upravo sadržaj sekundarnih proizvoda izražen preko K₂₇₀ najmerodavniji pokazatelj upotrebne vrednosti ulja i predviđanja roka trajanja. Autori su takođe ukazali na to da za uzorke koji su dobro upakovani i sa ograničenom količinom kiseonika iznad ulja u ambalaži, sadržaj primarnih proizvoda oksidacije i prirodnih antioksidanasa nisu najadekvatniji indikatori roka trajanja ulja.

5.9. Senzorna ocena kvaliteta uzoraka HPSU sa dodatkom etarskih ulja i ekstrakata

Neposredno nakon dodavanja EU i ekstrakata, uzorci su senzorno analizirani u odnosu na kontrolni uzorak bez dodataka. Na osnovu ocena dodeljenih od strane panelista za svako ispitivano senzorno svojstvo (boja, miris i ukus), izvršena je evaluacija podataka čiji su rezultati dati u Prilogu (Tabela 8.1), a grafički prikazani na Slici 5.18. Kontrolni uzorak bez dodataka je ocenjen kao odličan sa srednjom ocenom 4,97. Između uzoraka sa dodatkom EU i ekstrakata primećena je

određena razlika u tom smislu da je prosečna ocena za svaki ocenjivani parametar bila viša u slučaju uzoraka sa EU u odnosu na dodatak ekstrakata.

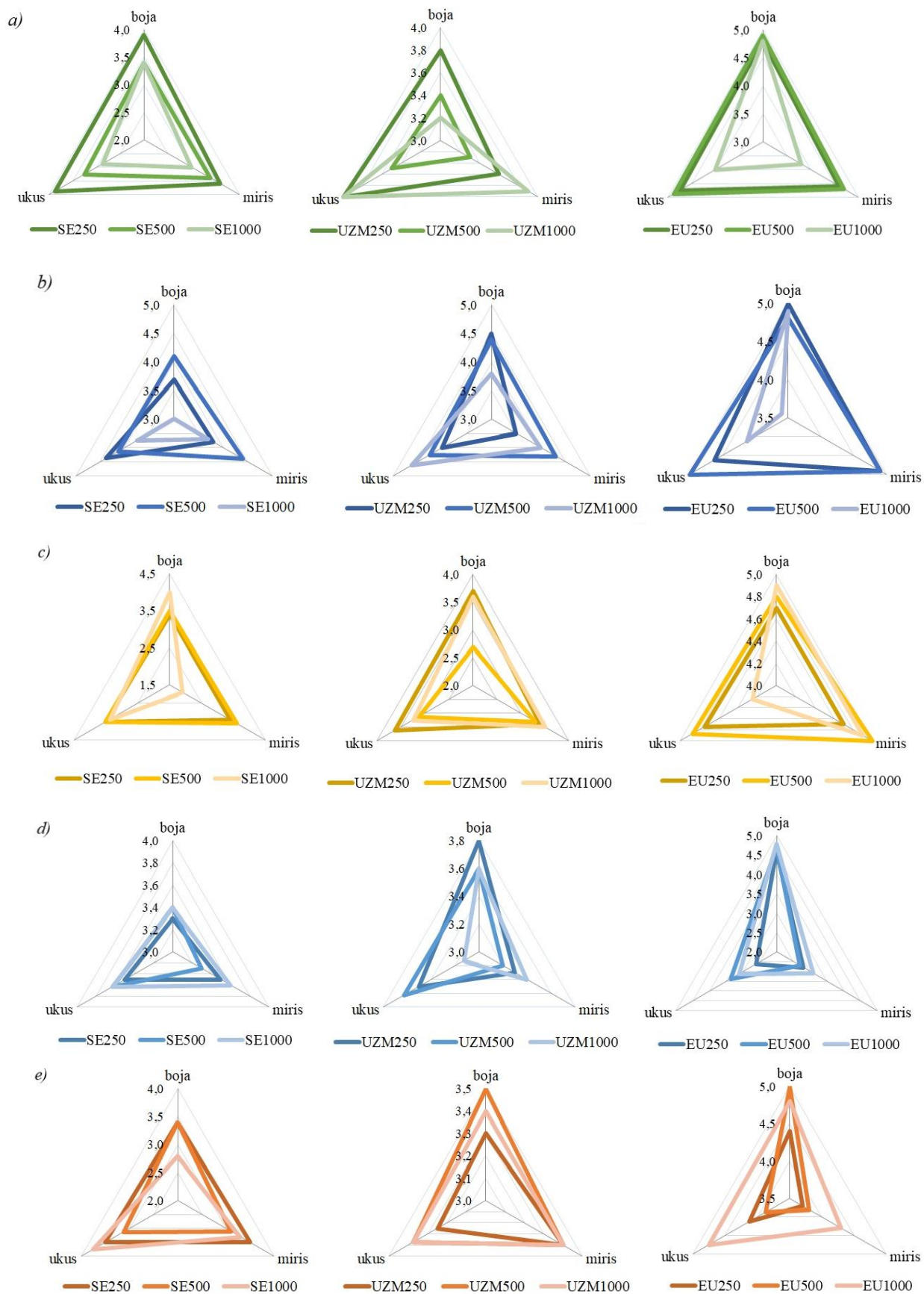
Posmatrajući boju kao parametar kvaliteta, interval prosečnih ocena za uzorke sa ekstraktima je bio 2,70 – 4,50, dok je za uzorke sa EU bio 4,40 – 5,00. Značajna razlika koja se javila u karakterizaciji uzoraka na osnovu ovog senzornog svojstva proizilazi iz činjenice da je dodatak ekstrakata čak i pri najnižoj koncentraciji doveo do promene boje, dok su uzorci sa dodatkom EU, bez obzira na primenjenu koncentraciju, zadržali zlatno – žutu boju karakterističnu za HPSU što su panelisti ocenili pozitivno. Takođe, kod određenih uzoraka sa dodatkom ekstrakata je primetna i pojava zamućenja, što je dovelo do toga da im se dodeli niža ocena. Među uzorcima sa dodatkom ekstrakata najviše ocene dodeljene su uzorcima sa ekstraktom bosiljka dok su najniže ocene imali uzorci kojima je dodat ekstrakt kima.

Ocenjujući miris uzoraka, panelisti su u proseku dodelili niže ocene uzorcima sa ekstraktima (interval prosečnih ocena = 1,90 – 4,40) u odnosu na uzorke sa EU (interval prosečnih ocena 2,70 – 5,00). Diskretan, prijatan, svež miris koji je harmonizovan sa mirisom HPSU imali su uzorci ulja sa EU korijandera, rtanjskog čaja i bosiljka. Uzorci sa dodatkom EU bosiljka u koncentraciji od 250 ppm i 500 ppm, kao i korijandera od 1000 ppm se na osnovu mirisa kao senzorne karakteristike nisu statistički značajno razlikovali od uzorka ulja bez dodataka. Kako su ovim uzorcima dodeljene najviše ocene za miris kao senzorno svojstvo, može se zaključiti da je dodatak biljaka sa linalolom kao glavnom komponentom EU bio najbolje prihvaćen od strane panelista. Sa druge strane, uzorci sa EU anisa su bili ocenjeni najnižim ocenama od svih testiranih uzoraka.

Na osnovu ukusa, uzorcima sa dodatkom ekstrakata dodeljene su ocene u rasponu od 2,88 – 4,63, dok je raspon ocena za uzorke sa EU za isto senzorno svojstvo bio 2,63 – 5,00. Iako je kod svih uzoraka ostao dominantan ukus na sirovinu, u slučaju uzoraka sa ekstraktima u najnižoj koncentraciji dodatak za pojedine uzorke je bio neprepoznatljiv. Kod uzoraka kojima su u najvećoj koncentraciji dodata EU, ukus je ocenjen kao previše intenzivan.

Na osnovu prosečnih ocena ispitivanih senzornih svojstava dobijena je srednja ocena uzorka koja je u slučaju uzoraka sa dodatkom ekstrakata imala vrednosti od 3,04 do 4,32, dok je interval srednjih ocena uzoraka sa EU bio 3,34 – 4,90. Ovo ukazuje da su uzorci sa dodatkom ekstrakata kategorisani kao dobri do vrlo dobri, dok su uzorci sa EU ocenjeni kao vrlo dobri do odlični. Takođe, sabiranjem dodeljenih prosečnih ocena za analizirana senzorna svojstva dobijen je i ukupan broj bodova koji predstavlja vrednosnu senzornu ocenu uzorka. Kao i prosečna ocena za pojedina senzorna svojstva, i vrednosna senzorna ocena za uzorke sa ekstraktima je bila niža (9,13 – 12,95) i u kategoriji „još uvek prihvatljiva“ do „dobra“ u odnosu na uzorke sa EU koji su kategorisani kao „još uvek prihvatljivi“ do „odlični“ (10,03 – 14,70). Najniže vrednosne ocene imali su uzorci sa dodatkom UZM₅₀₀ korijandera i EU₂₅₀ anisa a najviše uzorci sa EU₅₀₀ i UZM₅₀₀ ekstraktom bosiljka.

Visoka prihvatljivost aromatizovanih ulja bosiljkom od strane panelista i potrošača potvrđena je u literaturi (Ayadi i sar., 2009; Ançar i Gümüşkesen, 2011; Baiano i sar., 2016). Suprotno rezultatima dobijenim u ovom radu, Benkhoud i sar. (2021) su naveli da je najveću prihvatljivost od strane potrošača imalo EDMU sa dodatkom EU komorača koje je po hemijskom sastavu slično EU ploda anisa upotrebljenog u ovom radu. Takođe, EDMU aromatizovano EU timijana u čijem sastavu dominira karvakrol, pokazalo se kao manje prihvatljivo od strane potrošača usled jakog nadražujućeg mirisa. Rezultati dobijeni u ovom radu za uzorke sa EU korijandera koji ukazuju na veoma dobru prihvatljivost aromatizovanog HPSU od strane panelista, u saglasnosti su sa literaturnim navodima (Wang i sar., 2018).



Slika 5.18. Rezultati senzorne analize uzoraka ulja sa dodatkom EU i ekstrakata rtanjskog čaja (a), bosiljka (b), korijandera (c), anisa (d) i kima (e).

5.10. Instrumentalno određivanje boje uzoraka

Određivanjem promene boje u toku skladištenja se na efikasan način može pratiti promena kvaliteta ulja (Moczkowska i sar., 2020). Do promene boje ulja dolazi neminovno u toku skladištenja i zagrevanja, a nastale promene su jačeg ili slabijeg intenziteta u zavisnosti od hemijskog sastava kao i uslova skladištenja odnosno upotrebe. Reakcije oksidacije, polimerizacije, izomerizacije i hidrolize, ali i druge hemijske reakcije čiji su hemijski mehanizmi manje poznati, vode povećanju viskoziteta i promeni parametara boje ulja (Maskan, 2003).

Boja uzoraka ulja sa dodatkom EU i ekstrakata je ocenjena primenom instrumentalne CVS tehnike. O prednostima CVS tehnike u odnosu na druge instrumentalne metode kao brže, pouzdanije, nedestruktivne i ekonomične postoje literaturni navodi (Wu i Sun, 2013; Tomašević i sar., 2019; Milovanović i sar., 2021a, 2021b; Meenu i sar., 2021). Određivanje boje izvršeno je tri puta: neposredno nakon dodatka EU i ekstrakata, nakon tri i šest meseci skladištenja na sobnoj temperaturi bez uticaja svetlosti. Rezultati određivanja su prikazani kao ukupna promena boje uzoraka izražena kao TCD (*Total Colour Difference*), nastala dodatkom EU i ekstrakata, kao i u toku procesa skladištenja u odnosu na kontrolni uzorak (Maskan, 2003). Kategorizacija uzoraka na osnovu vrednosti TCD prikazana je u Tabeli 5.21. Pored ukupne promene boje, određeni su i indeks žute boje (YI) i indeks posmeđivanja (BI) (Hirschler, 2012). Rezultati ispitivanja prikazani su u Tabelama 5.22., 5.23. i 5.24. i označeni indeksima 0, 3 i 6 za momenat ispitivanja nakon dodatka EU i ekstrakata odnosno nakon 3 i 6 meseci.

Tabela 5.21. Kategorizacija vrednosti TCD u odnosu na kontrolu (Sikorska i sar., 2007).

Vrednost TCD	Oznaka kategorije
> 3	boja uzorka se značajno razlikuje od boje kontrolnog uzorka
1,5 < TCD < 3	boja uzorka se razlikuje
TCD < 1,5	boja uzorka se malo razlikuje

Dodatak BHT je izazvao ukupnu promenu boje ulja u vrednosti od 1,69. Vrednosti TCD kontrolnog uzorka HPSU i uzorka sa BHT se nakon tri meseca skladištenja nisu statistički značajno razlikovale, dok je nakon šest meseci razlika bila značajna. Kontrolni uzorak je u toku skladištenja pretrpeo određene promene boje koje su za period nakon tri meseca iznosile 10,07, a za period nakon šest meseci 12,38.

Iz priloženih rezultata u Tabeli 5.22. može se uočiti da su ekstrakti značajno uticali na promenu boje već pri samom dodavanju. Osim uzorka ulja kome je dodatak SE₅₀₀ ekstrakta anisa izazvao ukupnu promenu boje u vrednosti od 2,80, svi uzorci sa dodatkom ekstrakata su imali vrednosti veće od 3, što ukazuje da se boja već na početku skladištenja značajno razlikovala od boje kontrolnog uzorka. Najviše vrednosti TCD imali su uzorci sa dodatkom ekstrakata rtanjskog čaja i bosiljka pri maksimalnoj koncentraciji bez obzira na tip ekstrakta. Ove vrednosti su se značajno razlikovale u odnosu na kontrolu, ali i u odnosu na uzorke kojima su dodati ekstrakti korijandera, anisa i kima. Intervali vrednosti za TCD₀, TCD₃ i TCD₆ za pomenute ekstrakte iznosili su redom 14,95 – 36,89, 21,69 – 50,26 i 17,44 – 37,89. Maksimalne vrednosti TCD nastale su kod uzorka sa dodatkom UZM₁₀₀₀ ekstrakta bosiljka pri čemu je najintenzivnija ukupna promena boje nastala nakon tri meseca skladištenja (50,26), dok se TCD₀ i TCD₆ vrednosti međusobno nisu značajno razlikovale (36,89 i 37,89). Nakon tri meseca skladištenja svetloća boje i udeo žute boje su značajno snižene što se odrazilo na uvećanje vrednosti TCD za ovaj uzorak. Uzorci sa istim ekstraktima dodatim u koncentraciji od 250 i 500 ppm su se takođe značajno razlikovali, ali je TCD imala znatno niže vrednosti. Uočljivo je i to da je dodatak ekstrakata biljaka familije Apiaceae u odnosu ekstrakte biljaka familije Lamiaceae izazvao promene boje znatno manjeg intenziteta pri čemu je

maksimalnu vrednost TCD na kraju skladištenja imao uzorak sa dodatkom UZM₅₀₀ ekstrakta korijandera (12,68).

Kada je u pitanju TCD uzoraka sa dodatkom EU, može se zaključiti da su promene bile znatno manjeg intenziteta. Trend uvećanja vrednosti TCD je bio isti kao u slučaju kontrolnog uzorka i uzorka sa BHT. Iako se vizuelnim putem nije mogla uočiti promena boje po dodatku EU, CVS metodom je detektovana promena koja se kretala u intervalu 1,84 – 2,51 što ukazuje da su se ovi uzorci razlikovali od kontrolnog. Sa izuzetkom uzoraka sa dodatim EU korijandera i rtanjskog čaja (u koncentracijama 250 i 1000 ppm, redom) koji se međusobno statistički nisu značajno razlikovali, ostali uzorci po dodatku EU se statistički nisu značajno razlikovali od uzorka sa BHT. Quintanilla i sar. (2019) su naveli da vrednosti ukupne promene boje između 1 i 3 predstavljaju male razlike u boji da bi mogle biti uočene ljudskim okom. U toku skladištenja, najintenzivnije promene je pretrpeo uzorak sa dodatkom EU bosiljka u koncentraciji od 500 ppm. Vrednosti TCD₃ i TCD₆ za ovaj uzorak su iznosile 11,03 i 13,28. Vrednosti ukupne promene boje uzoraka sa EU na kraju skladištenja su u proseku bile više u odnosu na uzorke sa dodatim ekstraktima sa izuzetkom ekstrakata rtanjskog čaja i bosiljka u najvišoj koncentraciji. Uzorci sa EU₂₅₀ bosiljka, korijandera i anisa se nakon šest meseci nisu značajno razlikovali od kontrolnog uzorka HPSU ($p < 0,05$).

Kako su naveli Sikorska i sar. (2007) u slučaju EDMU skladištenog bez prisustva svetlosti u toku dvanaest meseci na sobnoj temperaturi, boja je ostala gotovo nepromenjena. Sa druge strane, TCD uzoraka izloženih svetlu je bila izraženija, pogotovo u prvom periodu skladištenja da bi nakon deset meseci postala konstantna. U studiji koju su sproveli Moczkowska i sar. (2020), gde je ispitan uticaj različitih tipova ekstrakata ruzmarina na HPU konoplje u uslovima Schaal oven testa, najviše vrednosti TCD nakon 14 dana je imao uzorak sa dodatim BHT (16,12), dok je uzorak sa etil-acetatnim ekstraktom imao najnižu vrednost TCD (12,79). U toku testa, svi uzorci su pokazali povećanje svetloće i udela crvene i žute boje koje je do kraja ispitivanja takođe bilo najintenzivnije u slučaju uzorka sa BHT. Cardoso-Ugarte i sar. (2013) su utvrdili da je u odnosu na kontrolu i ulje sa dodatkom 500 ppm EU bosiljka, na kraju petog dana prženja pomfrita u palminom ulju najmanju TCD imalo ulje sa dodatkom 200 ppm EU. Uticaj dodatih EU na TCD je u saglasnosti sa navodima Maskan i Horuz (2017) koji su utvrdili da je palmino ulje sa dodatkom EU izolovanog iz vrste *Thymbra spicata*, u toku više ciklusa prženja imalo niže vrednosti TCD u odnosu na kontrolu i uzorak sa BHT.

TCD predstavlja meru udaljenosti dve boje u prostoru boje, pri čemu ukazuje samo na iznos razlike, ali ne i pravac u kome se boje razlikuju (Klimczak i Gliszczyńska-Świągło, 2017). Ukoliko je potrebno odrediti pravac promene boje, podesnije je koristiti YI i BI (Hirschler, 2012). Iz tog razloga su pomenuti indeksi izračunati na osnovu L , a i b parametara boje (Tabele 5.23. i 5.24.) Vrednosti YI₀, YI₃ i YI₆ za kontrolni uzorak iznosile su 160,41, 158,08 i 157,45 dok su se vrednosti YI za isti period određivanja u slučaju uzorka sa BHT neznatno razlikovale (160,70, 157,90 i 156,92). Interval YI vrednosti po dodatku ekstrakata bio je 154,45 – 174,68. Značajnije promene YI nastale su dodatkom ekstrakata rtanjskog čaja i bosiljka pri čemu su se sa porastom koncentracije dodatog ekstrakta postupno uvećale i vrednosti YI. Uticaj koncentracije pri dodatku ekstrakata korijandera, anisa i kima nije bio od značaja. U toku skladištenja najveća promena u odnosu na kontrolni uzorak zabeležena je u slučaju uzorka sa UZM₁₀₀₀ ekstraktom bosiljka nakon tri meseca. Kako se YI izračunava preko svetloće boje kojoj je obrnuto proporcionalan, niske vrednosti ovog parametra boje odnosno manja svetloća boje uzorka ($L_0 = 46$; $L_3 = 35,5$; $L_6 = 45,1$) značajno su uticale na povećanje vrednosti ovog indeksa. Hirschler (2012) naveo da je YI bolji pokazatelj stepena žute boje uzorka u odnosu na udeo žute boje (b) upravo iz razloga što je u proračun ovog indeksa uključena i svetloća boje.

Tabela 5.22. Ukupna promena boje uzoraka određena po dodatku EU i ekstrakata i nakon 3 i 6 meseci skladištenja.

Uzorak	TCD ₀	TCD ₃	TCD ₆	
Rtanjski čaj	SE ₂₅₀	3,15 ± 0,38 ^{opqrs*}	7,29 ± 0,90 ^{lm}	4,69 ± 2,65 st
	SE ₅₀₀	6,22 ± 0,92 ^{hijk}	11,29 ± 1,25 ^{fg}	6,78 ± 1,08 ^{opqr}
	SE ₁₀₀₀	14,95 ± 1,59 ^e	27,21 ± 1,60 ^c	20,25 ± 1,02 ^c
	UZM ₂₅₀	8,31 ± 0,55 ^f	6,21 ± 0,38 ^{mn}	3,94 ± 0,93 ^t
	UZM ₅₀₀	16,98 ± 0,83 ^d	11,71 ± 0,96 ^f	4,39 ± 0,62 ^t
	UZM ₁₀₀₀	31,46 ± 1,02 ^b	21,69 ± 2,09 ^d	17,44 ± 0,51 ^d
	EU ₂₅₀	2,23 ± 1,21 ^s	9,61 ± 0,38 ^{ijk}	11,77 ± 1,16 ^{efghi}
	EU ₅₀₀	2,23 ± 1,15 ^s	8,66 ± 0,54 ^{ijkl}	12,99 ± 1,54 ^{ef}
	EU ₁₀₀₀	2,44 ± 1,17 ^{qrs}	8,57 ± 0,91 ^{kl}	11,39 ± 1,57 ^{efghij}
Bosiljak	SE ₂₅₀	4,24 ± 0,56 ^{mnop}	4,34 ± 0,56 ^{pq}	1,62 ± 0,81 ^u
	SE ₅₀₀	14,13 ± 1,03 ^e	16,38 ± 1,43 ^e	9,10 ± 0,56 ^{klm}
	SE ₁₀₀₀	27,76 ± 1,44 ^c	30,86 ± 0,88 ^b	28,86 ± 1,91 ^b
	UZM ₂₅₀	5,22 ± 0,60 ^{ijklmn}	10,31 ± 0,75 ^{fghi}	1,80 ± 0,59 ^u
	UZM ₅₀₀	14,26 ± 0,91 ^e	15,58 ± 1,04 ^e	11,12 ± 0,55 ^{fghij}
	UZM ₁₀₀₀	36,89 ± 1,00 ^a	50,26 ± 1,27 ^a	37,89 ± 1,56 ^a
	EU ₂₅₀	2,30 ± 1,40 ^s	10,42 ± 0,61 ^{fghi}	12,19 ± 1,20 ^{efgh}
	EU ₅₀₀	2,23 ± 1,42 ^s	11,03 ± 0,69 ^{fgh}	13,28 ± 0,85 ^e
	EU ₁₀₀₀	2,37 ± 1,22 ^s	9,56 ± 0,82 ^{ijk}	9,61 ± 0,94 ^{ijkl}
Korijander	SE ₂₅₀	6,66 ± 0,40 ^{ghi}	6,18 ± 0,64 ^{mn}	9,78 ± 0,94 ^{ijkl}
	SE ₅₀₀	4,52 ± 0,30 ^{lmno}	4,16 ± 0,69 ^{pq}	8,99 ± 0,76 ^{klmn}
	SE ₁₀₀₀	4,03 ± 0,38 ^{opq}	9,94 ± 0,92 ^{ghijk}	4,86 ± 1,19 ^{rst}
	UZM ₂₅₀	6,51 ± 0,04 ^{ghij}	2,66 ± 0,40 ^{rs}	11,22 ± 0,67 ^{fghij}
	UZM ₅₀₀	4,83 ± 0,24 ^{klmn}	0,81 ± 0,21 ^t	12,68 ± 0,59 ^{ef}
	UZM ₁₀₀₀	3,08 ± 0,51 ^{opqrs}	4,31 ± 1,33 ^{opq}	7,08 ± 0,91 ^{nopq}
	EU ₂₅₀	2,51 ± 1,19 ^{qrs}	10,48 ± 0,67 ^{fghi}	12,20 ± 1,29 ^{efgh}
	EU ₅₀₀	2,19 ± 1,36 ^s	9,73 ± 0,61 ^{hijk}	12,79 ± 0,58 ^{ef}
	EU ₁₀₀₀	2,10 ± 1,20 ^s	10,50 ± 0,59 ^{fghi}	9,04 ± 0,94 ^{klmn}
Anis	SE ₂₅₀	3,99 ± 0,35 ^{nopqr}	6,18 ± 0,53 ^{mn}	7,09 ± 0,70 ^{nopq}
	SE ₅₀₀	2,80 ± 0,49 ^{pqrs}	4,66 ± 0,03 ^{opq}	6,06 ± 0,94 ^{pqrs}
	SE ₁₀₀₀	5,55 ± 0,46 ^{hijklmn}	9,54 ± 0,66 ^{ijk}	6,17 ± 1,63 ^{pqrs}
	UZM ₂₅₀	8,05 ± 0,32 ^{fg}	6,74 ± 0,08 ^{mn}	8,23 ± 1,22 ^{lmno}
	UZM ₅₀₀	6,89 ± 0,46 ^{fgh}	3,77 ± 0,30 ^{qr}	7,10 ± 0,45 ^{nopq}
	UZM ₁₀₀₀	5,96 ± 0,57 ^{hijkl}	6,32 ± 0,42 ^{mn}	5,39 ± 2,03 ^{qrst}
	EU ₂₅₀	2,05 ± 1,15 ^s	10,20 ± 0,58 ^{ghi}	10,16 ± 0,76 ^{ijkl}
	EU ₅₀₀	1,91 ± 0,86 ^s	2,09 ± 0,78 st	12,22 ± 0,74 ^{efgh}
	EU ₁₀₀₀	1,84 ± 1,14 ^s	10,19 ± 0,47 ^{ghi}	11,17 ± 0,85 ^{ghij}
Kim	SE ₂₅₀	6,50 ± 0,48 ^{ghij}	10,51 ± 0,59 ^{ghi}	8,37 ± 0,95 ^{lmno}
	SE ₅₀₀	4,85 ± 0,37 ^{klmn}	6,31 ± 0,32 ^{mn}	6,88 ± 1,15 ^{opq}
	SE ₁₀₀₀	5,65 ± 0,52 ^{hijklm}	8,76 ± 0,61 ^{jk}	5,45 ± 0,56 ^{qrst}
	UZM ₂₅₀	6,73 ± 0,32 ^{fghi}	5,36 ± 0,31 ^{nop}	8,24 ± 1,27 ^{lmno}
	UZM ₅₀₀	4,95 ± 0,50 ^{ijklmn}	5,76 ± 0,84 ^{no}	7,58 ± 0,49 ^{mnop}
	UZM ₁₀₀₀	5,33 ± 0,27 ^{hijklmn}	6,25 ± 0,56 ^{mn}	7,21 ± 1,44 ^{mnopq}
	EU ₂₅₀	2,15 ± 1,61 ^s	8,58 ± 0,48 ^{kl}	10,47 ± 1,37 ^{hijk}
	EU ₅₀₀	1,89 ± 1,23 ^s	9,13 ± 0,44 ^{ijk}	12,46 ± 0,73 ^{efg}
	EU ₁₀₀₀	2,42 ± 0,85 ^{rs}	10,33 ± 0,36 ^{fghi}	10,57 ± 1,03 ^{ghijk}
BHT	1,69 ± 1,15 ^s	10,04 ± 0,66 ^{ghij}	12,12 ± 1,13 ^{efghi}	
HPSU	0 ± 00 ^t	10,07 ± 0,71 ^{ghij}	12,38 ± 0,60 ^{efgh}	

*različita slova eksponenata u istoj koloni ukazuju na statistički značajne razlike između uzoraka (p < 0,05)

Tabela 5.23. Vrednosti indeksa žute boje uzoraka određene po dodatku EU i ekstrakata i nakon 3 i 6 meseci skladištenja.

Uzorak		YI ₀	YI ₃	YI ₆
Rtanjski čaj	SE ₂₅₀	160,43 ± 0,10 ^{defg*}	162,74 ± 1,21 ^{hij}	151,82 ± 7,78 ^{nop}
	SE ₅₀₀	162,21 ± 1,05 ^{cde}	164,03 ± 1,20 ^{gh}	162,75 ± 1,33 ^{cdefg}
	SE ₁₀₀₀	166,19 ± 1,32 ^b	171,88 ± 1,24 ^c	167,94 ± 1,34 ^{bc}
	UZM ₂₅₀	163,98 ± 1,02 ^{bc}	162,10 ± 1,08 ^{ijkl}	159,21 ± 1,77 ^{efghijkl}
	UZM ₅₀₀	166,87 ± 0,80 ^b	164,68 ± 0,64 ^{fg}	161,46 ± 0,97 ^{defgh}
	UZM ₁₀₀₀	174,68 ± 0,44 ^a	169,71 ± 1,68 ^d	166,79 ± 0,82 ^{cd}
	EU ₂₅₀	160,10 ± 1,08 ^{defg}	158,34 ± 1,03 ^{qrstuv}	148,93 ± 6,32 ^{opq}
	EU ₅₀₀	160,07 ± 1,60 ^{defg}	158,27 ± 1,00 ^{rstuv}	155,55 ± 2,71 ^{ijklmn}
	EU ₁₀₀₀	160,08 ± 1,08 ^{defg}	157,91 ± 0,99 ^{stuv}	157,42 ± 0,93 ^{ghijklmn}
Bosiljak	SE ₂₅₀	161,15 ± 0,65 ^{cdefg}	161,36 ± 0,79 ^{klm}	160,95 ± 0,74 ^{efghi}
	SE ₅₀₀	165,68 ± 0,25 ^b	166,49 ± 1,29 ^e	164,07 ± 0,72 ^{cdef}
	SE ₁₀₀₀	172,74 ± 0,55 ^a	174,40 ± 1,25 ^b	173,24 ± 2,02 ^{ab}
	UZM ₂₅₀	162,04 ± 1,06 ^{cdef}	163,56 ± 1,31 ^{ghi}	161,12 ± 0,92 ^{defgi}
	UZM ₅₀₀	165,81 ± 1,79 ^b	166,25 ± 0,88 ^{ef}	164,65 ± 0,72 ^{cde}
	UZM ₁₀₀₀	173,51 ± 8,51 ^a	190,80 ± 2,22 ^a	175,39 ± 8,59 ^a
	EU ₂₅₀	160,88 ± 0,40 ^{defg}	157,47 ± 0,77 ^{uv}	154,38 ± 2,65 ^{klmno}
	EU ₅₀₀	160,12 ± 0,84 ^{defg}	157,02 ± 0,09 ^v	156,79 ± 0,91 ^{hijklmn}
	EU ₁₀₀₀	160,24 ± 0,74 ^{defg}	157,96 ± 0,93 ^{stuv}	140,58 ± 4,78 ^{rs}
Korijander	SE ₂₅₀	158,96 ± 0,96 ^g	159,32 ± 0,86 ^{opqrst}	158,12 ± 0,99 ^{ghijklm}
	SE ₅₀₀	160,00 ± 0,00 ^{defg}	161,30 ± 0,71 ^{klm}	158,24 ± 1,04 ^{ghijklm}
	SE ₁₀₀₀	160,04 ± 0,91 ^{defg}	163,16 ± 1,38 ^{ghi}	159,56 ± 1,20 ^{efghijk}
	UZM ₂₅₀	159,56 ± 0,00 ^{defg}	160,97 ± 0,95 ^{klmno}	157,93 ± 0,98 ^{ghijklm}
	UZM ₅₀₀	154,45 ± 4,72 ^h	160,23 ± 0,91 ^{mnpq}	156,83 ± 0,07 ^{hijklmn}
	UZM ₁₀₀₀	160,04 ± 0,61 ^{defg}	160,74 ± 0,78 ^{lmnop}	152,94 ± 7,39 ^{mno}
	EU ₂₅₀	160,29 ± 0,90 ^{defg}	157,27 ± 0,59 ^v	156,19 ± 0,95 ^{hijklmn}
	EU ₅₀₀	160,86 ± 1,16 ^{defg}	157,94 ± 0,99 ^{stuv}	157,03 ± 0,60 ^{hijklmn}
	EU ₁₀₀₀	160,78 ± 0,87 ^{defg}	157,65 ± 0,89 ^{tuv}	146,11 ± 5,47 ^{pqr}
Anis	SE ₂₅₀	159,37 ± 1,02 ^{efg}	159,50 ± 0,64 ^{nopqrs}	158,49 ± 1,00 ^{efghijklm}
	SE ₅₀₀	161,22 ± 1,42 ^{cdefg}	160,21 ± 0,07 ^{mnpq}	159,09 ± 0,92 ^{efghijkl}
	SE ₁₀₀₀	162,52 ± 1,08 ^{cd}	162,55 ± 1,14 ^{hijk}	157,96 ± 4,85 ^{efghijklm}
	UZM ₂₅₀	158,94 ± 0,85 ^g	159,56 ± 0,00 ^{nopqrs}	159,10 ± 0,58 ^{efghijkl}
	UZM ₅₀₀	159,13 ± 0,85 ^{fg}	160,02 ± 0,68 ^{mnpq}	158,31 ± 1,03 ^{efghijklm}
	UZM ₁₀₀₀	159,61 ± 0,61 ^{defg}	160,22 ± 0,69 ^{mnpq}	154,84 ± 7,49 ^{ijklmn}
	EU ₂₅₀	160,69 ± 1,23 ^{defg}	157,68 ± 0,91 ^{tuv}	144,31 ± 5,95 ^{qr}
	EU ₅₀₀	160,67 ± 0,36 ^{defg}	160,44 ± 0,88 ^{lmnop}	156,03 ± 3,56 ^{hijklmn}
	EU ₁₀₀₀	160,29 ± 0,77 ^{defg}	158,06 ± 0,96 ^{stuv}	156,90 ± 1,08 ^{hijklmn}
Kim	SE ₂₅₀	158,80 ± 0,98 ^g	158,40 ± 0,91 ^{qrstuv}	158,31 ± 1,01 ^{efghijklm}
	SE ₅₀₀	159,54 ± 0,87 ^{fg}	159,87 ± 0,12 ^{mnpqrs}	159,13 ± 0,87 ^{efghijkl}
	SE ₁₀₀₀	161,14 ± 1,08 ^{cdefg}	163,24 ± 0,72 ^{ghi}	160,53 ± 2,27 ^{efghij}
	UZM ₂₅₀	158,94 ± 0,99 ^g	159,19 ± 0,94 ^{pqrstu}	158,72 ± 0,98 ^{efghijklm}
	UZM ₅₀₀	159,07 ± 1,01 ^{fg}	159,96 ± 0,10 ^{mnpqrs}	158,82 ± 0,90 ^{efghijkl}
	UZM ₁₀₀₀	161,36 ± 1,13 ^{cdefg}	161,17 ± 1,06 ^{ijklmn}	144,81 ± 3,77 ^{qr}
	EU ₂₅₀	159,94 ± 1,11 ^{defg}	158,09 ± 0,99 ^{stuv}	137,32 ± 4,53 ^s
	EU ₅₀₀	160,10 ± 1,06 ^{defg}	158,39 ± 0,96 ^{qrstuv}	156,89 ± 1,26 ^{hijklmn}
	EU ₁₀₀₀	159,83 ± 1,16 ^{defg}	158,04 ± 0,94 ^{stuv}	153,48 ± 2,20 ^{lmno}
BHT	160,70 ± 0,36 ^{defg}	157,90 ± 0,94 ^{stuv}	156,92 ± 0,14 ^{hijklmn}	
HPSU	160,41 ± 0,84 ^{defg}	158,08 ± 1,03 ^{stuv}	157,45 ± 0,89 ^{ghijklmn}	

*različita slova eksponenata u istoj koloni ukazuju na statistički značajne razlike između uzoraka (p < 0,05)

Vrednosti YI uzoraka se po dodatku EU nisu značajno razlikovale od kontrolnog uzorka (159,83 – 160,88). Zapravo, između kontrolnog uzorka HPSU, uzorka sa BHT i uzoraka sa dodatkom EU u svim koncentracijama pri merenju boje nakon dodatka, nije bilo statistički značajne razlike ($p < 0,05$). Iako je dodatkom EU kima u koncentraciji od 1000 ppm došlo je do najveće promene vrednosti YI u odnosu na kontrolu (-0,58), nakon tri meseca skladištenja među uzorcima sa dodatkom 1000 ppm EU i HPSU i uzorka sa BHT nije bilo značajne razlike. Interval vrednosti YI nakon tri meseca za uzorke sa EU je bio 157,02 – 160,44, dok su vrednosti YI nakon šest meseci bile u rasponu 137,32 – 157,42. Nakon šest meseci skladištenja javile su se statistički značajne razlike između HPSU i uzorka sa BHT.

Promene ovog indeksa u toku skladištenja su uglavnom bile minimalne. Kod svih uzoraka je došlo do pada vrednosti sa vremenom što bi se moglo objasniti gubitkom karotenoida. YI zavisi od parametara svetloće boje uzorka i udela žute boje čije su se vrednosti uvećale sa vremenom skladištenja. Međutim, smanjenje sadržaja karotenoida procesima oksidacije i dekompozicije izazvalo bi pad udela žute boje što nije bio slučaj za većinu uzoraka. Uvećanje udela žute boje u toku skladištenja suncokretovog ulja Maskan (2003) je obrazložio formiranjem hroman-5,6-hinona koji nastaju parcijalnom oksidacijom ulja. Sa druge strane, Moczowska i sar. (2020) su udeo žute boje u slučaju ulja konoplje objasnili povećanjem vidljivosti već prisutnih karotenoida kojih u ovom tipu ulja ima u značajnoj količini a čije je prisustvo prikriveno zelenom bojom hlorofila kao dominantnih pigmenta.

Indeks posmeđivanja uzoraka (BI) u toku skladištenja se menjao na sličan način kao i YI. Vrednosti BI za kontrolni uzorak su u toku skladištenja postupno opadale, i za BI₀, BI₃ i BI₆ su iznosile 274,09, 264,53 i 259,57, redom. Uzorak sa dodatkom BHT je pokazao isti trend smanjivanja vrednosti (275,38, 264,46 i 257,66). Dodatak ekstrakata je kod trećine uzoraka izazvao smanjenje BI vrednosti u odnosu na kontrolni uzorak, pri čemu je najveće smanjenje nastalo dodatkom UZM₅₀₀ ekstrakta korijandera (258,14; $\Delta BI = 15,95$). Sa druge strane, najintenzivnije promene BI u smislu porasta vrednosti nastale su dodatkom ekstrakata rtanjskog čaja i bosiljka. Kao i u slučaju YI, vrednosti BI su za ove uzorke rasle sa koncentracijom dodatog ekstrakta. Najintenzivnije posmeđivanje uzorka nastalo je dodatkom UZM₁₀₀₀ ekstrakata bosiljka (362,76). Ovaj uzorak je i nakon tri i šest meseci imao maksimalnu vrednost BI (BI₃ = 454,28 i BI₆ = 364,15). Za uzorke sa dodatkom ekstrakata se može uočiti da je do trećeg meseca skladištenja došlo do posmeđivanja, da bi vrednosti BI opadale do kraja skladištenja.

Promene BI u slučaju uzoraka sa EU su bile znatno manjeg intenziteta u odnosu na uzorke sa dodatim ekstraktima. Dobijene vrednosti BI su opadale sa vremenom skladištenja kao što je to bio slučaj i sa vrednostima TCD i YI. Intervali vrednosti za BI₀, BI₃ i BI₆ za uzorke sa EU su bili 270,88 – 275,95, 260,85 – 274,83 i 195,78 – 259,07. Na kraju skladištenja su svi uzorci sa EU imali nižu vrednost BI u odnosu na kontrolni uzorak. Vrednosti BI₆, kao i YI₆, za uzorke sa dodatkom EU₂₅₀ korijandera, kima i anisa nisu se značajno razlikovale od vrednosti za uzorak sa BHT.

Do posmeđivanja uzorka dolazi kada vrednost svetloće boje opada a udeo žute i crvene boje rastu (Klimczak i Gliszczyńska-Świgło, 2017). Kako su se za period skladištenja do trećeg meseca parametri boje menjali u navedenom smeru, promena BI za taj period je u saglasnosti sa navedenim. Istovremeno smanjenje svetloće boje i porast udela crvene i žute boje ulja, zabeležen je u slučaju izlaganja ulja visokim temperaturama što ukazuje da u datim uslovima ulja postaju tamnija, crvenija i više žuta u odnosu na sveže ulje (Maskan, 2003; Cardoso-Ugarte i sar., 2013; Aydınkaptan i sar., 2016; Maskan i Horuz, 2017). Povećanje udela crvene boje u toku skladištenja i upotrebe ulja je nepoželjna pojava koja ukazuje na posmeđivanje ulja i degradaciju hlorofila (Maskan, 2003).

Kako su naveli Cardoso-Ugarte i sar. (2013), posmeđivanje ulja je takođe i posledica nakupljanja neisparljivih proizvoda kao što su oksidovani triacilgliceroli i slobodne MK. Budući da je sveže ulje korišćeno za ispitivanje imalo visoku vrednost Kbr, može se pretpostaviti da je posmeđivanje uzoraka u prvom periodu skladištenja delimično posledica i oksidacije prisutnih slobodnih MK.

Tabela 5.24. Vrednosti indeksa posmeđivanja uzoraka određene po dodatku EU i ekstraktata i nakon 3 i 6 meseci skladištenja.

Uzorak	BI ₀	BI ₃	BI ₆	
Rtanjski čaj	SE ₂₅₀	276,36 ± 0,63 ^{ghijk*}	288,54 ± 5,30 ^{hij}	259,88 ± 9,15 ^{klmnopq}
	SE ₅₀₀	285,48 ± 4,48 ^{ef}	294,81 ± 5,41 ^{gh}	288,07 ± 5,87 ^{ef}
	SE ₁₀₀₀	305,13 ± 6,44 ^d	334,93 ± 6,09 ^c	314,33 ± 6,26 ^c
	UZM ₂₅₀	290,93 ± 4,71 ^e	285,29 ± 4,58 ^{ijk}	269,67 ± 7,17 ^{hijkl}
	UZM ₅₀₀	305,54 ± 3,86 ^d	297,28 ± 3,01 ^{fg}	281,37 ± 3,98 ^{fg}
	UZM ₁₀₀₀	345,87 ± 2,62 ^b	321,79 ± 8,36 ^d	307,23 ± 3,85 ^{cd}
	EU ₂₅₀	272,56 ± 4,41 ^{ijkl}	266,18 ± 4,09 ^{opqrst}	240,86 ± 10,60 st
	EU ₅₀₀	272,62 ± 6,55 ^{ijkl}	265,39 ± 4,22 ^{pqrst}	252,04 ± 9,97 ^{pqr}
	EU ₁₀₀₀	272,78 ± 4,52 ^{ijkl}	264,48 ± 4,09 ^{qrst}	259,07 ± 3,73 ^{lmnopq}
Bosiljak	SE ₂₅₀	280,18 ± 2,64 ^{fghi}	280,59 ± 3,40 ^{klm}	277,23 ± 3,26 ^{fghi}
	SE ₅₀₀	301,32 ± 1,43 ^d	307,20 ± 5,98 ^e	293,97 ± 3,14 ^c
	SE ₁₀₀₀	337,75 ± 3,13 ^c	346,53 ± 6,79 ^b	340,49 ± 10,66 ^b
	UZM ₂₅₀	283,46 ± 4,65 ^{efg}	292,57 ± 5,68 ^{ghi}	278,27 ± 4,01 ^{fgh}
	UZM ₅₀₀	301,35 ± 8,50 ^d	304,65 ± 4,18 ^{ef}	296,40 ± 3,06 ^{de}
	UZM ₁₀₀₀	362,76 ± 7,18 ^a	454,28 ± 8,83 ^a	364,15 ± 9,87 ^a
	EU ₂₅₀	275,82 ± 1,66 ^{ghijkl}	262,12 ± 3,03 ^t	249,73 ± 8,45 ^{qrs}
	EU ₅₀₀	272,70 ± 3,30 ^{ijkl}	260,85 ± 0,31 ^t	256,93 ± 3,61 ^{nopq}
	EU ₁₀₀₀	273,11 ± 2,88 ^{ijkl}	263,94 ± 3,77 st	205,65 ± 8,87 ^v
Korijander	SE ₂₅₀	268,99 ± 4,01 ^{kl}	271,60 ± 3,45 ^{nopqr}	264,45 ± 4,03 ^{klmno}
	SE ₅₀₀	274,37 ± 0,39 ^{hijkl}	280,34 ± 3,07 ^{klm}	265,85 ± 4,20 ^{ijklmn}
	SE ₁₀₀₀	275,55 ± 3,87 ^{hijkl}	290,05 ± 5,98 ^{ghi}	272,63 ± 4,95 ^{ghij}
	UZM ₂₅₀	271,10 ± 0,32 ^{kl}	277,76 ± 4,03 ^{klmn}	263,06 ± 3,95 ^{ijklmno}
	UZM ₅₀₀	258,14 ± 11,40 ^m	273,17 ± 4,07 ^{mno}	257,86 ± 0,29 ^{mnopq}
	UZM ₁₀₀₀	274,20 ± 2,82 ^{hijkl}	276,64 ± 3,33 ^{lmn}	261,19 ± 8,73 ^{klmnop}
	EU ₂₅₀	273,52 ± 3,70 ^{ijkl}	261,17 ± 2,37 ^t	254,55 ± 3,72 ^{opq}
	EU ₅₀₀	275,95 ± 4,92 ^{ghijkl}	264,26 ± 3,99 ^{rst}	257,87 ± 2,45 ^{mnopq}
	EU ₁₀₀₀	275,18 ± 3,65 ^{hijkl}	262,99 ± 3,73 st	230,17 ± 8,71 ^{tu}
Anis	SE ₂₅₀	270,57 ± 4,16 ^{kl}	272,27 ± 2,81 ^{nop}	266,14 ± 4,04 ^{ijklmn}
	SE ₅₀₀	279,63 ± 6,18 ^{fghij}	276,25 ± 0,56 ^{lmn}	270,12 ± 3,74 ^{hijk}
	SE ₁₀₀₀	286,95 ± 4,56 ^{ef}	289,18 ± 4,87 ^{hij}	277,59 ± 4,40 ^{fgh}
	UZM ₂₅₀	268,49 ± 3,34 ^{kl}	271,93 ± 0,24 ^{nopq}	268,21 ± 2,61 ^{hijklm}
	UZM ₅₀₀	269,73 ± 3,61 ^{kl}	274,73 ± 2,74 ^{lmn}	266,18 ± 4,18 ^{ijklmn}
	UZM ₁₀₀₀	273,33 ± 2,57 ^{ijkl}	277,13 ± 3,13 ^{lmn}	270,14 ± 8,28 ^{hijk}
	EU ₂₅₀	275,06 ± 5,04 ^{hijkl}	262,84 ± 3,68 ^t	223,67 ± 8,95 ^u
	EU ₅₀₀	275,03 ± 1,39 ^{hijkl}	274,83 ± 3,50 ^{lmn}	258,28 ± 4,07 ^{mnopq}
	EU ₁₀₀₀	273,08 ± 3,07 ^{ijkl}	264,35 ± 3,89 ^{rst}	256,67 ± 4,34 ^{nopq}
Kim	SE ₂₅₀	268,47 ± 4,26 ^l	266,17 ± 3,63 ^{opqrst}	265,25 ± 4,27 ^{ijklmno}
	SE ₅₀₀	272,38 ± 3,78 ^{ijkl}	275,05 ± 0,82 ^{lmn}	269,66 ± 3,69 ^{hijkl}
	SE ₁₀₀₀	281,41 ± 4,81 ^{fgh}	292,17 ± 3,07 ^{ghi}	278,83 ± 9,34 ^{fgh}
	UZM ₂₅₀	268,61 ± 4,27 ^{kl}	270,50 ± 3,96 ^{nopqrs}	266,52 ± 4,17 ^{ijklm}
	UZM ₅₀₀	270,09 ± 4,12 ^{kl}	275,29 ± 0,68 ^{lmn}	268,22 ± 3,65 ^{hijklm}
	UZM ₁₀₀₀	281,83 ± 4,86 ^{fgh}	281,95 ± 4,77 ^{ijkl}	224,08 ± 8,97 ^u
	EU ₂₅₀	271,94 ± 4,45 ^{ijkl}	264,66 ± 4,04 ^{qrst}	195,78 ± 7,55 ^v
	EU ₅₀₀	272,70 ± 4,34 ^{ijkl}	265,72 ± 3,87 ^{opqrst}	257,37 ± 5,04 ^{mnopq}
	EU ₁₀₀₀	270,88 ± 4,75 ^{kl}	264,27 ± 3,79 ^{rst}	243,43 ± 8,19 ^{rs}
	BHT	275,38 ± 1,55 ^{hijkl}	264,46 ± 3,76 ^{qrst}	257,66 ± 0,67 ^{mnopq}
	HPSU	274,09 ± 3,52 ^{hijkl}	264,53 ± 4,08 ^{qrst}	259,57 ± 3,61 ^{klmnopq}

* različita slova eksponenata u istoj koloni ukazuju na statistički značajne razlike između uzoraka (p < 0,05)

6. ZAKLJUČAK

Prvi deo ove doktorske disertacije obuhvatio je analizu nutritivnih karakteristika i oksidativnog statusa HPSU. Na osnovu dobijenih rezultata, došlo se do sledećih zaključaka:

- Analizom sastava i sadržaja MK utvrđeno je da ispitivano HPSU pripada ulju linolnog tipa. Najzastupljenije MK bile su linolna i oleinska sa udelom 75,8 % odnosno 16,40 %. Udeo SFA, MUFA i PUFA bio je 5,50 %, 17,60 % odnosno 77,40 %. Visok stepen nezasićenosti čini ispitivano ulje visokovrednim. Međutim, visok sadržaj linolne kiseline koja je veoma podložna oksidativnim promena, čini da ispitivanje testiranog ulja predstavlja poseban izazov kada je oksidativna stabilizacija u pitanju.
- Izračunate vrednosti nutritivnih pokazatelja AI, TI i HH (0,03, 0,10 i 31,10, redom) ukazuju da je sastav MK izuzetno povoljan sa fiziološkog i nutritivnog aspekta.
- Analizom sadržaja izomera tokoferola potvrđen je sastav karakterističan za suncokretovo ulje u kome dominira α -tokoferol (97,40 % od ukupno detektovanih). Iako je ispitivanje sprovedeno neposredno nakon presovanja, utvrđeni sadržaj ukupnih tokoferola (22,05 mg/100g) je bio znatno niži od literaturnih navoda za HPSU, što je nepovoljno kako sa fiziološkog tako i sa aspekta održivosti.
- Utvrđeni sadržaj karotenoida bio je $3,51 \pm 0,16$ mg/kg, dok su hlorofili bili zastupljeni sa $0,55 \pm 0,03$ mg feofitina *a*/kg. Udeo ovih komponenata je od značaja za održivost ulja s obzirom da karotenoidi ostvaruju antioksidativno dejstvo, dok hlorofili mogu delovati i kao prooksidansi, zavisno od uslova skladištenja. Međutim, udeo hlorofila je neznatan da bi se njihov uticaj na oksidativnu stabilnost uzeo u razmatranje.
- Vrednosti Kbr i SMK bile su $3,07 \pm 0,06$ mg KOH/g odnosno $1,55 \pm 0,15$. Ovako visoke vrednosti utvrđene neposredno nakon presovanja za HPU ukazuju na intenzivne hidrolitičke promene u samom semenu suncokreta što može biti posledica dužeg skladištenja, visokih vrednosti ravnotežne vlage u semenu, prisustvo nečistoća i slično. Iako je vrednost Kbr niža od vrednosti propisane zakonski propisane, prisustvo slobodnih MK u ovom udelu može se negativno odraziti na oksidativnu stabilnost ulja budući da ispoljavaju prooksidativno dejstvo.
- Oksidativni status svežeg HPSU je izražen preko peroksidnog (Pbr) i anisidinskog (Abr) broja, oksidativne vrednosti (OV) i sadržaja konjugovanih diena (K_{232}) i konjugovanih triena (K_{270}). Vrednosti Pbr, Abr i OV bile su $0,81 \pm 0,05$ mmolO₂/kg, $0,23 \pm 0,01$ odnosno $1,86 \pm 0,11$, dok je sadržaj K_{232} i K_{270} bio $2,31 \pm 0,02$ odnosno $0,15 \pm 0,01$. Dobijeni rezultati ukazuju na nizak stepen oksidativnih promena odnosno da oksidativno kvarenje u semenu i svežem ulju nije nastupilo.

Drugi segment ove doktorske disertacije odnosio se na ispitivanje odabranih lekovitih i začinskih biljaka upotrebljenog za stabilizaciju HPSU. Na osnovu dobijenih rezultata izvedeni su sledeći zaključci:

- Prinos izolovanih EU se kretao od $0,41 \pm 0,09$ % do $5,53 \pm 1,05$ %, koliko je dobijeno za EU bosiljka odnosno kima. Biljne vrste familije Apiaceae imale su veće prinose EU u odnosu na biljke familije Lamiaceae iako se prinos EU korijandera nije statistički značajno razlikovao od prinosa EU rtanjskog čaja i bosiljka ($p < 0,05$).
- Primenom GC-MS i GC-FID instrumentalnih tehnika utvrđeno je da u sastavu EU dominiraju terpeni (mono- i seksviterpeni) i fenilpropanoidi. Kao najzastupljenije isparljive komponente rtanjskog čaja izdvojili su se karvakrol (37,26 %), timol (15,63 %) i *p*-cimen

(9,09 %). Linalol (40,97 %), (+)-epi-bicikloheksifenilol (8,70 %) i metil-havikol (7,92 %) su bile najzastupljenije komponente EU bosiljka. U hemijskom sastavu EU korijandera i anisa kao dominantne komponente izdvojili su se linalol (64,28 %) odnosno *trans*-anetol (90,46 %), dok su komponente sa najvećim udjelom u sastavu EU kima bile D-karvon (57,43 %) i D-limonen (39,91 %).

- Prinosi etanolnih ekstrakata kretali su se od 7,95 do 38,01 % koliko je utvrđeno za UZM₉₆ ekstrakt bosiljka odnosno SE₇₀ ekstrakt anisa. Bez obzira na biljnu vrstu i metod ekstrakcije, veći prinosi su dobijeni primenom 70 % rastvora etanola među kojima je najveći prinos imao anis (38,01 % i 19,04 % za SE, odnosno UZM metod ekstrakcije). Takođe, za svaku ispitivanu biljnu vrstu, pokazalo se da je SE metod dao veće prinose, a koji su bili u opsegu od 16,58 do 38,01 % u slučaju SE₉₆ ekstrakta korijandera odnosno SE₇₀ ekstrakta anisa.
- Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u ekstraktima se kretao od 25,32 ± 0,64 mg GAE/g do 189,53 ± 1,70 mg GAE/g. Najviše vrednosti su dobijene za ekstrakte rtanjskog čaja dok su najniže određene u ekstraktima korijandera. Sadržaj flavonoida se kretao od 0,90 ± 0,19 mg QE/g do 67,44 ± 1,72 mg QE/g, koliko je izmereno za UZM₉₆ ekstrakt korijandera, odnosno SE₉₆ ekstrakt bosiljka. Biljke familije Lamiaceae su pokazale viši sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u odnosu na proučavane biljke familije Apiaceae.
- U slučaju spektrofotometrijskih metoda za određivanje antioksidativne aktivnosti, redosled koji su pokazala EU bio je: rtanjski čaj > bosiljak > anis > kim > korijander, dok se EU bosiljka pokazalo kao najaktivnije kada je u pitanju polarografska metoda, pa je redosled na osnovu aktivnosti utvrđene ovom metodom bio: bosiljak > rtanjski čaj > anis > kim > korijander. U odnosu na testirane standarde BHT i BHA, EU su ispoljila slabiju aktivnost. Sa druge strane, rezultati antioksidativne aktivnosti ekstrakata ukazuju da je aktivnost ekstrakata rtanjskog čaja i bosiljka, kada su u pitanju DPPH i β-CB test, uporediva ili viša u odnosu na testirane standarde. Generalno, biljke familije Lamiaceae je pokazalo veći antioksidativni potencijal u odnosu na ispitivane biljke familije Apiaceae što je u saglasnosti sa sadržajem ukupnih fenolnih jedinjenja. Utvrđena je jaka pozitivna korelacija između testova korišćenih za ispitivanje antioksidativnog dejstva i sadržaja fenolnih komponenti ($r = 0,681 - 0,982$). Takođe, ekstrakti su se pokazali kao znatno aktivniji u odnosu na EU. Među njima, ekstrakti dobijeni primenom 70 % rastvora etanola su kao najaktivniji odabrani za dalja ispitivanja. Uticaj ekstrakcione metode je bio manje izražen od uticaja primenjenog rastvarača, ali se generalno može zaključiti da su ekstrakti dobijeni primenom SE i 70 % rastvora etanola pokazali najveći antioksidativni potencijal.
- Antibakterijska aktivnost je ispitana mikrodilucionom metodom prema odabranim sojevima patogenih bakterija poreklom iz hrane. Na osnovu dobijenih rezultata, utvrđeno je da EU imaju jače antibakterijsko dejstvo u odnosu na ekstrakte. *S. aureus* se pokazala kao najmanje otporna bakterija od svih testiranih kako prema dejstvu EU tako i ekstrakata. Najefikasnije u suzbijanju ove bakterije se pokazalo EU kima (MIC = 0,0024 mg/mL). Prema *L. monocytogenes* najjače inhibitorno dejstvo su pokazala EU rtanjskog čaja i anisa (MIC = 0,039 mg/mL), koja su takođe bila i najefikasnija prema *E. coli* (MIC = 2,5 mg/mL). Među ekstraktima kao najefikasniji inhibitor kako Gram-pozitivnih tako i Gram-negativnih bakterija izdvojili su se ekstrakti rtanjskog čaja. SE₇₀ ekstrakt rtanjskog čaja je ispoljio inhibitorni i baktericidni efekat prema *S. Typhimurium* (MIC = MBC = 1,25 mg/mL) što su zapravo bile i najniže vrednosti za MIC i MBC u slučaju ovog bakterijskog soja.

Treći, ujedno i ključni segment ove doktorske disertacije bio je usmeren na ispitivanje oksidativne stabilnosti HPSU sa dodatkom EU i ekstrakata odabranih vrsta lekovitih i začinskih biljaka. U tu svrhu su primenjena tri testa - Rancimat, Schaal oven i DSC test. Takođe, ovaj deo je obuhvatio i praćenje oksidativnog statusa uzoraka u toku višemesečnog skladištenja na sobnoj temperaturi i bez prisustva svetlosti. Uzorci ulja, pripremljeni dodavanjem EU i odabranih ekstrakata u više koncentracija, ispitivani su u odnosu na kontrolne (uzorak sa BHT i bez dodataka). Kako dodatak EU i ekstrakata lekovitih i začinskih biljaka neminovno izaziva promenu senzornih

karakteristika, urađena je detaljna senzorna analiza. Pored senzorne ocene od strane panelista, boja uzoraka je izmerena instrumentalnim putem primenom kompjuterskog vizuelnog sistema (CVS) i to po dodatku EU i ekstrakata, kao i nakon tri i šest meseci skladištenja.

- Rezultati ispitivanja oksidativne stabilnosti Rancimat testom ukazuju da je dodatak ekstrakata ispoljio jači stabilizujući efekat u odnosu na EU ($IP = 7,29 - 10,19$). Sa izuzetkom ekstrakta korijandera, koji je pri najvišoj koncentraciji ispoljio blagi prooksidativni efekat, dodatkom ekstrakata dobijene su više vrednosti indukcionog perioda u odnosu na kontrolni uzorak bez dodataka ($IP_{HPSU} = 7,42$ h). Svi uzorci sa dodatkom ekstrakata anisa i kima su imali duži indukcioni period od uzorka sa BHT ($IP_{BHT} = 9,26$ h). Dodata EU su imala znatno slabiji učinak ($IP = 6,93 - 8,26$ h). Oksidativna stabilnost uzoraka sa dodatkom rtanjskog čaja i bosiljka je rasla sa povećanjem koncentracije dok sa uzorcima kojima su dodati korijander, anis odnosno kim to nije bio slučaj. Dodatak EU biljaka familije Apiaceae pri višim koncentracijama nije imao efekat ili je ostvareno blago prooksidativno dejstvo. Na osnovu dobijenih rezultata može se konstatovati da su u uslovima Rancimat testa potvrđeni preliminarni rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti, odnosno da su neisparljive komponente proučavanih lekovitih i začinskih biljaka zastupljene u ekstraktima efikasniji antioksidativni agensi u odnosu na isparljive komponente EU.
- U uslovima Schaal oven testa u trajanju od dvanaest dana, analizirani su Pbr, Abr, OV, K_{232} i K_{270} . Kod svih uzoraka je došlo do povećanja sadržaja primarnih i sekundarnih proizvoda oksidacije s tim da je oksidativno kvarenje bilo najizraženije u slučaju uzorka bez dodataka. Jači stabilizujući efekat dodatih ekstrakata u odnosu na EU je i pri ovom testu uočljiv, s tim da je kod svih uzoraka konstantovan nagli porast vrednosti svih praćenih parametara nakon osmog dana testa.
- Kao što je to bio slučaj sa drugim testovima oksidativne stabilnosti, i DSC testom je potvrđena veća efikasnost ekstrakata u stabilizaciji ispitivanog ulja. Dodatkom ekstrakata oksidacija je nastupila kasnije tj. na višoj temperaturi i u tome su najefikasniji bili ekstrakti rtanjskog čaja i bosiljka. Među EU, koja su bila manje delotvorna, sa najvišom početnom temperaturom oksidacije izdvojio se bosiljak. Ovaj test je pokazao dobru korelaciju sa DPPH i FRAP testom i sadržajem ukupnih fenolnih jedinjenja ($r = 0,715 - 0,762$).
- Praćenjem parametara oksidativnog statusa (Pbr, Abr, OV, K_{232} i K_{270}) uzoraka skladištenih u toku šest meseci na sobnoj temperaturi bez prisustva svetlosti moglo se uočiti da je došlo do formiranja kako primarnih tako i sekundarnih proizvoda oksidacije kod svih uzoraka, ali različitim dinamikom. Na osnovu vrednosti Pbr, Abr i OV, može se zaključiti da je do naglog pada kvaliteta došlo nakon četiri meseca skladištenja u slučaju uzoraka sa dodatkom EU, odnosno nakon pet meseci, kada su u pitanju uzorci sa dodatkom ekstrakata. Ukoliko se posmatra sadržaj K_{232} i K_{270} , može se uočiti da dodatak EU i ekstrakata nije imao značajniji efekat na sprečavanje procesa oksidacije. Ovde se, kao i u slučaju ostalih parametara koji su praćeni u ovom delu istraživanja, može konstatovati da su rtanjski čaj i bosiljak ispoljili najjači stabilizujući efekat što je u skladu da preliminarnim ispitivanjima antioksidativnog dejstva proučavanih biljaka.
- Rezultati senzorne analize ukazuju da je prosečna ocena za svako senzorno svojstvo bila viša u slučaju uzoraka sa dodatkom EU. Značajna razlika koja se javila u karakterizaciji uzoraka na osnovu boje proizilazi iz činjenice da je dodatak ekstrakata čak i pri najnižoj koncentraciji doveo do promene boje, dok su uzorci sa dodatkom EU, bez obzira na primenjenu koncentraciju, zadržali zlatno – žutu boju karakterističnu za HPSU. Kako su pri ocenjivanju mirisa kao senzornog svojstva najviše ocene dodeljene uzorcima sa bosiljkom i korijanderom, može se zaključiti da je dodatak biljaka bogatih linalolom kao glavnom komponentom EU bio najbolje prihvaćen od strane panelista. Ukus na sirovinu, koji je karakterističan za HPU, ostao je dominantan kod svih uzoraka. U slučaju uzoraka sa ekstraktima pri najnižoj koncentraciji dodatak za pojedine uzorke je bio neprepoznatljiv, dok

- je ukus uzoraka kojima su u najvećoj koncentraciji dodata EU, ocenjen kao previše intenzivan.
- Na osnovu rezultata merenja boje instrumentalnom CVS tehnikom može se zaključiti da je dodatak ekstrakata značajno uticao na promenu boje ulja pri čemu je u slučaju rtanjskog čaja i bosiljka promena bila najjačeg intenziteta. Ekstrakti korijandera, kima i anisa su takođe izazvali promenu, ali nije bila toliko intenzivna i nije zavisila od koncentracije dodatog ekstrakta. Uticaj koncentracije dodatih EU nije bio od statističkog značaja za izračunate vrednosti pokazatelja boje. Vrednosti ukupne promene boje uzoraka sa dodatkom EU kao i kontrolnih uzoraka se uvećavala sa vremenom skladištenja, dok su vrednosti indeksa žute boje i posmeđivanja opadale. Rezultati ukupne promene boje uzoraka sa dodatim ekstraktima, kao i izračunati indeksi, vrlo su heterogeni i uglavnom su pokazali maksimalnu vrednost nakon tri meseca skladištenja.

Rezultati ove disertacije predstavljaju doprinos ispitivanju odabranih vrsta lekovitih i začinskih biljaka i njihove potencijalne primene u uljarstvu kao posebnoj grani prehrambene industrije. Dokazano antioksidativno i antibakterijsko dejstvo potvrđuje pretpostavku da ove biljke predstavljaju delotvorne agense koji su zdravija i ekološki prihvatljivija zamena sintetičkim aditivima koji se primenjuju u prehrambenoj industriji. Kako se na domaćem tržištu već mogu naći ulja aromatizovana lekovitim i začinskim biljkama, rezultati ove disertacije mogu biti upotrebljeni za proširenje proizvodnog asortimana budući da pored željenih senzornih karakteristika „nova ulja“ imaju i produžen rok trajanja.

7. LITERATURA

- Aazza, S., Lyoussi, B., Miguel, M.G. (2011): Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds. *Molecules*, 16(9), 7672–7690.
- Aćimović, M. (2014): Korijandar (*Coriandrum sativum* L.). Zadužbina Andrejević, Beograd.
- Aćimović, M. (2015): Anis (*Pimpinella anisum* L.). Zadužbina Andrejević, Beograd.
- Aćimović, M., Oljača, S., Tešević, V., Todosijević, M., Đisalov, J. (2014): Evaluation of caraway essential oil from different production areas of Serbia. *Horticultural Science*, 41(3), 122–130.
- Aćimović, M., Todosijević, M., Varga, A., Kiproovski, B., Tešević, V., Čabarkapa, I., Sikora, V. (2019): Bioactivity of essential oils from cultivated winter savory, sage and hyssop. *Lekovite sirovine*, 39, 11–17.
- Aćimović, M.G, Cvetković, M.T., Stanković, J.M., Mandić, A.I., Todosijević, M.M. (2017): Influence of Apiaceae essential oils on oxidative stability of cold pressed pumpkin oil. *Uljarstvo*, 48(1), 9–16.
- Adams, R. P. (2007): Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Vol. 456). Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.
- Adigüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Ögütcü, H., Şahin, F., Karaman, İ. (2005): Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract. *Turkish Journal of Biology*, 29(3), 155–160.
- Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S., Ahmad, A., Santha Kumar, T.R., Gupta, V.K., Kumar, S. (2002): Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(1), 59–63.
- Aguirre, M.R., Ruiz-Méndez, M.V., Velasco, L., Dobarganes, M.C. (2012): Free sterols and steryl glycosides in sunflower seeds with high phytosterol contents. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(10), 1212–1216.
- Aguirre, M.R., Velasco, J., Ruiz-Méndez, M.V. (2014): Characterization of sunflower oils obtained separately by pressing and subsequent solvent extraction from a new line of seeds rich in phytosterols and conventional seeds. *OCL*, 21(6), D605.
- Ahsan, H., Ahad, A., Iqbal, J., Siddiqui, W.A. (2014): Pharmacological potential of tocotrienols: A Review. *Nutrition Metabolism*, 11(1), 1–22.
- Ahsan, H., Ahad, A., Siddiqui, W.A. (2015): A review of characterization of tocotrienols from plant oils and foods. *Journal of Chemical Biology*, 8(2), 45–59.
- Akçar, H.H., Gümüşkesen, A.S. (2011): Sensory evaluation of flavored extra virgin olive oil. *GIDA*, 36(5), 249–253.
- Aktas, M., Danne, L., Möller, P., Narberhaus, F. (2014): Membrane lipids in *Agrobacterium tumefaciens*: biosynthetic pathways and importance for pathogenesis. *Frontiers in Plant Science*, 5, 109.

- Aladedunye, F., Przybylski, R. (2013): Frying stability of high oleic sunflower oils as affected by composition of tocopherol isomers and linoleic acid content. *Food Chemistry*, 141(3), 2373–2378.
- Alimpić, A., Pljevljakušić, D., Šavikin, K., Knežević, A., Čurčić, M., Veličković, D., Stević, T., Petrović, G., Matevski, V., Vukojević, J., Marković, S., Marin, P., Duletić-Laušević, S. (2015): Composition and biological effects of *Salvia ringens* (Lamiaceae) essential oil and extracts. *Industrial Crops and Products*, 76, 702–709.
- Almoselhy, R.I. (2020): Applications of Differential Scanning Calorimetry (DSC) in Oils and Fats Research. A Review. *American Research Journal of Agriculture*, 6(1), 1–9.
- Alrasheid, A.A., Abdallah, B.S., Ali, A.O. (2018): In Vitro Antimicrobial Activity and GC-MS Analysis of Seed Extracts from *Pimpinella anisum* L. *Journal of Drug Design and Medicinal Chemistry*, 4(2), 16–21.
- Amany, M.B., Shereen, L.N., Eman, A.M., Shaker, M.A. (2012): Use of medicinal and aromatic plants for increasing quality of some bakery products. *International Science and Investigation Journal*, 1(1), 1–23.
- Anastasi, U., Santonoceto, C., Giuffrè, A. M., Sortino, O., Gresta, F., Abbate, V. (2010): Yield performance and grain lipid composition of standard and oleic sunflower as affected by water supply. *Field Crops Research*, 119(1), 145–153.
- Anastasopoulou, E., Graikou, K., Ganos, C., Calapai, G., Chinou, I. (2020): *Pimpinella anisum* seeds essential oil from Lesbos island: Effect of hydrodistillation time, comparison of its aromatic profile with other samples of the Greek market. *Safe use. Food and Chemical Toxicology*, 135, 110875.
- Antić, M., Ilić, A., Alimpić Aradski, A., Duletić-Laušević, S., Tosti, T., Šolević Knudsen, T., Rabrenović B. (2018). Effect of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil and ethanolic extracts on the oxidative stability of cold-pressed sunflower oil in accelerated storage conditions. UNIFood Conference, October 5–6, University of Belgrade. Programme and Book of Abstracts, ISBN 978-86-7522-060-2.
- Anwar, F., Jamil, A., Iqbal, S., Sheikh, M.A. (2006): Antioxidant activity of various plant extracts under ambient and accelerated storage of sunflower oil. *Grasas y Aceites*, 57(2), 189–197.
- Anwar, F., Sulman, M., Hussain, A.I., Saari, N., Iqbal, S., Rashid, U. (2011): Physicochemical composition of hydro-distilled essential oil from coriander (*Coriandrum sativum* L.) seeds cultivated in Pakistan. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(15), 3537–3544.
- AOCS Cd-12b (1992): American Oil Chemists' Society. Sampling and analysis of commercial fats and oils; Oil Stability Index.
- Araújo, S.G., Alves, L.F., Pinto, M.E.A., Oliveira, G.T., Siqueira, E.P., Ribeiro, R.I., Ferreira, J.M.S., Lima, L.A. (2014): Volatile compounds of Lamiaceae exhibit a synergistic antibacterial activity with streptomycin. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(4), 1341–1347.
- Arawande, J.O. (2018): Comparison of antioxidative potentials of methanol sweet basil (*Ocimum basilicum*) extract and butylatedhydroxytoluene on stability of refined soybean oil. *Journal of Food Technology and Preservation*, 2(2), 11–6.
- Assami, K., Chemat, S., Meklati, B.Y., Chemat, F. (2016): Ultrasound-assisted aromatisation with condiments as an enabling technique for olive oil flavouring and shelf life enhancement. *Food Analytical Methods*, 9(4), 982–990.

- Ayadi, M. A., Grati-Kamoun, N., Attia, H. (2009): Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10), 2613–2619.
- Aydinkaptan, E., Mazi, B.G., Barutçu Mazi, I. (2017): Microwave heating of sunflower oil at frying temperatures: effect of power levels on physicochemical properties. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12402.
- Ayerdi-Gotor, A., Berger, M., Labalette, F., Centis, S., Daydé, J., Calmon, A. (2014): Oleic conversion effect on the tocopherol and phytosterol contents in sunflower oil. *Phyton, International Journal of Experimental Botany*, 83(2), 319–324.
- Azadmard-Damirchi, S., Habibi-Nodeh, F., Hesari, J., Nemati, M., Achachlouei, B.F. (2010): Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. *Food Chemistry*, 121(4), 1211–1215.
- Babaei, S., Moradi, A., Hosseinikia, M., Zaveleh, O.M., Amiri, Z., Sohrabi, N. (2018): Evaluation of the antimicrobial effects of *Satureja montana* essential oil alone and in combination with Nisin on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, 6(2), 54.
- Babakhani, B., Rahdari, P., Hosseini, B.S.A., Koochi, A. (2016): The effects of solvent type and extraction method on phenolics content and antibacterial and antioxidant properties of Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) extract. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology*, 6(2), 725–733.
- Babushok, V.I., Linstrom, P.J., Zenkevich, I.G. (2011): Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40(4), 043101.
- Bag, A., Chattopadhyay, R. R. (2015): Evaluation of synergistic antibacterial and antioxidant efficacy of essential oils of spices and herbs in combination. *PloS one*, 10(7), e0131321.
- Baiano, A., Previtali, M.A., Viggiani, I., Varva, G., Squeo, G., Paradiso, V. M., Summo, C., Gomes, T., Caponio, F. (2016): As oil blending affects physical, chemical, and sensory characteristics of flavoured olive oils. *European Food Research and Technology*, 242(10), 1693–1708.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
- Baldim, J.L., Silveira, J.G.F., Almeida, A.P., Carvalho, P.L.N., Rosa, W., Schripsema, J., Chagas-Paula, D.A., Soares, M.G., Luiz, J.H.H. (2018): The synergistic effects of volatile constituents of *Ocimum basilicum* against foodborne pathogens. *Industrial Crops and Products*, 112, 821–829.
- Bamdad, F., Kadivar, M., Keramat, J. (2006): Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *International Journal of Food Science Technology*, 41, 20–27.
- Bandonienė, D., Venskutonis, P.R., Gruzdienė, D., Murković, M. (2002): Antioxidative activity of sage (*Salvia officinalis* L.), savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borago officinalis* L.) extracts in rapeseed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(5), 286–292.

- Barriuso, B., Astiasarán, I., Ansorena, D. (2013): A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *European Food Research and Technology*, 236(1), 1–15.
- Barros, L., Duenas, M., Dias, M.I., Sousa, M.J., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C. (2012): Phenolic profiles of *in vivo* and *in vitro* grown *Coriandrum sativum* L. *Food Chemistry*, 132(2), 841–848.
- Bayala, B., Bassole, I.H.N., Gnoula, C., Nebie, R., Yonli, A., Morel, L., Figueredo, G., Nikiema, Jean-Baptiste, Lobaccaro, J.M., Simporé, J. (2014): Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. *PLoS one*, 9(3), e92122.
- Bazargani, M. M., Rohloff, J. (2016): Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms. *Food Control*, 61, 156–164.
- Beatović, D., Krstić-Milošević, D., Trifunović, S., Šiljegović, J., Glamočlija, J., Ristić, M., Jelačić, S. (2015): Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of twelve *Ocimum basilicum* L. cultivars grown in Serbia. *Records of Natural Products*, 9(1), 62.
- Begić, M., Nezirević-Nizić, E., Čorbo, S., Podrug, S., Ašimović, Z., Muminović, Š. (2019): Fatty Acid Composition and Stability of Cold-Pressed Vegetable Oils. In *Scientific-Experts Conference of Agriculture and Food Industry* (pp. 303–312). Springer, Cham.
- Belayneh, H.D., Wehling, R.L., Cahoon, E.B., Ciftci, O.N. (2017): Effect of extraction method on the oxidative stability of Camelina seed oil studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, 82(3), 632–637.
- Ben-Ali, M., Dhoub, K., Damak, M., Allouche, N. (2014): Stabilization of sunflower oil during accelerated storage: use of basil extract as a potential alternative to synthetic antioxidants. *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1547–1559.
- Bendini, A., Barbieri, S., Valli, E., Buchecker, K., Canavari, M., Toschi, T.G. (2011): Quality evaluation of cold pressed sunflower oils by sensory and chemical analysis. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(11), 1375–1384.
- Benedec, D., Hanganu, D., Oniga, I., Tiperciuc, B., Olah, N.K., Raita, O., Bischin, C., Silaghi-Dumitrescu, R., Vlase, L. (2015): Assessment of rosmarinic acid content in six Lamiaceae species extracts and their antioxidant and antimicrobial potential. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(6), 2297–2303.
- Benedec, D., Oniga, I., Oprean, R., Tamas, M. (2009): Chemical composition of the essential oils of *Ocimum basilicum* L. cultivated in Romania. *Farmacia*, 57(5), 625–629.
- Benedec, D., Vlase, L., Hanganu, D., Oniga, I. (2012): Antioxidant potential and polyphenolic content of Romanian *Ocimum basilicum*. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7(3), 1263–1270.
- Benelli, G., Pavela, R., Iannarelli, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Cianfaglione, K., Afsar, F.H., Nicoletti, M., Canale, A., Maggi, F. (2017): Synergized mixtures of Apiaceae essential oils and related plant-borne compounds: larvicidal effectiveness on the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say. *Industrial Crops and Products*, 96, 186–195.
- Benkhoud, H., M'Rabet, Y., Gara Ali, M., Mezni, M., Hosni, K. (2021): Essential oils as flavoring and preservative agents: Impact on volatile profile, sensory attributes, and the oxidative

- stability of flavored extra virgin olive oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, e15379.
- Benmoussa, H., Farhat, A., Elfalleh, W., Di Maio, I., Servili, M., Romdhane, M. (2017): A Rapid Application to Flavor the Olive Oil with Dried *Rosmarinus officinalis* L. Leaves: Microwave-Assisted Maceration. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), e12885.
- Benzie, I.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power“: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70–76.
- Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Aidi Wannas, W., Hamrouni Selami, I., Saidani Tounsi, M., Marzouk, B., Fauconnier, M.L., Ksouri, R. (2018): Comparative assessment of phytochemical profiles and antioxidant properties of Tunisian and Egyptian anise (*Pimpinella anisum* L.) seeds. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 152(5), 971–978.
- Bezbradica, D. I., Tomović, J.M., Vukašinović, M.S., Šiler-Marinković, S., Ristić, M.M. (2005): Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Satureja montana* L. collected in Serbia and Montenegro. *Journal of Essential Oil Research*, 17(4), 462–465.
- Bezić, N., Šamanić, I., Dunkić, V., Besendorfer, V., Puizina, J. (2009): Essential oil composition and internal transcribed spacer (ITS) sequence variability of four South-Croatian *Satureja* species (Lamiaceae). *Molecules*, 14(3), 925–938.
- 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.
- Blekas, G., Boskou, D. (2016): Phytosterols and frying oils. *Frying of food: oxidation, nutrient and non-nutrient antioxidants, Biologically Active Compounds and High Temperatures*, 225.
- Blois, M.S. (1958): Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.
- Bosko, R., Vagnerova, L., Pluhackova, H., Sofrova, J., Smirous, P. (2016): The variability of caraway (*Carum carvi* L.) essential oils. *MendelNet*, 23, 30–34.
- 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*, 61(3).
- Bukvički, D., Stojković, D., Soković, M., Vannini, L., Montanari, C., Pejin, B., Savić, A., Veljić, M., Grujić, S., Marin, P.D. (2014): *Satureja horvatii* essential oil: *In vitro* antimicrobial and antiradical properties and in situ control of *Listeria monocytogenes* in pork meat. *Meat Science*, 96(3), 1355–1360.
- Bulut, S., Popović, S., Hromiš, N., Šuput, D., Lazić, V., Kocić-Tanackov, S., Dimić, G., Kravić, S. (2020): Antibacterial activity of biopolymer composite materials obtained from pumpkin oil cake and winter savory or basil essential oil against various pathogenic bacteria. *Journal of Food Nutrition Research*, 59(3).
- Burdock, G.A., Carabin, I.G. (2009): Safety assessment of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 22–34.
- Burt, S. (2004): Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.

- Çakaloğlu, B., Özyurt, V.H., Ötleş, S. (2018): Cold press in oil extraction. A review. *Ukrainian Food Journal*, 7(4), 640–654.
- Cao, X.Z., You, J.M., Li, S.X., Zhang, Y.L. (2012): Antimicrobial Activity of the Extracts from *Coriandrum sativum*. *International Journal of Food Nutrition and Safety*, 1(2), 54–9.
- Cardoso-Ugarte, G.A., Morlán-Palmas, C.C., Sosa-Morales, M.E. (2013): Effect of the addition of basil essential oil on the degradation of palm olein during repeated deep frying of french fries. *Journal of Food Science*, 78(7), C978–C984.
- Carocho, M., Barros, L., Barreira, J.C., Calhella, R.C., Soković, M., Fernández-Ruiz, V., Celestino, S.B., Morales, P., Ferreira, I.C. (2016): Basil as functional and preserving ingredient in „Serra da Estrela“ cheese. *Food Chemistry*, 207, 51–59.
- Carović-Stanko, K., Orlić, S., Politeo, O., Strikić, F., Kolak, I., Miloš, M., Šatović, Z. (2010): Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. *Food Chemistry*, 119(1), 196–201.
- Carramiñana, J.J., Rota, C., Burillo, J., Herrera, A. (2008). Antibacterial efficiency of Spanish *Satureja montana* essential oil against *Listeria monocytogenes* among natural flora in minced pork. *Journal of Food Protection*, 71(3), 502–508.
- Celenk, V.U., Gumus, Z.P., Argon, Z.U., Buyukhelvacigil, M., Karasulu, E. (2018): Analysis of chemical compositions of 15 different cold-pressed oils produced in Turkey: a case study of tocopherol and fatty acid analysis. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 5(1), 1–18.
- Chambre, D.R., Moisa, C., Lupitu, A., Copolovici, L., Pop, G., Copolovici, D.M. (2020): Chemical composition, antioxidant capacity, and thermal behavior of *Satureja hortensis* essential oil. *Scientific Reports*, 10(1), 1–12.
- Chemat, F., Vian, M. A., Cravotto, G. (2012): Green extraction of natural products: concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 8615-8627.
- Chen, B., McClements, D.J., Decker, E.A. (2011): Minor components in food oils: a critical review of their roles on lipid oxidation chemistry in bulk oils and emulsions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(10), 901–916.
- Chew, S.C. (2020): Cold-pressed rapeseed (*Brassica napus*) oil: Chemistry and functionality. *Food Research International*, 131, 108997.
- Choe, E., Min, D.B. (2006): Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4), 169–186.
- Chouhan, S., Sharma, K., Guleria, S. (2017): Antimicrobial activity of some essential oils-present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- Christova-Bagdassarian, V.L., Bagdassarian, K.S., Atanassova, M.S. (2013b): Phenolic compounds and antioxidant capacity in Bulgarian plans (dry seeds). *International Journal of Advanced Research*, 1(9), 186–197.
- Christova-Bagdassarian, V.L., Bagdassarian, K.S., Atanassova, M.S. (2013a): Phenolic profile: antioxidant and antibacterial activities from the Apiaceae family (dry seeds). *Mintage Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences*, 2, 26–31.
- Christova-Bagdassarian, V.L., Bagdassarian, K.S., Atanassova, M.S., Ahmad, M.A. (2014): Comparative analysis of total phenolic and total flavonoid contents, rutin, tannins and

- antioxidant capacity in Apiaceae and Lamiaceae families. *Indian Horticulture Journal*, 4(3/4), 131–140.
- Chrpová, D., Kouřimská, L., Gordon, M.H., Heřmanová, V., Roubíčková, I., Panek, J. (2010): Antioxidant activity of selected phenols and herbs used in diets for medical conditions. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(4), 317–325.
- Chrysargyris, A., Xylia, P., Botsaris, G., Tzortzakis, N. (2017): Antioxidant and antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels. *Industrial Crops and Products*, 103, 202–212.
- Ciemniewska-Żytkiewicz, H., Ratusz, K., Bryś, J., Reder, M., Koczoń, P. (2014): Determination of the oxidative stability of hazelnut oils by PDSC and Rancimat methods. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 118(2), 875–881.
- Codex Alimentarius. Standard for Named Vegetable Oils. CODEX-STAN 210-1999 (revision 3, amendment 3); WHO/FAO: Rome, Italy, 2013
- Coelho, J., Veiga, J., Karmali, A., Nicolai, M., Pinto Reis, C., Nobre, B., Palavra, A. (2018): Supercritical CO₂ extracts and volatile oil of basil (*Ocimum basilicum* L.) comparison with conventional methods. *Separations*, 5(2), 21.
- Conte, L., Milani, A., Calligaris, S., Rovellini, P., Lucci, P., Nicoli, M.C. (2020): Temperature dependence of oxidation kinetics of extra virgin olive oil (EVOO) and shelf-life prediction. *Foods*, 9(3), 295.
- Cordeiro, A.M.T.M., Medeiros, M.L., Silva, M.A.A.D., Silva, I.A.A., Soledade, L.E.B., Souza, A.L., Querioz, N., Souza, A.G. (2013): Rancimat and PDSC accelerated techniques for evaluation of oxidative stability of soybean oil with plant extracts. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 114(2), 827–832.
- Coşkun, Y., Karababa, E. (2007): Physical properties of coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Food Engineering*, 80(2), 408–416.
- Crupkin, M., Zambelli, A. (2008): Detrimental impact of trans fats on human health: Stearic acid-rich fats as possible substitutes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7(3), 271–279.
- Czaplicki, S., Ogrodowska, D., Derewiaka, D., Tańska, M., Zadernowski, R. (2011): Bioactive compounds in unsaponifiable fraction of oils from unconventional sources. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(12), 1456–1464.
- Ćavar Zeljković, S. Ć., Topčagić, A., Požgan, F., Štefane, B., Tarkowski, P., Maksimović, M. (2015): Antioxidant activity of natural and modified phenolic extracts from *Satureja montana* L. *Industrial Crops and Products*, 76, 1094–1099.
- Ćavar, S., Maksimović, M., Šolić, M.E., Jerković-Mujkić, A., Bešta, R. (2008): Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chemistry*, 111(3), 648–653.
- Ćavar, S., Šolić, M.E., Maksimović, M. (2013): Chemical composition and antioxidant activity of two *Satureja* species from Mt. Biokovo. *Botanica Serbica*, 37(2), 159–165.
- Ćetković, G.S., Mandić, A.I., Čanadanović-Brunet, J.M., Djilas, S.M., Tumbas, V.T. (2007): HPLC screening of phenolic compounds in winter savory (*Satureja montana* L.) extracts. *Journal of Liquid Chromatography Related Technologies*, 30(2), 293–306.

- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., Ibrić, S. (2016): Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, 194, 135–142.
- Damjanović-Vratnica, B., Perović, A., Šuković, D., Perović, S. (2011): Effect of vegetation cycle on chemical content and antibacterial activity of *Satureja montana* L. *Archives of Biological Sciences*, 63(4), 1173–1179.
- Damjanović-Vratnica, B., Perović, S., Lu, T., Santos, R. (2016): Effect of matrix pretreatment on the supercritical CO₂ extraction of *Satureja montana* essential oil. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 22(2), 201–209.
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R., van Beek, T.A., Linssen, J.P. (1998): Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(1), 140–146.
- Darughe, F., Barzegar, M., Sahari, M.A. (2012): Antioxidant and antifungal activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil in cake. *International Food Research Journal*, 19(3), 1253–1260.
- Dawidowicz, A. L., Olszowy, M. (2014): Does antioxidant properties of the main component of essential oil reflect its antioxidant properties? The comparison of antioxidant properties of essential oils and their main components. *Natural Product Research*, 28(22), 1952–1963.
- de Almeida, L.F.R., Frei, F., Mancini, E., De Martino, L., de Feo, V. (2010): Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. *Molecules*, 15(6), 4309–4323.
- de Figueiredo, A.K., Fernández, M.B., Nolasco, S.M. (2019): Extraction of high stearic high oleic sunflower oil (HSHO): Effect of dehulling and hydrothermal pretreatment. *Journal of Food Engineering*, 240, 49–55.
- de Leonardis, A., Macciola, V., di Rocco, A. (2003): Oxidative stabilization of cold-pressed sunflower oil using phenolic compounds of the same seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(6), 523–528.
- de Oliveira, T.L.C., de Araújo Soares, R., Ramos, E.M., das Graças Cardoso, M., Alves, E., Piccoli, R.H. (2011): Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *International Journal of Food Microbiology*, 144(3), 546–555.
- de Oliveira, T.L.C., de Carvalho, S.M., de Araújo Soares, R., Andrade, M.A., das Graças Cardoso, M., Ramos, E.M., Piccoli, R. H. (2012): Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *LWT-Food Science and Technology*, 45(2), 204–212.
- Dedebas, T., Ekici, L., Sagdic, O. (2021): Chemical characteristics and storage stabilities of different cold-pressed seed oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(2), e15107.
- Dent, M., Dragović-Uzelac, V., Penić, M., Bosiljkov, T., Levaj, B. (2013): The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. *Food Technology and Biotechnology*, 51(1), 84–91.
- Dima, C., Cotarlet, M., Tiberius, B., Bahrim, G., Alexe, P., Dima, S. (2014): Encapsulation of coriander essential oil in beta-cyclodextrin: antioxidant and antimicrobial properties evaluation. *Romanian Biotechnological Letters*, 19(2), 9128–9140.
- Dimić, E. (2005): Hladno ceđena ulja, Tehnološki fakultet, Novi Sad.

- Dimić, E., Premović, T., Takači, A. (2012a). Effects of the contents of impurities and seed hulls on the quality of cold-pressed sunflower oil. *Czech Journal of Food Sciences*, 30(4), 343–350.
- Dimić, E., Turkulov, J. (2000): Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Dimić, E.B., Premović, T.Đ., Takači, A.A., Vujasinović, V.B., Radočaj, O.F., Dimić, S.B. (2015): Effect of seed quality on oxidative stability of cold-pressed sunflower oil. *Hemijaska Industrija*, 69(2), 175–184.
- Dimić, G.R., Kocić-Tanackov, S.D., Jovanov, O.O., Cvetković, D.D., Markov, S.L., Velićanski, A.S. (2012b). Antibacterial activity of lemon, caraway and basil extracts on *Listeria* spp. *Acta Periodica Technologica*, (43), 239–246.
- Djenane, D., Yanguela, J., Gomez, D., Roncales, P. (2012): Perspectives on the use of essential oils as antimicrobials against *Campylobacter jejuni* CECT 7572 in retail chicken meats packaged in microaerobic atmosphere. *Journal of Food Safety*, 32(1), 37–47.
- Djenane, D., Yangüela, J., Amrouche, T., Boubrit, S., Boussad, N., Roncalés, P. (2011b): Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Food Science and Technology International*, 17(6), 505–515.
- Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M., Roncalés, P. (2011a): Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control*, 22(7), 1046–1053.
- Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., Ju, Y.H. (2014): Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.
- Dolati, M., Rezaei, K., Vanak, Z. P., Movahed, S. (2016): Study of the effects of essential oils of cumin, savory and cardamom as natural antioxidants on the flavor and oxidative stability of soybean oil during the storage. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(1), 176–184.
- Donev, I., Markova Ruzdik, N., Kostadinovic Veličkovska, S., Mihajlov, L., Arsov, E., Mitrev, S. (2020): Growing season weather impacts on the physicochemical properties and quality of sunflower oils cold-pressed from hybrids grown in the Republic of North Macedonia. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 97.
- Dordevič, D., Jancikova, S., Lankovova, A., Tremlova, B. (2020): Monitoring the stability of fortified cold-pressed sunflower oil under different storage conditions. *Slovak Journal of Food Sciences*, 14.
- Douny, C., Razanakolona, R., Ribonnet, L., Milet, J., Baeten, V., Rogez, H., Scippo, M. Larondelle, Y. (2016): Linseed oil presents different patterns of oxidation in real-time and accelerated aging assays. *Food Chemistry*, 208, 111–115.
- Duarte, A., Luís, Â., Oleastro, M., Domingues, F.C. (2016): Antioxidant properties of coriander essential oil and linalool and their potential to control *Campylobacter* spp. *Food Control*, 61, 115–122.
- Duletić-Laušević, S., Oalđe, M., Aradski, A.A. (2019): *In vitro* evaluation of antioxidant, antineurodegenerative and antidiabetic activities of *Ocimum basilicum* L., *Laurus nobilis* L. leaves and *Citrus reticulata* Blanco peel extracts. *Lekovite Sirovine*, 39, 60–68.

- Dulf, F.V., Unguresan, M.L., Vodnar, D.C., Socaciu, C. (2010): Free and esterified sterol distribution in four Romanian vegetable oil. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(2), 91–97.
- Duman, A.D., Telci, I., Dayisoğlu, K.S., Digrak, M., Demirtas, İ., Alma, M.H. (2010): Evaluation of bioactivity of linalool-rich essential oils from *Ocimum basilicum* and *Coriandrum sativum* varieties. *Natural Product Communications*, 5(6), 1934578X1000500634.
- Dunford, N.T. (2015): Oxidative stability of sunflower seed oil. In *Sunflower* (pp. 465–489). AOCS Press.
- Dunkić, V., Kremer, D., Dragojević Müller, I., Stabentheiner, E., Kuzmić, S., Jurišić Grubešić, R., Vujić, L., Kosalec, I., Randić, M., Srećec, S., Bezić, N. (2012): Chemotaxonomic and micromorphological traits of *Satureja montana* L. and *S. subspicata* Vis.(Lamiaceae). *Chemistry & Biodiversity*, 9(12), 2825–2842.
- Durga, K.R., Karthikumar, S., Jegatheesan, K. (2010): Isolation of potential antibacterial and antioxidant compounds from *Acalypha indica* and *Ocimum basilicum*. *African Journal of Plant Science*, 4(5), 160–163.
- Duvnjak, D., Pantić, M., Pavlović, V., Nedović, V., Lević, S., Matijašević, D., Sknepnek, A., Nikšić, M. (2016): Advances in batch culture fermented *Coriolus versicolor* medicinal mushroom for the production of antibacterial compounds. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 34, 1–8.
- Đurović, A., Kravić, S., Stojanović, Z., Lužaić, T., Romanić, R., Grahovac, N. (2021): Karakterizacija masnokiselinskog sastava mešanih ulja suncokreta i lana sa aspekta faktora nutritivnog kvaliteta, *Uljarstvo*, 52(1), 35-41.
- Elgndi, M.A., Filip, S., Pavlić, B., Vladić, J., Stanojković, T., Žižak, Ž., Zeković, Z. (2017): Antioxidative and cytotoxic activity of essential oils and extracts of *Satureja montana* L., *Coriandrum sativum* L. and *Ocimum basilicum* L. obtained by supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 128, 128–137.
- Erdogan, E.A., Everest, A., Sonmez, Ö. (2014): Antimicrobial activity of the essential oil of *Ballota saxatilis* subsp. *brachyodonta* (Boiss) P.H. Davis & Doroszenko from Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(6), 1100–1104.
- Ergönül, P.G., Köseoğlu, O. (2014): Changes in α -, β -, γ - and δ -tocopherol contents of mostly consumed vegetable oils during refining process. *CyTA-Journal of Food*, 12(2), 199–202.
- Erkkilä, A., de Mello, V.D., Risérus, U., Laaksonen, D.E. (2008): Dietary fatty acids and cardiovascular disease: an epidemiological approach. *Progress in Lipid Research*, 47(3), 172–187.
- Farag, M.F.S. (2013): Utilization of basil extract as a radioprotector in male rats. *Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications*, 46(1), 274–281.
- Farah, H., Elbadrawy, E., Al-Atoom, A.A. (2015): Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of ethanolic extracts of parsley (*Petroselinum crispum*) and coriander (*Coriandrum sativum*) plants grown in Saudi Arabia. *International Journal of Advanced Research*, 3(4), 1244–1255.
- Farahmandfar, R., Asnaashari, M., Bakhshandeh, T. (2019a): Influence of ultrasound-assist and classical extractions on total phenolic, tannin, flavonoids, tocopherol and antioxidant characteristics of *Teucrium polium* aerial parts. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), 1357–1363.

- Farahmandfar, R., Naeli, M. H., Naderi, M., Asnaashari, M. (2019b): Stabilizing corn oil using the lemon balm (*Melissa officinalis*) antioxidants extracted by subcritical water. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 695–704.
- Fatemi, F., Allameh, A., Khalafi, H., Rajaei, R., Davoodian, N., Rezaei, M.B. (2011): Biochemical properties of γ -irradiated caraway essential oils. *Journal of Food biochemistry*, 35(2), 650–662.
- Fathi, A., Sahari, M.A., Barzegar, M., Naghdi Badi, H. (2013): Antioxidant activity of *Satureja hortensis* L. essential oil and its application in safflower oil. *Journal of Medicinal Plants*, 12(45), 51–67.
- Fernández-Cuesta, Á., Aguirre-González, M. R., Ruiz-Méndez, M. V., Velasco, L. (2012b): Validation of a method for the analysis of phytosterols in sunflower seeds. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(3), 325–331.
- Fernández-Cuesta, A., Nabloussi, A., Fernández-Martínez, J. M., Velasco, L. (2012a): Tocopherols and phytosterols in sunflower seeds for the human food market. *Grasas y Aceites*, 63(3), 321–327.
- Fernández-Moya, V., Martínez-Force, E., Garcés, R. (2005): Oils from improved high stearic acid sunflower seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(13), 5326–5330.
- Ferrasse, J.H., Lecomte, D. (2004): Simultaneous heat-flow differential calorimetry and thermogravimetry for fast determination of sorption isotherms and heat of sorption in environmental or food engineering. *Chemical Engineering Science*, 59(6), 1365–1376.
- Filip, S., Pavlić, B., Vidović, S., Vladić, J., Zeković, Z. (2017): Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Ocimum basilicum* by response surface methodology. *Food Analytical Methods*, 10(7), 2270–2280.
- Filip, S., Vidović, S., Vladić, J., Pavlić, B., Adamović, D., Zeković, Z. (2016): Chemical composition and antioxidant properties of *Ocimum basilicum* L. extracts obtained by supercritical carbon dioxide extraction: Drug exhausting method. *The Journal of Supercritical Fluids*, 109, 20–25.
- Fine, F., Brochet, C., Gaud, M., Carre, P., Simon, N., Ramli, F., Joffre, F. (2016): Micronutrients in vegetable oils: the impact of crushing and refining processes on vitamins and antioxidants in sunflower, rapeseed, and soybean oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(5), 680–697.
- Fitsiou, E., Mitropoulou, G., Spyridopoulou, K., Tiptiri-Kourpeti, A., Vamvakias, M., Bardouki, H., Panayiotidis, M.I., Galanakis, A., Kourkoutas, Y., Chlichlia, K., Pappa, A. (2016): Phytochemical profile and evaluation of the biological activities of essential oils derived from the Greek aromatic plant species *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Pimpinella anisum* and *Fortunella margarita*. *Molecules*, 21(8), 1069.
- Foroughi, A., Pournaghi, P., Tahvilian, R., Zangeneh, M.M., Zangeneh, A., Moradi, R. (2016): Assessment of chemical composition and antibacterial effects of Anethole-rich hydroalcoholic extract of *Pimpinella anisum*. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(11), 1459–1463.
- Foster, R., Williamson, C.S., Lunn, J. (2009): Briefing paper: Culinary oils and their health effects. *Nutrition Bulletin*, 34(1), 4–47.

- Franke, S., Fröhlich, K., Werner, S., Böhm, V., Schöne, F. (2010): Analysis of carotenoids and vitamin E in selected oilseeds, press cakes and oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(10), 1122–1129.
- Fratini, F., Mancini, S., Turchi, B., Sparagni, D., Al-Gwad, A.A., Najar, B., Pistelli, L., Cerri, D., Pedonese, F. (2019): Antimicrobial activity of three essential oils (cinnamon, manuka, and winter savory), and their synergic interaction, against *Listeria monocytogenes*. *Flavour and Fragrance Journal*, 34(5), 339–348.
- Garcés, R., Martínez-Force, E., Salas, J.J., Venegas-Calderón, M. (2009): Current advances in sunflower oil and its applications. *Lipid Technology*, 21(4), 79–82.
- Gawrysiak-Witulska, M., Siger, A., Rudzińska, M., Bartkowiak-Broda, I. (2020): The effect of drying on the native tocopherol and phytosterol content of *Sinapis alba* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1), 354–361.
- Generalić Mekinić, I., Skroza, D., Ljubenković, I., Katalinić, V., Šimat, V. (2019): Antioxidant and antimicrobial potential of phenolic metabolites from traditionally used Mediterranean herbs and spices. *Foods*, 8(11), 579.
- Ghazy, O.A., Fouad, M.T., Saleh, H.H., Kholif, A.E., Morsy, T.A. (2021): Ultrasound-assisted preparation of anise extract nanoemulsion and its bioactivity against different pathogenic bacteria. *Food Chemistry*, 341, 128259.
- Ghosh, M., Upadhyay, R., Mahato, D.K., Mishra, H.N. (2019): Kinetics of lipid oxidation in omega fatty acids rich blends of sunflower and sesame oils using Rancimat. *Food Chemistry*, 272, 471–477.
- Girova, T., Gochev, V., Jirovetz, L., Buchbauer, G., Schmidt, E., Stoyanova, A. (2010): Antimicrobial activity of essential oils from spices against psychrotrophic food spoilage microorganisms. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(sup1), 547–552.
- Giuliani, A., Cerretani, L., Cichelli, A. (2011): Chlorophylls in olive and in olive oil: chemistry and occurrences. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(7), 678–690.
- Gliszczyńska-Świągło, A., Sikorska, E., Khmelinskii, I., Sikorski, M. (2007): Tocopherol content in edible plant oils. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4 [A]), 157–161.
- Gopčević, K., Grujić, S., Arsenijević, J., Karadžić, I., Izrael-Živković, L., Maksimović, Z. (2019): Phytochemical properties of *Satureja kitaibelii*, potential natural antioxidants: a new insight. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(2), 179–184.
- Gorjanović, S.Ž., Alvarez-Suarez, J.M., Novaković, M.M., Pastor, F.T., Pezo, L., Battino, M., Sužnjević, D.Ž. (2013): Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30(1), 13–18.
- Górnaś, P. (2015): 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.
- Górnaś, P., Rudzińska, M., Raczyk, M., Mišina, I., Soliven, A., Segliņa, D. (2016): Chemical composition of seed oils recovered from different pear (*Pyrus communis* L.) cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(2), 267–274.
- Górnaś, P., Siger, A., Juhņeviča, K., Lācis, G., Šnē, E., Segliņa, D. (2014): 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(5), 563–570.
- Gotor, A.A., Rhazi, L. (2016): Effects of refining process on sunflower oil minor components: a review. *OCL*, 23(2), D207.
- Gramza-Michalowska, A., Sidor, A., Hes, M. (2011): Herb extract influence on the oxidative stability of selected lipids. *Journal of Food Biochemistry*, 35(6), 1723–1736.
- Grosshagauer, S., Steinschaden, R., Pignitter, M. (2019): Strategies to increase the oxidative stability of cold pressed oils. *LWT- Food Science and Technology*, 106, 72–77.
- Gruszka, J., Kruk, J. (2007): RP-LC for determination of plastochromanol, tocotrienols and tocopherols in plant oils. *Chromatographia*, 66(11), 909–913.
- Güez, C.M., Souza, R.O.D., Fischer, P., Leão, M.F.D. M., Duarte, J.A., Boligon, A.A., Sthayde, M.L., Zuravski, L., de Oliveira, L.F.S., Machado, M.M. (2017): Evaluation of basil extract (*Ocimum basilicum* L.) on oxidative, anti-genotoxic and anti-inflammatory effects in human leukocytes cell cultures exposed to challenging agents. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53.
- Guinda, A., Dobarganes, M.C., Ruiz-Mendez, M.V., Mancha, M. (2003): Chemical and physical properties of a sunflower oil with high levels of oleic and palmitic acids. *European journal of lipid science and technology*, 105(3-4), 130–137.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö.İ. (2003): Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3), 371–382.
- Gunstone, F. D. (2013). *Composition and properties of edible oils*. Hamm, W. et al. *Edible Oil Processing*. Indianapolis, USA: John Wiley Sons, Ltd, 1–39.
- Gunstone, F.D., Harwood, J.L. (2007): Occurrence and characterisation of oils and fats. In *The lipid handbook with CD-ROM* (pp. 51–156). CRC press.
- Gupta, D. (2013). Comparative analysis of spices for their phenolic content, flavonoid content and antioxidant capacity. *American International Journal of Research in Formal, Applied and Natural Sciences*, 4(1), 38–42.
- Hădărugă, D.I., Hădărugă, N.G., Costescu, C.I., David, I., Gruia, A.T. (2014): Thermal and oxidative stability of the *Ocimum basilicum* L. essential oil/ β -cyclodextrin supramolecular system. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 10(1), 2809–2820.
- Hamad, A., Ramadhan, M.B., Dewi, D.Y.S., Djalil, A.D., Hartanti, D. (2020): Preservation potential of lemon basil essential oil on tofu: Development of a natural food preservative. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 771, No. 1, p. 012037). IOP Publishing.
- Hashemi, M.B., Niakousari, M., Saharkhiz, M.J., Eskandari, M.H. (2012): Effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on oxidative stability of sunflower oil during accelerated storage. *Natural Product Research*, 26(15), 1458–1463.
- Hashemi, M.B., Niakousari, M., Saharkhiz, M.J., Eskandari, M.H. (2011). Influence of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on oxidative stability of sunflower oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(12), 1520–1526.

- Hashempour-Baltork, F., Torbati, M., Azadmard-Damirchi, S., Savage, G.P. (2018): Chemical, rheological and nutritional characteristics of sesame and olive oils blended with linseed oil. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 8(1), 107.
- Hassanein, H.D., Said-Al Ahl, H.A.H., Abdelmohsen, M.M. (2014): Antioxidant polyphenolic constituents of *Satureja montana* L. growing in Egypt. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 578–581.
- Hassanien, M. M., Abdel-Razek, A.G., Rudzińska, M., Siger, A., Ratusz, K., Przybylski, R. (2014): Phytochemical contents and oxidative stability of oils from non-traditional sources. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(11), 1563–1571.
- Hassanien, M.F.R. (2012). Tocol and phytosterol composition of edible oils in the Egyptian market. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36(6), 531–538.
- Helander, I.M., Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E.J., Gorris, L.G.M., von Wright, A. (1998): Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3590–3595.
- Hirai, M., Ito, M. (2019): Sedative effects of the essential oil and headspace air of *Ocimum basilicum* by inhalation in mice. *Journal of Natural Medicines*, 73(1), 283–288.
- Hirschler, R. (2012): Whiteness, yellowness, and browning in food colorimetry: a critical review. *Color in Food*, 118–129.
- Hromiš, N.M., Lazić, V.L., Markov, S.L., Vaštag, Ž.G., Popović, S.Z., Šuput, D.Z., Đinić, N., Velićanski, A.S., Popović, Lj.M. (2015): Optimization of chitosan biofilm properties by addition of caraway essential oil and beeswax. *Journal of Food Engineering*, 158, 86–93.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H., Przybylski, R. (2008): Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986–995.
- Hussein, A.M., Shaheen, M.S., Abdel-Kalek, H.H., Abo El-Nor, S.A.H. (2014): Production of low calorie bakery product with pleasant flavour, antioxidant and antimicrobial activities. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 64(4).
- Ibáñez, M.D., Blázquez, M.A. (2018): Phytotoxicity of essential oils on selected weeds: Potential hazard on food crops. *Plants*, 7(4), 79.
- Ilić A., Šolević Knudsen T., Kalušević A., Salević A., Antić M. (2017): Essential oil composition, antioxidant activity and total phenols of three aromatic herbs from Apiaceae family. 3rd International Conference on Natural Products Utilization, October 18–21, Bansko, Bulgaria. Book of Abstracts, p. 202. ISBN 978-619-7240-48-1.
- İnanç, T., Maskan, M. (2013): Testing the antioxidant effect of essential oils and BHT on corn oil at frying temperatures: A response surface methodology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(12), 1845–1850.
- Indelicato, S., Bongiorno, D., Pitonzo, R., Di Stefano, V., Calabrese, V., Indelicato, S., Avellone, G. (2017): Triacylglycerols in edible oils: Determination, characterization, quantitation, chemometric approach and evaluation of adulterations. *Journal of Chromatography a*, 1515, 1–16.
- Inouye, S., Uchida, K., Abe, S. (2006): Volatile composition and vapour activity against *Trichophyton mentagrophytes* of 36 aromatic herbs cultivated in Chichibu district in Japan. *International Journal of Aromatherapy*, 16(3–4), 159–168.

- Iqbal, M.J., Butt, M.S., Suleria, H.A.R. (2017): Coriander (*Coriandrum sativum* L.): Bioactive molecules and health effects. *Bioactive Molecules in Food*, 1–37.
- Islam, Z.M., Khan, K., Rakhshanda, S., Mahdi, R., Chowdhury, I.M. (2016): Antibacterial and phytochemical screening of *Pimpinella anisum* through optimized extraction procedure. *Asian Journal of Science and Technology*, 7(11), 3912–3918.
- ISO 8586-1. (1993): Sensory Analysis – General guidance for selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected assessors.
- Izquierdo, N., Benech-Arnold, R., Batlla, D., Belo, R.G., Tognetti, J. (2017): Seed composition in oil crops: its impact on seed germination performance. *Oilseed crops: yield and adaptations under environmental stress*, 34–51.
- Jelačić, S.Ć., Beatović, D.V., Prodanović, S. A., Tasić, S.R., Moravčević, Đ.Ž., Vujošević, A. M., Vučković, S.M. (2011): Chemical composition of the essential oil of basil (*Ocimum basilicum* L. Lamiaceae). *Hemijska Industrija*, 65(4), 465–471.
- Jiang, Q. (2014): Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, 72, 76–90.
- Jianu, C., Mihail, R., Muntean, S.G., Pop, G., Daliborca, C.V., Horhat, F.G., Nitu, R. (2015): Composition and antioxidant capacity of essential oils obtained from *Thymus vulgaris*, *Thymus pannonicus* and *Satureja montana* grown in Western Romania. *Revista de Chimie*, 66, 2157–2160.
- Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Lourenço-Lopes, C., Gallardo-Gomez, M., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Prieto, M., Simal-Gandara, J. (2020): Bioactive compounds and quality of extra virgin olive oil. *Foods*, 9(8), 1014.
- Jokanović, M., Ivić, M., Škaljac, S., Tomović, V., Pavlić, B., Šojić, B., Zeković, Z., Peulić, T., Ikonić, P. (2020): Essential oil and supercritical extracts of winter savory (*Satureja montana* L.) as antioxidants in precooked pork chops during chilled storage. *LWT- Food Science and Technology*, 134, 110260.
- Jokić, S., Moslavac, T., Aladić, K., Bilić, M., Ačkar, Đ., Šubarić, D. (2016): Hazelnut oil production using pressing and supercritical CO₂ extraction. *Hemijska Industrija*, 70(4), 359–366.
- Jovanović, A.A., Đorđević, V.B., Zdunić, G.M., Pljevljakušić, D.S., Šavikin, K.P., Gođevac, D.M., Bugarski, B.M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat-and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369–380.
- Kačaniová, M., Galovičová, L., Ivanišová, E., Vuković, N.L., Štefániková, J., Valková, V., Borotová, P., Žiarovská, J., Terentjeva, M., Felšöciová, S., Tvrďá, E. (2020): Antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil for its application in foods. *Foods*, 9(3), 282.
- Kalia, K., Sharma, K., Singh, H.P., Singh, B. (2008): Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial parts of *Potentilla atrosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10129–10134.

- Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Ioannou, M. S., Karathanos, V.T. (2013): Nutritional evaluation and health promoting activities of nuts and seeds cultivated in Greece. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(6), 757–767.
- Kamal-Eldin, A. (2006): Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(12), 1051–1061.
- Kamal-Eldin, A. (2010): Methods to determine the extent of lipid oxidation in foods. In *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications* (pp. 181–195). Woodhead Publishing.
- Kamal-Eldin, A., Appelqvist, L.Å. (1996): The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671–701.
- Kamal-Eldin, A., Budilarto, E. (2015): Tocopherols and tocotrienols as antioxidants for food preservation. In *Handbook of antioxidants for food preservation* (pp. 141–159). Woodhead Publishing.
- Kamkar, A., Tooriyan, F., Jafari, M., Bagherzade, M., Saadatjou, S., Molaei Aghae, E. (2014): Antioxidant activity of methanol and ethanol extracts of *Satureja hortensis* L. in soybean oil. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 1(4), 113–119.
- Karaosmanoglu, H., Soyer, F., Ozen, B., Tokatli, F. (2010): Antimicrobial and antioxidant activities of Turkish extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8238–8245.
- Karmowski, J., Hintze, V., Kschonsek, J., Killenberg, M., Böhm, V. (2015): Antioxidant activities of tocopherols/tocotrienols and lipophilic antioxidant capacity of wheat, vegetable oils, milk and milk cream by using photochemiluminescence. *Food Chemistry*, 175, 593–600.
- Karoui, I.J., Dhifi, W., Ben Jemia, M., Marzouk, B. (2011): Thermal stability of corn oil flavoured with *Thymus capitatus* under heating and deep-frying conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5), 927–933.
- Kaur, N., Chahal, K.K., Kumar, A., Singh, R., Bhardwaj, U. (2019): Antioxidant activity of *Anethum graveolens* L. essential oil constituents and their chemical analogues. *Journal of Food Biochemistry*, 43(4), e12782.
- Kavitha, P., Krithika, N. (2018): Phytochemical screening and *in vitro* antioxidant activity of aqueous and ethanol seed powder extracts of *Coriandrum sativum* L. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 7(7), 165–170.
- Kavitha, R., Valli, C., Karunakaran, R., Vijayarani, K., Amutha, R. (2020): Evaluation of antibacterial activity of some Indian herbal extracts. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(7), 17–24.
- Kerimoğlu, B.Ö., Kavuşan, H.S., Serdaroğlu, F.M. (2020): The impacts of laurel (*Laurus nobilis*) and basil (*Ocimum basilicum*) essential oils on oxidative stability and freshness of sous-vide sea bass fillets. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 44(1), 101–109.
- Khalil, N., Ashour, M., Fikry, S., Singab, A.N., Salama, O. (2018): Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of selected Apiaceous fruits. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 88–92.
- Khanjari, A., Bahonar, A., Noori, N., Siahkalmahaleh, M.R., Rezaeigolestani, M., Asgarian, Z., Khanjari, J. (2019): *In vitro* antibacterial activity of *Pimpinella anisum* essential oil and its influence on microbial, chemical, and sensorial properties of minced beef during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 39(4), e12626.

- Khemakhem, I., Yaiche, C., Ayadi, M.A., Bouaziz, M. (2015): Impact of aromatization by *Citrus limetta* and *Citrus sinensis* peels on olive oil quality, chemical composition and heat stability. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(5), 701–708.
- Kiokias, S., Varzakas, T., Oreopoulou, V. (2008): In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(1), 78–93.
- Kiralan, M., Toptanci, İ., Yavuz, M., Ramadan, M. F. (2020): Phthalates levels in cold-pressed oils marketed in Turkey. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(5), 5630–5635.
- Kiralan, M., Ulaş, M., Özeydin, A., Özdemir, N., Özkan, G., Bayrak, A., Ramadan, M. F. (2017): Blends of cold pressed black cumin oil and sunflower oil with improved stability: A study based on changes in the levels of volatiles, tocopherols and thymoquinone during accelerated oxidation conditions. *Journal of Food Biochemistry*, 41(1), e12272.
- Kišgeci, J., Jelačić, S., Beatović, D. (2009): Lekovito, aromatično i začinsko bilje, Poljoprivredni fakultet, Zemun.
- Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., Možina, S.S. (2010): Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81(2), 121–126.
- Klaus, A., Beatović, D., Nikšić, M., Jelačić, S., Petrović, T. (2009): Antibacterial activity of aromatic plants essential oils from Serbia against the *Listeria monocytogenes*. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 54(2), 95–104.
- Kleingartner, L.W. (2015): Sunflower oil: from mid oleic, high oleic, high stearic to low saturate versions. *Trait-modified oils in foods*, 113.
- Klimczak, I., Gliszczyńska-Świgło, A. (2017): Green tea extract as an anti-browning agent for cloudy apple juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(5), 1420–1426.
- Kochhar, S. P., Azadmard-Damirchi, S., Nasirpour-Tabrizi, P., Dutta, P.C. (2005): Sterols, Stanols, and Waxes. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 1–65.
- Konuskan, D.B., Arslan, M., Oksuz, A. (2019): Physicochemical properties of cold pressed sunflower, peanut, rapeseed, mustard and olive oils grown in the Eastern Mediterranean region. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(2), 340–344.
- Kostadinović Veličkovska, S., Brühl, L., Mitrev, S., Mirhosseini, H., Matthäus, B. (2015): Quality evaluation of cold-pressed edible oils from Macedonia. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(12), 2023–2035.
- Kostadinović Veličkovska, S., Moř, A.C., Mitrev, S., Gulaboski, R., Brühl, L., Mirhosseini, H., Silaghi-Dumitrescu, R., Matthäus, B. (2018): Bioactive compounds and „in vitro“ antioxidant activity of some traditional and non-traditional cold-pressed edible oils from Macedonia. *Journal of Food Science and Technology*, 55(5), 1614–1623.
- Kostadinović, S., Mitrev, S. (2013): Characterization of fatty acid profile, polyphenolic content and antioxidant activity of cold pressed and refined edible oils from Macedonia. *Journal of Food Chemistry and Nutrition*.
- Kozłowska, M., Gruczyńska, E. (2018): Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts. *Chemical Papers*, 72(10), 2607–2615.

- Kremer, D., Kosir, I.J., Koncic, M.Z., Cerenak, A., Potočnik, T., Srečec, S., Kosalec, I. (2015): Antimicrobial and antioxidant properties of *Satureja montana* L. and *S. subspicata* Vis.(Lamiaceae). *Current Drug Targets*, 16(14), 1623–1633.
- Krichene, D., Allalout, A., Mancebo-Campos, V., Salvador, M. D., Zarrouk, M., Fregapane, G. (2010): Stability of virgin olive oil and behaviour of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. *Food Chemistry*, 121(1), 171–177.
- Krizmanić, M., Mijić, A., Liović, I., Sudarić, A., Sudar, R., Duvnjak, T., Krizmanić, G., Bilandžić, M. (2013): Environmental impact on oil content and fatty acid composition of new OS-hybrid combinations of sunflower. *Poljoprivreda*, 19(1), 41–47.
- Krkić, N., Šojić, B., Lazić, V., Petrović, L., Mandić, A., Sedej, I., Tomović, V. Džinić, N. (2013): Effect of chitosan–caraway coating on lipid oxidation of traditional dry fermented sausage. *Food Control*, 32(2), 719–723.
- Król, K., Gantner, M., Piotrowska, A. (2021): The Quality Characteristic and Fatty Acid Profile of Cold-Pressed Hazelnut Oils during Nine Months of Storage. *Agronomy*, 11(10), 2045.
- Ksouda, G., Hajji, M., Sellimi, S., Merlier, F., Falcimaigne-Cordin, A., Nasri, M., Thomasset, B. (2018): A systematic comparison of 25 Tunisian plant species based on oil and phenolic contents, fatty acid composition and antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 123, 768–778.
- Kulišić, T., Radonić, A., Miloš, M. (2005): Inhibition of lard oxidation by fractions of different essential oils. *Grasas y Aceites*, 56(4), 284–291.
- Kwiatkowski, P., Giedrys-Kalemba, S., Mizielińska, M., Bartkowiak, A. (2015): Antibacterial activity of rosemary, caraway and fennel essential oils. *Herba Polonica*, 61(4).
- Kwiatkowski, P., Mnichowska-Polanowska, M., Pruss, A., Dzieciol, M., Masiuk, H. (2017): Activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin lesions in the course of staphylococcal skin infections. *Herba Polonica*, 63(1).
- Labra, M., Miele, M., Ledda, B., Grassi, F., Mazzei, M., Sala, F. (2004): Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. *Plant Science*, 167(4), 725–731.
- Lakušić, B., Ristić, M., Slavkovska, V., Milenković, M., Lakušić, D. (2011): Environmental and seasonal impacts on the chemical composition of *Satureja horvatii* Šilić (Lamiaceae) essential oils. *Chemistry & Biodiversity*, 8(3), 483–493.
- Laribi, B., Bettaieb, I., Kouki, K., Sahli, A., Mougou, A., Marzouk, B. (2009): Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. *Industrial Crops and Products*, 30(3), 372–379.
- Laribi, B., Kouki, K., Bettaieb, T., Mougou, A., Marzouk, B. (2013): Essential oils and fatty acids composition of Tunisian, German and Egyptian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes: A comparative study. *Industrial Crops and Products*, 41, 312–318.
- Longoria-Sanchez, A., Morales, M.V., Oomah, B.D., Ochoa-Espinoza, X.M., Góngora-Gómez, A.M., Espinosa-Alonso, L.G. (2019): Characteristics and antioxidant properties of cold pressed high oleic and linoleic oils from Mexican safflower varieties. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 679–687.
- López, M.D., Jordán, M.J., Pascual-Villalobos, M.J. (2008): Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. *Journal of Stored Products Research*, 44(3), 273–278.

- Lopez-Romero, J.C., González-Ríos, H., Borges, A., Simões, M. (2015): Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- Lunn, J., Theobald, H.E. (2006): The health effects of dietary unsaturated fatty acids. Nutrition Bulletin, 31(3), 178–224.
- Lužaić, T.Z., Grahovac, N.L., Hladni, N.T., Romanić, R.S. (2021): Evaluation of oxidative stability of new cold-pressed sunflower oils during accelerated thermal stability tests. Food Science and Technology.
- Madhujith, T., Sivakanthan, S. (2019): Oxidative stability of edible plants oils. Springer Nature.
- Mahboubi, M. (2019): Caraway as important medicinal plants in management of diseases. Natural Products and Bioprospecting, 9(1), 1–11.
- Mahdavi, V., Hosseini, S.E., Sharifan, A. (2018): Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. Food Science Nutrition, 6(2), 269–279.
- Malvis, A., Šimon, P., Dubaj, T., Sládková, A., Ház, A., Jablonský, M., Sekretár, S., Schmidt, Š., Kreps, F., Burčová, Hodaifa, G., Šurina, I. (2019): Determination of the thermal oxidation stability and the kinetic parameters of commercial extra virgin olive oils from different varieties. Journal of Chemistry, 2019.
- Máriássyová, M. (2006): Antioxidant activity of some herbal extracts in rapeseed and sunflower oils. Journal of Food and Nutrition Research, 45(3), 104–109.
- Marin, M., Novaković, M., Tešević, V., Vučković, I., Milojević, N., Vuković-Gačić, B., Marin, P. D. (2012). Antioxidative, antibacterial and antifungal activity of the essential oil of wild-growing *Satureja montana* L. from Dalmatia, Croatia. Flavour and Fragrance Journal, 27(3), 216–223.
- Marinova, E.M., Yanishlieva, N.V. (1997): Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. Food Chemistry, 58(3), 245–248.
- Mariutti, L.R.B., Barreto, G.P.D.M., Bragagnolo, N., Mercadante, A.Z. (2008): Free radical scavenging activity of ethanolic extracts from herbs and spices commercialized in Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology, 51, 1225–1232.
- Marmesat, S., Mancha, M., Ruiz-Méndez, M.V., Dobarganes, M.C. (2005): Performance of sunflower oil with high levels of oleic and palmitic acids during industrial frying of almonds, peanuts, and sunflower seeds. Journal of the American Oil Chemists' Society, 82(7), 505–510.
- Marmesat, S., Morales, A., Velasco, J., Dobarganes, M.C. (2012): Influence of fatty acid composition on chemical changes in blends of sunflower oils during thermoxidation and frying. Food Chemistry, 135(4), 2333–2339.
- Marmesat, S., Morales, A., Velasco, J., Ruiz Méndez, M., Dobarganes, M.C. (2009): Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation. Grasas y Aceites, 60(2), 155–160.
- Marotti, M., Piccaglia, R., Giovanelli, E. (1996): Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(12), 3926–3929.

- Márquez-Ruiz, G., Martín-Polvillo, M., Velasco, J., Dobarganes, C. (2008): Formation of oxidation compounds in sunflower and olive oils under oxidative stability index conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(5), 465–471.
- Martinez-Correa, H.A., Magalhães, P.M., Queiroga, C.L., Peixoto, C.A., Oliveira, A.L., Cabral, F.A. (2011): Extracts from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves: Influence of extraction process on antioxidant properties and yield of phenolic compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, 55(3), 998–1006.
- Martínez-Force, E., Dunford, N.T., Salas, J.J. (Eds.). (2015): *Sunflower: chemistry, production, processing, and utilization*. Elsevier.
- Martín-Polvillo, M., Márquez-Ruiz, G., Dobarganes, M.C. (2004): Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(6), 577–583.
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C. (2016): Antioxidant potential of two Apiaceae plant extracts: A comparative study focused on the phenolic composition. *Industrial Crops and Products*, 79, 188–194.
- Martins, P., Sbaite, P., Benites, C., Maciel, M. (2011): Thermal characterization of orange, lemongrass, and basil essential oils. In *International Conference on Chemical and Process Engineering* (Vol. 24, pp. 463–468).
- Maskan, M. (2001): Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 48(2), 169–175.
- Maskan, M. (2003): Change in colour and rheological behaviour of sunflower seed oil during frying and after adsorbent treatment of used oil. *European Food Research and Technology*, 218(1), 20–25.
- Maskan, M., Horuz, E. (2017): Evaluation of antioxidant properties of Za'atar (*Thymbra spicata*) essential oils as natural antioxidant for stability of palm olein during deep-fat frying process. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1794–1801.
- Matijašević, D., Pantić, M., Rašković, B., Pavlović, V., Duvnjak, D., Sknepnek, A., Nikšić, M. (2016): The antibacterial activity of *Coriulus versicolor* methanol extract and its effect on ultrastructural changes of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Enteritidis*. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1226.
- Matković, A., Marković, T., Vrbničanin, S., Sarić-Krsmanović, M., Božić, D. (2018): Chemical composition and in vitro herbicidal activity of five essential oils on Johnson grass (*Sorghum halepense* L. Pers.). *Lekovite Sirovine*, (38), 44–50.
- Matthäus, B., Spener, F. (2008): What we know and what we should know about virgin oils—a general introduction. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(7), 597–601.
- Mazaheri, Y., Torbati, M., Azadmard-Damirchi, S., Savage, G.P. (2019): Oil extraction from blends of sunflower and black cumin seeds by cold press and evaluation of its physicochemical properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10), e14154.
- Meenu, M., Kurade, C., Neelapu, B. C., Kalra, S., Ramaswamy, H.S., Yu, Y. (2021): A concise review on food quality assessment using digital image processing. *Trends in Food Science Technology*, 118, 106–124.
- Micić, D. (2016): *Hemijska i termalna analiza semena jagodastog voća*. Doktorska disertacija. Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu.

- Mićić, D., Đurović, S., Riabov, P., Tomić, A., Šovljanski, O., Filip, S., Tosti, T., Dojčinović, B., Božović, R., Jovanović, D., Blagojević, S. (2021): Rosemary essential oils as a promising source of bioactive compounds: Chemical composition, thermal properties, biological activity, and gastronomical perspectives. *Foods*, 10(11), 2734.
- Mićić, D., Ostojić, S., Pezo, L., Blagojević, S., Pavlič, B., Zeković, Z., Đurović, S. (2019): Essential oils of coriander and sage: Investigation of chemical profile, thermal properties and QSRR analysis. *Industrial Crops and Products*, 138, 111438.
- Mihajilov-Krstev, T., Radnović, D., Kitić, D., Jovanović, V., Mitić, V., Stojanović-Radić, Z., Zlatković, B. (2014): Chemical composition, antimicrobial, antioxidative and anticholinesterase activity of *Satureja montana* L. ssp *montana* essential oil. *Open Life Sciences*, 9(7), 668–677.
- Miladi, H., Ben Slama, R., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2013): Chemical composition and cytotoxic and antioxidant activities of *Satureja montana* L. essential oil and its antibacterial potential against *Salmonella* spp. strains. *Journal of Chemistry*,
- Miladi, H., Mili, D., Slama, R.B., Zouari, S., Ammar, E., Bakhrouf, A. (2016): Antibiofilm formation and anti-adhesive property of three mediterranean essential oils against a foodborne pathogen *Salmonella* strain. *Microbial Pathogenesis*, 93, 22–31.
- Milovanović, B., Tomović, V., Đekić, I., Miočinović, J., Solowiej, B.G., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Tomašević, I. (2021a): Colour assessment of milk and milk products using computer vision system and colorimeter. *International Dairy Journal*, 120, 105084.
- Milovanović, B., Tomović, V., Đekić, I., Solowiej, B.G., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Tomašević, I. (2021b): Color assessment of the eggs using computer vision system and Minolta colorimeter. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 5097–5112.
- Mimica-Dukić, N., Orčić, D., Lesjak, M., Šibul, F. (2016): Essential oils as powerful antioxidants: Misconception or scientific fact? In *Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization* (pp. 187–208). American Chemical Society.
- Miron, T.L., Plaza, M., Bahrim, G., Ibáñez, E., Herrero, M. (2011): Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. *Journal of Chromatography A*, 1218(30), 4918–4927.
- Mišan, A., Arsić, I., Đorđević, S., Tadić, V., Psodorov, Đ. (2013): *Funkcionalna hrana i lekovito bilje*. Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu. Univerzitet u Novom Sadu.
- Miura, C., Li, H., Matsunaga, H., Haginaka, J. (2015): Molecularly imprinted polymer for chlorogenic acid by modified precipitation polymerization and its application to extraction of chlorogenic acid from *Eucommia ulmoides* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 114, 139–144.
- Moczkowska, M., Karp, S., Horbanczuk, O.K., Hanula, M., Wyrwisz, J., Kurek, M.A. (2020): Effect of rosemary extract addition on oxidative stability and quality of hemp seed oil. *Food and Bioproducts Processing*, 124, 33–47.
- Mohamed, K.M., Elsanhoty, R.M., Hassanien, M.F. (2014): Improving thermal stability of high linoleic corn oil by blending with black cumin and coriander oils. *International Journal of Food Properties*, 17(3), 500–510.

- Moisa, C., Copolovici, L., Pop, G., Copolovici, D. (2017): Dry and fresh herba of *Satureja montana* L.: a comparative study regarding chemical composition and antioxidant capacity of volatile oils. *Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies*, 21, 349–352.
- Monteiro, O.S., Souza, A.G., Soledade, L.E.B., Queiroz, N., Souza, A.L., Mouchrek Filho, V.E., Vasconcelos, A.F.F. (2011): Chemical evaluation and thermal analysis of the essential oil from the fruits of the vegetable species *Pimenta dioica* Lindl. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 106(2), 595–600.
- Montesano, D., Blasi, F., Simonetti, M.S., Santini, A., Cossignani, L. (2018): Chemical and nutritional characterization of seed oil from *Cucurbita maxima* L.(var. Berrettina) pumpkin. *Foods*, 7(3), 30.
- Morales, M.T., Przybylski, R. (2013): Olive oil oxidation. In *Handbook of olive oil* (pp. 479–522). Springer, Boston, MA.
- Moreau, R.A., Nyström, L., Whitaker, B.D., Winkler-Moser, J.K., Baer, D.J., Gebauer, S.K., Hicks, K.B. (2018): Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research*, 70, 35–61.
- Mousavi, R.S., Mahasti, P., Nateghi, L., Mahalati, H. (2013): The stabilizing effect of dill extract on sunflower seed oil. *Journal of Food Biosciences and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch*, 3, 81–86.
- Moustakime, Y., Hazzoumi, Z., Joutei, K.A. (2021): Aromatization of virgin olive oil by seeds of *Pimpinella anisum* using three different methods: Physico-chemical change and thermal stability of flavored oils. *Grain Oil Science and Technology*, 4(3), 108–124.
- Msaada, K., Hosni, K., Taarit, M.B., Chahed, T., Kchouk, M.E., Marzouk, B. (2007): Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits during three stages of maturity. *Food Chemistry*, 102(4), 1131–1134.
- Msaada, K., Jemia, M. B., Salem, N., Bachrouch, O., Sriti, J., Tammar, S., Bettaieb, I., Jabri, I., Kefi, S., Limam, F., Marzouk, B. (2017): Antioxidant activity of methanolic extracts from three coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit varieties. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S3176–S3183.
- Müller, L., Theile, K., Böhm, V. (2010): *In vitro* antioxidant activity of tocopherols and tocotrienols and comparison of vitamin E concentration and lipophilic antioxidant capacity in human plasma. *Molecular Nutrition Food Research*, 54(5), 731–742.
- Multari, S., Marsol-Vall, A., Heponiemi, P., Suomela, J.P., Yang, B. (2019): Changes in the volatile profile, fatty acid composition and other markers of lipid oxidation of six different vegetable oils during short-term deep-frying. *Food Research International*, 122, 318–329.
- Murugan, K., Murugan, P., Noortheen, A. (2007): Larvicidal and repellent potential of *Albizzia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector, *Aedes aegypti* (Insecta: Diptera: Culicidae). *Bioresource Technology*, 98(1), 198–201.
- Mustafa, A., Turner, C. (2011): Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Analytica Chimica Acta*, 703(1), 8–18.
- Nadeem, R., Iqbal, A., Zia, M.A., Anwar, F., Shahid, S.A., Mahmood, Z., Shafeed, A., Akhtar, N. (2015): Effect of cold-pressing and soxhlet extraction on the physico-chemical attributes of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed oil. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 7(2015), 41–46.

- Navarro-Rocha, J., Andrés, M.F., Díaz, C.E., Burillo, J., González-Coloma, A. (2020): Composition and biocidal properties of essential oil from pre-domesticated Spanish *Satureja montana*. *Industrial Crops and Products*, 145, 111958.
- Nedorostova, L., Kloucek, P., Kokoska, L., Stolcova, M., Pulkrabek, J. (2009): Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control*, 20(2), 157–160.
- Nedorostova, L., Kloucek, P., Urbanova, K., Kokoska, L., Smid, J., Urban, J., Valterova, I., Stolcova, M. (2011): Antibacterial effect of essential oil vapours against different strains of *Staphylococcus aureus*, including MRSA. *Flavour and Fragrance Journal*, 26(6), 403–407.
- Nesaretnam, K., Yew, W.W., Wahid, M.B. (2007): Tocotrienols and cancer: beyond antioxidant activity. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(4), 445–452.
- Nezirević-Nizić, E., Čorbo, S., Podrug, S., Begić, M. (2019): Determination of Antioxidant and Heavy Metals in Cold-Pressed Edible Oils. In *Scientific-Experts Conference of Agriculture and Food Industry* (pp. 295–302). Springer, Cham.
- Nikolić, M., Jovanović, K.K., Marković, T., Marković, D., Gligorijević, N., Radulović, S., Soković, M. (2014): Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils. *Industrial Crops and Products*, 61, 225–232.
- Nowacka, N., Nowak, R., Drozd, M., Olech, M., Los, R., Malm, A. (2014): Analysis of phenolic constituents, antiradical and antimicrobial activity of edible mushrooms growing wild in Poland. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 689–694.
- Nurzynska-Wierdak, R. (2013): Essential oil composition of the coriander (*Coriandrum sativum* L.) herb depending on the development stage. *Acta Agrobotanica*, 66(1).
- Odeh, D., Kraljić, K., Benussi Skukan, A., Škevin, D. (2021): Oxidative Stability, Microbial Safety, and Sensory Properties of Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) Oil Infused with Spices and Herbs. *Antioxidants*, 10(5), 785.
- Oliveira, F., Sousa-Gallagher, M.J., Mahajan, P.V., Teixeira, J.A. (2012): Development of shelf-life kinetic model for modified atmosphere packaging of fresh sliced mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 111(2), 466–473.
- Onemli, F. (2012): Changes in oil fatty acid composition during seed development of sunflower. *Asian Journal of Plant Sciences*, 11(5), 241–245.
- Orav, A., Raal, A., Arak, E. (2008): Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Natural product research*, 22(3), 227–232.
- Özkan, G., Özcan, M. M. (2017): Antioxidant activity of some medicinal plant extracts on oxidation of olive oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 812–817.
- Özyurt, H. (2019): The comparison of the quality properties of some commercial cold pressed seed oils. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 6(2), 149–156.
- Palmieri, S., Pellegrini, M., Ricci, A., Compagnone, D., Lo Sterzo, C. (2020): Chemical composition and antioxidant activity of thyme, hemp and coriander extracts: A comparison study of maceration, Soxhlet, UAE and RSLDE techniques. *Foods*, 9(9), 1221.
- Pandey, M.M., Vijayakumar, M., Rastogi, S., Rawat, A.K. (2012): Phenolic content and antioxidant properties of selected Indian spices of Apiaceae. *Journal of Herbs, Spices Medicinal Plants*, 18(3), 246–256.

- Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M., Contado, J. (1997): Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 97–106.
- Patterson, E., Wall, R., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P., Stanton, C. (2012): Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 12, ID 539426.
- Pavlič, B., Vidović, S., Vladić, J., Radosavljević, R., Zeković, Z. (2015): Isolation of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil by green extractions versus traditional techniques. *The Journal of Supercritical Fluids*, 99, 23–28.
- Petkova, Z.Y., Antova, G.A., Angelova-Romova, M.Y. (2020): Biologically active components and health benefits of nettle seed oil. *Grasas y Aceites*, 71(1), e347–e347.
- Petrović, M. (2016): Dobijanje novih likera sa funkcionalnim svojstvima od odabranog lekovitog, aromatičnog i začinskog bilja. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet. Univerzitet u Beogradu.
- Petrović, M., Vukosavljević, P., Đurović, S., Antić, M., Gorjanović, S. (2019): New herbal bitter liqueur with high antioxidant activity and lower sugar content: Innovative approach to liqueurs formulations. *Journal of Food Science and Technology*, 56(10), 4465–4473.
- Pharmacopoeia, Y. (1984). *Pharmacopoea Jugoslavica editio quarta*. Ph. Jug. IV, 1.
- Pićurić-Jovanović, K., Milovanović, M. (2005): Autooksidacija lipida i prirodni antioksidanti flore Srbije. Poljoprivredni fakultet, Zemun.
- Poiana, M.A. (2012): Enhancing oxidative stability of sunflower oil during convective and microwave heating using grape seed extract. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 9240–9259.
- Poiana, M.A., Alexa, E., Moigradean, D., Popa, M. (2009): The influence of the storage conditions on the oxidative stability and antioxidant properties of sunflower and pumpkin oil. In *Proceedings of the 44th Croatian International Symposium of Agriculture, Opatija, Croatia (Vol. 1620, p. 449453)*.
- Pokorny, J., Kalinova, L., Dysseler, P. (1995): Determination of chlorophyll pigments in crude vegetable oils: Results of a collaborative study and the standardized method (Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 67(10), 1781–1787.
- Politeo, O., Jukić, M., Miloš, M. (2006): Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants. *Croatica Chemica Acta*, 79(4), 545–552.
- 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.
- Premović, T.Đ., Dimić, E.B., Takači, A.A., Romanić, R.S. (2010): Influence of impurities and hull content in material for pressing on sensory quality cold-pressed sunflower oil. *Acta Periodica Technologica*, (41), 69–76.
- Prescha, A., Grajzer, M., Dedyk, M., Grajeta, H. (2014): The antioxidant activity and oxidative stability of cold-pressed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(8), 1291–1301.
- Przygodzka, M., Zielińska, D., Ciesarová, Z., Kukurová, K., Zieliński, H. (2014): Comparison of methods for evaluation of the antioxidant capacity and phenolic compounds in common spices. *LWT-Food Science and Technology*, 58(2), 321–326.

- Pushpangadan, P., George, V. (2012): Basil. In Handbook of Herbs and Spices (pp. 55–72). Woodhead Publishing.
- Qasem, A., Al-Ismail, K. (2004): Antioxidant activity of alcohol extracts of chamomile flowers, anise seeds and dill seeds in two vegetable oils and two animal fats. *Grasas y Aceites*, 55(4), 345–353.
- Qi, B., Zhang, Q., Sui, X., Wang, Z., Li, Y., Jiang, L. (2016): Differential scanning calorimetry study - assessing the influence of composition of vegetable oils on oxidation. *Food chemistry*, 194, 601–607.
- Qi, Z., Xiao, J., Ye, L., Chuyun, W., Chang, Z., Shugang, L., Fenghong, H. (2019): The effect of the subcritical fluid extraction on the quality of almond oils: Compared to conventional mechanical pressing method. *Food science nutrition*, 7(7), 2231–2241.
- Quintanilla, P., Beltran, M.C., Molina, A., Escriche, I., Molina, M.P. (2019): Characteristics of ripened Tronchon cheese from raw goat milk containing legally admissible amounts of antibiotics. *Journal of dairy science*, 102(4), 2941–2953.
- Raal, A., Arak, E., Orav, A. (2012): The content and composition of the essential oil found in *Carum carvi* L. commercial fruits obtained from different countries. *Journal of Essential Oil Research*, 24(1), 53–59.
- Rabadán, A., Álvarez-Ortí, M., Pardo, J.E., Alvarruiz, A. (2018): Storage stability and composition changes of three cold-pressed nut oils under refrigeration and room temperature conditions. *Food chemistry*, 259, 31–35.
- 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. (2017): Modifikacija ulja i masti, Poljoprivredni fakultet, Zemun.
- Rabrenović, B.B., Dimić, E.B., Novaković, M.M., Tešević, V.V., Basić, Z.N. (2014): The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 55(2), 521–527.
- Radaelli, M., Silva, B.P.D., Weidlich, L., Hoehne, L., Flach, A., Costa, L., Ethur, E.M. (2016): Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 424–430.
- Rade, D., Mokrovčak, Ž., Štrucelj, D., Škevin, D., Neđeral, S. (2004): The effect of processing conditions on the nontriacylglycerol constituents of sunflower oil. *Acta alimentaria*, 33(1), 7–18.
- Rafałowski, R., Żegarska, Z., Kuncewicz, A., Borejszo, Z. (2008): Fatty acid composition, tocopherols and β -carotene content in Polish commercial vegetable oils. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(2), 278–82.
- Rajeshwari, C.U., Andallu, B. (2012): Reverse phase HPLC for the detection of flavonoids in the ethanolic extract of *Coriandrum sativum* L. seeds. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(1), 21–26.
- Ramadan, M.F. (2013): Healthy blends of high linoleic sunflower oil with selected cold pressed oils: Functionality, stability and antioxidative characteristics. *Industrial Crops and Products*, 43, 65–72.

- Rančić, A., Stanković, S., Soković, M., Stanković, S., Van Griensven, L., Vukojević, J., Brkić, D., Ristić, M. (2003): Antimicrobial activity of limonene. *Lekovite sirovine*, 23, 83–88.
- Raß, M., Schein, C., Matthäus, B. (2008): Virgin sunflower oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(7), 618–624.
- Ratusz, K., Popis, E., Ciemniowska-Żytkiewicz, H., Wroniak, M. (2016): Oxidative stability of camelina (*Camelina sativa* L.) oil using pressure differential scanning calorimetry and Rancimat method. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 126(1), 343–351.
- Ratusz, K., Symoniuk, E., Wroniak, M., Rudzińska, M. (2018): Bioactive compounds, nutritional quality and oxidative stability of cold-pressed camelina (*Camelina sativa* L.) oils. *Applied Sciences*, 8(12), 2606.
- Rauf, S., Jamil, N., Tariq, S.A., Khan, M., Kausar, M., Kaya, Y. (2017): Progress in modification of sunflower oil to expand its industrial value. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(7), 1997–2006.
- Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M.B., Jaimand, K., Alinezhad, S., Saberi, R., Yoshinari, T. (2009): Chemical composition and antiaflatoxic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control*, 20(11), 1018–1024.
- Rebey, I.B., Wannas, W.A., Kaab, S.B., Bourgou, S., Tounsi, M.S., Ksouri, R., Fauconnier, M.L. (2019): Bioactive compounds and antioxidant activity of *Pimpinella anisum* L. accessions at different ripening stages. *Scientia horticultrae*, 246, 453–461.
- Réblová, Z., Okrouhlá, P. (2010): Ability of phenolic acids to protect α -tocopherol. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(4), 290–297.
- Redondo-Cuevas, L., Castellano, G., Torrens, F., Raikos, V. (2018): Revealing the relationship between vegetable oil composition and oxidative stability: A multifactorial approach. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 221–229.
- Rękas, A., Wroniak, M., Siger, A., Ścibisz, I., Derewiaka, D., Anders, A. (2017): Mechanical hulling and thermal pre-treatment effects on rapeseed oil antioxidant capacity and related lipophilic and hydrophilic bioactive compounds. *International journal of food sciences and nutrition*, 68(7), 788–799.
- Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., Kilinçarslan, Ö., Mammadov, R., Bardaweel, S.K. (2019): Chemical composition and bioactivity of essential oils and ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC complementary and alternative medicine*, 19(1), 1–10.
- Ribeiro, D., Freitas, M., Silva, A.M., Carvalho, F., Fernandes, E. (2018): Antioxidant and prooxidant activities of carotenoids and their oxidation products. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 681–699.
- Roche, J., Bouniols, A., Mouloungui, Z., Barranco, T., Cerny, M. (2006): Management of environmental crop conditions to produce useful sunflower oil components. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(4), 287–297.
- Romani, A., Pinelli, P., Moschini, V., Heimler, D. (2017): Seeds and oil polyphenol content of sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown with different agricultural management. *Advances in Horticultural Science*, 31(2), 85–88.

- Romanić, R. (2015): Hemometrijski pristup optimizaciji tehnoloških parametara proizvodnje hladno presovanog ulja semena visokooleinskog suncokreta. Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Romanić, R. (2020): Cold pressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) oil. In Cold Pressed Oils (pp. 197–218). Academic Press.
- Romanić, R., Dimić, E., Lazić, V., Vujašinović, V. (2009): Oxidative stability and tocopherol content of refined sunflower oil during long-term storage in different commercial packagings. *Acta alimentaria*, 38(3), 319–327.
- Romanić, R.S., Kravić, S.Z. (2017): Investigation of the oxidative stability of cold pressed sunflower oil of high-oleic type subjected to elevated temperature. *Hemijska industrija*, 71(2), 175–182.
- Róžańska, M.B., Kowalczewski, P.Ł., Tomaszewska-Gras, J., Dwiecki, K., Mildner-Szkodlarz, S. (2019): Seed-roasting process affects oxidative stability of cold-pressed oils. *Antioxidants*, 8(8), 313.
- Ruberto, G., Baratta, M.T. (2000): Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 69(2), 167–174.
- Rus, C., Sumalan, R.M., Alexa, E., Copolovici, D.M., Pop, G., Botau, D. (2015): Study on chemical composition and antifungal activity of essential oils obtained from representative species belonging to the Lamiaceae family. *Plant, Soil and Environment*, 61(7), 297–302.
- Rusin, M., Gospodarek, J., Biniaś, B. (2016): The effect of water extracts from winter savory on black bean aphid mortality. *Journal of Ecological Engineering*, 17(1).
- Saavedra, T., Dandlen, S.A., Neves, M.A., Martins, D., Antunes, M.D., Figueiredo, A.C., Pedro, L., Barroso, J.G., Miguel, M.G. (2015): Stability of olive oils during storage in the presence of *Thymbra capitata* essential oil. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 26(2), 61–65.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005): Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*, 91(4), 621–632.
- Sadeghi, E., Mahtabani, A., Karami, F. (2019): Considering the oxidative stability of cold-pressed sesame, sunflower, and olive oils under different storage conditions. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI-Food Technology*, 43(2), 70–83.
- Sakač, Z., Miklič, V., Jocić, S. (2011): Izmene kvaliteta ulja novosadskih hibrida suncokreta. *Zbornik referata*, 45, 30–01.
- Sakkas, H., Papadopoulou, C. (2017): Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(3), 429–438.
- Salaj, N., Kladar, N., Čonić, B. S., Jeremić, K., Barjaktarović, J., Hitl, M., Gavarić, N., Božin, B. (2020): Stabilization of sunflower and olive oils with savory (*Satureja kitaibelii*, Lamiaceae). *Journal of Food Nutrition Research*, 59(3).
- Salas, J.J., Bootello, M. A., Garcés, R. (2015): Food uses of sunflower oils. In *Sunflower* (pp. 441–464). AOCS press.
- Salas, J.J., Bootello, M.A., Martínez-Force, E., Garcés, R. (2011): Production of stearate-rich butters by solvent fractionation of high stearic–high oleic sunflower oil. *Food Chemistry*, 124(2), 450–458.

- Salas, J.J., Martínez-Force, E., Harwood, J.L., Venegas-Calderón, M., Aznar-Moreno, J.A., Moreno-Pérez, A.J., Ruíz-López, N., Serrano-Vega, M.J., Graham, I.A., Mullen, R.T., Garcés, R. (2014): Biochemistry of high stearic sunflower, a new source of saturated fats. *Progress in lipid research*, 55, 30–42.
- Saldaña, M.D.A., Martínez-Montegudo, S.I. (2013): Oxidative Stability of Fats and Oils Measured by Differential Scanning Calorimetry for Food and Industrial Applications. In *Applications of Calorimetry in a Wide Context-Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry*. IntechOpen.
- Saleem, F., Sarkar, D., Ankolekar, C., Shetty, K. (2017): Phenolic bioactives and associated antioxidant and antihyperglycemic functions of select species of Apiaceae family targeting for type 2 diabetes relevant nutraceuticals. *Industrial Crops and Products*, 107, 518–525.
- Samojlik, I., Lakić, N., Mimica-Dukić, N., Đaković-Švajcer, K., Božin, B. (2010): Antioxidant and hepatoprotective potential of essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and caraway (*Carum carvi* L.) (Apiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(15), 8848–8853.
- Samojlik, I., Mijatović, V., Petković, S., Škrbić, B., Božin, B. (2012): The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum* L.) on drug effects on the central nervous system. *Fitoterapia*, 83(8), 1466–1473.
- Sánchez-Muniz, F.J., Bastida, S., Benedí, J. (2016): *Sunflower oil*. Elsevier Ltd.
- Sánchez-Rodríguez, L., Kranjac, M., Marijanović, Z., Jerković, I., Corell, M., Moriana, A., Carbonell-Barrachina, Á.A., Sendra, E. Hernández, F. (2019): Quality attributes and fatty acid, volatile and sensory profiles of „Arbequina“ hydrosustainable olive oil. *Molecules*, 24(11), 2148.
- Sanders, T.A. (2016). Introduction: the role of fats in human diet. *Functional dietary lipids*, 1–20.
- Santos-Silva, J., Mendes, I. A., Bessa, R.J.B. (2002): The effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: 1. Growth, carcass composition and meat quality. *Livestock Production Science*, 76(1–2), 17–25.
- Sarker, S.D., Nahar, L., Kumarasamy, Y. (2007): Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*, 42(4), 321–324.
- Sayyari, Z., Farahmandfar, R. (2017)_ Stabilization of sunflower oil with pussy willow (*Salix aegyptiaca*) extract and essential oil. *Food Science Nutrition*, 5(2), 266–272.
- Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V., Lampi, A.M. (2008): Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(2), 152–161.
- Sedláková, J., Kocourková, B., Lojková, L., Kubáň, V. (2003): The essential oil content in caraway species (*Carum carvi* L.). *Horticultural Science*, 30(2), 73.
- Seidler-Łożykowska, K., Kędzia, B., Karpińska, E., Bocianowski, J. (2013): Microbiological activity of caraway (*Carum carvi* L.) essential oil obtained from different origin. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35(4), 495–500.
- Seppanen, C.M., Song, Q., Saari Csallany, A. (2010): The antioxidant functions of tocopherol and tocotrienol homologues in oils, fats, and food systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(5), 469–481.

- Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., Nunes, M.L., Marques, A. (2011): Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(9), 1554–1560.
- Serrano–Vega, M.J., Martínez-Force, E., Garcés, R. (2005): Lipid characterization of seed oils from high-palmitic, low-palmitoleic, and very high-stearic acid sunflower lines. *Lipids*, 40(4), 369–374.
- Sghaier, L., Cordella, C.B., Rutledge, D.N., Lefèvre, F., Watiez, M., Breton, S., Sassi, P., Thiebaut, D., Vial, J. (2017): Synergetic use of principal component analysis applied to normed physicochemical measurements and GC×GC-MS to reveal the stabilization effect of selected essential oils on heated rapeseed oil. *Journal of Food Science*, 82(6), 1333–1343.
- Shahidi, F., Zhong, H. J. (2005). *Methods for measuring lipid oxidation*. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 1–27.
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015): Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional Foods*, 18, 820–897.
- Shahidi, F., Zhong, Y. (2010): Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4067–4079.
- Shakeri, A., Khakdan, F., Soheili, V., Sahebkar, A., Rassam, G., Asili, J. (2014): Chemical composition, antibacterial activity, and cytotoxicity of essential oil from *Nepeta ucrainica* L. ssp. *kopetdaghensis*. *Industrial Crops and Products*, 58, 315–321.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H. (2007): The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology*, 117(1), 112–119.
- Siger, A., Kaczmarek, A., Rudzińska, M. (2015): Antioxidant activity and phytochemical content of cold-pressed rapeseed oil obtained from roasted seeds. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(8), 1225–1237.
- Siger, A., Nogala-Kalucka, M., Lampart-Szczapa, E. (2008): The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of food lipids*, 15(2), 137–149.
- Siger, A., Nogala-Kalucka, M., Lampart-Szczapa, E., Hoffman, A. (2005): Antioxidant activity of phenolic compounds of selected cold-pressed and refined plant oils. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 26(2), 549–559.
- Sikorska, E., Caponio, F., Bilancia, M.T., Summo, C., Pasqualone, A., Khmelinskii, I.V., Sikorski, M. (2007): Changes in colour of extra-virgin olive oil during storage. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4C), 495–498.
- Silva, F.V., Martins, A., Salta, J., Neng, N.R., Nogueira, J.M., Mira, D., Gaspar, N., Justino, J., Grosso, C., Urieta, J.S., Palavra, A.M.S., Rauter, A.P. (2009): Phytochemical profile and anticholinesterase and antimicrobial activities of supercritical versus conventional extracts of *Satureja montana*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(24), 11557–11563.
- Silva, V.A., Sousa, J.P., Guerra, F.Q.S., Pessôa, H.L.F., Freitas, A.F.R., Alves, L.B.N., Lima, E.O. (2015): Antibacterial activity of *Ocimum basilicum* essential oil and linalool on bacterial isolates of clinical importance. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(6), 1066–1071.
- Simić, A., Rančić, A., Soković, M.D., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., Marin, P.D. (2008): Essential oil composition of *Cymbopogon winterianus* and *Carum carvi* and their antimicrobial activities. *Pharmaceutical Biology*, 46(6), 437–441.

- Singh, G., Kapoor, I.P.S., Singh, P., de Heluani, C.S., Catalan, C. (2008): Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and oleoresins from anise seeds (*Pimpinella anisum* L.). *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 2(3), 122–130.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Skočibušić, M., Bezić, N. (2003): Chemical composition and antidiarrhoeal activities of winter savory (*Satureja montana* L.) essential oil. *Pharmaceutical biology*, 41(8), 622–626.
- Slavkovska, V., Jančić, R., Bojović, S., Milosavljević, S., Đoković, D. (2001): Variability of essential oils of *Satureja montana* L. and *Satureja kitaibelii* wierz. ex Heuff. from the central part of the Balkan Peninsula. *Phytochemistry*, 57(1), 71–76.
- Soares, V.P., Fagundes, M.B., Guerra, D.R., Leães, Y.S.V., Speroni, C.S., Robalo, S.S., Emanuelli, T., Cichoski, A.J., Wagner, R., Barin, J.S., Bertuol, D.A., Ballus, C.A. (2020): Ultrasound assisted maceration for improving the aromatization of extra-virgin olive oil with rosemary and basil. *Food Research International*, 135, 109305.
- Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D., Van Griensven, L.J. (2010): Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15(11), 7532–7546.
- Soldo, B., Anđelić, I., Nikolov, N., Skroza, D., Šimat, V., Ljubenkov, I., Generalić Mekinić, I. (2019): The effect of selected herb extracts on oxidative stability of vegetable oils. *Croatica Chemica Acta*, 92(3), 1C–1C.
- Sonmezdag, A.S., Kesen, S., Amanpour, A., Guclu, G., Kelebek, H., Selli, S. (2019): LC-DAD-ESI-MS/MS and GC-MS profiling of phenolic and aroma compounds of high oleic sunflower oil during deep-fat frying. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(3), e13879.
- Sousa, A., Casal, S., Malheiro, R., Lamas, H., Bento, A., Pereira, J.A. (2015): Aromatized olive oils: Influence of flavouring in quality, composition, stability, antioxidants, and antiradical potential. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 22–28.
- Spigno, G., Tramelli, L., de Faveri, D.M. (2007): Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering*, 81(1), 200–208.
- SRPS EN ISO 12966-2:2017. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Gasna hromatografija metil-estara masnih kiselina – Deo 2: Priprema etil-estara masnih kiselina.
- SRPS EN ISO 3656:2013. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje apsorbancije u ultraljubičastoj oblasti izražene kao specifična UV ekstinkcija. Institut za standardizaciju Srbije.
- SRPS EN ISO 3960:2017. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje peroksidnog 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 6885:2017. Ulja i masti biljnog i životinjskog porekla – Određivanje anisidinskog broja. Institut za standardizaciju Srbije.

- Stanojević, Lj., Stanković, B., Cakić, M., Nikolić, V., Ilić, D., Perić, M. (2014): Uticaj tehnike ekstrakcije na prinos, kinetiku i sastav vodenih ekstrakata iz ploda mirođije (*Anethi fructus*). *Savremene Tehnologije*, 3, 23–29.
- Stanojević, Lj.P., Marjanović-Balaban, Z.R., Kalaba, V.D., Stanojević, J.S., Cvetković, D.J., Cakić, M.D. (2017): Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(6), 1557–1569.
- Stanojević, Lj.P., Zdravković, A.S., Stanković, M.Z., Cakić, M.D., Nikolić, V.D., Ilić, D.P. (2013): Antioksidativna aktivnost vodeno-etanolnih ekstrakata iz lista koprive (*Urtica dioica* L.). *Savremene Tehnologije*, 2(1), 51–59.
- Stefan, M., Zamfirache, M. M., Padurariu, C., Trută, E., Gostin, I. (2013): The composition and antibacterial activity of essential oils in three *Ocimum* species growing in Romania. *Central European Journal of Biology*, 8(6), 600–608.
- Stobiecka, A., Bonikowski, R., Kula, J. (2014): Free radical scavenging properties of thienyl and furyl linalool analogues: an experimental and DFT/B3LYP study. *Flavour and Fragrance Journal*, 29(6), 325–333.
- Stojićević, A., Alimpić Aradski, A., Pantić, M., Pantelić, N., Rabrenović, B., Duletić-Laušević, S., Nikšić, M., Antić, M. (2021). Biological activity of *Satureja montana* L. ethanolic extracts and their effect on oxidative stability of cold pressed sunflower oil in long-term storage conditions. 2nd International UNIFood Conference, 24–25th September, University of Belgrade, Book of Abstracts, ISBN 978-86-7522-066-4.
- Stojićević, A.S., Pastor, F.T., Gorjanović, S.Ž., Šolević Knudsen, T.M., Antić, M.P. (2020): Modification of DC polarographic antioxidant assay – Application to aromatic plants and their active principles. *Flavour and Fragrance Journal*, 35(2), 219–226.
- Sužnjević, D.Ž., Pastor, F.T., Gorjanović, S.Ž. (2011): Polarographic study of hydrogen peroxide anodic current and its application to antioxidant activity determination. *Talanta*, 85(3), 1398–1403.
- Symoniuk, E., Ratusz, K., Krygier, K. (2016): Comparison of the oxidative stability of linseed (*Linum usitatissimum* L.) oil by pressure differential scanning calorimetry and Rancimat measurements. *Journal of Food Science and Technology*, 53(11), 3986–3995.
- Symoniuk, E., Ratusz, K., Ostrowska-Ligeża, E., Krygier, K. (2018): Impact of selected chemical characteristics of cold-pressed oils on their oxidative stability determined using the rancimat and pressure differential scanning calorimetry method. *Food Analytical Methods*, 11(4), 1095–1104.
- Synowiec, A., Gniewosz, M., Kraśniewska, K., Przybył, J.L., Bączek, K., Węglarz, Z. (2014): Antimicrobial and antioxidant properties of pullulan film containing sweet basil extract and an evaluation of coating effectiveness in the prolongation of the shelf life of apples stored in refrigeration conditions. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 23, 171–181.
- Synowiec, A., Możdżeń, K., Krajewska, A., Landi, M., Araniti, F. (2019): *Carum carvi* L. essential oil: A promising candidate for botanical herbicide against *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. in maize cultivation. *Industrial Crops and Products*, 140, 111652.
- Szterk, A., Roszko, M., Sosińska, E., Derewiaka, D., Lewicki, P.P. (2010): Chemical composition and oxidative stability of selected plant oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(6), 637–645.

- Šarić, L., Čabarkapa, I., Beljkaš, B., Mišan, A., Sakač, M.B., Plavšić, D. (2009): Antimicrobial activity of plant extracts from Serbia. *Food Processing, Quality and Safety*, 36(1–2), 1–5.
- Šibul, F.S., Orčić, D.Z., Svirčev, E., Mimica-Dukić, N.M. (2016): Optimization of extraction conditions for secondary biomolecules from various plant species. *Hemijska Industrija*, 70(4), 473–483.
- Šimat, V., Ficović, M., Čagalj, M., Skroza, D., Ljubenkov, I., Generalić Mekinić, I. (2017): Preventive effect of herb extracts on lipid oxidation in fish oil. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 12(1–2), 30–36.
- Škorić, D., Jocić, S., Sakač, Z., Lečić, N. (2008): Genetic possibilities for altering sunflower oil quality to obtain novel oils. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 86(4), 215–221.
- Šojić, B., Pavlić, B., Ikonić, P., Tomović, V., Ikonić, B., Zeković, Z., Kocić-Tanackov, S., Jokanović, M., Škaljac, S., Ivić, M. (2019c): Coriander essential oil as natural food additive improves quality and safety of cooked pork sausages with different nitrite levels. *Meat Science*, 157, 107879.
- Šojić, B., Pavlić, B., Tomović, V., Ikonić, P., Zeković, Z., Kocić-Tanackov, S., Đurović, S., Škaljac, S., Jokanović, M., Ivić, M. (2019a): Essential oil versus supercritical fluid extracts of winter savory (*Satureja montana* L.)—Assessment of the oxidative, microbiological and sensory quality of fresh pork sausages. *Food Chemistry*, 287, 280–286.
- Šojić, B., Tomović, V., Pavlić, B., Ikonić, P., Škaljac, S., Jokanović, M., Ivić, M. (2019b): The effect of winter savory (*Satureja montana* L.) extract on the quality of cooked pork sausages. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 333, No. 1, p. 012103). IOP Publishing.
- Takwa, S., Caleja, C., Barreira, J.C., Soković, M., Achour, L., Barros, L., Ferreira, I.C. (2018): *Arbutus unedo* L. and *Ocimum basilicum* L. as sources of natural preservatives for food industry: A case study using loaf bread. *LWT-Food Science and Technology*, 88, 47–55.
- Talbot, G. (2016): The stability and shelf life of fats and oils. In *The stability and shelf life of food* (pp. 461–503). Woodhead Publishing.
- Taoudiat, N., Spigno, G., Ferhat, Z., Djenane, D. (2020): Bioenrichment using *Satureja montana* L. essential oil for the prevention against photooxidation of flavored extra virgin olive oil during light display. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*, 4(8), 351–359.
- Tasan, M., Demirci, M. (2005): Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining. *European Food Research and Technology*, 220(3), 251–254.
- Tasan, M., Gecgel, U., Demirci, M. (2011): Effects of storage and industrial oilseed extraction methods on the quality and stability characteristics of crude sunflower oil (*Helianthus annuus* L.). *Grasas y Aceites*, 62(4), 389–398.
- Tauferova, A., Dordevič, D., Jancikova, S., Tremlova, B., Kulawik, P. (2021): Fortified cold-pressed oils: the effect on sensory quality and functional properties. *Separations*, 8(5), 55.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N.R., Nogueira, J.M., Saraiva, J.A., Nunes, M.L. (2013): Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43, 587–595.
- Tepe, B., Akpulat, H.A., Sokmen, M., Daferera, D., Yumrutas, O., Aydin, E., Polissiou, M., Sokmen, A. (2006): Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the

- essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chemistry*, 97(4), 719–724.
- Tewari, D., Pandey, H.K., Sah, A.N., Meena, H., Chander, V., Singh, R., Singh, P. (2015): Phytochemical, antioxidant and antidepressant evaluation of *Ocimum basilicum*, *O. tenuiflorum*, *O. kilimandscharicum* grown in India. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 5(2), 120–131.
- Thoo, Y.Y., Ho, S.K., Liang, J.Y., Ho, C.W., Tan, C.P. (2010): Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chemistry*, 120(1), 290–295.
- Tinello, F., Lante, A., Bernardi, M., Cappiello, F., Galgano, F., Caruso, M. C., Favati, F. (2018): Comparison of OXITEST and RANCIMAT methods to evaluate the oxidative stability in frying oils. *European Food Research and Technology*, 244(4), 747–755.
- Tohma, S., Turan, S. (2015): Rosemary plant (*Rosmarinus officinalis* L.), solvent extract and essential oil can be used to extend the usage life of hazelnut oil during deep frying. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(12), 1978–1990.
- Tomašević, I., Tomović, V., Milovanović, B., Lorenzo, J., Đorđević, V., Karabasil, N., Đekić, 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.
- Tonutti, I., Liddle, P. (2010): Aromatic plants in alcoholic beverages. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(5), 341–350.
- Topkafa, M., Ayyildiz, H.F., Arslan, F.N., Kucukkolbasi, S., Durmaz, F., Sen, S., Kara, H. (2013): Role of different bleaching earths for sunflower oil in a pilot plant bleaching system. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 63(3).
- Trifan, A., Aprotosoae, A.C., Brebu, M., Cioancă, O., Gille, E., Hăncianu, M., Miron, A. (2015): Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from Romanian *Satureja montana* L. *Farmacia*, 63(3), 413–416.
- Trifan, A., Aprotosoae, A.C., Cioanca, O., Hancianu, M., Jitareanu, A., Gille, E., Miron, A. (2016): Antioxidant activity of essential oil from *Carum carvi* L. cultivated in North-Eastern Romania. *The Medical-Surgical Journal*, 120(3), 732–736.
- Tsimogiannis, D., Choulitoudi, E., Bimpilas, A., Mitropoulou, G., Kourkoutas, Y., Oreopoulou, V. (2017): Exploitation of the biological potential of *Satureja thymbra* essential oil and distillation by-products. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 4, 12–20.
- Tuberoso, C.I., Kowalczyk, A., Sarritzu, E., Cabras, P. (2007): Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chemistry*, 103(4), 1494–1501.
- Turan, S. (2014): Effects of some plant extracts on the oxidative stability of canola oil and its purified triacylglycerols. *Journal of Food Quality*, 37(4), 247–258.
- Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T. (1991): Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338(8773), 985–992.
- 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(23), 9073–9077.

- Ullah, H., Honermeier, B. (2013): Fruit yield, essential oil concentration and composition of three anise cultivars (*Pimpinella anisum* L.) in relation to sowing date, sowing rate and locations. *Industrial Crops and Products*, 42, 489–499.
- Vallverdú-Queralt, A., Regueiro, J., Alvarenga, J.F.R., Martinez-Huelamo, M., Leal, L.N., Lamuela-Raventos, R.M. (2015): Characterization of the phenolic and antioxidant profiles of selected culinary herbs and spices: caraway, turmeric, dill, marjoram and nutmeg. *Food Science and Technology*, 35, 189–195.
- Van de Voort, F.R., Ismail, A.A., Sedman, J., Emo, G. (1994): Monitoring the oxidation of edible oils by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(3), 243–253.
- Van der Merwe, R., Arno, H., Herselman, L., Labuschagne, M. (2012). Physicochemical and oxidative stability characteristics of high- and mid-oleic sunflower seed oil. In *Proceedings of the 18th Intern. Sunf. Conf. Mar del Plata* (pp. 955–960).
- Van Hoed, V. (2010): Phenolic compounds in seed oils. *Lipid Technology*, 22(11), 247–249.
- Van Zyl, R.L., Seatholo, S.T., Van Vuuren, S.F., Viljoen, A.M. (2006): The biological activities of 20 nature identical essential oil constituents. *Journal of Essential Oil Research*, 18(sup1), 129–133.
- Varga, F., Carović-Stanko, K., Ristić, M., Grdiša, M., Liber, Z., Šatović, Z. (2017): Morphological and biochemical intraspecific characterization of *Ocimum basilicum* L. *Industrial Crops and Products*, 109, 611–618.
- Vasiljević, B., Mitić-Ćulafić, D., Đekić, I., Marković, T., Knežević-Vukčević, J., Tomašević, I., Velebit, B., Nikolić, B. (2019): Antibacterial effect of *Juniperus communis* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* *in vitro* and in wine marinated beef. *Food Control*, 100, 247–256.
- Veillet, S., Tomao, V., Chemat, F. (2010): Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chemistry*, 123(3), 905–911.
- Velasco, L., Ruiz-Méndez, M.V. (2015): Sunflower oil minor constituents. In *Sunflower* (pp. 297–329). AOCS Press.
- Velasco, L., Fernández-Cuesta, Á., García-Ruiz, J.R., Fernández-Martínez, J.M., Domínguez-Giménez, J. (2013): Genetic variation and genotype × environment interactions for seed phytosterols in sunflower. *Crop Science*, 53(4), 1589–1593.
- Velasco, L., Fernández-Martínez, J.M., Fernández, J. (2015): Sunflower production in the European Union. In *Sunflower* (pp. 555–573). AOCS Press.
- Veličković, V., Đurović, S., Radojković, M., Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Vujić, J., Trifunović, S., Mašković, P.Z. (2017): Application of conventional and non-conventional extraction approaches for extraction of *Erica carnea* L.: Chemical profile and biological activity of obtained extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*, 128, 331–337.
- Veronezi, C.M., Costa, T., Jorge, N. (2014): Basil (*Ocimum basilicum* L.) as a natural antioxidant. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(1), 255–261.
- Vidić, D., Maksimović, M., Čavar, S., Solić, M.E. (2009): Comparison of essential oil profiles of *Satureja montana* L. and endemic *Satureja visianii* Šilic. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(3), 273–281.

- Vidović, S.S., Vladić, J.Z., Vaštag, Ž.G., Zeković, Z.P., Popović, L.M. (2014): Maltodextrin as a carrier of health benefit compounds in *Satureja montana* dry powder extract obtained by spray drying technique. *Powder Technology*, 258, 209–215.
- Vidović, S.S., Zeković, Z.P., Lepojević, Ž.D., Radojković, M.M., Jokić, S.D., Anačkov, G.T. (2012): Optimization of the *Ocimum basilicum* L. extraction process regarding the antioxidant activity. *Acta Periodica Technologica*, (43), 315–323.
- Vidrih, R., Vidaković, S., Abramovič, H. (2010): Biochemical parameters and oxidative resistance to thermal treatment of refined and unrefined vegetable edible oils. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(5), 376–384.
- Vitanza, L., Maccelli, A., Marazzato, M., Scazzocchio, F., Comanducci, A., Fornarini, S., Crestoni, M.A., Filippi, A., Frascchetti, C., Rinaldi, F., Aleandri, M., Goldoni, P., Conte, M.P., Ammendolia, M.G., Longhi, C. (2019): *Satureja montana* L. essential oil and its antimicrobial activity alone or in combination with gentamicin. *Microbial Pathogenesis*, 126, 323–331.
- Vladić, J., Zeković, Z., Cvejcin, A., Adamović, D., Vidović, S.S. (2014): Optimization of *Satureja montana* extraction process considering phenolic antioxidants and antioxidant activity. *Separation Science and Technology*, 49(13), 2066–2072.
- Vladimir-Knežević, S., Blažeković, B., Kindl, M., Vladić, J., Lower-Nedza, A.D., Brantner, A.H. (2014): Acetylcholinesterase inhibitory, antioxidant and phytochemical properties of selected medicinal plants of the Lamiaceae family. *Molecules*, 19(1), 767–782.
- Vlahakis, C., Hazebroek, J. (2000): Phytosterol accumulation in canola, sunflower, and soybean oils: effects of genetics, planting location, and temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(1), 49–53.
- Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., Mot, A.C., Silaghi-Dumitrescu, R., Tilea, I. (2014): Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules*, 19(5), 5490–5507.
- Vrbiková, L., Schmidt, Š., Kreps, F., Tmakova, L., Čertík, M., Sekretár, S. (2014): Degradation of selected nutrients in sunflower oils during long-term storage. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(6), 595–600.
- Vučić, V., Arsić, A., Petrović, S., Milanović, S., Gurinović, M., Glibetić, M. (2015): Trans fatty acid content in Serbian margarines: urgent need for legislative changes and consumer information. *Food Chemistry*, 185, 437–440.
- Vujasinović, V. (2011): Uticaj termičke obrade na nutritivnu vrednost i oksidativnu stabilnost ulja semena uljane tikve golice *Cucurbita pepo* L. Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Vujasinović, V., Radočaj, O., Dimić, E. (2012): Optimization of hull-less pumpkin seed roasting conditions using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 77(5), C532–C538.
- Vuolo, M.M., Lima, V.S., Junior, M.R.M. (2019): Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In *Bioactive compounds* (pp. 33–50). Woodhead Publishing.
- Wang, D., Fan, W., Guan, Y., Huang, H., Yi, T., Ji, J. (2018): Oxidative stability of sunflower oil flavored by essential oil from *Coriandrum sativum* L. during accelerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 98, 268–275.

- Warner, K. (2005): Effects on the flavor and oxidative stability of stripped soybean and sunflower oils with added pure tocopherols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 9906–9910.
- Warner, K., Miller, J., Demurin, Y. (2008): Oxidative stability of crude mid-oleic sunflower oils from seeds with high γ - and δ -tocopherol levels. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(6), 529–533.
- Warsi, W., Sholichah, A.R. (2017). Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanolic extract and ethyl acetate fraction from basil leaf (*Ocimum basilicum* L.) by DPPH radical scavenging method. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 259, No. 1, p. 012008). IOP Publishing.
- Wasfy, A.A.F., Torkey, H.M., Hagag, H.H.F. (2018): Chemical composition and evaluation of the acaricidal activity of two essential oils and their formulations against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Applied Life Sciences International*, 1–15.
- Wąsowicz, E., Gramza, A., Hęś, M., Jeleń, H., Korczak, J., Małecka, M., Mildner-Szkudlarz, S., Rudzińska, M., Samotyja, E., Zawirska-Wojtasiak, R. (2004): Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13 (Spec. Issue 1).
- Wei, J.N., Liu, Z.H., Zhao, Y.P., Zhao, L.L., Xue, T.K., Lan, Q.K. (2019): Phytochemical and bioactive profile of *Coriandrum sativum* L. *Food Chemistry*, 286, 260–267.
- Winkler, J.K., Warner, K. (2008a): The effect of phytosterol concentration on oxidative stability and thermal polymerization of heated oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(5), 455–464.
- Winkler, J.K., Warner, K. (2008b): Effect of phytosterol structure on thermal polymerization of heated soybean oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(11), 1068–1077.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., Czemerys, R. (2007): Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940–949.
- Womeni, H.M., Djikeng, F.T., Tiencheu, B., Linder, M. (2013): Antioxidant potential of methanolic extracts and powders of some Cameroonian spices during accelerated storage of soybean oil. *Advances in Biological Chemistry*, 3, 304–313.
- Wong, R.S., Radhakrishnan, A.K. (2012): Tocotrienol research: past into present. *Nutrition Reviews*, 70(9), 483–490.
- Wroniak, M., Florowska, A., Rękas, A. (2016b): Effect of oil flushing with nitrogen on the quality and oxidative stability of coldpressed rapeseed and sunflower oils. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(1).
- 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).
- Wroniak, M., Rękas, A., Siger, A., Janowicz, M. (2016a): Microwave pretreatment effects on the changes in seeds microstructure, chemical composition and oxidative stability of rapeseed oil. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 634–641.
- Wu, D., Sun, D. W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control—A review. *Trends in Food Science Technology*, 29(1), 5–20.

- Wu, Y., Zhou, R., Wang, Z., Wang, B., Yang, Y., Ju, X., He, R. (2019): The effect of refining process on the physicochemical properties and micronutrients of rapeseed oils. *PLoS one*, 14(3), e0212879.
- Xu, W., Yao, J., Yi, Y., Wang, H.X., Wang, L.M. (2019): Effects of storage condition on the physicochemical characteristics of sunflower seed oil. *RSC Advances*, 9(72), 42262–42271.
- Yanishlieva, N.V., Marinova, E., Pokorný, J. (2006). Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of lipid science and Technology*, 108(9), 776-793.
- Yeom, H.J., Kang, J.S., Kim, G.H., Park, I.K. (2012): Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of Apiaceae plant essential oils and their constituents against adults of German cockroach (*Blattella germanica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(29), 7194–7203.
- Yildiz, S., Turan, S., Kiralan, M., Ramadan, M. F. (2021): Antioxidant properties of thymol, carvacrol, and thymoquinone and its efficiencies on the stabilization of refined and stripped corn oils. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 621–632.
- Zaborowska, Z., Przygoński, K., Biliska, A. (2012): Antioxidative effect of thyme (*Thymus vulgaris*) in sunflower oil. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 11(3).
- Zarlaha, A., Kourkoumelis, N., Stanojković, T.P., Kovala-Demertzi, D. (2014): Cytotoxic activity of essential oil and extracts of *Ocimum basilicum* against human carcinoma cells. Molecular docking study of isoeugenol as a potent cox and lox inhibitor. *Digest Journal of Nanomaterials Biostructures (DJNB)*, 9(3).
- Zaunschirm, M., Pignitter, M., Kienesberger, J., Hernler, N., Riegger, C., Eggersdorfer, M., Somoza, V. (2018): Contribution of the ratio of tocopherol homologs to the oxidative stability of commercial vegetable oils. *Molecules*, 23(1), 206.
- Zawistowski, J. (2010). Tangible health benefits of phytosterol functional foods. *Functional Food Product Development*, 362.
- Zeković, Z., Bušić, A., Komes, D., Vladić, J., Adamović, D., Pavlić, B. (2015): Coriander seeds processing: Sequential extraction of non-polar and polar fractions using supercritical carbon dioxide extraction and ultrasound-assisted extraction. *Food and bioproducts processing*, 95, 218–227.
- Zeković, Z., Pavlić, B., Cvetanović, A., Đurović, S. (2016): Supercritical fluid extraction of coriander seeds: Process optimization, chemical profile and antioxidant activity of lipid extracts. *Industrial Crops and Products*, 94, 353–362.
- Žilić, S., Dragišić, J. M., Maksimović, V., Maksimović, M., Basić, Z., Crevar, M., Stanković, G. (2010): The content of antioxidants in sunflower seed and kernel. *Helia*, 33(52), 75–84.

Korišćene internet stranice:

internet izvor 1: www.indexmundi.com (datum poslednjeg pristupa: 06.01.2022.)

internet izvor 2: www.who.int (datum poslednjeg pristupa: 06.04.2021.)

internet izvor 3: www.ods.od.nih.gov (datum poslednjeg pristupa: 06.04.2021.)

8. PRILOG

Tabela 8.1. Rezultati senzorne ocene uzoraka sa dodatkom EU i ekstrakata.

	Uzorak	Boja	Miris	Ukus	Srednja ocena
Rtanjski čaj	SE ₂₅₀	3,90 ± 0,42 ^{abcde fgh}	3,60 ± 0,55 ^{abcde f}	3,80 ± 0,27 ^{def ghij}	3,77 ± 0,19 ^{def ghijk}
	SE ₅₀₀	3,40 ± 0,42 ^{def gh}	3,40 ± 0,22 ^{cde f}	3,30 ± 0,27 ^{hijkl}	3,37 ± 0,25 ^{ghijk}
	SE ₁₀₀₀	3,40 ± 0,42 ^{def gh}	3,00 ± 0,50 ^{efg}	2,90 ± 0,42 ^{kl}	3,10 ± 0,43 ^{jk}
	UZM ₂₅₀	3,80 ± 0,57 ^{abcde fgh}	3,60 ± 0,42 ^{abcde f}	3,90 ± 0,42 ^{def ghij}	3,77 ± 0,38 ^{def ghijk}
	UZM ₅₀₀	3,40 ± 0,22 ^{def gh}	3,30 ± 0,45 ^{cde f g}	3,50 ± 0,50 ^{ghijkl}	3,40 ± 0,32 ^{ghijk}
	UZM ₁₀₀₀	3,20 ± 1,04 ^{fgh}	3,90 ± 0,82 ^{abcde f}	4,00 ± 0,00 ^{cde fghi}	3,70 ± 0,61 ^{ef ghijk}
Bosiljak	EU ₂₅₀	4,80 ± 0,45 ^{abc}	4,60 ± 0,65 ^{abcd}	4,80 ± 0,27 ^{abc}	4,73 ± 0,42 ^{abc}
	EU ₅₀₀	4,90 ± 0,22 ^{ab}	4,70 ± 0,45 ^{abc}	4,80 ± 0,27 ^{abc}	4,80 ± 0,22 ^{abc}
	EU ₁₀₀₀	4,80 ± 0,45 ^{abc}	3,80 ± 1,04 ^{abcde f}	4,00 ± 0,61 ^{cde fghi}	4,20 ± 0,49 ^{abcde f g}
	SE ₂₅₀	3,70 ± 1,25 ^{abcde fgh}	3,80 ± 1,60 ^{abcde f}	4,40 ± 0,22 ^{abcde f}	3,97 ± 1,02 ^{cde fghij}
	SE ₅₀₀	4,10 ± 0,65 ^{abcde f g}	4,40 ± 0,42 ^{abcde}	4,10 ± 0,22 ^{bcde fgh}	4,20 ± 0,38 ^{abcde f g}
	SE ₁₀₀₀	3,00 ± 1,00 ^{gh}	3,70 ± 0,27 ^{abcde f}	3,70 ± 0,27 ^{ef ghijk}	3,47 ± 0,38 ^{fghijk}
Korijander	UZM ₂₅₀	4,50 ± 0,61 ^{abcde f}	3,50 ± 1,41 ^{bcde f}	3,90 ± 0,42 ^{def ghij}	3,97 ± 0,75 ^{cde fghij}
	UZM ₅₀₀	4,40 ± 0,82 ^{abcde f}	4,30 ± 0,27 ^{abcde}	4,20 ± 0,27 ^{abcde f g}	4,30 ± 0,27 ^{abcde f}
	UZM ₁₀₀₀	3,80 ± 0,45 ^{abcde fgh}	4,00 ± 0,61 ^{abcde f}	4,50 ± 0,35 ^{abcde}	4,10 ± 0,32 ^{abcde fghi}
	EU ₂₅₀	5,00 ± 0,00 ^a	4,90 ± 0,22 ^{ab}	4,60 ± 0,22 ^{abcd}	4,83 ± 0,12 ^{abc}
	EU ₅₀₀	4,80 ± 0,27 ^{abc}	4,90 ± 0,22 ^{ab}	4,90 ± 0,22 ^{ab}	4,87 ± 0,14 ^{ab}
	EU ₁₀₀₀	4,90 ± 0,22 ^{ab}	3,40 ± 0,82 ^{cde f}	4,10 ± 0,42 ^{bcde fgh}	4,13 ± 0,14 ^{abcde fgh}
Anis	SE ₂₅₀	3,40 ± 0,42 ^{def gh}	3,40 ± 0,22 ^{cde f}	3,50 ± 0,35 ^{ghijkl}	3,43 ± 0,19 ^{fghijk}
	SE ₅₀₀	3,50 ± 0,50 ^{cde fgh}	3,60 ± 0,22 ^{abcde f}	3,50 ± 0,00 ^{ghijkl}	3,53 ± 0,14 ^{fghijk}
	SE ₁₀₀₀	4,00 ± 0,61 ^{abcde fgh}	1,90 ± 0,82 ^g	3,40 ± 0,22 ^{ghijkl}	3,10 ± 0,32 ^{jk}
	UZM ₂₅₀	3,70 ± 0,27 ^{abcde fgh}	3,40 ± 0,42 ^{cde f}	3,60 ± 0,22 ^{fghijk}	3,57 ± 0,19 ^{fghijk}
	UZM ₅₀₀	2,70 ± 0,91 ^h	3,30 ± 0,27 ^{cde f g}	3,20 ± 0,27 ^{ijkl}	3,07 ± 0,45 ^k
	UZM ₁₀₀₀	3,60 ± 0,42 ^{bcde fgh}	3,50 ± 0,35 ^{bcde f}	3,30 ± 0,27 ^{hijkl}	3,47 ± 0,27 ^{fghijk}
Kim	EU ₂₅₀	4,70 ± 0,27 ^{abcd}	4,70 ± 0,45 ^{abc}	4,60 ± 0,42 ^{abcd}	4,67 ± 0,33 ^{abc}
	EU ₅₀₀	4,80 ± 0,27 ^{abc}	5,00 ± 0,00 ^a	4,90 ± 0,22 ^{ab}	4,90 ± 0,15 ^{ab}
	EU ₁₀₀₀	4,90 ± 0,22 ^{ab}	4,90 ± 0,22 ^{ab}	4,10 ± 0,42 ^{bcde fgh}	4,63 ± 0,14 ^{abcd}
	SE ₂₅₀	3,30 ± 0,76 ^{efgh}	3,50 ± 0,35 ^{bcde f}	3,60 ± 0,22 ^{fghijk}	3,47 ± 0,38 ^{fghijk}
	SE ₅₀₀	3,40 ± 0,55 ^{def gh}	3,30 ± 0,27 ^{cde f g}	3,60 ± 0,22 ^{fghijk}	3,43 ± 0,30 ^{fghijk}
	SE ₁₀₀₀	3,40 ± 0,22 ^{def gh}	3,60 ± 0,22 ^{abcde f}	3,60 ± 0,42 ^{fghijk}	3,53 ± 0,22 ^{fghijk}
HPSU	UZM ₂₅₀	3,80 ± 0,45 ^{abcde fgh}	3,30 ± 0,45 ^{cde f g}	3,50 ± 0,35 ^{ghijkl}	3,53 ± 0,38 ^{fghijk}
	UZM ₅₀₀	3,60 ± 0,65 ^{bcde fgh}	3,20 ± 0,27 ^{def g}	3,60 ± 0,22 ^{fghijk}	3,47 ± 0,30 ^{fghijk}
	UZM ₁₀₀₀	3,60 ± 0,42 ^{bcde fgh}	3,40 ± 0,22 ^{cde f}	3,20 ± 0,27 ^{ijkl}	3,40 ± 0,25 ^{ghijk}
	EU ₂₅₀	4,60 ± 0,42 ^{abcde}	2,80 ± 0,27 ^{fg}	2,70 ± 0,45 ^l	3,37 ± 0,18 ^{ghijk}
	EU ₅₀₀	4,70 ± 0,27 ^{abcd}	2,70 ± 0,45 ^{fg}	3,30 ± 0,45 ^{hijkl}	3,57 ± 0,19 ^{fghijk}
	EU ₁₀₀₀	4,80 ± 0,27 ^{abc}	3,10 ± 0,65 ^{efg}	3,10 ± 0,22 ^{ijkl}	3,67 ± 0,26 ^{fghijk}
HPSU	SE ₂₅₀	3,40 ± 0,55 ^{def gh}	3,50 ± 0,50 ^{bcde f}	3,40 ± 0,22 ^{ghijkl}	3,43 ± 0,19 ^{fghijk}
	SE ₅₀₀	3,40 ± 0,42 ^{def gh}	3,10 ± 0,22 ^{efg}	3,20 ± 0,27 ^{ijkl}	3,23 ± 0,25 ^{ijk}
	SE ₁₀₀₀	2,80 ± 0,45 ^{gh}	3,30 ± 0,27 ^{cde f g}	3,70 ± 0,27 ^{ef ghijk}	3,27 ± 0,25 ^{hijk}
	UZM ₂₅₀	3,30 ± 0,45 ^{efgh}	3,40 ± 0,42 ^{cde f}	3,30 ± 0,27 ^{hijkl}	3,33 ± 0,26 ^{ghijk}
	UZM ₅₀₀	3,50 ± 0,35 ^{cde fgh}	3,40 ± 0,42 ^{cde f}	3,40 ± 0,42 ^{ghijkl}	3,43 ± 0,35 ^{fghijk}
	UZM ₁₀₀₀	3,40 ± 0,22 ^{def gh}	3,40 ± 0,22 ^{cde f}	3,40 ± 0,22 ^{ghijkl}	3,40 ± 0,15 ^{ghijk}
HPSU	EU ₂₅₀	4,40 ± 0,65 ^{abcde f}	3,70 ± 0,45 ^{abcde f}	4,00 ± 0,35 ^{cde fghi}	4,03 ± 0,36 ^{bcde fghi}
	EU ₅₀₀	5,00 ± 0,00 ^a	3,80 ± 0,45 ^{abcde f}	3,80 ± 0,27 ^{def ghij}	4,20 ± 0,14 ^{abcde f g}
	EU ₁₀₀₀	4,80 ± 0,27 ^{abc}	4,30 ± 1,04 ^{abcde}	4,60 ± 0,42 ^{abcd}	4,57 ± 0,48 ^{abcde}
HPSU	-	5,00 ± 0,00 ^a	4,90 ± 0,22 ^{ab}	5,00 ± 0,00 ^a	4,97 ± 0,07 ^a

*različita slova eksponenata u istoj koloni ukazuju na statistički značajne razlike između uzoraka ($p < 0,05$)

BIOGRAFIJA AUTORA

Aleksandra (Slobodan) Stojićević (rođ. Ilić) rođena je 30.04.1987. godine u Kragujevcu, Republika Srbija. Osnovno i srednje obrazovanje (Gimnazija, opšti smer) stekla je u Velikom Gradištu. Osnovne akademske studije na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu je upisala 2006. godine na odseku Prehrambena tehnologija biljnih proizvoda i završila 21.04.2011. godine sa prosečnom ocenom 8,75 čime je stekla zvanje diplomirani inženjer prehrambene tehnologije biljnih proizvoda – master. Doktorske akademske studije na istom fakultetu na studijskom programu Prehrambena tehnologija, upisala je školske 2011/12. godine i završila sve ispitne obaveze u roku.

U saradnji sa drugim autorima publikovala je dva rada u međunarodnim časopisima (kategorije M22 i M23) i 8 saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima (kategorije M33 i M34). Član je dva udruženja (Udruženja prehrambenih tehnologa Srbije i Society for Medicinal Plant and Natural Product Research).

Od 17.10.2011. godine je zaposlena u Visokoj tehničkoj školi strukovnih studija u Požarevcu, na mestu saradnika u nastavi a kasnije i asistenta na odseku Prehrambena tehnologija i nutricionizam. Zvanje nastavnika veština stiće 2021. godine na Akademiji tehničkih strukovnih studija Beograd pri odseku Primenjene inženjerske nauke Požarevac.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Aleksandra Stojićević

Broj indeksa: TH 11/13

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

Stabilizacija hladno presovanog suncokretovog ulja primenom etarskih ulja i ekstrakata odabranih vrsta lekovitog i začinskog bilja

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena doktorska disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, _____

Potpis autora

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Aleksandra Stojićević

Broj indeksa: TH 11/13

Studijski program: Prehrambena tehnologija

Naslov rada: Stabilizacija hladno presovanog suncokretovog ulja primenom etarskih ulja i ekstrakata odabranih vrsta lekovitog i začinskog bilja

Mentor: Prof. dr Mališa Antić

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala radi pothranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Stabilizacija hladno presovanog suncokretovog ulja primenom etarskih ulja i ekstrakata odabranih vrsta lekovitog i začinskog bilja

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- ③ 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

Potpis autora

U Beogradu, _____

1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerada. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. Autorstvo – bez prerada. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.