ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST TOKOFEROLNOG EKSTRAKTA DOBIVENOG IZ RAZLIČITIH VRSTA ULJA

Tijan, Paola

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:539432

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository

zir.nsk.hr

UNIRI DIGITALNA KNJIŽNICA

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Paola Tijan

ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST TOKOFEROLNOG EKSTRAKTA IZ RAZLIČITIH VRSTA ULJA

Završni rad

Rijeka, 2018. godina

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Paola Tijan

ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST TOKOFEROLNOG EKSTRAKTA IZ RAZLIČITIH VRSTA ULJA

Završni rad

Rijeka, 2018. godina

Mentor rada: doc. dr. sc Dalibor Broznić, dipl. sanit. ing

Završni rad obranjen je dana 21.09.2018. u/na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Ivana Gobin, dipl. sanit. ing.

2. izv. prof. dr. sc. Marin Tota, mr. ph.

3. doc. dr. sc. Dalibor Broznić, dipl. sanit. ing.

Rad ima 48 stranica, 16 slika, 2 tablica, 24 literaturna navoda.

SAŽETAK

Ulja su važan dio prehrane čovjeka. U ovom istraživanju ispitivala se antioksidativna aktivnost maslinovog, suncokretovog, crnog i bučinog ulja te antioksidativna aktivnost ekstrakta vitamina E dobivenog iz prethodno navedenih vrsta ulja.

Pomoću DPPH metode prikazana je antioksidativna aktivnost ulja i ekstrakta vitamina E. Pomoću spektrofotometra mjerena je promjena boje uzorka pri 515 nm. Gubitak signala DPPH radikala prikazuje antioksidativnu aktivnost određenog uzorka.

TEAC metodom izražen je antioksidativni kapacitet. U metodi se koristi Trolox ekvivalent koji je analog vitaminu E te služi kao referentni standard pomoću kojega su izraženi rezultati dobiveni DPPH radikal metodom.

Maslinovo ulje je pokazalo najveću antioksidativnu aktivnost tj gubitak signala DPPH radikala iznosio je 71%, iza njega slijedilo je suncokretovo ulje (69%), zatim crno (59%) i bučino(53%). Kod ekstrakata vitamina E najveći gubitak signala imao je ekstrakt vitamina E iz suncokretovog ulja (28%), pa iz crnog (20%), zatim iz maslinovog ulja (18%), ta najmanju antioksidativnu aktivnost pokazao je ekstrakt vitamina E iz bučinog ulja (10%).

Ključne riječi: vitamin E, TEAC, DPPH radikal, ulje, antioksidativna aktivnost

SUMMARY

Oils are an important part of the human diet. In this study I was testing the antioxidant activity of olive oil, sunflower oil, black oil and pumpkin seed oil as well as the antioxidant activity of vitamin E extract derived from the before mentioned oils.

The DPPH method depicts the antioxidant activity of the oils and the extract of vitamin E. Using a spectrophotometer, the sample color change was measured at 515 nm. The loss of the DPPH radical signal shows antioxidant activity of a particular sample.

The TEAC method was used to express the antioxidant capacity. The method uses a Trolox equivalent that is analogue to vitamin E and serves as a reference standard to express the results obtained by the DPPH radical method.

Olive oil showed the highest antioxidant activity of the DPPH radical signal loss at 71%, followed by sunflower oil (69%), then black oil (59%) and lastly pumpkin seed oil (53%). Concerning vitamin E extracts, the sunflower oil (28%) had the highest signal loss, followed by the black oil (20%), then olive oil (18%), and lastly the pumpkin seed oil (10%) which showed the least antioxidant activity.

Key words: vitamin E, TEAC, DPPH radical, oil, antioxidant activity

SADRŽAJ

1. UVOD 1
   1.1. ULJA 1
      1.1.1. SUNCOKRETOVO ULJE 1
      1.1.2. MASLINOVO ULJE 1
      1.1.3. BUČINO ULJE 2
   1.2. VITAMINI 2
      1.1.4. VITAMIN E 3
   1.3. SLOBODNI RADIKALI 6
   1.4. OSOBINE SLOBODNIH RADIKALA I NJIHOVA REAKTIVNOST 7
   1.5. OKSIDACIJSKI STRES 8
   1.6. ANTIOKSIDANSI 8
   1.7. DPPH METODA 10
   1.8. TEAC METODA 11
   1.9. NAČELO UV/VIS SPEKTROFOTOMETRIJE 11
2. CILJ ISTRAŽIVANJA 13
3. MATERIJALI I METODE 14
   3.1. UZORCI ULJA 14
   3.2. KEMIKALIJE 14
   3.3. INSTRUMENTI 15
   3.4. METODE RADA 17
      1.1.5. PRIPREMA UZORAKA ULJA I EKSTRAKATA ULJA 17
      1.1.6. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI ULJA I EKSTRAKTA VITAMINA E UZORKA ULJA DPPH METODOM 18
      1.1.7. IZRADA BAŽDARNOG PRAVCA TROLOX EKVIVALENTA I ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI ULJA I EKSTRAKTA VITAMINA E PREKO TROLOX EKVIVALENTA . 20
      1.1.8. STATISTIČKA ANALIZA 22
4. REZULTATI 23
   4.1. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ULJA I EKSTRAKTA VITAMINA E 23
   4.2. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ULJA I EKSTRAKTA VITAMINA E IZRAŽENA KAO TEAC (TROLOX EKVIVALENT) 26
5. RASPRAVA 31
6. ZAKLJUČAK 34
7. LITERATURA 35
8. POPIS SLIKA 38
9. POPIS TABLICA 40

10. ŽIVOTOPIS..... 41

1. UVOD

1.1. ULJA

Ulja su nepolarne i lipofilne tekućine koje se ne miješaju s vodom. Dijele se na masna ulja biljnog i životinjskog podrijetla, mineralna ulja i eterična ulja. Masna ulja biljnog i životinjskog podrijetla uglavnom se sastoje od estera masnih kiselina i glicerola te se koriste u prehrani.

Najstariji postupci za dobivanje ulja bili su prešanjem uljenih sjemenki u kamenim mlinovima, a zatim pomoću kamenih blokova cijeđenje ulja. Grci i Rimljani su prvi počeli koristiti maslinovo ulje u prehrani. Krajem 17. st. proizvodnja ulja je uvelike napredovala zbog korištenja hidrauličkih preša. Nakon toga primjenjivala se rafinacija kako bi se dobilo kvalitetno jestivo ulje neutralnog okusa i mirisa. (1,2)

1.1.1. SUNCOKRETOVO ULJE

Suncokretovo ulje je nehlapljivo ulje dobiveno iz sjemenki suncokreta. Ono je jedno od najprodavanijih ulja u Hrvatskoj. Odlikuje se visokom količinom vitamina E te stabilnošću pri višim temperaturama, zbog čega se najčešće koristi u pripremi hrane. Suncokretovo ulje bogato je nezasićenim masnim kiselinama od čega su najpoznatije omega-6 masne kiseline (najviše linolna kiselina). Omega-6 masne kiseline potrebne su ljudskom organizmu jer grade stanične komponente i nužne su za sintezu određenih signalnih molekula. (3)

1.1.2. MASLINOVO ULJE

Maslina je jedna od prvih kultiviranih biljnih vrsta. S obzirom na njeno religijsko i kulturološko značenje smatra se simbolom mira i sreće. Djevičansko maslinovo ulje dobiva se izravno iz ploda masline te je zbog toga bogato klorofilom, lecitinom (antioksidans koji stimulira metabolizam šećera i bjelančevina), karotenom, polifenolima te vitaminima A, D, E

i K. Maslinovo ulje je lako probavljivo te sprječava bolesti srca i krvnih žila, poboljšava rad želuca, smanjuje rizik od raka, regulira krvni tlak itd. (4,5)

1.1.3. BUČINO ULJE

Bučino ulje dobiva se od sjemenki bundeve i buče. Ono sadrži oko 20% tamnog ulja specifičnog okusa i mirisa. Bučino ulje bogato je bjelančevinama, esencijalnim masnim kiselinama, željezom, magnezijem te vitaminima C, D, E, K i B. Pozitivno djeluje na prostatu, smanjuje kolesterol u krvi, poboljšava imunološki sustav i koncentraciju. Osim svojih ljekovitih svojstva, bučino ulje spada u delikatesna ulja jer daje jelima posebnu aromu i okus. (6,7)

1.2. VITAMINI

Vitamini (Slika 1.) su esencijalni nutrijenti koje čovjekov organizam ne može sintetizirati stoga ih je potrebno unositi hranom. Vitamini se dijele na vitamine topljive u vodi (B kompleks i C) i vitamine topive u mastima (A, D, E i K). Među njima izdvajaju se vitamini koji djeluju kao antioksidansi: vitamin A (β-karoten), vitamin C, vitamin E, vitamin D i vitamin K. (8,9)

Potpuni nedostatak nekog od vitamina dovodi do poremećaja koji se naziva avitaminoza, no u praksi je to rijetkost te se češće susreće hipovitaminoza tj. djelomičan izostanak nekog vitamina. Ovisno o stupnju nedostatka vitamina, u organizmu se mogu dogoditi veće ili manje promjene koje utječu na proces rasta, razmnožavanja, metabolizma ili funkcije nekog od organskih sustava. (10)



Slika 1. Prikaz nekih od najvažnijih izvora vitamina (preuzeto s : https://herbafast.com/blog/vitamini-koji-pomazu-mrsavljenje/)

O topljivosti vitamina ovisi njihov transport, apsorpcija, pohranjivanje i izlučivanje. Vitamini B kompleksa i C, topljivi su u vodi, nakon apsorpcije odlaze u krv, dok vitamini A, D, E i K koji su topljivi u mastima, nakon apsorpcije u krv prelaze u limfu. Vitamini topljivi u vodi slobodno cirkuliraju u krvi i drugim tjelesnim tekućinama te se izlučuju iz organizma putem bubrega. Vitamini topljivi u mastima ne mogu sami cirkulirati u krvi i limfi već im je potreban proteinski nosač koji ih vodi do masnog tkiva i jetre gdje se akumuliraju i ostaju u „pričuvi“. Ukoliko dođe do prevelikog unosa vitamina topljivih u mastima mogući su njihovi toksični učinci. (9)

1.1.4. VITAMIN E

Godine 1925. vitamin E službeno je priznat kao peti otkriveni vitamin. Nekoliko godina kasnije nazvan je tokoferol od grčkih riječi „toc“ što znači dijete i „phero“ što znači nositi. To je opisivalo njegovu tadašnju ulogu bitne tvari u razvoju fetusa te kasnije u razvoju djeteta.

Vitamin E ima veliku ulogu u razvoju jajnih stanica, u regulaciji hormona te poboljšanju funkcije spolnih organa. Također vitamin E može pomoći u prevenciji srčanih bolesti, smanjenju LDL kolesterola („loš“ kolesterol), podizanju imuniteta, sprječavanju malignih bolesti, bolesti jetre itd.. 1969. godine Food and Drug Administration (FDA) službeno je priznao vitamin E kao važan nutrijent u ljudskoj prehrani. (11)

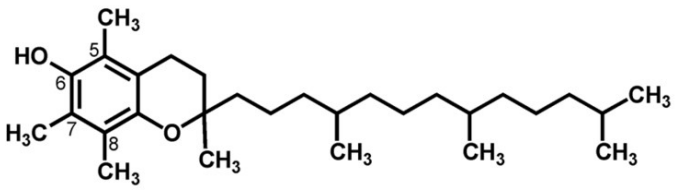
Ljudski organizam ne može sam sintetizirati vitamin E, stoga se mora unositi hranom. Vitamin E se nalazi u ulju, mesu, jajima i lisnatom povrću. Najpoznatiji oblik vitamina E je α-tokoferol, koji se nalazi u maslinovom i suncokretovom ulju. (11)

Najčešći simptomi nedostatka vitamina E u organizmu očituju se kao poremećaj i gubitak refleksa, slabost i bolovi u mišićima, poremećaj u ravnoteži, poremećaj u vidu i pokretanju očiju itd. (12)

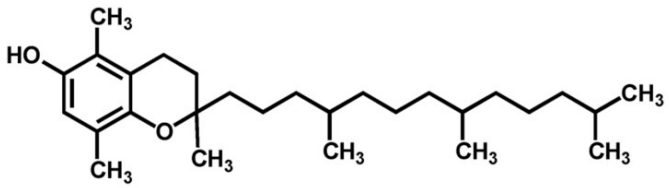
Vitamin E je liposolubilan antioksidans kojemu pripada uloga zaštite staničnih membrana od oksidativnog stresa. *In vitro* istraživanja su pokazala da se vitamin E nalazi u membranama, gdje prekida lančanu reakciju oksidacije LDL kolesterola potaknutu slobodnim radikalima. Na taj način vitamin E štiti stanične membrane. (13)

Prirodni vitamin E postoji u 8 različitih izomera: 4 tokoferola (α, β, γ, δ; Slika 2 a, b, c, d) i 4 tokotrienola (α, β, γ, δ).

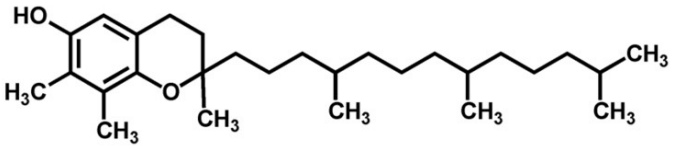
a)



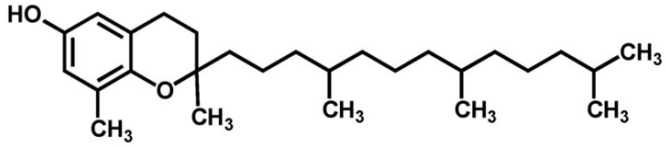
b)



c)



d)



Slika 2. Strukture tokoferola: a) α-, b) β-, c) γ-, δ- **(preuzeto s : http://www.mdpi.com/2072-6643/3/11/962)**

U procesu oksidacije, molekula α-tokoferola prelazi u α-tokoferoksil radikal, koji onda može reagirati s drugim peroksilnim radikalom, kao što je prikazano u dolje navedenoj reakciji, ili se može pomoću vitamina C ponovno reducirati u α-tokoferol. S obzirom na te reakcije, mnoga istraživanja su pokazala da α-tokoferol može prevenirati aterosklerozu i kardiovaskularne bolesti. (13)

α-TOH + ROO· → α-TO· + ROOH

α-TO· + ROO· → neaktivni produkt

Gdje je:

α-TOH – α-tokoferol,

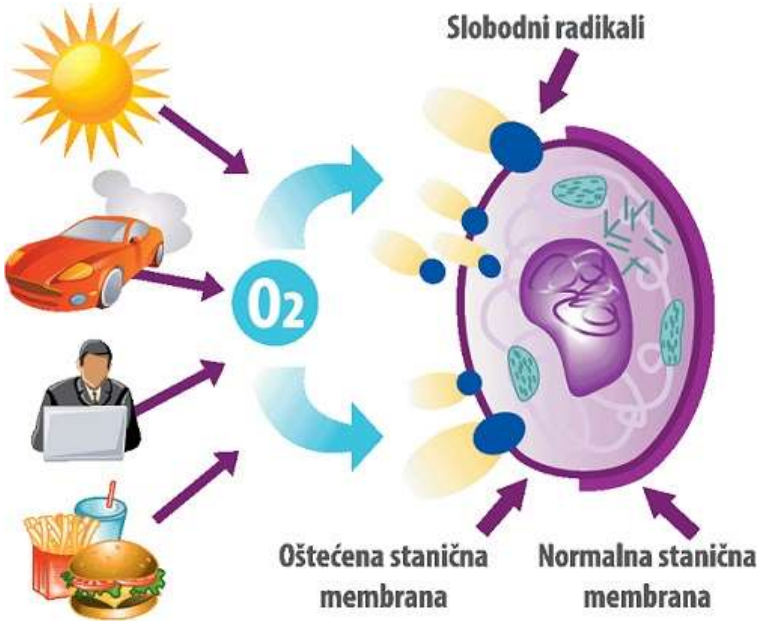
α - TO· – tokoferoksilni radikal.

1.3. SLOBODNI RADIKALI

Slobodni radikal je svaki kemijski spoj koji ima jedan ili više nesparenih elektrona u vanjskoj ljusci. Zbog nesparenog elektrona radikali posjeduju vrlo veliku kemijsku reaktivnost koja nije specifična za reaktant. To znači da u kemijskoj reakciji oksidacije, dolazi do brzog i nepredvidivog spajanja radikala s najbližim proteinom, lipidom, nukleinskom kiselinom ili bjelančevinom, što rezultira oštećenjem istih. (14)

S obzirom na izvor slobodni radikali dijele se na egzogene i endogene. Endogeni radikali nastaju u ljudskom organizmu kao posljedica metabolizma kisika, koagulacije, fagocitoze, hipoksije, dok egzogeni radikali dolaze iz ljudske okoline, to su lijekovi, namirnice, dim cigarete ili automobila, UV zračenje i mnogi drugi. (15)

Smatra se da su slobodni radikali odgovorni za različite akutne i kronične bolesti primjerice akutne upale i maligne bolesti. Zajedničko im je to da procesom oksidacije oštećuju biološke strukture kao što je stanična membrana (Slika 3).



Slika 3. Utjecaj slobodnih radikala na staničnu membranu (preuzeto s: https://tinkturedrsulca.com/sta-su-to-slobodni-radikali)

1.4. OSOBINE SLOBODNIH RADIKALA I NJIHOVA REAKTIVNOST

Slobodni radikali mogu nastati procesom homolitičkog cijepanja ili reakcijama molekula s drugim slobodnim radikalima.

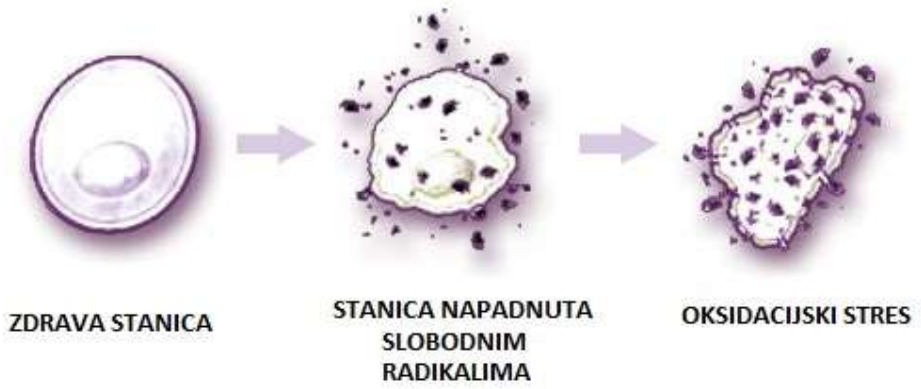
Homolitičko cjepanje σ-veza može se dogoditi kod svakog spoja pri visokim temperaturama. Nastali radikali preteče su stvaranju novih radikala. Tipična reakcija nastajanja radikala je odcjepljivanje vodikovog atoma pod utjecajem nekog drugog slobodnog radikala.

Mehanizam stvaranja slobodnih radikala odvija se u tri koraka:

1. Inicijacija – proces pucanja kovalentne veze kojim nastaju dva slobodna radikala,
2. Propagacija – tako stvoreni radikali daju novi radikal i slobodni produkt i
3. Terminacija – dva novonastala radikala se spajaju i nastaje neradikalski produkt. (14)

1.5. OKSIDACIJSKI STRES

Oksidacijski stres javlja se kada u organizmu slobodni radikali nadvladaju mehanizme antioksidativne zaštite. Oksidacijski stres je normalna pojava u organizmu jer je usko povezan sa starenjem, ali isto tako preveliki oksidacijski stres može rezultirati pojavom različitih bolesti. Na Slici 4 vidi se kako slobodni radikali utječu na zdravu stanicu i uništavaju njenu staničnu membranu.



Slika 4. Razlika između normalne stanice i stanice u oksidacijskom stresu (preuzeto s: http://premiermicronutrient.com/micronutrient-science-research/)

Današnji način života uvelike se promijenio. Jedna od posljedica ubrzanog načina života je oksidacijski stres. Manjak tjelesne aktivnosti, loša prehrana, životni problemi i stres doprinose stvaranju slobodnih radikala i smanjenju antioksidativne obrane organizma. (14)

1.6. ANTIOKSIDANSI

Antioksidansi su tvari koje štite stanice od oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala. Oni mogu biti prirodne ili sintetske tvari koje blokiraju slobodne radikale koji nastaju nakon oksidacije.

Antioksidansi se stalno moraju regenerirati u organizmu, zbog uspostavljanja ravnoteže između njih i slobodnih radikala. Antioksidativni obrambeni sustav sastavljen je od antioksidanasa enzimske prirode i neenzimske prirode. (14,16)

Ključni enzimski antioksidansi u čovjekovom organizmu su superoksid dismutaza, katalaza i glutation peroksidaza. Svi oni djeluju kako bi održali ravnotežu. Superoksid dismutaza najbitnija je obrana u tijelu, a uloga joj je smanjenje oksidacijskog stresa. Isto tako katalizira dismutaciju (reakcije i oksidacije i redukcije) superoksida u vodikov peroksid i kisik što je prikazano kemijskom reakcijom:

$$2\ O_2^- + 2\ H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Budući da je vodikov peroksid štetan produkt metaboličkih procesa, katalaza razlaže vodikov peroksid na kisik i vodu prema reakciji:

$$2\ H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2\ H_2O$$

Glutation peroksidaza ovisi o prisutnosti selena stoga se ubraja u selenoenzime, a ima ulogu katalize redukcije vodikova peroksida do vode ili alkohola. (17)

U antioksidanse neenzimske prirode ubrajaju se antioksidansi iz hrane i metabolički antioksidansi. Antioksidansi iz hrane se ne sintetiziraju u organizmu već se unose hranom. Najpoznatiji su vitamin A, C i E te minerali cink i selen. Metabolički antioksidansi su produkti metaboličkih reakcija u organizmu. To su glutation, koenzim Q i lipoična kiselina.

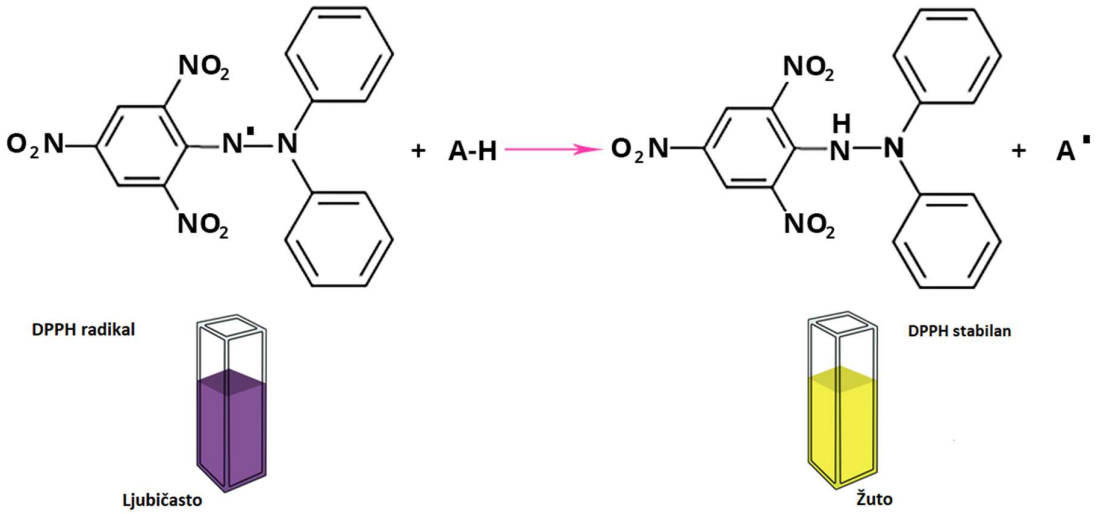
Jedan od najvažnijih antioksidansa u ljudskom organizmu je glutation, metabolički antioksidans sastavljen od tri aminokiseline (tripeptid): glutaminske kiseline, cisteina i glicina. Glavna uloga mu je da svoj atom vodika daje nezasićenim spojevima i tako ih inaktivira.

Koenzim Q10 djeluje s vitaminom C tako što sprječava oksidaciju kolesterola i sprječava bolesti kardiovaskularnog sustava. Danas se sve češće koristi u kozmetici jer potiče sintezu kolagena i elastina te obnavlja kožu. Manjak koenzima Q10 odražava se boranjem i suhoćom kože, zbog raspada energetskog sustava organizma. (14)

1.7. DPPH METODA

DPPH metoda standardna je rutinska kolorimetrijska metoda koja se upotrebljava za procjenu antioksidativnog kapaciteta, tj. sposobnosti hvatanja slobodnih radikala. Metoda je predstavljena 1958. godine u časopisu Natural, a predstavio ju je naučnik Sveučilišta u Stanfordu, Marsden Blois. (18)

DPPH, punog naziva 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil, je molekula stabilnog slobodnog radikala. Otopina DPPH radikala ljubičaste je boje, a maksimum apsorpcije joj je na 515 nm. Prilikom miješanja otopine DPPH radikala s nekim uzorkom koji sadrži antioksidanse, odnosno tvari koje mogu donirati svoj atom vodika DPPH radikalu, ljubičasto obojenje prelazi u žuto (Slika 5). Intezitet žute boje ovisi o količini antioksidanasa u dodanom uzorku i mjeri se spektrofotometrijski, gdje se reakcija prikazuje smanjenjem apsorpcije pri 515 nm. (18,19)



Slika 5. Prikaz redukcije i promjene boje DPPH radikala (preuzeto s: http://chimactiv.agroparistech.fr/en/aliments/antioxydant-dpph/principe)

1.8. TEAC METODA

TEAC metoda (Trolox Equivalence Antioxidant Capacity) je jedna od metoda pomoću koje se izražava antioksidativni kapacitet. U ovoj metodi upotrebljava se Trolox, 6-hidroksi-2,5,7,8-tetraetilkroman-2-karboksilna kiselina koja je analog vitaminu E te služi kao referentni standard pomoću kojega se izražavaju rezultati dobiveni nekom od metoda određivanja antioksidativne aktivnosti. Mjerna jedinica za Trolox ekvivalent je mmol/kg uzorka. (20)

1.9. NAČELO UV/VIS SPEKTROFOTOMETRIJE

Ultraljubičasta (UV) i vidljiva (VIS) apsorpcijska tehnika najčešće se primjenjuje i za kvalitativnu i kvantitativnu analizu. Ultraljubičasto područje obuhvaća valne duljine od 10 do

400 nm, dok vidljivo područje obuhvaća od 400 do 800 nm. Tehnika se temelji na apsorpciji UV i/ili VIS zračenja u organskim molekulama, pri čemu dolazi do prijelaza vanjskih elektrona u orbitale s višom energijom. Apsorpcija zračenja ovisi o elektronskoj strukturi same molekule. (21,22)

Najvažniji dijelovi instrumenta su: izvor svjetlosti, monokromator, držač za kivete i kivete te uređaj za mjerenje intenziteta propuštene svjetlosti tj. detektor. Za vidljivi dio spektra najčešće se koristi volframova žarulja dok se za ultraljubičasti dio spektra koristi deuterijeva žarulja. Pomoću monokromatora iz polikromatskog svjetla dobiva se monokromatsko svjetlo točno određenih valnih duljina, najčešće je to staklena prizma (VIS) ili optička mrežica (UV/VIS). (21,22)

Razlikuju se uređaji s jednom i s dvije zrake. Kod spektrofotometra s jednom zrakom, na prizmi dolazi do razdvajanja zračenja, te se određena valna duljina kroz optičku pukotinu usmjerava na detektor. Potrebno je prvo snimiti slijepu probu, da bi se dobila bazna linija, a tek onda uzorak. Spektrofotometar s dvije zrake puno je jednostavniji jer svijetlost prolazi kroz uzorak i paralelno kroz slijepu probu te se obje zrake usmjeravaju do detektora. (21,22)

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Važnost ulja poznata je od davnina. Poglavito u mediteranskom području gdje se često koriste i sastavni su dio skoro svakog jela. U uljima se nalaze različite masne kiseline i antioksidansi, s obzirom na zastupljenost tih tvari ulja posjeduju različita antioksidativna svojstva. Jedan od najpoznatijih antioksidansa je vitamin E, pri čemu su mnoga istraživanja pokazala da on djeluje kao prirodni „lovac“ slobodnih radikala. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi razliku u antioksidativnoj aktivnosti maslinovog, suncokretovog, bučinog i crnog ulja i ekstrakata vitamina E dobivenih iz pojedinih vrsta ulja.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. UZORCI ULJA

Analizirane su četiri vrste ulja kupljene u maloprodaji. Prvi uzorak bio je suncokretovo ulje proizvođača „Zvijezda“, zatim maslinovo ulje talijanskog proizvođača „Monini“, nerafinirano bučino ulje iz Uljare poljo Posavec te domaće crno ulje (mješavina nerafiniranog bučinog ulja i rafiniranog suncokretovog ulja) proizvođača „Plodine“. U dolje navedenoj tablici (Tablica 1) prikazane su neke od najvažnijih hranjivih vrijednosti na 100 mL uzorka uja.

Tablica 1. Tablični prikaz hranjivih vrijednosti uzoraka ulja.

Prosječna hranjiva vrijednost na 100 mL	Suncokretovo ulje	Maslinovo ulje	Bučino ulje	Crno ulje
Energetska vrijednost	828 kcal / 3404 kJ	828 kcal / 3404 kJ	827 kcal / 3401 kJ	899 kcal / 3695 kJ
Masti od kojih zasićene masne kiseline	92 g 11 g	92 g 14 g	92 g 16 g	99,77 g 19,26 g
Ugljikohidrati	0 g	0 g	0 g	0 g
Bjelančevine	0 g	0 g	0 g	0,14 g

3.2. KEMIKALIJE

- kalij-hidroksid (KOH), p.a., Kemika, Hrvatska

- etanol (C_2H_5OH), p.a., Carlo Erba Reagens, Francuska

- 2-propanol ($CH_3CHOHCH_3$), HPLC Gradient Grade, J.T. Baker, Nizozemska

- metanol (CH_3OH), HPLC Gradient Grade, J.T. Baker, Nizozemska

- heksan (C_6H_{14}), Baker ultra resi-analyzed, J.T.Baker, Nizozemska

- etilacetat ($C_4H_8O_2$), (99,8%) p.a., Fluka Chemika, Švicarska

- super čista voda, TKA-Micro Pure, Niederelbert, Njemačka

- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil-DPPH radikal ($C_{18}H_{12}N_5O_6$), Sigma, Aldrich Chemistry, Njemačka

- L(+)-askorbinska kiselina p.a., ($C_6H_8O_6$), Merck, Njemačka

- 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina – Trolox ($C_{14}H_{18}O_4$) Sigma, Aldrich Chemistry, Njemačka

3.3. INSTRUMENTI



Slika 6. Analitička vaga, Ohaus Adventurer Pro, Nänikon, Švicaska (preuzeto s:http://images.wolflabs.co.uk/images/ohaus-80251556.png)



Slika 7. Uređaj za dobivanje super čiste vode, TKA-MicroPure, Njemačka (preuzeto s:https://www.terrauniversal.com/images/cart/thermo-scientific-barnstead-micropure-water-purification-system.jpg)



Slika 8. Centrifuga, Rotina 420 R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Njemačka (preuzeto s:http://profilab24.com/media/image/product/28965/md/hettich-tischzentrifuge-rotina-420.jpg)



Slika 9. Spektrofotometar, Cary 100 Bio WINUV, UV-Visible, Varian, Australija (preuzeto s:http://www.speciation.net/Database/Instruments/Varian-Inc/Cary-100-UVVis-spectrophotometer-;i379)

Spektrofotometar, Cary 100 Bio WINUV, UV-Visible, Varian, Australija sadrži:

1. Jednozračno (single beam) ili dvozračno (double beam) snimanje,
2. Spektralno područje od 190 do 900 nanometara,
3. Kontrolu temperature uzorka od -10 °C do 150 °C uz točnost od 0,05 °C.

3.4. METODE RADA

1.1.5. PRIPREMA UZORAKA ULJA I EKSTRAKATA ULJA

Uzorci ulje pripremljeni su vaganjem 0,500 g (±0,001 g) pojedine vrste ulja u odmjernu tikvicu od 10 mL koja je potom do oznake napunjena etilacetatom.

Za pripremu uzoraka ekstrakta vitamina E iz pojedine vrste ulja odvagano je 0,100 g (±0,001 g) ulja i 0,05 g askorbinske kiseline u plastične Falcon kivete (16 x 125 mm). Nakon toga u kivete se dodaje 5 mL smjese alkohola (90,2% etanola, 4,9% metanola i 4,9% izopropanola) i 0,5 mL 80% otopine KOH. Kivetu je potrebno miješati 30 sekundi pomoću Vortex mješalice, a zatim inkubirati 30 minuta u vodenoj kupelji zagrijanoj na 70 °C uz povremeno miješanje.

Nakon toga kivete se odlažu u led 5 minuta. Potom se u kivete dodaje 3 mL superčiste vode i 5 mL heksana. Uzorci se zatim miješaju 30 sekundi, a nakon toga centrifugiraju 15 minuta na 1000 x g, na sobnoj temperaturi.

Nakon centrifugiranja jasno su vidljiva dva sloja (vodeni i organski sloj), gornji heksanski sloj prenosi se u, prethodno vaganu, staklenu epruvetu s čepom na navoj. U Falcon kivetu se ponovno dodaje 5 mL heksana i ponavlja se postupak centrifugiranja kako bi se izdvojili mogući zaostali tokoferoli. Nakon centrifugiranja, gornji heksanski sloj prenosi se u epruvetu i spaja sa heksanskim slojem nastalim nakon prvog centrifugiranja.

Heksan se otparava pod strujom dušika, nakon čega ostaje sloj ekstrakta vitamina E po stjenkama epruvete. Epruvete s ekstraktom se odlažu u eksikator te se važu do konstantne mase.

Razlika mase epruvete nakon ekstrakcije i prazne epruvete jednaka je masi ekstrakta. Napravljeno je dvanaest ekstrakcija, za svako ulje po tri ponavljanja. Ekstrakti su korišteni za određivanje antioksidativne aktivnosti vitamina E DPPH metodom.

1.1.6. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI ULJA I EKSTRAKTA VITAMINA E UZORKA ULJA DPPH METODOM

Za analizu antioksidativne aktivnosti ulja i ekstrakta ulja priprema se otopina DPPH radikala, koncentracije 0,0001 M, otapanjem u etilacetatu. Prvo se analiziraju slijepe probe radikala koje se pripremaju miješanjem 1 mL etilacetata i 3 mL otopine DPPH, zatim uzorka ulja miješanjem 1 mL uzorka ulja i 3 mL etilacetata. Također potrebno je pripremiti i slijepe probe otopine ekstrakta vitamina E. Probe se pripremaju tako da se miješa 1 mL otopine ekstrakta vitamina E s 3 mL etilacetata. Slijepe probe homogeniziraju se, zatim se prenesu u staklene kivete od optičkog stakla i mjeri se apsorbancija na valnoj duljini od 515 nm.

Potom se pripremaju uzorci u epruveti na navoj, miješa se 1 mL otopine ulja i 3 mL otopine DPPH radikala. Otopine ekstrakta vitamina E pripremaju se otapanjem u 1 mL etilacetata. Nakon toga 1 mL otopine ekstrakta vitamina E homogenizira se s 3 mL otopine DPPH pomoću vortex mješalice točno 10 sekundi. Potom se prebacuje u kivetu od optičkog stakla. Naime, reakcija između DPPH radikala i antioksidanasa prisutnih u ulju odnosno ekstrakta vitamina E započinje odmah, stoga je potrebno postupak od homogenizacije do stavljanja kivete u spektrofotometar obaviti unutar 60 sekundi. Dakle, mjerenje apsorbancije mora započeti točno 60 sekundi nakon kontakta DPPH radikala i antioksidansa. UV/VIS sektrofotometrom mjeri se promjena apsorbancije pri valnoj duljini od 515 nm, tijekom 60 minuta pri konstantnoj temperaturi od 25 °C. Mjerenje se vrši u vremenskim intervalima od 1 minute.

Antioksidativna aktivnost ulja i ekstrakta vitamina E određena je sposobnošću hvatanja DPPH radikala a očituje se gubitkom signala, tj. smanjenom apsorbancijom otopine ulja odnosno ekstrakta vitamina E.

Sljedećom jednadžbom može se iskazati postotak gubitka DPPH signala:

$$\% \text{ gubitka signala DPPH radikala} = [A_{SP2} + A_{SP1} - A_{UZ})/(A_{SP2} + A_{SP1})] \times 100 \quad (1)$$

gdje su:

A_{SP1} - apsorbancija slijepe probe ulja odnosno ekstrakta vitamina E,

A_{SP2} - apsorbancija slijepe probe DPPH radikala,

A_{UZ} - apsorbancija uzoraka.

1.1.7. IZRADA BAŽDARNOG PRAVCA TROLOX EKVIVALENTA I ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI ULJA I EKSTRAKTA VITAMINA E PREKO TROLOX EKVIVALENTA

Ishodna otopina Trolox-a potrebna za izradu baždarnog pravca, koncentracije 0,001 M, priprema se otapanjem Trolox-a u etilacetatu. Zatim se ishodnu otopinu razrjeđuje da bi se dobilo 6 otopina različitih koncentracija u rasponu od 0,00 do 0,15 mM. Nakon pripreme Trolox otopina, priprema se svježa otopina DPPH radikala, koncentracije 0,0001 M. Potom se pripremaju slijepe probe bez radikala (1 mL otopine Trolox-a i 3 mL etilacetata) te slijepe probe otopine radikala (1 mL etilacetata i 3 mL otopine DPPH). Uzorci se pripremaju na način da se u epruvetu s čepom na navoj doda 1 mL otopine Trolox-a određene koncentracije i 3 mL otopine DPPH radikala. Potom se mjeri apsorbancija na 515 nm.

Antioksidacijsku aktivnost otopine Trolox-a može se izraziti postotkom gubitka signala DPPH radikala prema jednadžbi:

$$\% \text{ gubitka signala DPPH radikala} = [A_{SP2} + A_{SP3} - A_{UZ})/(A_{SP2} + A_{SP3}]x100 \quad (2)$$

gdje su:

A_{SP2} - apsorbancija slijepe probe otopine radikala u 0. minuti,

A_{SP3} - apsorbancija slijepe probe Trolox-a bez radikala u 0. minuti,

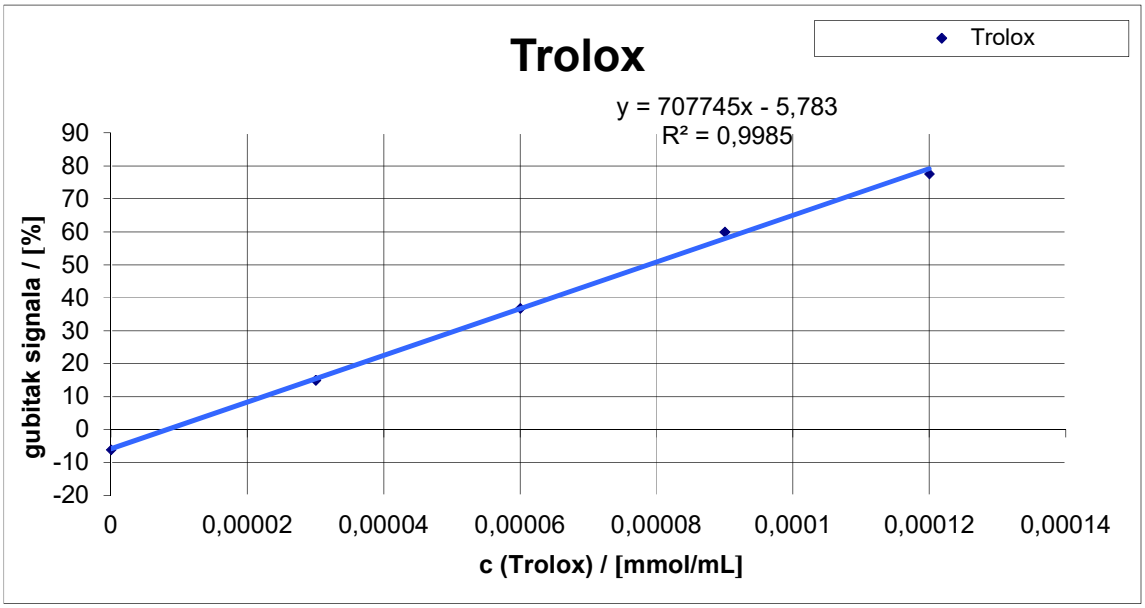
A_{UZ} - apsorbancija otopina Trolox-a s radikalom.

U Tablici 2. prikazan je gubitak signala DPPH radikala ovisno o množinskoj koncentraciji Trolox-a.

Tablica 2. Gubitak signala DPPH radikala ovisno o množinskoj koncentraciji Trolox-a.

c(Trolox)/ [mmol/mL]	Gubitak signala DPPH radikala/ [%]
0	0
0,00003	15,039
0,00006	36,784
0,00009	60,007
0,00012	77,628

Kako bi se izračunao Trolox ekvivalent u uzorcima ulja i ekstraktima vitamina E, potrebno je izmjereni postotak gubitka signala u stacionarnom stanju uzorka ulja i ekstrakata vitamina E uvrstiti u jednadžbu baždarnog pravca (Slika 13), a dobivena vrijednost iz jednadžbe (2) dijeli se s odvaganom masom ulja i množi s 1000 kako bi dobiveni rezultat bio iskazan na kilogram ulja. Mjerna jedinica Trolox-a je mmol/kg ulja.



Slika 10. Baždarni pravac Trolox ekvivalenta.

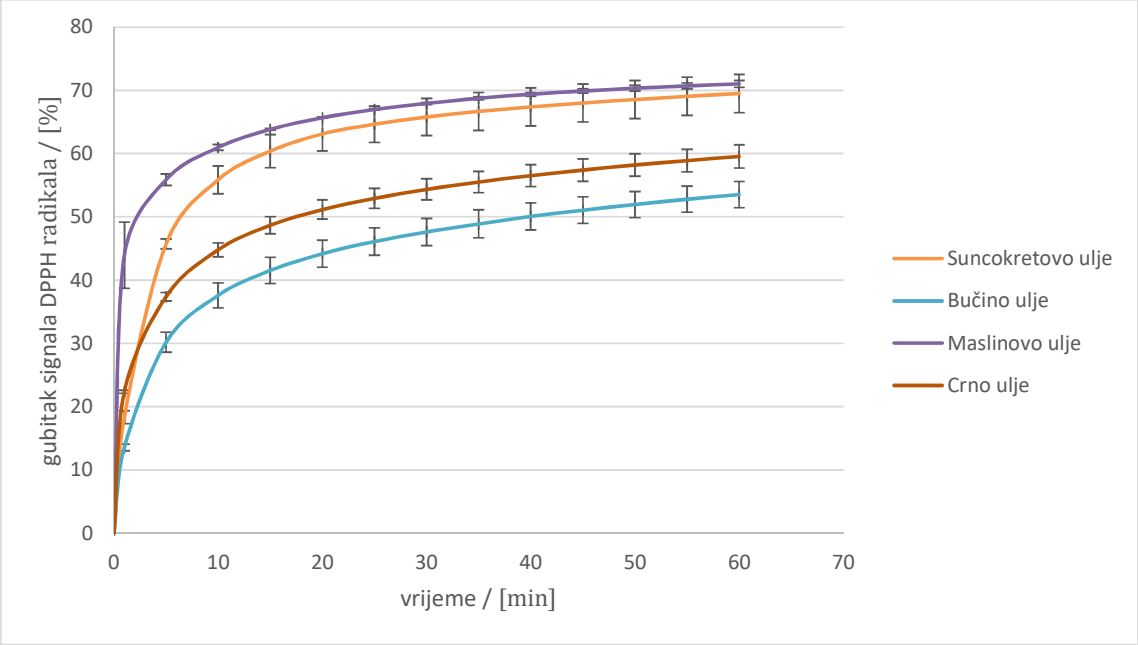
1.1.8. STATISTIČKA ANALIZA

U ovom radu rezultati su prikazani tablično i grafički. Za obradu rezultata korišten je program STATISTICA 11.0 (StartSoft Inc., Tulsa, SAD), a rezultati su prikazani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom (SD). Za usporedbu ispitivanih skupina korišten je T-test za nezavisne uzorke. U svim testovima rezultati su smatrani statistički značajnima na razini $P < 0,05$.

4. REZULTATI

4.1. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ULJA I EKSTRAKTA VITAMINA E

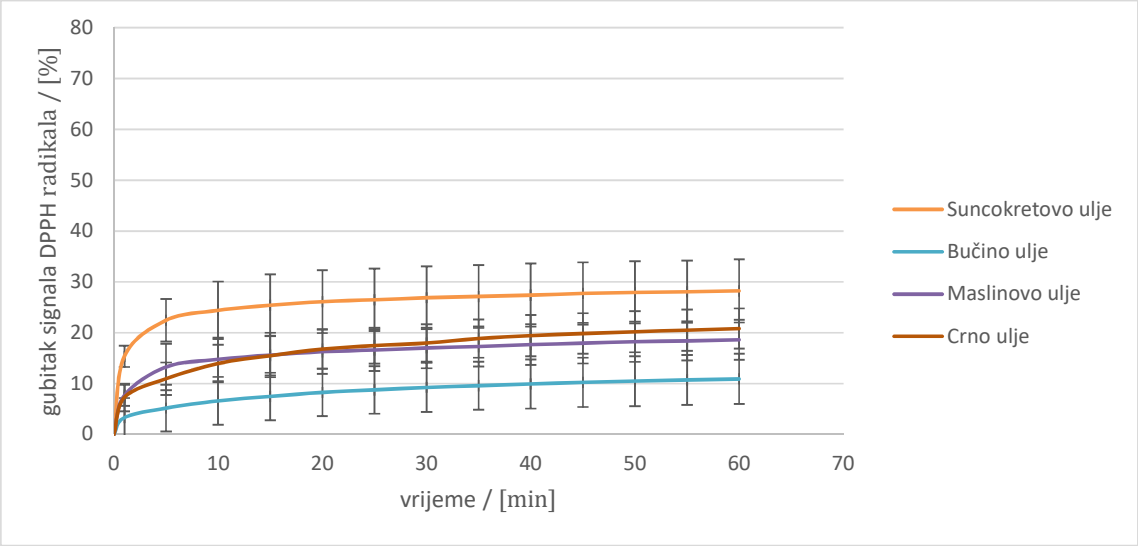
Antioksidativna aktivnost ulja i ekstrakta vitamina E uzorka ulja praćena je pomoću UV/VIS spektrofotometra. Rezultati promjene apsorbancije prikazani su kao srednja vrijednost dvaju nezavisnih mjerenja. Pomoću jednadžbe (2), izračunat je postotak gubitka signala DPPH radikala za svaki uzorak (Slike 11 i 12). Na grafičkom prikazu na osi ordinate nalazi se gubitak signala DPPH radikala u reakciji s uljem ili ekstraktom vitamina E, a na osi apscise vrijeme reakcije u minutama.



Slika 11. Grafički prikaz gubitka signala DPPH radikala u reakciji sa suncokretovim, bučinim, maslinovim i crnim uljem.

Kod uzoraka ulja s grafičkog prikaza (Slika 11) jasno se može vidjeti da najjaču antioksidativnu aktivnost ima maslinovo ulje, a zatim suncokretovo ulje. Treće po redu je crno ulje što je u skladu s očekivanim s obzirom da je mješavina bučinog i suncokretovog

ulja. Najslabiju antioksidativnu aktivnost ima bučino ulje. Gubitak signala u petoj minuti za maslinovo ulje iznosi 43%, za suncokretovo 18%, za crno 22% i za bučino 13% te u stacionarnom stanju (šezdeseta minuta reakcije) kada gubitak signala za maslinovo ulje iznosi 71%, za suncokretovo ulje 69%, za crno ulje 59% i za bučino ulje 53%. U prvoj minuti vidljivo je da je veći gubitak signala za crno ulje nego za suncokretovo, što znači da suncokretovo ulje reagira sporije s DPPH radikalom, no kasnije pokazuje veću antioksidativnu aktivnost od bučinog ulja.

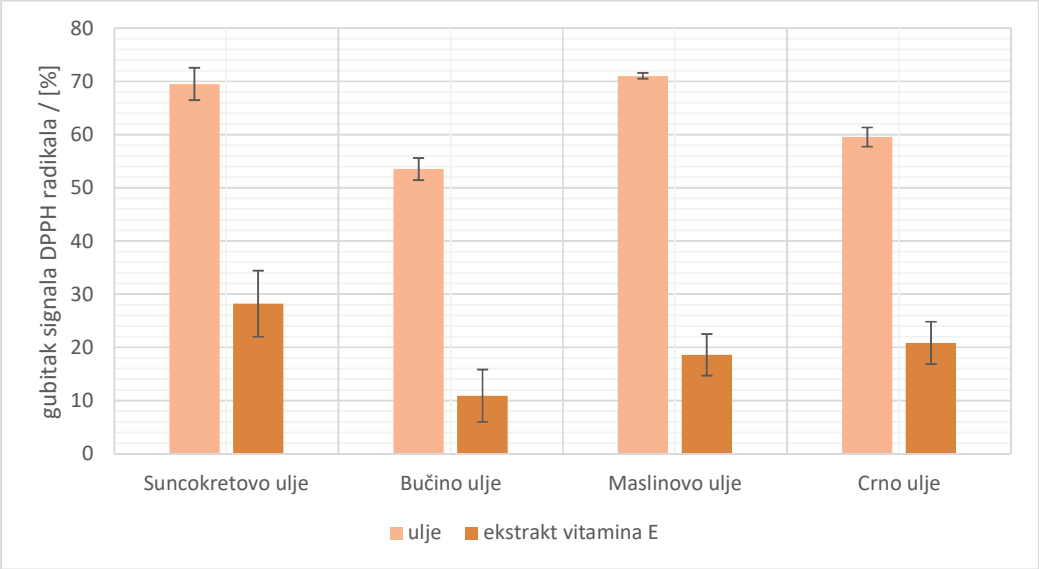


Slika 12. Grafički prikaz gubitka signala DPPH radikala u reakciji s ekstraktima vitamina E iz suncokretovog, maslinovog, bučinog i crnog ulja.

Spektrofotometrijska analiza ekstrakta vitamina E (Slika 12) iz pojedinih vrsta ulja pokazuje da najveći gubitak signala ima ekstrakt vitamina E iz suncokretovog ulja koje u šezdesetoj minuti ima gubitak signala od 28%. Potom slijedi ekstrakt vitamina E iz crnog ulja gdje gubitak signala DPPH radikala iznosi 20%, zatim ekstrakt vitamina E iz maslinovog ulja (18%) te na kraju ekstrakt vitamina E iz bučinog ulja (11%).

Ekstrakt vitamina E iz suncokretovog ulja u petoj minuti pokazuje gubitak signala od 22% te postepeno gubitak signala raste. Ekstrakt vitamina E iz maslinovog ulja u početku pokazuje veću antioksidativnu aktivnost od crnog ulja, pa tako u petoj minuti gubitak signala za ekstrakt vitamina E iz maslinovog ulja iznosi 13%, dok za ekstrakt vitamina E iz crnog ulja iznosi 11%. Nakon desete minute, pa sve do dvadesete, gubitak signala za ekstrakt vitamina E iz maslinovog i crnog ulja gotovo je jednak. Nakon dvadesete minute ekstrakt vitamina E iz crnog ulja pokazuje veću antioksidativnu aktivnost od maslinovog ulja. Najmanji gubitak signala ima ekstrakt vitamina E iz bučinog ulja, kao i na prethodnog grafu koji prikazuje uzorke čistih ulja.

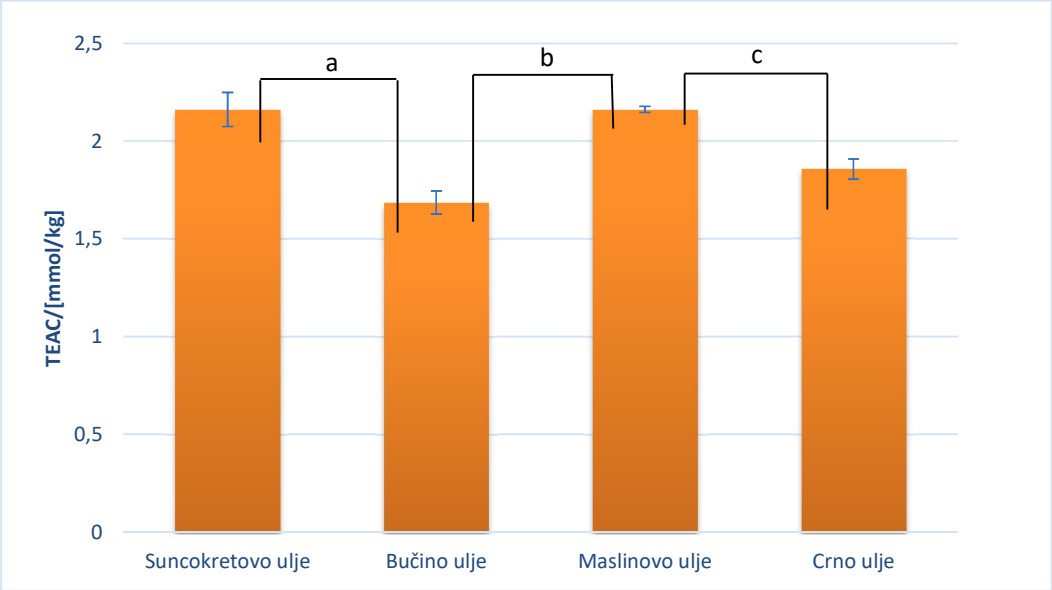
Usporede li se postoci inhibicije gubitka signala DPPH radikala u 60-toj minuti, jasno se može vidjeti velika razlika između samog ulja i ekstrakta vitamina E tog ulja (Slika 13). Ekstrakti pokazuju znatno manji gubitak signala DPPH radikala, odnosno slabiju antioksidativnu aktivnost. Tako za uzorak suncokretovog ulja gubitak signala DPPH radikala iznosi 69%, a za uzorak ekstrakta vitamina E iz suncokretovog ulja iznosi 28%, za uzorak bučinog ulja gubitak signala DPPH radikala iznosi 53%, a za ekstrakt vitamina E iz istog ulja 11%. Također velika je razlika između uzorka maslinovog ulja (71%) i ekstrakta vitamina E iz maslinovog ulja (18%) te između uzorka crnog ulja (59%) i ekstrakta vitamina E iz istog (20%).



Slika 13. Grafički prikaz usporedbe gubitka signala DPPH radikala u šezdesetoj minuti za pojedine vrste ulja i ekstrakte vitamina E iz pojedinih vrsta ulja.

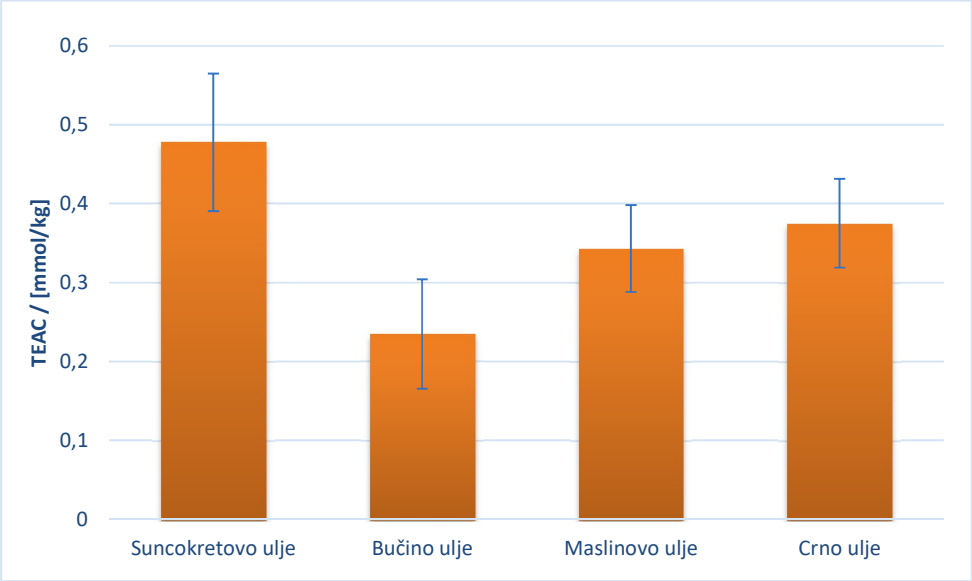
4.2. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ULJA I EKSTRAKTA VITAMINA E IZRAŽENA KAO TEAC (TROLOX EKVIVALENT)

Izračunate vrijednosti Trolox ekvivalenta u uzorcima ulja i uzorcima ekstrakta vitamina E iz različitih uzoraka ulja prikazane su stupčastim grafikonima (Slike 14 i 15) i predstavljaju koncentraciju TEAC izraženu u mmol/kg ulja za pojedini uzorak.



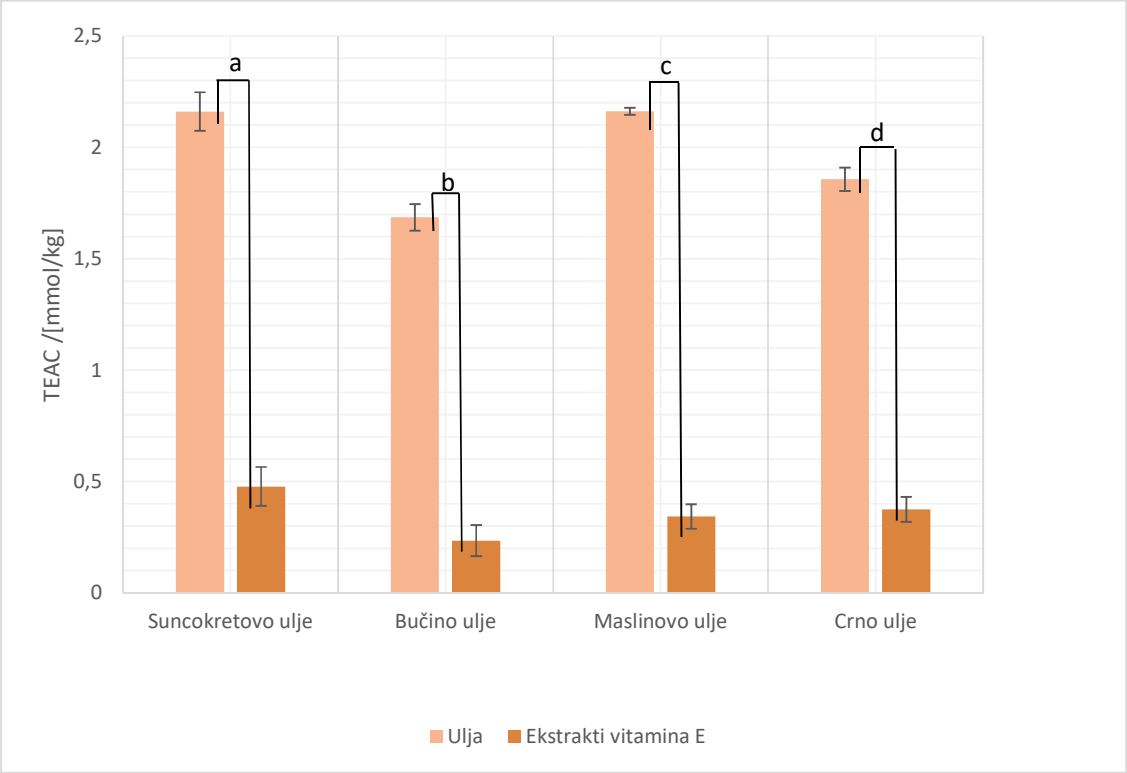
Slika 14. Grafički prikaz koncentracije TEAC ua suncokretovo, bučino, maslinovo i crno ulje. Oznake na grafu: a-statistički značajna razlika između suncokretovog i bučinog ulja, b- statistički značajna razlika između bučinog i maslinovog ulja, c-statistički značajna razlika između maslinovog i crnog ulja.

TEAC uzorka za maslinovo i suncokretovo ulje je gotovo jednak, a iznosi 2,16 mmol/kg. TEAC uzorka crnog ulja iznosi 1,59 mmol/kg te uzorak bučinog ulja iznosi 1,69 mmol/kg (Slika 14). Vrijednost TEAC pokazuje najveću antioksidativnu aktivnost za maslinovo ulje, zatim za suncokretovo, crno i bučino, što je u skladu s prethodno dobivenim rezultatima gdje je praćena inhibicija DPPH radikala. Testiranje međusobno pojedinih vrsta ulja rezultata dobivenih TEAC statističkim T-testom pokazalo je da postoji statistički značajna razlika između antioksidativne aktivnosti suncokretovog i bučinog ulja (P = 0,0233), zatim između bučinog i maslinovog ulja (P = 0,0081) te između maslinovog i crnog ulja (P = 0,0154). T-test nije pokazao statistički značajne razlike u antioksidativnoj aktivnosti između suncokretovog i maslinovog ulja, suncokretovog i crnog ulja te bučinog i crnog ulja.



Slika 15. Grafički prikaz koncentracije TEAC za ekstrakte vitamina E iz suncokretovog, bučinog, maslinovog i crnog ulja.

TEAC uzorka ekstrakta vitamina E iz suncokretovog ulja iznosi 0,48 mmol/kg, uzorak ekstrakta vitamina E iz crnog ulja iznosi 0,38 mmol/kg, uzorak ekstrakta vitamina E iz maslinovog ulja iznosi 0,34 mmol/kg te za uzorak bučinog ulja 0,23 mmol/kg (Slika 15). Za ekstrakt vitamina E iz suncokretovog ulja vrijednost TEAC pokazuje najveću antioksidativnu aktivnost, zatim crno ulje, maslinovo i bučino ulje. Vrijednosti su u skladu s prethodno dobivenim rezultatima praćenja inhibicije DPPH radikala. Međusobno testiranje T-testom uzoraka ekstrakta vitamina E iz pojedinih vrsta ulja pokazalo je da nema statistički značajne razlike u antioksidativnoj aktivnosti između uzoraka.



Slika 16. Grafički prikaz koncentracije TEAC za pojedine vrste ulja i ekstrakte vitamina E iz pojedinih vrsta ulja. Oznake na grafu: a - statistički značajna razlika između uzorka suncokretovog ulja i ekstrakta vitamina E iz suncokretovog ulja, b - statistički značajna razlika između uzorka bučinog ulja i ekstrakta vitamina E iz bučinog ulja, c - statistički značajna razlika između uzorka maslinovog ulja i ekstrakta vitamina E iz maslinovog ulja, d - statistički značajna razlika između uzorka crnog ulja i ekstrakta vitamina E iz crnog ulja.

Testiranje međusobno uzoraka ulja i uzoraka ekstrakta vitamina E T-testom pokazalo je da postoji statistički značajna razlika između TEAC uzorka suncokretovog ulja i TEAC uzorka ekstrakta vitamina E iz suncokretovog ulja ($P = 0,0026$), zatim TEAC uzorka bučinog ulja i TEAC uzorka ekstrakta vitamina E iz bučinog ulja ($P = 0,0020$), potom TEAC uzorka

maslinovog ulja i TEAC uzorka ekstrakta vitamina E iz maslinovog ulja (P = 0,0005) te TEAC uzorka crnog ulja i TEAC uzorka ekstrakta vitamina E iz crnog ulja (P = 0,0013).

5. RASPRAVA

U današnje vrijeme poznato je mnogo vrsta biljnih ulja koja se nude na policama trgovina. No nisu sva jednaka, neka podnose visoke temperature pa se koriste za prženje dok neka posjeduju najbolje osobine u kombinaciji s drugim uljima. Antioksidativna aktivnost ulja pripisuje se različitim spojevima koje ulje sadrži i sinergiji među njima. Najpoznatiji antioksidans u uljima je tokoferol odnosno vitamin E.

U različitim istraživanjima utvrđeno je da u prehrani ljudi najviše koriste suncokretovo ulje. Suncokretovo ulje sadrži dostatnu količinu vitamina E i antioksidansa te se preporuča za prženje, no u salatama ga treba izbjegavati jer sadrži mnogo omega 6 masnih kiselina koje se danas ionako previše unose u ljudski organizam. Iza suncokretovog ulja slijedi maslinovo koje se od davnina koristi u prehrani jer povoljno utječe na ljudsko zdravlje. Maslinovo ulje je bogato antioksidansima i fitokemikalijama koji štite srce i djelotvorno štite od dijabetesa, povišenog krvnog tlaka, osteoporeze itd. Pretjerano zagrijavanje maslinovog ulja može uništiti njegove nutrijente, stoga ga je najbolje koristiti u salatama ili dodati na gotova jela.

U istraživanju Espina i suradnika, ispitana je antioksidativna aktivnost 57 uzoraka biljnih ulja. Iz rada se može zaključiti da je količina DPPH radikala koji je reagirao s antioksidansom jednaka antioksidativnoj aktivnosti ulja. (23) Kroz istraživanje Epsin i suradnici su se vodili pretpostavkom da DPPH radikal ima mogućnost dvofaznog uklanjanja, a s obzirom na to da postoje četiri vrste tokoferola (α, β, γ, δ) Broznić i suradnici došli su do zaključka da γ- i δ-tokoferol sudjeluju u prvom djelu uklanjanja DPPH radikala tj. da imaju veliki utjecaj na količinu istoga. Također u tom istraživanju dokazano je da je γ-tokoferol dominantan, što znači da uvelike pridonosi antioksidativnoj aktivnosti samog ulja. (23, 24)

Broznić i suradnici proučavali su antioksidativnu aktivnost hladno prešanog bučinog ulja, salatnog bučinog ulja i ulja dobivenog prženjem bučinih sjemenki. Antioksidativna aktivnost ulja mjerena je na 517 nm korištenjem UV/VIS spektrofotometra. Rezultati su prikazani kao postotak gubitka signala DPPH radikala. Najjaču antioksidativnu aktivnost imalo je salatno bučino ulje (71,5%), zatim hladno prešano bučino ulje (70,3%) te na kraju ulje dobiveno prženjem bučinh sjemenki (59,7%). (24) U ovom istraživanju na isti način ispitani su uzorci maslinovog, suncokretovog, crnog i bučinog ulja. No bučno ulje pokazuje najslabiju antioksidativnu aktivnost koja iznosi 53% gubitka signala DPPH radikala. Uzorak maslinovog ulja pokazao je najjaču antioksidativnu aktivnost. U prvih deset minuta maslinovo ulje reagira brzo s DPPH radikalom, što se može vidjeti kao intezivniji gubitak signala, zatim taj signal slabi. Crno ulje (mješavina suncokretovog i bučinog ulja) u početku burnije reagira od suncokretovog ulja tj. crno ulje postiže veći gubitak signala, no suncokretovo ulje reagira sporije i postepeno te na kraju doseže vrlo bliske vrijednosti maslinovom ulju (suncokretovo ulje 69% gubitka signala DPPH radikala u šezdesetoj minuti, maslinovo ulje 71% gubitka signala DPPH radikala u šezdesetoj minuti). Ovdje je uočljiva razlika između brzih i sporih antioksidansa. Naime brzi antioksidanski, kao što je u ovom slučaju crno ulje u odnosu na suncokretovo, reagiraju u prvih nekoliko minuta vežući slobodne radikale. To je na grafu vidljivo kao skok, dok se suncokretovo ulje kontinuirano penje. Nakon desetak minuta suncokretovo ulje ima veći gubitak signala DPPH radikala od crnog ulja.

Vrijednosti dobivene TEAC metodom izražene u mmol/kg podudaraju se sa dobivenim vrijednostima DPPH analize. Međusobnom usporedbom TEAC vrijednosti ulja T-testom za nezavisne uzorke dobivamo da postoji statistički značajna razlika između suncokretovog i bučinog ulja, bučinog i maslinovog ulja te između maslinovog i crnog ulja.

Uzorci ekstrakta vitamina E iz pojedinih ulja pokazuju znatno manji gubitak signala DPPH radikala od samih ulja. Također ekstrakt vitamna E iz maslinovog ulja nije pokazao najjaču antioksidativnu aktivnost među ekstraktima. Na grafu (Slika 12) vidi se da najveći gubitak signala DPPH radikala ima suncokretovo ulje, zatim crno (mješavina bučinog i suncokretovog), pa maslinovo i na kraju bučino ulje. TEAC vrijednosti za sva ulja su veoma bliske, stoga kada se međusobno testiraju T-testom ne pokazuju statistički značajne razlike.

Iz dobivenih rezultata jasno je vidljivo da uzrci ulja imaju veliku antioksidativnu aktivnost, no vitamin E nije jedini zaslužan za to. Usporedbom rezultata dobivenih za uzorke ulja i za ekstrakt vitamina E iz pojedinih ulja, vidi se da sam ekstrakt vitamina E ima uvelike manju antioksidativnu aktivnost od uzorka ulja. Gubitak signala DPPH radikala u šezdesetoj minuti za uzorak suncokretovog ulja iznosi 69% dok za uzorak ekstrakta vitamina E iz suncokretovog ulja iznosi 28%, za bučino ulje iznosi 53%, a za njegov ekstrakt 11%. Gubitak signala za uzorak maslinovog ulja iznosi 71%, dok za ekstrakt vitamina E iz maslinovog ulja iznosi 18% te za uzorak crnog ulja iznosi 59%,a za uzorak ekstrakta vitamina E iz crnog ulja 20%. Ove vrijednosti pokazuju da vitamin E nije jedini antioksidans u ulju, već postoje i druge tvari koje doprinose antioksidativnoj aktivnosti samog ulja npr. karotenoidi i polifenoli.

Ekstrakt vitamina E dobiven iz suncokretovog ulja pokazuje najveću antioksidativnu aktivnost, iza njega slijedi ekstrakt vitamina E iz maslinovog ulja. Tu dolazi do obrnute situacije s obzirom na uzorke ulja gdje je najveći gubitak signala imalo maslinovo ulje. Razlog tomu su ostale tvari koje djeluju sinergistički s vitaminom E i povećavaju antioksidativnu aktivnost ulja. Izračunate vrijednosti Trolox ekvivalenta u mmol/kg podudaraju se sa dobivenim rezultatima DPPH analize.

6. ZAKLJUČAK

Ulja imaju različit sastav, a najznačajnije za ljudski organizam je njihovo antioksidativno djelovanje koje je veoma važno u spriječavanju oksidacijskog stresa na membrani stanice. Oksidacijski stres može dovesti do smrti stanice, ali isto tako i do autoimunih i kardiovaskularnih bolesti.

Vitamin E sastavni je dio svakog ulja, a obuhvaća grupu kemijskih tvari izvedenih od tokotrienola i tokoferola. Tokoferoli pridonose njegovoj antioksidativnoj aktivnosti.

U ovom radu utvrđeno je da maslinovo, suncokretovo, crno i bučino ulje imaju veliku antioksidativnu aktivnost te su poželjni za korištenje u prehrani jer pozitivno utječu na zdravlje. Zaključujemo da je najvažniji i ujedino napoznatiji antioksidans tokoferol odnosno vitamin E, no s obzirom na dobivene rezultate on nije jedini čimbenik koji utječe na antioksidativnu aktivnost nekog ulja.

7. LITERATURA

1. Wikipedija. Ulja. [Online] [Cited: kolovoz 8, 2018.] https://hr.wikipedia.org/wiki/Ulja
2. tehnologijahrane.com : Enciklopedija, Masti i ulja URL: https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/masti-i-ulja (8/8/2018)
3. zvijezda.hr : Suncokretovo ulje: najčešća pitanja i odgovori URL: https://www.zvijezda.hr/suncokretovo-ulje-najcesca-pitanja-odgovori/ (8/8/2018)
4. Mirella Žanetić, Mirko Gugić. Zdravstvene vrijednosti maslinovih ulja // Pomologia Croatica 2(12) 2006. str. 159-173
5. zvijezda.hr : Maslinovo ulje- najčešća pitanja i odgovori URL: https://www.zvijezda.hr/maslinovo-ulje-najcesca-pitanja-odgovori/ (8/8/2018)
6. plivazdravlje.hr : Bučino ulje URL: https://www.plivazdravlje.hr/centar/prehrana/5/namirnica/50/Bucino-ulje.html (8/8/2018)
7. novilist.hr : Zdravlje na stolu: bučino ulje ima niz nutritivnih svojstva URL: http://www.novilist.hr/Zivot-i-stil/Gastro/Zdravlje-na-stolu-Bucino-ulje-ima-niz-nutritivnih-svojstava (8/8/2018)
8. Wikipedija. Vitamini. [Online] [Cited: srpanj 15, 2018.] https://hr.wikipedia.org/wiki/Vitamini
9. Darija Vranešić Bender, Sandra Krstev. Mikronutrijenti i makronutrijenti u prehrani čovjeka// Medicus, 17(1),2008. str:20
10. ezdravlje: Kaj je avitaminoza, hipovitaminoza in hipervitaminoza? URL:https://www.ezdravje.com/novice/zdravje-in-dobro-pocutje/kaj-je-avitaminoza-hipovitaminoza-in-hipervitaminoza/3607/ (15/7/2018)
11. Up To Date: Overview of vitamin E URL: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-vitamin-e (15/7/2018)

12. ordinacija.hr: Ove su namirnice odličan izvor vitamina E! URL: http://ordinacija.vecernji.hr/zdravi-tanjur/jedi-zdravo/ove-su-namirnice-odlican-izvor-vitamina-e/ (15/7/2018)
13. Marica Medić- Šarić, Ines Buhač, Vlasta Bradamante. Vitamini i minerali – istine i predrasude. Zagreb: F. Hoffmann – La Roche, 2000.
14. Anja Bošnjaković. Antioksidansi i njihov doprinos zdravlju i ljepoti kože (diplomski rad) 2017. str 6-17
15. nutricionizam.com: Teorija slobodnih radikala URL: https://nutricionizam.com/teorija-slobodnih-radikala/ 2006 (15/7/2018)
16. vasezdravlje.com: Antioksidansi u prehrani i zdravlju. URL: https://www.vasezdravlje.com/printable/izdanje/clanak/357/ (15/7/2018)
17. Tatjana Todorović, Ivan Dožić, Bojan Mandić, Marjan Marjanović. Antioksidativna uloga pljuvačke u očuvanju zdravlja usta. //Vojnosanitetski pregled 62(7-8) 2005 str. 3-4
18. Philip Molyneux. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin J. Sci. Technol., 26(2) 2004 : str. 211-219
19. Krishnanand Mishra, Himanshu Ojha, Nabo Kumar Chaudhury. Estimatio of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. // Food Chemistry 130 (2012) str. 1036-1043
20. Jose Maria Obon, Rosario Castellar, Jose A. Fernandez-Lopez. Assessment of the TEAC method for determining the antioxidant capacity of synthetic red food colorants. // Food Research International 38 (2005) str. 843-845
21. Tomislav Živko. Određivanje antioksidativnog učinka, ukupnih fenola i tanina u plodu rogača. (diplomski rad)/ Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet 2012

22. Dalibor Broznić. Materijali za vježbe iz instrumentalnih metoda./ Medicinski fakultet sveučilišta u Rijeci, Preddiplomski sveučilišni studij sanitarno inženjerstvo 2017.
23. Juan Carlos Espin., Cristina Soler Rivas ., Harry J. Wichers. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fraction using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical.// Food Chemistry. 48(3) 2000. str. 648-656
24. Dalibor Broznić i suradnici. Involvement of α-, γ- and β-tocopherol isomers in the biphasic DPPH disappearance kinetics of Croatian pumpkin (*Cucurbita pepo L.*) seed oil// Food Tehnology and Biotehnology. 54(2), 2016, str. 200-210.

8. POPIS SLIKA

Slika 1. Prikaz nekih od najvažnijih izvora vitamina

Slika 2a. Struktura α-tokoferola

Slika 2b. Struktura β-tokoferola

Slika 2c. Struktura γ-tokoferola

Slika 2d. Struktura δ-tokoferola

Slika 3. Utjecaj slobodnih radikala na staničnu membranu

Slika 4. Razlika između normalne stanice i stanice u oksidacijskom stresu

Slika 5. Prikaz redukcije i promjene boje DPPH radikala

Slika 6. Analitička vaga, Ohaus Adventurer Pro, Nänikon, Švicaska

Slika 7. Uređaj za dobivanje super čiste vode, TKA-MicroPure, Njemačka

Slika 8. Centrifuga, Rotina 420 R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Njemačka

Slika 9. Spektrofotometar, Cary 100 Bio WINUV, UV-Visible, Varian, Australija

Slika 10. Baždarni pravac Trolox ekvivalenta

Slika 11. Grafički prikaz gubitka signala DPPH radikala u reakciji s suncokretovim, bučinim, maslinovim i crnim uljem.

Slika 12. Grafički prikaz gubitka signala DPPH radikala u reakciji s ekstraktima vitamina E iz suncokretovog, maslinovog, bučinog i crnog ulja

Slika 13. Grafički prikaz usporedbe gubitka signala DPPH radikala u šezdesetoj minuti za pojedine vrste ulja i ekstrakte vitamina E iz pojedinih vrsta ulja

Slika 14. Grafički prikaz koncentracije TEAC ua suncokretovo, bučino, maslinovo i crno ulje

Slika 15. Grafički prikaz koncentracije TEAC za ekstrakte vitamina E iz suncokretovog, bučinog, maslinovog i crnog ulja

Slika 16. Grafički prikaz koncentracije TEAC za pojedine vrste ulja i ekstrakte vitamina E iz pojedinih vrsta ulja

9. POPIS TABLICA

Tablica 1. Tablični prikaz hranjivih vrijednosti uzoraka ulja

Tablica 2. Gubitak signala DPPH radikala ovisno o množinskoj koncentraciji Trolox-a

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNE INFORMACIJE

- Ime i prezime: Paola Tijan
- Spol : Ž
- Datum rođenja: 8.11.1996. (Rijeka)
- Adresa: Ul. G. Verdia 8, 51410 Opatija
- Državljanstvo: Hrvatica

RADNO ISKUSTVO

- Prosinac 2017. do danas - rad na blagajni kazališta HNK I. pl. Zajc, Rijeka

OBRAZOVANJE

- 2015.- 2018. – Medicinski fakultet sveučilišta u Rijeci – Preddiplomski sveučilišni studij Sanitarno inženjerstvo
- 2011. – 2015. – Prirodoslovna i grafička škola Rijeka – Prirodoslovna gimnazija

STUDENTSKE AKTIVNOSTI

- Sudjelovanje u projektu ,, Čiste ručice “
- Sudjelovanje i organiziranje studentskog kongresa „Sanitas“