

# Uporedni prikaz nutritivne vrednosti hladno presovanih ulja semena tikve (*Cucurbita pepo* L.) različitog porekla

Biljana B. Rabrenović<sup>1</sup>, Vesna B. Vujasinović<sup>2</sup>, Miroslav M. Novaković<sup>3</sup>, Selma Č. Čorbo<sup>4</sup>, Zorica N. Basić<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, Zemun, Srbija

<sup>2</sup>Visoka škola za menadžment i poslovne komunikacije, Sremski Karlovci, Srbija

<sup>3</sup>Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

<sup>4</sup>Poljoprivredno–prehrambeni fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

<sup>5</sup>Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

## Izvod

U radu je ispitana nutritivna vrednost, na bazi sadržaj najznačajnijih bioaktivnih komponenata, sedam uzoraka hladno presovanog tikvinog ulja različitog porekla. Četiri uzorka ulja su proizvedena hladnim presovanjem semena tri domaće i jedne austrijske sorte uljane tikve, a tri uzorka hladno presovanog ulja su bila dobijena iz semena nepoznatog porekla i uzeta slobodnim izborom na tržištu. Kao pokazatelji nutritivne vrednosti određeni su sastav i sadržaj masnih kiselina, tokoferola i sterola. U sastavu masnih kiselina dominantne su bile oleinska (34,2±0,09–43,9±0,04%) i linolna masna kiselina (30,8±0,09–46,9±0,015%). Ovim istraživanjima je potvrđeno da je u tikvinom ulju dominantan  $\beta$ -tokoferol, čiji se sadržaj kretao od 34,65±0,03 do 44,59±0,69 mg/100 g. Određen je sastav i sadržaj  $\Delta^7$  fitosterola, posebno specifičnih za ulje tikve. Detektovano je pet  $\Delta^7$  sterola: spinasterol,  $\Delta^{7,22,25}$ -stigmastatrienol,  $\Delta^{7,25}$ -stigmastadienol,  $\Delta^7$ -stigmasterol i  $\Delta^7$ -avenasterol. Dominantan po sadržaju je bio  $\Delta^{7,22}$ -stigmastadienol ili spinasterol sa 39,98–50,31% od ukupnog sadržaja sterola.

**Ključne reči:** hladno presovano tikvino ulje, nutritivna vrednost, masne kiseline, tokoferoli, steroli.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Danas se na tržištu u Srbiji mogu naći hladno presovana ulja poreklom iz različitih sirovina od različitih proizvođača. Potreba za funkcionalnim proizvodima uticala je i na proizvođače hladno presovanih ulja da svoj asortiman razvijaju u pravcu proizvodnje ulja sa povoljnim nutritivnim sastavom. S obzirom da u Srbiji postoji duga tradicija uzgajanja tikve (*Cucurbita pepo* L.), ona se nametnula kao izvor sirovine – semenki, iz kojih se hladnim presovanjem dobija visoko kvalitetno i nutritivno vredno ulje. Obična tikva, *Cucurbita pepo* L., u filogenetskom sistemu biljaka spada u familiju Cucurbitaceae [1,2]. Za razliku od stočne tikve, uljana tikva se prvenstveno gaji radi semena koje je bogato uljem, a meso ploda je sporedni proizvod. Naziv „uljana bundeva“ je pogrešan jer se ne radi o bundevi (*Cucurbita maxima*) već o običnoj tikvi (*Cucurbita pepo*). Uljana tikva je dobila naziv po semenu koje je bogato uljem. Na osnovu izgleda semena razlikuju se dve forme uljane tikve: uljana tikva sa ljuskom, čije je seme obloženo čvrstom semenjačom (ljuskom) bele ili žućkaste boje i uljana tikva golica koja se prepoznaje po „golom“ semenu, bez čvrste semenjače. Golosemena tikva se prvi

put pojavila na prostorima današnje Austrije, u Štajerskoj, osamdesetih godina XIX veka, kao prirodna mutacija. I danas se tradicionalno najviše gaji u Austriji i zemljama u okruženju, Sloveniji, Mađarskoj, Nemačkoj i Hrvatskoj. Zbog popularnosti tikvinog semena i posebno ulja u ovom regionu, pojava golosemene forme je odmah prepoznata kao prednost koja je omogućavala lakše i efikasnije izdvajanje ulja. U suštini, ova prirodna mutacija je pretvorila tikvu u uljaricu. Prva sorta uljane tikve golice, „869 Feldkürbis“ se pojavila u katalogu semena iz 1915 godine [3]. Prema podacima iz 2006. godine, *Cucurbita pepo* convar. citrullinina var. styriaca, se u Austriji uzgajala na 18.151 ha, sa prosečnim prinosom semena od 0,61 t/ha. Ova sorta tikve danas se gaji širom sveta, uključujući i Kanadu [4]. Kod nas se gaji u severnom delu Srbije (Vojvodini) [5], a u poslednje vreme počinje njeno gajenje u Bosni i Hercegovini [6], Ukrajini i Rusiji. U domaćem sortimentu postoji uljana tikva sa ljuskom Olivija, dok uljane tikve golice čine registrovane sorte Olinka, Olea i Olimax, nastale u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Poznate su i inostrane sorte od kojih se posebno ističu austrijske selekcije, pre svega Gleisdorfer Ölkürbis.

Većina semenki tikvi koje se proizvode i prodaju na našem tržištu nemaju u deklaraciji poreklo sirovine, u smislu sorte i osnovnih sortnih karakteristika, što može da bude pokazatelj kvaliteta semena iz koga se pravil-

NAUČNI RAD

UDK 665.3:66:544

Hem. Ind. 70 (1) 59–65 (2016)

doi: 10.2298/HEMIND141128011R

Prepiska: B.B. Rabrenović, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, Nemanjina 6, 11000 Beograd, Srbija.

E-pošta: biljanar@agrif.bg.ac.rs

Rad primljen: 28. novembar, 2014

Rad prihvaćen: 19. februar, 2015

nom preradom može dobiti nutritivno vredno ulje. Međutim, proizvođači hladno presovanog ulja se, tokom otkupa i prerade semenki tikve, ne vode činjenicom koju sortu ili hibrid, određenih parametara kvaliteta, će preraditi već uglavnom po kojoj ceni ih mogu otkupiti.

S obzirom na to da se golosemene sorte mogu uz mnogo manje tehnoloških operacija i uz uštedu u energiji preraditi do finalnog proizvoda – hladno presovanog ulja, sasvim je opravdano što proizvođači teže preradi ove vrste semena, iako sorte sa ljuskom (čvrstom semenjačom), gde ljuska služi kao prirodna zaštita semenki, mogu duže vreme biti skladištene bez gubitka na kvalitetu, što se odražava i na kvalitet dobijenog ulja.

Cilj ovoga rada je bio da se sagleda uticaj određene sorte na nutritivni kvalitet hladno presovanog ulja semena tikvi dobijenih iz sortimenta Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu u poređenju sa uljem sa tržišta koje je dobijeno iz golica nepoznatog porekla. Kao pokazatelji nutritivne vrednosti određeni su sastav i sadržaj masnih kiselina, tokoferola, a poseban osvrt je dat na sastav i sadržaj fitosterola, kao specifičnih komponenti tikvinog ulja.

## MATERIJAL I METODE

### Materijal

U okviru ovog rada ispitano je ukupno 7 uzoraka hladno presovanog ulja semena uljanih tikvi. Četiri uzorka semena, koja su preradjena u hladno presovano ulje, je nabavljeno od Instituta za ratarstvo i povrtarstvo (Novi Sad, Srbija), od toga 3 uzorka su bile domaće slobodnooplodne sorte ili eksperimentalni hibridi, 1 uzorak je bio poreklom iz Austrije (Saatzucht Gleisdorf GmbH, Gleisdorf, Austria), dok su 3 komercijalna uzorka hladno presovanog ulja bila nabavljena slučajnim izborom na tržištu.

Svi uzorci semena uljane tikve golice su bili celog jezgra, bez vidljivih oštećenja i osušeni do ravnotežne skladišne vlage, a uzorak semena sa ljuskom je ručno oljušten, neposredno pre presovanja semena. Seme je

čuvano u zatvorenim plastičnim kesama pri temperaturi od 4 °C, u mraku, do momenta izdvajanja ulja. U tabeli 1 je data karakterizacija uzoraka semena uljane tikve i hladno presovanog ulja sa tržišta.

### Izdvajanje ulja

Za izdvajanje ulja iz uzoraka semena tikve primenjen je postupak hladnog presovanja. U ovom radu korišćena je pužna presa kompanije „Kern Kraft“ (Nemačka) kapaciteta 40 kg semena na sat, snage 4,0 kW, dimenzija 480 mm×480 mm×620 mm, namenjena za ceđenje semena repice, suncokreta, soje, lana, tikve, konoplje, grožđa, šipurka, susama, kikirikija i drugih sirovina. Izdvojeno ulje je, nakon 24 h sedimentacije, dekantovanjem odvojeno od taloga i do momenta analize čuvano u tamno zelenoj staklenoj ambalaži koja je bila zatvorena metalnim navojnim zatvaračem. Boce su čuvane u frižideru na temperaturi od 4 °C do momenta analize koja je obavljena u naredne dve nedelje.

### Metode

#### Sastav i sadržaj masnih kiselina

Masne kiseline tikvinog ulja prevedene su u metil-estre postupkom transmetilacije. Zatim su metil-estri podvrgnuti gasno-hromatografskoj analizi radi identifikacije pojedinačnih masnih kiselina i određivanja njihovog relativnog odnosa. Dobijanje metil-estara masnih kiselina izvedeno je u skladu sa metodom (ISO 5509:2000, Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids). Princip metode je transesterifikacija triacilglicerola metanolnim rastvorom KOH. Heksanski rastvor metil-estara masnih kiselina (test rastvor) korišćen je dalje u gasno-hromatografskoj analizi.

Ispitivanje sastava masnih kiselina vršeno je na gasnom hromatografu Varian, model 1400, sa plameno jonizujućim detektorom (FID). Korišćene su metalne kolone dimenzija 300 cm×0,32 cm pakovane sa LAC-3R-728 (20%; Cambridge Ind. Co., Cambridge, UK) na Chromosorb W/AW (80–100 mesh; Merck, Darmstadt, Germany). Kao gas nosač je služio azot protoka 24 mL/min. Temperatura kolone je bila 175 °C, a tempera-

Tabela 1. Karakterizacija uzoraka tikvinog semena i ulja sa tržišta  
Table 1. Characterization of pumpkin seed samples and oils from the market

Naziv-oznaka uzorka	Sorta/hibrid	Vrsta semena	Zemlja porekla
Olinka	Slobodnooplodna sorta	Golica	Srbija
SB	Slobodnooplodna sorta	Golica	Srbija
Gleisdorfer Diamant	F1 hibrid	Golica	Austrija
Olivija	Slobodnooplodna sorta	Seme sa ljuskom	Srbija
Hladno presovano ulje semena tikve sa tržišta			
1 - Tikvino ulje	–	Golica	Srbija
2 - Tikvino ulje	–	Golica	Srbija
3 - Štajersko tikvino ulje	–	Golica	Slovenija

tura injektorskog bloka i FID detektora 200 °C. Analiza je rađena u „splitless mode“. Injektirano je u gasni hromatograf po 1 µl referentnog rastvora i test rastvora. Kao referentni rastvor korišćena je komercijalna smeša metilestara masnih kiselina (37 Component FAME Mix, 47885-U, Supelco, razblaženo 10× u *n*-heksanu). Pri navedenim uslovima određivanja nisu korišćeni korekcionni faktori za preračunavanje, jer je analizom standardnog referentnog rastvora utvrđeno da dobijeni površinski udeli odgovaraju masenim udelima.

#### Sadržaj i sastav tokoferola

Sadržaj i sastav tokoferola određen je HPLC metodom. Uzorci su pripremani na sledeći način: u odmerenu zapreminu uzorka ulja (0,5 mL) dodavano je 20 mL 95% etanola i 3 mL vodenog rastvora KOH. Ovako pripremljen rastvor zagrevan je 30 min na  $t = 60$  °C uz povratni hladnjak i mešanje. Kada je saponifikacija bila završena, rastvor je ohlađen i prenesen u normalni sud od 50 mL, koji je dopunjen 95% etanolom. Alikvot je odmeravan u epruvetu sa šlifovanim zatvaračem i dodavane su jednake zapremine heksana i vode. Sve je promešano na vibracionom mešaču u trajanju od 3 min. Heksanski sloj je zatim odvojen i uz dodatak 0,5 mL  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  promešan još 30 s na vibracionom mešaču. Odmerena zapremina heksanskog rastvora uparavana je do suva u struji azota i nakon toga rekonstituisana u metanolu. Posle filtriranja kroz membranski špic-filter (Cronus Syringe Filter Nylon 25 mm, 0,45 µm, Cronus, UK), 10 µl ovog rastvor injektirano je u HPLC sistem. Razdvajanje je izvedeno na HPLC sistemu Waters M600E, izokratsko eluiranje, uz protok mobilne faze 1,0 mL/min i 95% MeOH koji je korišćen kao mobilna faza, uz Rheodyne 7125 injektor, na analitičkoj koloni Nucleosil 50-5 C18. Spektrofotometrijska detekcija analita je izvedena na fluoroscentnom detektoru RF/535 (Shimadzu, Japan) na talasnim dužinama 295 nm za ekscitaciju i 330 nm za emisiju. U analizi su korišćene standardne supstance tokoferola proizvođača Sigma Co (Supelco, USA), od kojih su pripremani rastvori za ispitivanje limita detekcije i limita kvantifikacije (serija rastvora od 0,01 do 0,5 µg/mL), kao i rastvori za kalibracionu krivu (1,0, 2,5, 5,0, 10,0 i 20,0 µg/mL). Određeni su: limit detekcije i limit kvantifikacije, koji iznose 0,03 µg/mL za  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ , odnosno 0,05 µg/mL za  $\alpha$  tokoferol, specifičnost metode, zbog moguće interferencije, linearnost (odnosa površine pika i koncentracije) za standardne rastvore tokoferola u rasponu od 1,0 µg/mL do 20 µg/mL. Kalibracione krive su dobijene kao rezultat četiri injiciranja za svaki koncentracioni nivo i određeni su koeficijenti korelacije:  $r = 0,99937$  za  $\alpha$ -tokoferol,  $r = 0,9991$  za  $\beta$ - $\gamma$ -tokoferol, odnosno  $r = 0,99924$  za  $\delta$ -tokoferol, preciznost za koncentraciju od 5,0 µg/mL ( $RSD = 1,43, 2,11, \text{odnosno } 0,78\%$ ), kao i analitički prinos (recovery) metode (98,4% za  $\alpha$ -tokoferol, 97,2% za  $\beta$ - $\gamma$ -tokoferol, odnosno 97,5% za  $\delta$ -to-

koferol). Obrada podataka je obavljena pomoću Clarity chromatography station for Windows.

#### Sadržaj i sastav sterola

Sastav i sadržaj sterola odeđen je metodom koju je opisao Verleyen [7].

Odmeravano je po 4,5 g uzorka ulja i dodavano je 7,5 mL rastvora internog standarda (0,15% rastvor holesterola u metilen-hloridu). Zatim je metilen-hlorid uparavan do suva na rotacionom vakuum uparivaču pri 40 °C. U uparene uzorke dodavano je 20 mL 6 M NaOH i 30 mL etanola (u kome je bilo 5% etra). Saponifikacija je obavljena na vodenom kupatilu pri temperaturi između 85 i 90 °C u trajanju od 90 min. Nakon saponifikacije dodavano je 30 mL destilovane vode i nesaponifikovani deo je ekstrahovan sa 45 mL petrol-etra uz snažno mućkanje, a potom sa 45 mL dietiletra. Ovi ekstrakti su bili spojeni i potom ispirani dva puta sa po 20 mL 0,5 M KOH i 2–3 puta sa po 20 mL 5% NaCl do neutralne reakcije koja se proverava lakmus papirom. Zatim je ekstrakt osušen dodavanjem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtriran kroz filter hartiju, a potom uparavan na rotacionom vakuum uparivaču pri 40 °C. Dobijenom ekstraktu je dodavana smeša 1,5 mL suvog piridina, 0,2 mL heksametildisilazana i 0,1 mL trimetilsilana. Derivatizovan uzorak je potom bio prebačen u vial i spreman za analizu koja je morala biti obavljena u narednih 6 sati. Svaki uzorak je injektiran po tri puta.

GC i GC/MS analize su urađene na instrumentu Agilent 7890AG C sa 5975C (inertni XL EI/CI) MSD i FID detektorima povezanim dvosmernim razdeljivačem (spliterom) kapilarnom protočnom tehnologijom sa pomoćnim gasom. Kolona korišćena za razdvajanje bila je HP-5MS kapilarna kolona (30 m×0.25 mm×0.25 µm). Početna temperatura GC instrumenta od 60 °C je podizana brzinom od 3 °C/min do 300 °C, a potom održavana 10 min na 300 °C. Kao noseći gas je korišćen helijum sa konstantnim protokom od 1,5 mL/min na 60 °C. Injekciona zapremina bila je 1 µl. Uzorak je analiziran u „splitless mode“. Temperatura inleta GC instrumenta bila je 250 °C, a temperatura FID detektora bila je 300 °C. MS podaci su dobijeni u EI modu, sa opsegom  $m/z$  vrednosti od 30–550. Temperatura izvora bila je 230 °C, a temperatura kvadrupola 150 °C. Maseni detektor je uključen 3 min po injektovanju. Identifikacija je potvrđena metodom zaključavanja retencionih vremena (RTL) i njihovim poređenjem sa Adams bazom podataka.

#### Statistička analiza podataka

Eksperimentalne vrednosti su izražene kao srednja vrednost tri pojedinačna određivanja. Za analizu varijanse (ANOVA) korišćen je program Statistica 7.0 (StatSoft, USA). Razlika između srednjih vrednosti, na nivou 5% statističke značajnosti ( $p < 0,05$ ), određivana je korišćenjem Dankan testa.

## REZULTATI I DISKUSIJA

### Sastav i sadržaj masnih kiselina tikvinog ulja

Masne kiseline molekula triacilglicerola su reaktivni deo molekula masti i određuju njena fizička i hemijska svojstva. U tabeli 2 dat je prikaz sastava masnih kiselina ispitivanih uzoraka tikvinog ulja.

Prema sastavu masnih kiselina ulje semena uljane tikve pripada grupi ulja oleinsko-linolnog tipa. Kao što se vidi iz tabele 2 sadržaj ove dve dominantne masne kiseline se kretao od 34,2±0,09 do 43,9±0,04% za oleinsku masnu kiselinu i 30,8±0,09 do 46,9±0,015% za linolnu masnu kiselinu. Značajne po sadržaju su bile i dve zasićene masne kiseline: palmitinska (9,9±0,13–15,3±0,30%) i stearinska (4,1±0,04–9,3±0,02%). U trgovima su identifikovane miristinska (C14:0), palmitoleinska (C16:1), alfa-linolenska (C18:3), arahinska (C20:0) i behenska (C22:0) kiselina. Dobijeni podaci su u saglasnosti sa sa literaturnim podacima [8–13]. Rezultati ovih istraživanja ukazuju na to da poreklo semena odnosno ulja je imalo uticaja na sadržaj pojedinih masnih kiselina. Kod svih uzoraka ulja dobijenih iz semena poznatog porekla bila je dominantna mononezasićena oleinska masna kiselina. Relativan sadržaj oleinske masne kiseline je bio u negativnoj korelaciji sa relativnim sadržajem linolne masne kiseline ( $r = -0,83$ ), koja je bila dominantna kod svih uzoraka ulja sa tržišta.

S obzirom na to da je sastav masnih kiselina veoma značajan pokazatelj nutritivne vrednosti biljnih ulja, ali i njihove oksidativne stabilnosti, veoma je važan i ukupan sadržaj zasićenih (SFA), mononezasićenih (MUFA) i polinezasićenih (PUFA) masnih kiselina. Posmatrano sa

stanovišta oksidativne stabilnosti ulja poželjan je viši sadržaj SFA, ali sa nutritivnog stanovišta, u cilju prevencije kardiovaskularnih obolenja, ulja sa višim sadržajem MUFA imaju prednost. Iz tabele 2 može se primetiti da je sadržaj MUFA bio značajno viši kod uzoraka ulja poreklom iz semena uljanih tikvi poznatog porekla u odnosu na uzorke sa tržišta.

Odnosu zasićenih i nezasićenih masnih kiselina jestivih ulja u savremenoj ishrani se, takođe, poklanja velika pažnja. Zbog visoko aterogenog potencijala zasićenih masnih kiselina [14] preporučuje se da njihov odnos bude ispod 1 [15]. Na osnovu podataka iz tabele 2 se može zaključiti da je odnos zasićenih i nezasićenih masnih kiselina svih uzoraka daleko ispod 1, što takođe daje pozitivan doprinos nutritivnoj vrednosti tikvinog ulja.

### Sastav i sadržaj tokoferola tikvinog ulja

Tokoferoli su veoma važne negliceridne komponente biljnih ulja i ukupan sadržaj ovih prirodnih antioksidanasa, kao i prisustvo određenih njihovih izomera, zavisi od mnogo činilaca (sortnih karakteristika semena, vrste ulja, klimatskih uslova, postupaka izdvajanja ulja, metode određivanja tokoferola, itd.).

Sastav i sadržaj tokoferola u ispitivanim uljima prikazan je u tabeli 3.

Ovim istraživanjem je potvrđeno da je u tikvinom ulju dominantan  $\beta+\gamma$ -tokoferol. Naime,  $\beta$ -tokoferol je bio prisutan u zanemarljivo maloj količini i bilo ga je vrlo teško razdvojiti od  $\gamma$ -tokoferola, zato je dat ukupan sadržaj ova dva izomera tokoferola. Kao što se vidi iz tabele 3 sadržaj  $\beta+\gamma$ -tokoferola se kretao od 34,65±0,03 do 44,59±0,69 mg/100 g, odnosno, procentualno je bio

Tabela 2. Sastav i sadržaj (% , sr. vrednost±SD, n = 3) masnih kiselina uzoraka hladno presovanih ulja semena tikve  
Table 2. Composition and content (% , sr. vrednost±SD, n = 3) of fatty acids in cold-pressed pumpkin seed oils

Masna kiselina (mas.%) <sup>A</sup>	Ulje semena uljane tikve goliće			Ulje semena uljane tikve sa ljuskom	Hladno presovana ulja semena tikve sa tržišta		
	Olinka	SB	Gleisdorfer Diamant		1	2	3
C14:0	nd	0,1±0,03	0,2±0,00	nd	nd	nd	0,1±0,00
C16:0	12,9±0,09 <sup>a</sup>	11,6±0,06 <sup>b</sup>	15,3±0,30 <sup>c</sup>	11,9±0,12 <sup>d</sup>	10,9±0,10 <sup>e</sup>	9,9±0,13 <sup>f</sup>	11,5±0,08 <sup>g</sup>
C16:1	nd	nd	0,2±0,13	nd	nd	nd	0,1±0,09
C18:0	6,2±0,05 <sup>a</sup>	5,1±0,01 <sup>b</sup>	9,3±0,02 <sup>c</sup>	6,5±0,10 <sup>d</sup>	4,1±0,04 <sup>e</sup>	5,0±0,06 <sup>f</sup>	5,1±0,04 <sup>g</sup>
C18:1	43,9±0,04 <sup>a</sup>	42,9±0,02 <sup>b</sup>	43,5±0,03 <sup>c</sup>	42,3±0,05 <sup>d</sup>	34,2±0,09 <sup>e</sup>	38,9±0,04 <sup>f</sup>	39,9±0,03 <sup>g</sup>
C18:2	36,7±0,06 <sup>a</sup>	40,2±0,20 <sup>b</sup>	30,8±0,09 <sup>c</sup>	39,0±0,12 <sup>d</sup>	46,9±0,30 <sup>e</sup>	41,7±0,15 <sup>f</sup>	43,4±0,08 <sup>g</sup>
C18:3	0,1±0,02 <sup>a</sup>	0,1±0,01 <sup>a</sup>	0,1±0,00 <sup>ba</sup>	0,2±0,04 <sup>cb</sup>	1,2±0,06 <sup>d</sup>	1,1±0,08 <sup>e</sup>	0,1±0,00 <sup>f</sup>
C20:0	nd	nd	0,2±0,02	0,1±0,00	nd	nd	0,2±0,1
C22:0	nd	nd	0,5±0,05	nd	nd	nd	0,3±0,03
SFA	19,1±0,14	16,8±0,10	25,5±0,59	18,5±0,22	15,0±0,46	14,9±0,58	17,2±0,15
MUFA	43,9±0,78	42,9±0,67	43,7±0,71	42,3±0,70	34,2±0,09	38,9±0,04	40,0±0,98
PUFA	36,8±0,79	40,3±0,88	30,9±0,60	39,2±0,69	48,1±0,04	42,8±0,68	43,5±0,40
SFA	0,24	0,20	0,34	0,22	0,18	0,18	0,21
MUFA + PUFA							

<sup>A</sup>Različita mala slova po redovima ukazuju na postojanje statistički značajne razlike u sadržaju dominantnih masnih kiselina između uzoraka ulja ( $p < 0,05$ ); nd – nije detektovano; SFA – zasićene masne kiseline; MUFA – mononezasićene masne kiseline; PUFA – polinezasićene masne kiseline

Tabela 3. Sastav i sadržaj (mg/100g, sr. vrednost $\pm$ SD, n=3) tokoferola u ispitivanim uzorcima hladno presovanog tikvinog ulja  
Table 3. Tocopherol composition and content (mg/100g, mean $\pm$ SD, n=3) in cold-pressed pumpkin seed oil

Oznaka uzorka	$\alpha$ -Tokoferol	$\beta$ + $\gamma$ -Tokoferol	$\delta$ -Tokoferol	Ukupni tokoferoli
Ulje semena uljane tikve golicе				
Olinka	5,39 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	44,59 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>	2,99 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	52,97 $\pm$ 4,12 <sup>a</sup>
SB	4,57 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	40,09 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>	4,26 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	48,92 $\pm$ 6,17 <sup>b</sup>
Gleisdorfer Diamant	2,98 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup>	34,65 $\pm$ 1,90 <sup>c</sup>	10,54 $\pm$ 0,20 <sup>c</sup>	48,17 $\pm$ 6,98 <sup>c</sup>
Prosečan udeo (% u ukupnom sadržaju)	8,57	79,35	13,31	–
Ulje semena uljane tikve sa ljuskom				
Olivija	4,60 $\pm$ 0,11 <sup>d</sup>	46,99 $\pm$ 0,94 <sup>d</sup>	5,55 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>	57,14 $\pm$ 5,32 <sup>d</sup>
Udeo (% u ukupnom sadržaju)	8,05	82,24	9,71	–
Hladno presovana ulja semena tikve sa tržišta				
1	4,24 $\pm$ 0,06 <sup>e</sup>	42,38 $\pm$ 1,11 <sup>e</sup>	6,36 $\pm$ 0,19 <sup>e</sup>	52,98 $\pm$ 3,12 <sup>e</sup>
2	4,48 $\pm$ 0,09 <sup>f</sup>	37,29 $\pm$ 0,79 <sup>f</sup>	7,95 $\pm$ 0,11 <sup>f</sup>	49,72 $\pm$ 14,17 <sup>f</sup>
3	3,6 $\pm$ 0,08 <sup>g</sup>	42,12 $\pm$ 1,67 <sup>g</sup>	3,08 $\pm$ 0,09 <sup>g</sup>	48,86 $\pm$ 5,83 <sup>g</sup>
Prosečan udeo (% u ukupnom sadržaju)	8,17	80,40	11,43	–

<sup>A</sup>Različita mala slova u kolonama ukazuju na postojanje statistički značajnih razlika u sadržaju pojedinih izomera tokoferola u ispitivanim uzorcima ulja ( $p < 0,05$ )

zastupljen u ukupnom sadržaju tokoferola sa 79,35–82,24%. Najviši sadržaj je zabeležen kod ulja poreklom iz semenki uljanih tikvi iz domaćeg sortimenta, Olinke (44,59 $\pm$ 0,69 mg/100 g) i Olivije (46,99 $\pm$ 0,94 mg/100 g). Sadržaj  $\alpha$ -tokoferola se kretao od 2,98 $\pm$ 0,25 do 5,39 $\pm$ 0,05 mg/100 g, odnosno, procentualno je bio zastupljen sa 5,48–8,57%. Posebno je interesantan sadržaj  $\delta$ -tokoferola, izomera koji, pored  $\gamma$ -tokoferola, najviše doprinosi oksidativnoj stabilnosti, pri čemu se po visokom sadržaju izdvojio uzorak ulja poreklom iz semenki austrijskog hibrida, Gleisdorfer Diamant (10,54 $\pm$ 0,20 mg/100 g).

### Sastav i sadržaj sterola tikvinog ulja

Za većinu biljnih ulja karakteristični su  $\Delta^5$  steroli, dok su  $\Delta^7$  steroli karakteristični za samo nekoliko biljnih familija, među kojima je i Cucurbitaceae [16]. Upravo prisustvo ove grupe sterola u tikvinom ulju, bez obzira da li se radi o golosemenim sortama ili sortama sa ljuskom, omogućava da se utvrdi da li je skupoceno tikvino ulje falsifikovano nekim jeftinijim uljem, kao što je suncokretovo ili ulje semena repice. Naime, intezivna tamno-zelena boja i karakterističan miris veoma otežavaju potrošačima da detektuju prisustvo druge vrste ulja, čak i kada su zastupljeni u većoj količini [16–19]. Nažalost, analitika detekcije i određivanja  $\Delta^7$  sterola je veoma složena, s obzirom na to da ne postoje komercijalni standardi  $\Delta^7$  sterola i potrebna je kolona velike polarnosti da bi se dobilo dobro razdvajanje pojedinačnih sterola iz ove grupe. U okviru ovih istraživanja, korišćenjem kapilarne kolone HP-5MS gasnog hromatografa razdvojeno je pet  $\Delta^7$  sterola, a identifikacija je obavljena delom preko retencionih vremena iz Adams

baze gasnog hromatografa, delom na osnovu masenih spektara i literaturnih podataka [16,20–24].

Kao što se vidi iz tabele 4 i u ispitivanim uzorcima ulja dominantni su  $\Delta^7$  steroli. Profil sterola odnosno hromatogrami svih uzorka su pokazali identičan raspored sterola, a dominantan po sadržaju je bio  $\Delta^{7,22}$  stigmastadienol ili spinasterol sa 39,98–50,31% od ukupnog sadržaja sterola. Sledeći po sadržaju je  $\Delta^{7,22,25}$ -stigmastatrienol, čiji se udeo u ukupnom sadržaju sterola kreće od 20,23 do 30,89%. Zatim sledi  $\Delta^7$ -stigmasterol, sa 10,47–19,48%, potom  $\Delta^{7,25}$ -stigmastadienol, čiji je udeo u ukupnom sadržaju 5,70–10,76%. Najmanju površinu pika, a samim tim i najnižu procentualnu zastupljenost, kod gotovo svih uzoraka, imao je  $\Delta^7$ -avenasterol sa 1,50–13,42%. Izvesna odstupanja postoje kod uzorka broj 2 sa tržišta, kod koga je sadržaj  $\Delta^{7,25}$ -stigmastadienola bio najniži.

Posebno je važno što je i u uzorcima sa tržišta utvrđeno da su prisutni samo  $\Delta^7$ -steroli, jer to ukazuje da ispitivana ulja nisu falsifikovana nekim drugim, jeftinijim uljem.

U literaturi ne postoje podaci o sadržaju sterola u hladno presovanom tikvinom ulju, kao ni njihov sastav, tako da se postojeći rezultati mogu uporediti samo sa rezultatima za devičanska tikvina ulja ili eventualno druga hladno presovana ulja.

Sastav sterola devičanskog tikvinog ulja je isti kao kod hladno presovanih ulja, ali je udeo pojedinih sterola u ukupnom sadržaju različit. Nakić i sar. [24] navode da su po sadržaju odnosno procentualnom udelu u ukupnom sadržaju sterola, spinasterol,  $\Delta^{7,22,25}$ -stigmastatrienol i  $\Delta^{7,25}$ -stigmastadienol slični i taj udeo se redom kretao 19,88–26,81%; 24,03–26,24%; 21,36–22,68%. Najmanji udeo u ukupnom sadržaju sterola u

Tabela 4. Sastav i sadržaj (% od ukupnog sadržaja sterola) pojedinačnih sterola hladno presovanog ulja semena uljane tikve  
Table 4. Composition and content of sterols (wt.% of total sterols, mean±SD, n = 3) in cold-pressed pumpkin seed oils

Oznaka uzorka <sup>A</sup>	Spinasterol	$\Delta^{7,22,25}$ -stigmastatrienol	$\Delta^{7,25}$ -stigmastadienol	$\Delta^7$ -stigmasterol	$\Delta^7$ -avenasterol
Ulje semena uljane tikve golicе					
Olinka	42,15±2,14 <sup>a</sup>	30,89±1,14 <sup>a</sup>	6,40±0,24 <sup>a</sup>	17,91±0,68 <sup>a</sup>	2,65±0,16 <sup>a</sup>
SB	49,73±1,42 <sup>b</sup>	28,34±0,99 <sup>b</sup>	8,05±0,10 <sup>b</sup>	10,47±0,60 <sup>b</sup>	3,42±0,20 <sup>b</sup>
Gleisdorfer Diamant	42,33±2,05 <sup>c,a</sup>	26,93±1,78 <sup>c</sup>	7,25±0,25 <sup>c</sup>	18,87±0,41 <sup>c</sup>	4,61±0,17 <sup>cb</sup>
Ulje semena uljane tikve sa ljuskom					
Olivija	50,31±3,32 <sup>d</sup>	24,81±0,49 <sup>d</sup>	5,94±0,17 <sup>d</sup>	17,42±0,20 <sup>d</sup>	1,50±0,11 <sup>d</sup>
Hladno presovana ulja semena tikve sa tržišta					
1	40,15±4,34 <sup>e</sup>	26,60±1,21 <sup>e</sup>	5,70±0,22 <sup>e</sup>	14,23±0,55 <sup>e</sup>	7,02±0,56 <sup>e</sup>
2	39,98±3,22 <sup>f</sup>	23,48±0,89 <sup>f</sup>	3,64±0,40 <sup>f</sup>	19,48±0,76 <sup>f</sup>	13,42±0,78 <sup>f</sup>
3	42,03±7,11 <sup>e</sup>	27,38±3,28 <sup>e</sup>	10,76±0,88 <sup>e</sup>	10,88±1,16 <sup>e</sup>	8,95±0,99 <sup>e</sup>

<sup>A</sup>Različita mala slova po kolonama ukazuju na postojanje statistički značajne razlike u sadržaju pojedinih sterola između uzoraka ulja ( $p < 0,05$ )

uzorcima koje su ispitivali Nakić i sar. [24] imao je  $\Delta^7$ -stigmasterol, 1,46–1,99%, za razliku od uzoraka ispitivanih u ovom radu gde je  $\Delta^7$ -avenasterol bio procentualno najmanje zastupljen.

Szterk i sar. [25] navode ukupan sadržaj sterola od 349 mg/100 g u devičanskom tikvinom ulju, sa dominantnim spinasterolom (53,85%),  $\Delta^{7,25}$ -stigmastadienol (21,23%) i  $\Delta^7$ -avenasterolom (20,17%), dok je  $\Delta^{7,22,25}$ -stigmastatrienol bio zastupljen sa svega 4,78%.

## ZAKLJUČAK

Rezultati ovih istraživanja su pokazali da sadržaj pojedinih bioaktivnih komponenti statistički značajno varira u ispitivanim uzorcima ulja, a što se može dovesti pre svega u vezu sa sortnim karakteristikama.

Kada je u pitanju sastav masnih kiselina uzorci ulja dobijeni iz sorti razvijenih u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, kao dominantnu su imali mononezasićenu oleinsku masnu kiselinu, koja je sa stanožišta nutritivne vrednosti ulja najpoželjnija a doprinosi i oksidativnoj stabilnosti ulja, za razliku od uzoraka iz semenki nepoznatog porekla koji su imali dominantnu linolnu masnu kiselinu, koja i pored toga što je esencijalna masna kiselina, doprinosi oksidativnoj nestabilnosti ulja.

U pogledu sadržaja tokoferola takođe postoji statistički značajna razlika između ispitivanih uzoraka, a posebno u sadržaju dominantnih  $\beta$ + $\gamma$ -tokoferola, međutim, njihov udeo u sadržaju ukupnih tokoferola kod svih uzoraka je bio izuzetno visok, kretao se oko 80%.

U sastavu ispitanih uzoraka ulja detektovano je pet  $\Delta^7$ -sterola: spinasterol,  $\Delta^{7,22,25}$ -stigmastatrienol,  $\Delta^{7,25}$ -stigmastadienol,  $\Delta^7$ -stigmasterol i  $\Delta^7$ -avenasterol. Dominantan po sadržaju je bio  $\Delta^{22}$ -stigmastadienol ili spinasterol sa 39,98–50,31% od ukupnog sadržaja sterola.

## Zahvalnica

Rad je finansiran sredstvima Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije u okviru projekta 172053 i 46010.

## LITERATURA

- [1] T.W. Whitaker, G.N. Davis, Cucurbits botany, cultivation and utilization, Interscience Publishers, New York, 1962.
- [2] K. Mägdefrau, F. Ehrendorfer, Udžbenik botanike za više škole, III dopunjeno izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1988.
- [3] H. Teppner, Cucurbita pepo L. (Cucurbitaceae)—history, seed, coat types, thin coated seeds and their genetics. Phyton-Int. J. Exp. Bot. **40** (2000) 1–42.
- [4] G.O. Fruhwirth, A. Hermetter, Production technology and characteristics of Styrian pumpkin seed oil, Eur. J. Lipid. Sci. Tech. **110** (2008) 637–644.
- [5] J. Berenji, Uljana tikva i njena proizvodnja. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 2010, str. 14,15.
- [6] S. Čorbo, S. Škaljić, H. Bijelić, Karakteristike uzgoja i kvalitet ulja tikve golicе (*Cucurbita pepo*), 48. Savetovanje industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica, Zbornik radova, Herceg Novi, 2007, str. 129–134.
- [7] T. Verleyen, Stability of minor components during vegetable oil refining, PhD Thesis, Ghent University, 2002.
- [8] W. Schuster, W. Zipse, R. Marquard, The Influence of Genotype and Growing Location on several Substances of Seeds of the pumpkin (*Cucurbita pepo* L.), Eur. J. Lipid. Sci. Tech. **85** (1983) 56–64.
- [9] C. Wentzel, Recent Studies on the Fatty Acid Composition of Styrian Pumpkin Seed Oils, Ernährung/Nutrition **11** (1987) 752–755.
- [10] O. Radočaj, E. Dimić, Physico-chemical and nutritive characteristics of selected cold-pressed oils found in the European market, Rivista Ital. Sost. Grasse **90** (2013) 219–228.
- [11] G.O. Fruhwirth, T. Wenzl, R. El-Toukhy, F.S. Wagner, A. Hermetter, Fluorescence screening of antioxidant capa-

- city in pumpkin seed oils and other natural oils, Eur. J. Lipid. Sci. Tech. **105** (2003) 266–274.
- [12] V. Vukša, E. Dimić, V. Dimić, Characteristics of cold pressed pumpkin seed oil, 9<sup>th</sup> Symposium: Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier, Proceedings, Jena/Thüringen, 2003, pp. 493–496.
- [13] V. Vujasinović, S. Đilas, E. Dimić, R. Romanić, A. Takači, Shelf life of cold pressed pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil obtained with a screw press, J. Am. Oil. Chem. Soc. **87** (2010a) 1497–1505.
- [14] L. Lepšanović, Lj. Lepšanović, Klinička lipidologija, Savremena administracija, Beograd, 2000.
- [15] V. Vujasinović, Uticaj termičke obrade na nutritivnu vrednost i oksidativnu stabilnost ulja semena uljane tikve golice *Cucurbita pepo* L., Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2011.
- [16] P. Breinhölder, L. Mosca, W. Lindner, Concept of sequential analysis of free and conjugated phytosterols in different plant matrices, J. Chromatogr., B **777** (2002) 67–82.
- [17] V.K. Garg, W.R. Nes, Occurrence of delta-5-sterols in plants producing predominantly delta7-sterols: Studies on the sterol compositions of six Cucurbitaceae seeds. Phytochemistry **25** (1986) 2591–2598.
- [18] M.H. Gordonand, L.A.D. Miller, Development of the steryl ester analysis for the detection of admixtures of vegetable oils, J. Am. Oil. Chem. Soc. **74** (1997) 505–510.
- [19] T. Mandl, G. Reich, W. Lindner, Detection of adulteration of pumpkin seed oil by analysis of content and composition of specific  $\Delta^7$ -phytosterols, Eur. Food Res. Technol. **209** (1999) 400–406.
- [20] T. Akihisa, W.C.M.C. Kokke, T. Tamura, Naturally occurring sterols in physiology and biochemistry of sterols, edited by G.W. Patterson and W.D. Nes, American Oil Chemists' Society Press, Champaign, IL, 1992, pp. 172–178.
- [21] A. Kamal-Eldin, L.A. Appelqvist, G. Yousif, G.M. Iskander, Seed lipids of *Sesamum indicum* and related wild species in Sudan. The sterols, J. Sci. Food Agr. **59** (1992) 327–334.
- [22] T. Wentzel, E. Prettnner, K. Schweiger, F. S. Wagner, An improved method to discover adulteration of Styrian pumpkin seed oil, J. Biochem. Bioph. Meth. **53** (2002) 193–202.
- [23] R.A. Moreau, B.D. Whitaker, K.B. Hicks, Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses, Prog. Lipid Res. **41**(2002) 457–500.
- [24] S. Nakić-Nedjeral, D. Rade, D. Skevin, D. Strucelj, Z. Mokrovca, M. Bartolic, Chemical characteristics of oils from naked and husk seeds of *Cucurbita pepo* L., Eur. J. Lipid. Sci. Tech. **108** (2006) 936–943.
- [25] A. Szterk, M. Roszko, E. Sosinska, D. Derewiaka and P. P. Lewicki, Chemical Composition and Oxidative Stability of Selected Plant Oils, J. Am. Oil. Chem. Soc. **87** (2010) 637–645.

## SUMMARY

### COMPARATIVE REVIEW OF THE NUTRITIONAL VALUE OF COLD-PRESSED PUMPKIN (*Cucurbita pepo* L.) SEED OIL OF DIFFERENT ORIGINS

Biljana B. Rabrenović<sup>1</sup>, Vesna B. Vujasinović<sup>2</sup>, Miroslav M. Novaković<sup>3</sup>, Selma Čorbo<sup>4</sup>, Zorica N. Basić<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Nemanjina 6, 11080 Zemun, Serbia

<sup>2</sup>College of Professional Studies in Management and business Communication, Mitropolita Stratimirovica 110, 21205 Sremski Karlovci, Serbia

<sup>3</sup>Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, University of Belgrade, 11001 Belgrade, Serbia

<sup>4</sup>Faculty of Agriculture and Food Sciences, Zmaja od Bosne br. 8, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

<sup>5</sup>Military Medical Academy, Institute of Hygiene, Crnotravska 17, 11000 Belgrade, Serbia

(Scientific paper)

The objective of this study was to investigate the nutritional value of seven samples of cold pressed pumpkin oil of different origins and influence of seed origin on the content of the most important bioactive components. Four samples of a pumpkin oil is obtained by cold pressing of the seeds of domestic and Austrian varieties, and three samples of cold pressed oils were obtained from the seeds of unknown origin, taken by free choice in the market. As indicators of the nutritional values are determined by the composition and content of fatty acids, tocopherols and sterols. In the composition of the fatty acid were oleic dominant (34.2±0.09–43.9±0.04%) and linolenic fatty acid (30.8±0.09–46.9±0.015%). This study confirmed that the oil pumpkin dominant  $\beta$ + $\gamma$ -tocopherol, whose contents ranged from 34.65±0.03 to 44.59±0.69 mg/100 g. We determine the composition and content of  $\Delta^7$ -phytosterols, especially for specific oil pumpkins. It was detected five  $\Delta^7$ -sterols: spinasterol,  $\Delta^{7,22,25}$ -stigmastatrienol,  $\Delta^{7,25}$ -stigmastadienol,  $\Delta^7$ -stigmasterol and  $\Delta^7$ -avenasterol. Dominant content was  $\Delta^{7,22}$ -stigmastadienol or spinasterol with 39.98 to 50.31% of the total content of sterols.

**Keywords:** Cold-pressed pumpkin oil • Nutritive value • Fatty acids • Tocopherols • Sterols